

**К.Ю. Самсонов<sup>1</sup>, А.В. Мордык<sup>1</sup>, А.Р. Ароян<sup>2</sup>, А.Н. Золотов<sup>2</sup>,  
Д.Г. Новиков<sup>1</sup>, Т.Л. Батищева<sup>2</sup>, О.Г. Иванова<sup>1</sup>**

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ НОСИТЕЛЬСТВА ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ IL1A, TNFA, IL6 С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ХИМИОТЕРАПИИ ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОГО ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ ПРИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ НЕТОЗОБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
г. Омск, Российская Федерация;  
<sup>2</sup>БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер»,  
г. Омск, Российская Федерация

**Резюме.** Туберкулез продолжает входить в 10 основных причин смерти по всему миру. Продолжительное время ведутся исследования по поиску связи развития активных форм туберкулеза с полиморфизмом генов, кодирующих экспрессию цитокинов. **Цель:** оценить связь полиморфизма генов IL-1A (rs1800587), TNFA (rs1800629), IL6 (rs1800795) с эффективностью лечения впервые выявленного ТБ лёгких, оцениваемой согласно стандартному протоколу с дополнительным исследованием реактивности нейтрофилов в контексте их способности к нетозу. **Материалы и методы.** В исследование вошли 184 пациента с активным туберкулезным процессом, проходивших лечение в стационарных условиях БУЗОО «КПТД». Пациенты были разделены на группы в зависимости от эффективности терапии. Группа 1 – терапия неэффективна, группа 2 – эффективна. **Результаты исследования.** Носительство генотипа А\А в локусе rs1800587 гена IL1A сопряжено с неэффективностью курса ХТ ( $p=0,003$ ), при этом гетерозиготы по этому локусу статистически значимо чаще встречались среди эффективно леченных больных ( $p=0,002$ ). Анализ локусов rs1800629 гена TNF и rs1800795 гена IL6 не показали статистически значимых различий при оценке эффективности лечения. В качестве пилотного исследования у 12 обследуемых из каждой группы определяли нетозобразующую способность нейтрофилов. На момент завершения интенсивной фазы химиотерапии на фоне улучшения клинической картины (группа 2) наблюдалось снижение способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек. В группе 1 к моменту завершения интенсивной фазы ХТ наблюдалось статистически значимое увеличение доли облаковидных нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ).

**Ключевые слова:** туберкулез легких; полиморфизм генов; интерлейкины; эффективность лечения, нейтрофильные внеклеточные ловушки

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Мордык Анна Владимировна

amordik@mail.ru

Дата поступления: 29.09.2024

Образец цитирования: Самсонов К. Ю., Мордык А. В., Ароян А. Р., Золотов А. Н., Новиков Д. Г., Батищева Т.Л., Иванова О.Г. Взаимосвязь носительства полиморфных аллелей генов IL1A, TNFA, IL6 с эффективностью химиотерапии впервые выявленного туберкулеза легких при дополнительной оценке нетозобразующей способности нейтрофилов. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 5, с. 586–598, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-586-598

## Введение

Туберкулез (ТБ) продолжает входить в 10 основных причин смерти по всему миру. Современные исследования биологии *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) дали возможность разработки высокоэффективных методов ранней диагностики и лечения ТБ [1]. Однако любой инфекционный процесс определяется не только особенностями возбудителя инфекции, но и ответом микроорганизма. Продолжительное время ведутся исследования по поиску связи развития активных форм ТБ с мутациями в генах, кодирующих экспрессию цитокинов. Исследована взаимосвязь полиморфизма генов, кодирующих цитокины IL-4, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ . Так, например, известно, что носительство генотипа и аллель «дикого типа» гена IFNG +874A/T, а также генотип и полиморфный аллель для IL4 -590C/T, по-видимому, ассоциированы с восприимчивостью к развитию активной туберкулезной инфекции, но не к латентной инфекции у жителей Амазонского региона Бразилии [2]. Исследование, проведенное у жителей Тибета, показало взаимосвязь между носительством полиморфных аллелей rs3783550 G/T, rs3783546 G/C, rs2856838 A/G, rs1609682 G/T, rs3783521 A/G генотипов гена IL-1 $\alpha$ , а также rs1143623 G/G генотипа гена IL-1 $\beta$  и высоким риском развития активного ТБ [3].

Работа в этом направлении может быть использована для создания стратегий персонификации медицины с возможностью оценки характера течения туберкулезного процесса и особенностей подходов к лечению заболевания. В качестве объектов интереса могут рассматриваться полиморфные однонуклеотидные замены rs1800587 в гене IL1A, rs1800629 в гене TNF- $\alpha$  и rs1800795 в гене IL6, поскольку кодируемые этими генами цитокины играют существенную роль в регуляции воспаления при туберкулезе [4], а особенности течения ТБ у носителей полиморфных аллелей не изучена.

Одним из перспективных маркеров для создания стратегий персонификации медицины, позволяющим оценить эффективность лечения, является оценка способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек. Однако, в литературных источниках нет информации, касающейся оценки изменений в нетозобразующей способности нейтрофилов в процессе лечения ТБ.

**Цель:** оценить связь полиморфизма генов IL-1A (rs1800587), TNFA (rs1800629), IL6 (rs1800795) с эффективностью лечения впервые выявленного ТБ лёгких, оцениваемой согласно стандартному протоколу с дополнительным исследованием реактивности нейтрофилов в контексте их способности к нетозу.

## Материалы и методы

В работе проанализированы клинико-anamnestические и лабораторно-инструментальные данные 184 пациентов с впервые выявленным ТБ легких, жителей Омска и Омской области, находившихся на стационарном лечении в БУЗОО «КПТД».

