

УДК 616.981.21/.958.7

DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-61-69>

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ГЕНАХ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И МАННОЗОСВЯЗЫВАЮЩЕГО ЛЕКТИНА С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

© ^{1,2}Е. И. Кулабухова, ¹К. О. Миронов, ¹Е. А. Дунаева, ¹Д. Е. Киреев, ³А. Н. Наркевич, ²В. Н. Зими́на, ¹А. В. Кравченко¹Центральный Научно-исследовательский институт Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия²Российский университет дружбы народов, Москва, Россия³Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

Целью исследования явился анализ ассоциации полиморфизма генов Toll-подобных рецепторов и маннозосвязывающего лектина с развитием туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией для рассмотрения возможности применения генетических маркеров как способа оптимизации химиопрофилактики туберкулеза у данной категории больных. *Материалы и методы:* в исследовании принял участие 171 человек: 85 человек в группе ВИЧ, 86 человек в группе ВИЧ/ТБ. В исследование были включены генетические полиморфизмы rs4986790 гена TLR4, rs5743708 гена TLR2, а также rs5030737, rs1800450 и rs1800451 гена MBL2. Определение аллелей генетических полиморфизмов проводилось методом ПЦР в режиме реального времени и с помощью пиросеквенирования. Выявление эпидемиологических факторов риска проводилось при сборе эпидемиологического анамнеза. Иммуный статус оценивался по уровню CD4+-лимфоцитов, данные о котором были получены при ретроспективном анализе медицинской документации. *Результаты:* при расчете отношения шансов, статистически значимая ассоциация с развитием туберкулеза выявлена для генотипа AG гена TLR4, rs4986790 (ОШ=5,2; 95% ДИ 1,8–14,6; p=0,002). При многофакторном анализе контакт с бактериовыделителем (ОШ=5,2; 95% ДИ 1,4–18,5; p=0,012) и пребывание в учреждениях ФСИН (ОШ=5,2; 95% ДИ 1,5–17,7; p=0,009) увеличивали риск развития туберкулеза в 5,2 раза, наличие показателя CD4+-лимфоцитов более 200 кл/мкл (ОШ=0,2; 95% ДИ 0,1–0,5; p=0,001) оказывало протективное действие и снижало риск развития туберкулеза в 5 раз. Генотип AG гена TLR4, rs4986790 увеличивал риск развития туберкулеза в 3,7 раза (ОШ=3,7; 95% ДИ 1,1–13,1; p=0,046). *Заключение.* Полученные данные свидетельствуют, что аллель G гена TLR4 (rs4986790) может рассматриваться как самостоятельный фактор риска развития туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией, необходимо подтверждение полученных результатов в исследованиях на больших выборках пациентов.

Ключевые слова: коинфекция ВИЧ/ТБ, химиопрофилактика туберкулеза, генетические маркеры, Toll-подобные рецепторы, маннозосвязывающий лектин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Кулабухова Е.И., Миронов К.О., Дунаева Е.А., Киреев Д.Е., Наркевич А.Н., Зими́на В.Н., Кравченко А.В. Ассоциация полиморфизмов в генах Toll-подобных рецепторов и маннозосвязывающего лектина с риском развития туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2019. № 4. С. 61–69. DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-61-69>.

Контакт: Кулабухова Екатерина Игоревна, ekulabukhova@mail.ru

THE ASSOCIATION BETWEEN GENETIC POLYMORPHISMS OF TOLL-LIKE RECEPTORS AND MANNANOSE-BINDING LECTIN AND ACTIVE TUBERCULOSIS IN HIV-INFECTED PATIENTS

© ^{1,2}Ekaterina I. Kulabukhova, ¹Konstantin O. Mironov, ¹Elena A. Dunaeva, ¹Dmitrij E. Kireev, ³Artem N. Narkevich,²Vera N. Zimina, ¹Aleksey V. Kravchenko¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia²Peoples' friend ship University of Russia, Moscow, Russia³Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia

Objectives: to analyze the association between genetic polymorphisms of Toll-like receptors (TLR) and mannose-binding lectin (MBL) and active tuberculosis in HIV-infected patients to consider the possibility of using genetic markers as a way to

personalize the chemoprophylaxis of tuberculosis in this category of patients. *Materials and methods:* The study enrolled 171 patients (85 HIV-infected, 86 HIV/TB co-infected patients). Single nucleotide polymorphisms (SNP) in the TLR4 (rs4986790), TLR2 (rs5743708) and MBL2 (rs5030737, rs1800450, rs1800451) were genotyped by real-time PCR and pyrosequencing. Data about epidemiological risk factors were obtained from epidemiological anamnesis. Immune status was assessed by the level of CD4+ T-cells count. *Results:* Statistically significant association with active tuberculosis was identified for the genotype AG of TLR4, rs4986790 (OR=5.2; 95% CI: 1.8–14.6, p=0.002). Multivariate analysis shows that close contact with TB patient and status of ex-prisoner increased the risk of active tuberculosis 5.2 times (OR=5.2; 95% CI: 1.4–18.5, p=0.012 and OR=5.2; 95% CI: 1.5–17.7, p=0.009, respectively); CD4+ T-cell count more than 200 cells/mm³ exerted protective effect and reduced the risk of developing TB 5 times (OR=0.2; 95% CI: 0.1–0.5, p=0.001). The genotype AG of TLR4, rs4986790 increased the risk of active tuberculosis 3.7 times (OR=3.7; 95% CI: 1.1–13.1, p=0.046). *Conclusion.* The G allele of TLR4, rs4986790 can be considered as an independent risk factor for active tuberculosis in HIV-infected individuals. These results need to be confirmed by further investigations on large samples.

Key words: HIV/TB coinfection, chemoprophylaxis of tuberculosis, genetic markers, toll-like receptors, mannose-binding lectin

Conflict of interest: the authors stated that there is no potential conflict of interest.

For citation: Kulabukhova E.I., Mironov K.O., Dunaeva E.A., Kireev D.E., Narkevich A.N., Zimina V.N., Kravchenko A.V. The association between genetic polymorphisms of Toll-like receptors and mannose-binding lectin and active tuberculosis in HIV-infected patients // *HIV infection and immunosuppression*. 2019. No. 4. pp. 61–69, DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2019-11-4-61-69>.

Contact: Kulabukhova Ekaterina Igorevna, ekulabukhova@mail.ru

Введение. По данным Всемирной организации здравоохранения, в странах с высоким бременем ежегодное