Диагноз ТБ устанавливался врачебной комиссией областного противотуберкулезного диспансера на основании клинической картины заболевания, лучевых методов исследования, иммунологических проб с туберкулином и аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартных разведениях, данных микроскопического и бактериологического исследования мокроты в соответствии с клинической классификацией ТБ.

Набор пациентов осуществлялся при поступлении в стационар согласно критериям включения. Критерии включения: впервые выявленный ТБ легких, возраст 18 лет и старше, госпитализация и лечение в круглосуточном стационаре БУЗОО «КПТД». Критериями исключения являлись: наличие иммунодефицита (в том числе ВИЧ-инфекции), внелегочного ТБ, микобактериоз, впервые выявленный ФКТ, самовольный отрыв от лечения и/или летальный исход по иным от ТБ причинам (включая отсутствие конкурирующего диагноза) по данным патологоанатомического заключения до завершения интенсивной фазы ХТ, пропуск более 20 последовательных доз ввиду развития нежелательной побочной реакции (НПР), отказ от участия в исследовании. Все пациенты получали курс ХТ в соответствии с установленной чувствительностью МБТ по данным ускоренных методов определения лекарственной чувствительности (ПЦР), посева на жидкие и плотные питательные среды, а также на основании анамнестических данных.

Эффективность ХТ контролировалась каждые 2 месяца и включала оценку бактериологических и рентгенологических данных с дополнительной оценкой способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек.

По завершении интенсивной фазы ХТ все пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу вош-

ли 93 пациента (71 мужчина и 22 женщины, средний возраст составил  $44,1 \pm 12,8$ ), у которых сохранялась или появилась деструкция легочной ткани по рентгенологическим данным, не достигнуто прекращение бактериовыделения, отсутствовала или была отрицательной рентгенологическая динамика либо совокупность этих факторов. Структура клинических форм в первой группе была следующей: на инфильтративный ТБ пришлось 88,2%, на диссеминированный 7,5%, казеозная пневмония выявлена у 4,3%. Во вторую группу вошёл 91 пациент с закрытием полостей распада, наличием положительной рентгенологической динамики в виде уплотнения и/или рассасывания очагов и инфильтрата у пациентов без деструкции легочной ткани, достигнуто прекращение бактериовыделения, в группе было 68 мужчин и 23 женщины, средний возраст составил  $45,8 \pm 12,9$  лет. В структуре клинических форм в этой группе, как и в первой, доминировал инфильтративный ТБ (87,9%), очаговый ТБ составил 4,4%, диссеминированный 7,7%.

Для выделения ДНК использовали метод фенол-хлороформной экстракции, материалом служила лейкоцитарная масса. Дезоксинуклеотидтрифосфаты (dNTP) и олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в ИХБФМ СОРАН, где также проводились все этапы генотипирования.

Генотипирование однонуклеотидных замен в генах IL1A (rs1800587) TNFA (rs1800629), проводили методом генотипирования однонуклеотидных замен в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Типирование полиморфного локуса rs1800796 гена IL-6 проводили методом Fluorescent melt curve analysis (FMCA) с использованием флюоресцентно-меченого олигонуклеотидного зонда с последующим плавлением амплификационных продуктов и анализа кривых плавления.

Аmplификация проводилась с помощью амплификатора iCycler iQ5 (Bio-Rad, США). ПЦР проводилась в следующих условиях: начальная денатурация 3' при  $96^{\circ}\text{C}$ ; затем 40 циклов, включающих денатурацию при  $96^{\circ}\text{C}-8''$ , отжиг праймеров и последующую элонгацию при  $60^{\circ}\text{C}-35''$  (каждый шаг сопровождался регистрацией флюоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующим интервалам флюоресценции флюорофоров FAM и R6G).

В качестве пилотного исследования у 12 обследуемых из каждой группы определяли нетозобразующую способность нейтрофилов по методике, предложенной сотрудниками ЦНИЛ и кафедрой фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней ОмГМУ [5], так как изменение способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек может стать потенциально полезным маркером для оценки эффективности проводимой терапии. Нейтрофилы выделяли на градиенте плотности фиколаверографина. После трехкратного отмывания выделенных нейтрофилов в 0,9% растворе натрия хорида доводили содержание клеток в среде до  $5 \cdot 10^6$  /мл. Выделенные клетки инкубировали с неспецифическим антигенным стимулятором (пробиотик, содержащий смесь *Lactobacillus reutri*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosis* и *Bifidumbacterium longum*) в течение 30 мин при  $37^{\circ}\text{C}$ . Нейтрофилы, обладающие повышенной реактивностью, относительно быстро формировали внеклеточные ловушки (НВЛ). После инкубации окрашивали взвесь нейтрофилов пропидия иодида и моноклональными антителами CD-15-FITC, готовили препарат «раздавленная капля». Для обнаружения и подсчета доли НВЛ относительно всех элементов, визуализируемых в препарате «раздавленная капля» использовали люминесцентную микроскопию. Подсчитывали в препарате процентное отношение 1) интактных нейтрофилов; 2) активированных нейтрофилов; 3) клеток раннего нетоза; 4) облаковидных НВЛ; 5) нитевидных НВЛ (рис. 1).

Статистическую обработку данных проводили в программе STATISTICA v 10.0. Нормальность распределения количественных переменных оценивали в тесте Шапиро – Уилка (W). Количественные данные представлены в формате медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1 – Q3), минимального и максимального значения (Мин. – Макс.). При сравнении двух независимых групп наблюдений использовался U-тест Манна – Уитни, для сравнения двух зависимых выборок использовали T-критерий Вилкоксона. Для качественных данных использован критерий  $\chi^2$  Пирсона. Статистически значимыми считали различия в сравниваемых группах при достигнутом уровне статистической значимости менее 0,05 ( $p < 0,05$ ).

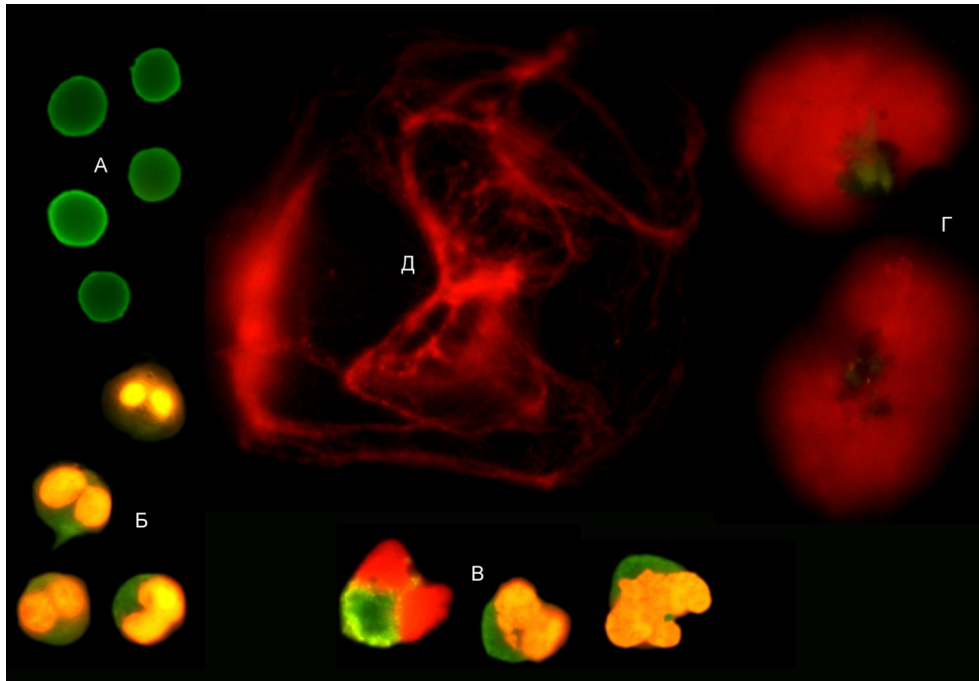


Рисунок 1. Объекты, определяемые в препарате нейтрофилов, после 30 мин воздействия стимулятора: А) интактные нейтрофилы, Б) активированные нейтрофилы, В) клетки раннего нетоза, Г) облако-видные НВЛ, Д) нитевидные НВЛ. Люминисцентная микроскопия, x1000.

Figure 1. Objects determined in a neutrophil preparation after 30 minutes of exposure to the stimulator: A) intact neutrophils, B) activated neutrophils, C) early NETosis cells, D) cloud-like NETs, D) filiform NETs. Fluorescence microscopy, x1000.

### Результаты и обсуждение

В сравниваемых группах доля больных с лекарственно устойчивым ТБ была свыше 60%, из которых доминировали пациенты с МЛУ ТБ, на долю которых пришлось 40,9% и 47,2% в группах соответственно (таблица 1). Доля ШЛУ ТБ в 2 раза выше в первой группе (14% против 6,6% во второй группе,  $p=0,161$ ).

Таблица 1

Распределение пациентов в группах с различной эффективностью химиотерапии в зависимости от вида ЛУ МБТ, абс. (%)

Table 1

Distribution of patients in groups with different chemotherapy effectiveness depending on the type of DR MBT, abs. (%)

Вид лекарственной устойчивости Type of drug resistance	1-я группа, n=93 (100%) 1st group, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%) 2nd group, n=91 (100%)	$\chi^2$	p
Без ЛУ Without LU	32 (34,4)	33 (36,3)	0,069	0,793
Монорезистентность Monoresistance	4 (4,3)	5 (5,5)	0,745	0,974*
Полирезистентность Polyresistance	6 (6,4)	4 (4,4)	0,747	0,772*
МЛУ MLU	38 (40,9)	43 (47,2)	0,763	0,383
ШЛУ SHLU	13 (14)	6 (6,6)	1,97	0,161**

Примечание:  $\chi^2$  – стандартный критерий Пирсона; \* – точный тест Фишера; \*\* –  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йейтса; p – уровень статистической значимости.

Note:  $\chi^2$  – standard Pearson criterion; \* – Fisher exact test; \*\* – Pearson  $\chi^2$  with Yates correction; p – level of statistical significance.

Обширность поражения и деструкция легочной ткани в группах при поступлении представлены



в таблице 2. Мы видим значительное преобладание пациентов с распространенным (72% против 51,7%,  $p=0,005$ ) и деструктивным (88,2% против 42,8%,  $p<0,001$ ) специфическим процессом в группе с неэффективным курсом химиотерапии.

Таблица 2

Распространенность ТБ процесса, наличие полости распада на момент поступления в группах с различной эффективностью химиотерапии, абс. (%)

Table 2

Prevalence of the TB process, the presence of a decay cavity at the time of admission in groups with different chemotherapy effectiveness, abs. (%)

Распространенность процесса Prevalence of the process	1-я группа, n=93 (100%) 1st group, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%) 2nd group, n=91 (100%)	$\chi^2$	p
Одна доля One share	26 (28)	44 (48,3)	8,117	0,005
Более одной доли More than one share	67 (72)	47 (51,7)		
Наличие распада The presence of decay				
Есть Yes	82 (88,2)	39 (42,8)	41,947	<0,001
Нет No	11 (11,8)	52 (57,2)		

Бактериовыделение методом люминесцентной микроскопии на момент поступления было выявлено у 69,9% пациентов первой группы и 37,4% пациентов второй группы ( $p<0,001$ ), таблица 3.

Таблица 3

Распределение пациентов в сравниваемых группах в зависимости от бактериовыделения методом микроскопии на момент поступления в стационар, абс. (%)

Table 3

Distribution of patients in the compared groups depending on bacterial excretion by microscopy at the time of admission to hospital, abs. (%)

Бактериовыделение в момент поступления Bacterial isolation at the time of admission	1-я группа, n=93 (100%) 1st group, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%) 2nd group, n=91 (100%)	$\chi^2$	p
Есть Yes	65 (69,9)	34 (37,4)	19,582	<0,001
Нет No	28 (30,1)	57 (62,6)		

При исследовании полиморфного локуса rs1800587 в гене IL1A было обнаружено: статистически значимо гетерозиготы преобладали в группе с неэффективным курсом химиотерапии (46,2% против 23,7% эффективно леченных пациентов,  $p=0,002$ ). Напротив, гомозиготы по аденину доминировали в первой группе, на их долю пришлось 16,1%, во второй группе носителей этого аллельного варианта было 2,2% ( $p=0,003$ ), таблица 5.

Анализ полиморфизма rs1800629 гена TNF не показал статистически значимых различий среди больных в сравниваемых группах, таблица 5.

Аллельные варианты rs1800795 гена IL6 представлены в таблице 6. Из табличных данных видно, что, несмотря на преобладание пациентов с носительством генотипа G\C (52,7% против 41,7%) и генотипа C\C (29,4% против 22%) в группе с неэффективным курсом ХТ, а гомозигот по гуанину среди пациентов с эффективным курсом (26,3% против 26,9%), статистически значимыми эти результаты не явились.

Таблица 4

Полиморфизм rs1800587 гена IL1A. Распределение генотипов и аллелей в группах с различной эффективностью химиотерапии, абс. (%)

Table 4

Polymorphism rs1800587 of the IL1A gene. Distribution of genotypes and alleles in groups with different chemotherapy efficiency, abs. (%)

Генотип\Аллель Genotype\allele	1-я группа, n=93 (100%) 1st group, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%) 2nd group, n=91 (100%)	$\chi^2$	p
Генотип G\G Genotype G\G	56 (60,2)	47 (51,6)	1,37	0,242
Генотип G\A Genotype G\A	22 (23,7)	42 (46,2)	10,263	0,002
Генотип A\A Genotype A\A	15 (16,1)	2 (2,2)	0,0015*	0,003
Аллель G Allele G	134 (72)	136 (74,7)	0,339	0,561
Аллель A Allele A	52 (28)	46 (25,3)		

Примечание:  $\chi^2$  – стандартный критерий Пирсона; \* – точный тест Фишера Note:  $\chi^2$  – standard Pearson criterion; \* – Fisher exact test

Таблица 5

Полиморфизм rs1800629 гена TNFA. Распределение генотипов и аллелей в группах с различной эффективностью химиотерапии, абс. (%)

Table 5

Polymorphism rs1800629 of the TNFA gene. Distribution of genotypes and alleles in groups with different chemotherapy efficiency, abs. (%)

Генотип\Аллель Genotype\allele	1-я группа, n=93 (100%) 1st group, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%) 2nd group, n=91 (100%)	$\chi^2$	p
Генотип G\G Genotype G\G	69 (74,2)	72 (79,1)	0,624	0,43
Генотип G\A Genotype G\A	18 (19,3)	16 (17,6)	0,096	0,757
Генотип A\A Genotype A\A	6 (6,5)	3 (3,3)	0,497*	0,516
Аллель G Allele G	156 (83,9)	160 (87,9)	1,238	0,266
Аллель A Allele A	30 (16,1)	22 (12,1)		

Примечание:  $\chi^2$  – стандартный критерий Пирсона; \* – точный тест Фишера Note:  $\chi^2$  – standard Pearson criterion; \* – Fisher exact test

Таблица 6

## Полиморфизм rs1800795 гена IL6. Распределение генотипов и аллелей в группах с различной эффективностью химиотерапии, абс.(%)

Table 6

Polymorphism rs1800795 of the IL6 gene. Distribution of genotypes and alleles in groups with different chemotherapy efficiency, abs. (%)

Генотип\Аллель Genotype\allele	1-я группа, n=93 (100%) 1st group, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%) 2nd group, n=91 (100%)	$\chi^2$	P
Генотип G\G Genotype G\G	25 (26,9)	33 (36,3)	1,876	0,171
Генотип G\C Genotype G\C	49 (52,7)	38 (41,7)	2,204	0,138
Генотип C\C Genotype C\C	19 (29,4)	20 (22)	0,066	0,798
Аллель G Allele G	99 (53,2)	104 (57,1)	0,571	0,451
Аллель C Allele C	87 (46,8)	78 (42,9)		

Примечание:  $\chi^2$  – стандартный критерий Пирсона; \* – точный тест ФишераNote:  $\chi^2$  – standard Pearson criterion; \* – Fisher exact test

Динамика изменений способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек в процессе лечения пациентов группы 1 и группы 2 имела существенные отличия. На момент начала курса ХТ нетозобразующая способность нейтрофилов не имела отличий (рис. 2). В группах 1 и 2 в первых исследовательских точках нейтрофилы в процессе стимуляции пробиотиком чаще всего формировали облаковидные НВЛ, что соотносится с данными, полученными ранее [6]. Медиана и межквартильный диапазон (Me (Q1; Q3)) облаковидных НВЛ на момент начала ХТ в группе 1 составили 27,0 (24,8; 32,0), а в группе 2 – 31,1 (30,9; 33,0) (рис. 2). Процентное отношение нитевидных НВЛ в препарате после воздействия неспецифического антигенного стимулятора на момент начала ХТ в группе 1 составило 10,1 (8,9; 14,8) и не имело статистически значимых различий с наблюдаемой долей нитевидных НВЛ в группе 2 – 9,0 (8,1; 10,9) (рис. 2). Таким образом, на момент начала ХТ в препарате нейтрофилов в обеих группах преобладали облаковидные НВЛ. Процентное отношение интактных нейтрофилов, активированных нейтрофилов, клеток раннего нетоза также не имело статистически значимых различий между группами 1 и 2 (рис 2, 3).

На момент завершения интенсивной фазы ХТ в группе 2 на фоне улучшения клинической картины наблюдалось снижение способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек (рис. 2). Доля облаковидных НВЛ статистически значимо снизилась на 39%. Кроме того, наблюдалось статистически значимое снижение процентного отношения нитевидных НВЛ на 47% ( $p=0,0179$ ) и клеток раннего нетоза на 34% ( $p=0,0179$ ) (рис. 2). Доля активированных нейтрофилов в препарате нейтрофилов в группе 2 к моменту завершения интенсивной фазы ХТ, напротив, достоверно значимо увеличивалась, что, вероятно, связано со снижением вероятности процессов перехода нейтрофилов из состояния активации в процесс формирования внеклеточной ловушки.

В группе 1 к моменту завершения интенсивной фазы ХТ наблюдалось статистически значимое увеличение доли облаковидных НВЛ в препарате нейтрофилов после воздействия неспецифического антигенного стимулятора (рис. 2), что, вероятно, объясняет неблагоприятную динамику клинических проявлений ТБ на фоне неэффективного лечения. Для облаковидных НВЛ в большей степени присущи не защитные эффекты, а повреждающие. В литературных источниках факт обнаружения облаковидных НВЛ часто соотносят с иммунопатологическими процессами и вторичным повреждением [7]. При этом процентное отношение нитевидных НВЛ, клеток раннего нетоза, активированных и интактных нейтрофилов к моменту завершения интенсивной фазы ХТ статистически значимо не изменялось (рис. 2, 3), что соотносится с неудовлетворительными результатами оценки эффективности лечения в группе 1. Вероятно, неэффективность лечения может быть связана с множеством условий, но отсутствие положительной динамики нетозобразующей способности нейтрофилов можно рассматривать не только в качестве потенциального маркера эффективности лечения, но и как по-

тенциально повреждающий фактор, способствующий прогрессированию вторичного повреждения и иммунопатологических процессов. Известно, что некоторые препараты способны непосредственно изменить реактивность нейтрофилов, в том числе и их способность формировать НВЛ, и/или способствуют ускоренной деградации НВЛ, что может снизить риск вторичного повреждения тканей в очаге воспаления [8, 9, 10, 11]. Следовательно, подбор соответствующих адъювантов химиотерапии, способных повлиять на нетозобразующую способность нейтрофила, на наш взгляд, выглядит достаточно обоснованным. Однако, для оценки эффективности применения адъювантов необходимы дополнительные исследования.

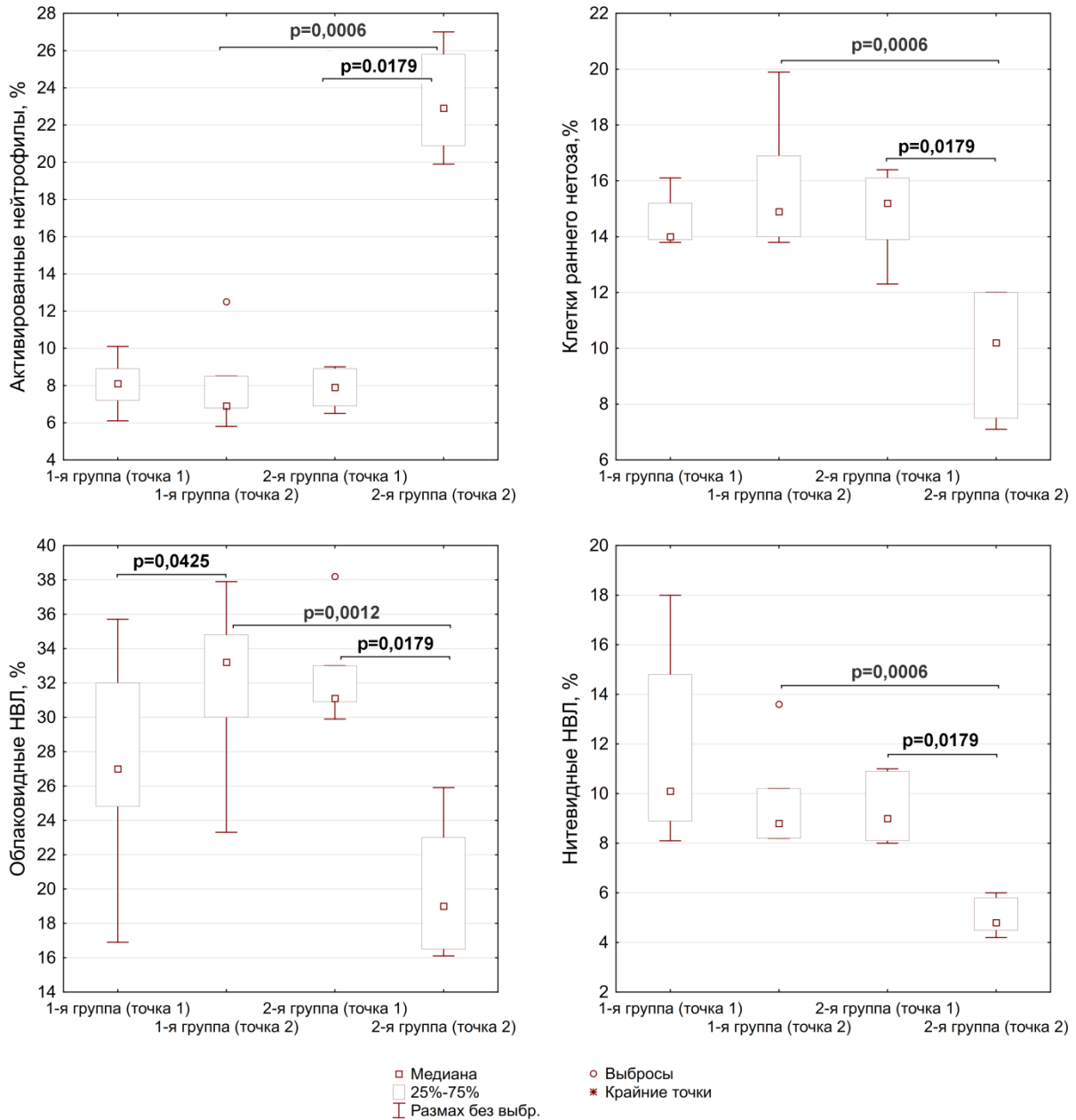


Рисунок 2. Доля активированных нейтрофилов, клеток раннего нетоза, облаковидных НВЛ и нитевидных НВЛ в препарате нейтрофилов, выделенных из крови здоровых волонтеров и больных активной формой туберкулёза, после стимуляции пробиотиком.

Figure 2. The proportion of activated neutrophils, early NET cells, cloud-like NETs and nideform NETs in a neutrophil preparation isolated from the blood of healthy volunteers and patients with active tuberculosis after stimulation with a probiotic.



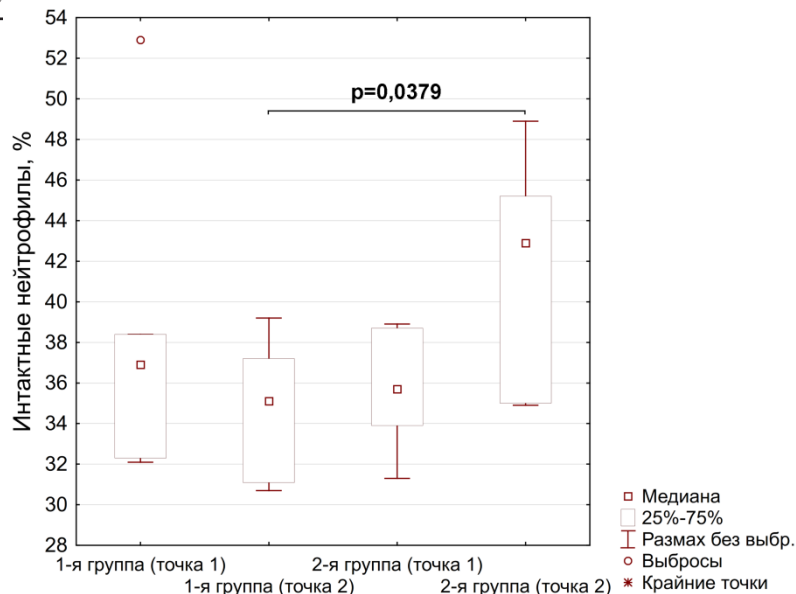


Рисунок 3. Доля интактных клеток в препарате нейтрофилов, выделенных из крови здоровых волонтеров и больных активной формой туберкулёза, после стимуляции пробиотиком.

Figure 3. The proportion of intact cells in a neutrophil preparation isolated from the blood of healthy volunteers and patients with active tuberculosis after stimulation with a probiotic.

### Заключение

Исследование показало, что исход химиотерапии может зависеть от множества факторов. Распространенный и деструктивный процесс в легких, сопровождающийся бактериовыделением, является предиктором неблагоприятного исхода впервые выявленного ТБ легких. Носительство гентоипа А\А в локусе rs1800587 гена IL1A также сопряжено с неэффективностью курса ХТ ( $p=0,003$ ), при этом гетерозиготы по этому локусу статистически значимо чаще встречались среди эффективно леченных больных ( $p=0,002$ ). Анализ локусов rs1800629 гена TNF и rs1800795 гена IL6 не показали статистически значимых различий при оценке эффективности лечения. Изменение способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек можно рассматривать в качестве потенциально полезного маркера для оценки эффективности химиотерапии. Более того, нетозобразующая способность нейтрофилов может рассматриваться в качестве потенциального маркера для оценки эффективности применения адъювантов химиотерапии, эффекты которой связаны, в том числе и с воздействием на врожденный иммунитет. Однако, для подтверждения или опровержения этой гипотезы необходимы дополнительные исследования.

*Исследование выполнено за счет средств, выделенных на выполнение Государственного задания Минздрава России на 2024 год (№056-00066-24-00 от 28.12.2023 г.) по теме НИР «Технологии пациентоориентированного ведения больных различных возрастных групп детей и взрослых с латентной туберкулёзной инфекцией, лекарственно чувствительным и лекарственно устойчивым туберкулёзом с различным индексом коморбидности на основе углубленной оценки функциональных характеристик нейтрофильных лейкоцитов и подбора адъювантов химиотерапии», №ГР 124021500060-1 от 15.02.2024 г.*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю. Экспрессионные исследования генов предрасположенности к туберкулезу. Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т. 11. – №2. – С. 209–222. <http://vestnikural.ru/10.15789/2220-7619-ESO-1289>
2. da Silva Graça Amoras E., de Moraes T.G.; et al. Association of Cytokine Gene Polymorphisms and Their Impact on Active and Latent Tuberculosis in Brazil's Amazon Region. *Biomolecules*. 2023 Oct 18, Vol. 13 (10), pp. 1541. <http://vestnikural.ru/10.3390/biom13101541>. PMID: 37892223; PMCID: PMC10605732.
3. Wang J., Jin T., Mo F.; et al. Association between IL-1 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in the Chinese Tibetan population. *Int J Clin Exp Pathol*. 2018 Nov 1, Vol. 11(11). pp. 5441-

5449. PMID: 31949628; PMCID: PMC6963021.

4. Domingo-Gonzalez R., Prince O., Cooper A.; et al. Cytokines and Chemokines in Mycobacterium tuberculosis Infection. *Microbiol Spectr.* 2016 Oct, Vol. 4 (5), pp. 10.1128/microbiolspec.TBTV2-0018-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.TBTV2-0018-2016. PMID: 27763255; PMCID: PMC5205539.

5. Патент № 2768152 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/569, G01N 33/533, G01N 33/577. Способ обнаружения нейтрофильных внеклеточных ловушек в суправитально окрашенном препарате крови : № 2021129097 : заявл. 06.10.2021 : опубл. 23.03.2022 / Д.Г. Новиков, А.Н. Золотов, Н.А. Кириченко, А.В. Мордык ; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 20 с. : ил.

6. Мордык А.В., Золотов А.Н., Новиков Д.Г. и др. Нетозформирующая способность нейтрофилов у пациентов с ограниченным и распространенным туберкулезным процессом. *Туберкулез и болезни легких.* – 2023. – Т. 101. – №3. – С. 78-86. DOI:10.58838/2075-1230-2023-101-3-78-86.

7. Yousefi S, Simon HU. NETosis - Does It Really Represent Nature's "Suicide Bomber"? *Front Immunol.* 2016 Aug 26, no. 7, p. 328. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00328

8. Bystrzycka W., Moskalik A., Siczewska S.; et al. The effect of clindamycin and amoxicillin on neutrophil extracellular trap (NET) release. *Cent Eur J Immunol.* 2016, Vol. 41 (1), pp. 1-5. DOI: 10.5114/cej.2016.58811

9. Moonen C.G., Buurma K.G., Faruque M.R.; et al. Periodontal therapy increases neutrophil extracellular trap degradation. *Innate Immun.* 2020, Vol. 26 (5), pp. 331-340. DOI: 10.1177/1753425919889392

10. Xie T., Duan Z., Sun S.; et al.  $\beta$ -Lactams modulate neutrophil extracellular traps formation mediated by mTOR signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021, no. 534, pp. 408-414. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.11.067

11. Duan Z, Xie T, Chu C, et al. De-escalation antibiotic therapy alleviates organ injury through modulation of NETs formation during sepsis. *Cell Death Discov.* 2021, Vol. 7(1), pp. 345. DOI: 10.1038/s41420-021-00745-0

#### Авторы

Самсонов Кирилл Юрьевич

ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

Доцент кафедры фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней

pablo-1911@mail.ru

ORCID 0000-0001-7029-812X

Мордык Анна Владимировна

ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

Доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней

amordik@mail.ru

ORCID 0000-0001-6196-7256

Ароян Анна Робертовна

БУЗОО Клинический противотуберкулезный диспансер, Омск, Российская Федерация

Заведующая отделением легочного туберкулеза №1

anna.aroyan@yandex.ru;

ORCID 0000-0002-3719-2240

Новиков Дмитрий Георгиевич

ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ДПО

novikov.dm.omsk@gmail.com

ORCID ID: 0000-0002-4339-2222

Золотов Александр Николаевич  
ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация  
Кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии  
azolotov@mail.ru  
ORCID ID: 0000-0002-6775-323X

Батищева Татьяна Леонидовна  
БУЗОО Клинический противотуберкулезный диспансер, Омск, Российская Федерация  
Кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по медицинской части  
tbatishcheva@mail.ru  
ORCID 0000-0002-2002-9172

Иванова Ольга Георгиевна  
ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация  
Доктор медицинских наук, профессор кафедры фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней  
olga-ivanova1969@mail.ru  
ORCID 0000-0003-0208-3017

*K. Yu. Samsonov<sup>1</sup>, A. V. Mordyk<sup>1</sup>, A. R. Aroyan<sup>2</sup>, A. N. Zolotov<sup>1</sup>,  
D. G. Novikov<sup>1</sup>, T. L. Batishcheva<sup>2</sup>, O. G. Ivanova<sup>1</sup>*

## RELATIONSHIP BETWEEN THE CARRIER OF POLYMORPHIC ALLELES OF IL1A, TNFA, IL6 GENES AND THE EFFECTIVENESS OF CHEMOTHERAPY FOR NEWLY DIAGNOSED PULMONARY TUBERCULOSIS WITH ADDITIONAL EVALUATION OF THE NETOSIS-FORMING CAPACITY OF NEUTROPHILS

<sup>1</sup>Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russian Federation;

<sup>2</sup>Clinical Anti-Tuberculosis Dispensary, Omsk, Russian Federation

**Abstract.** Tuberculosis continues to be one of the top 10 causes of death worldwide. For a long time, studies have been conducted to find a connection between the development of active forms of tuberculosis and mutations in the genes encoding the expression of cytokines. *The aim of the study:* to assess the association of IL-1A (rs1800587), TNFA (rs1800629), IL6 (rs1800795) gene polymorphism with the effectiveness of treatment for newly diagnosed pulmonary TB, assessed according to a standard protocol with an additional study of neutrophil reactivity in the context of their ability to NET. *Materials and methods.* The study included 184 patients with an active tuberculous process who were treated in the inpatient setting of the BUZOO "KPTD". Patients were divided into groups depending on the effectiveness of therapy. Group 1 – therapy is ineffective, group 2 – effective. *Results.* The carriage of the AA genotype in the rs1800587 locus of the IL1A gene is also associated with the ineffectiveness of the chemotherapy course ( $p=0.003$ ), while heterozygotes for this locus were statistically significantly more common among effectively treated patients ( $p=0.002$ ). Analysis of the loci rs1800629 of the TNF gene and rs1800795 of the IL6 gene showed no statistically significant differences in assessing the effectiveness of treatment. As a pilot study, the NET-forming ability of neutrophils was determined in 12 subjects from each group. At the time of completion of the intensive phase of chemotherapy, against the background of an improvement in the clinical picture (group 2), a decrease in the ability of neutrophils to form extracellular traps was observed. In group 1, by the time of completion of the intensive phase of chemotherapy, a statistically significant increase in the proportion of cloud-like NET was observed.

**Keywords:** pulmonary tuberculosis; gene polymorphism; interleukins; treatment efficacy, NET

There is no conflict of interest.

Contact information for the corresponding author:

Anna V. Mordyk  
amordik@mail.ru

Received: 29.09.2024

For citation: Samsonov K.Yu., Mordyk A.V., Aroyan A.R., Zolotov A.N., Novikov D.G., Batishcheva T.L., Ivanova O.G. Relationship between the carrier of polymorphic alleles of IL1A, TNFA, IL6 genes and the effectiveness of chemotherapy for newly diagnosed pulmonary tuberculosis with additional evaluation of the netosis-forming capacity of neutrophils. [Online] *Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki.* = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 5, pp. 586-598. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-586-598 (In Russ)

## REFERENCES

1. Babushkina N.P., Bragina E.Yu. Expression studies of genes predisposing to tuberculosis. *Infektsiya i immunitet.* 2021, Vol. 11, no 2, pp. 209–222. (In Russ.).DOI: 10.15789/2220-7619-ESO-1289
2. da Silva Graça Amoras E., de Moraes T.G.; et al. Association of Cytokine Gene Polymorphisms and Their Impact on Active and Latent Tuberculosis in Brazil's Amazon Region. *Biomolecules.* 2023 Oct 18, Vol. 13 (10), pp. 1541. <http://vestnikural.ru/>: 10.3390/biom13101541. PMID: 37892223; PMCID: PMC10605732
3. Wang J., Jin T., Mo F.; et al. Association between IL-1 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in the Chinese Tibetan population. *Int J Clin Exp Pathol.* 2018 Nov 1, Vol. 11(11). pp. 5441-5449. PMID: 31949628; PMCID: PMC6963021.
4. Domingo-Gonzalez R., Prince O., Cooper A.; et al. Cytokines and Chemokines in Mycobacterium tuberculosis Infection. *Microbiol Spectr.* 2016 Oct, Vol. 4 (5), pp. 10.1128/microbiolspec.TB2-0018-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.TB2-0018-2016. PMID: 27763255; PMCID: PMC5205539.
5. Novikov D.G., Zolotov A.N., Kirichenko N.A., Mordyk A.V. Patent No 2768152 C1 Russian Federation, IPC G01N 33/569, G01N 33/533, G01N 33/577. Method for detection of neutrophil extracellular traps in supravital stained blood preparation. : No. 2021129097 : pending 06.10.2021 : published 23.03.2022 / ; Applicant Omsk State Medical University. – 20 p. : fig. – Text : direct. (In Russ.).
6. Mordyk A.V., Zolotov A.N., Novikov D.G. i dr. Non-forming ability of neutrophils in patients with limited and widespread tuberculosis process.. *Tuberkulez i bolezni legkikh.* 2023, Vol. 101, no. № 3, pp. 78-86. (In Russ.).
7. Yousefi S, Simon HU. NETosis - Does It Really Represent Nature's "Suicide Bomber"? *Front Immunol.* 2016 Aug 26, no. 7, p. 328. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00328
8. Bystrzycka W., Moskalik A., Siczewska S.; et al. The effect of clindamycin and amoxicillin on neutrophil extracellular trap (NET) release. *Cent Eur J Immunol.* 2016, Vol. 41 (1), pp. 1-5. DOI: 10.5114/cej.2016.58811
9. Moonen C.G., Buurma K.G., Faruque M.R.; et al. Periodontal therapy increases neutrophil extracellular trap degradation. *Innate Immun.* 2020, Vol. 26 (5), pp. 331-340. DOI: 10.1177/1753425919889392
10. Xie T., Duan Z., Sun S.; et al.  $\beta$ -Lactams modulate neutrophil extracellular traps formation mediated by mTOR signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021, no. 534, pp. 408-414. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.11.067
11. Duan Z, Xie T, Chu C, et al. De-escalation antibiotic therapy alleviates organ injury through modulation of NETs formation during sepsis. *Cell Death Discov.* 2021, Vol. 7(1), pp. 345. DOI: 10.1038/s41420-021-00745-0

## Authors

Kirill Yu. Samsonov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Associate Professor of the Department of Phthiology, Pulmonology and Infectious Diseases

pablo-1911@mail.ru

ORCID 0000-0001-7029-812X

Omsk, Russian Federation

Anna V. Mordyk

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Phthiology, Pulmonology and Infectious Diseases

amordik@mail.ru;

ORCID 0000-0001-6196-7256

Omsk, Russian Federation

Anna R. Aroyan

Clinical Anti-Tuberculosis Dispensary of the Omsk Region

Head of the Department of Pulmonary Tuberculosis No. 1

anna.aroyan@yandex.ru

ORCID 0000-0002-3719-2240

Omsk, Russian Federation

Dmitry G. Novikov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

PhD, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics of DPO, Head of the Central Research Laboratory

novikov.dm.omsk@gmail.com

ORCID ID: 000-0002-4339-2222

Omsk, Russian Federation

Alexander N. Zolotov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

PhD, Senior Researcher Central Research Laboratory, Associate Professor Department of Pathophysiology

azolotov@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-6775-323X

Omsk, Russian Federation

Tatyana L. Batishcheva

Clinical Anti-Tuberculosis Dispensary of the Omsk Region

Candidate of medical sciences, deputy chief physician for medical affairs

tbatishcheva@mail.ru

ORCID 0000-0002-2002-9172

Omsk, Russian Federation

Olga G. Ivanova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Phthiology, Pulmonology and Infectious Diseases

olga-ivanova1969@mail.ru

ORCID 0000-0003-0208-3017

Omsk, Russian Federation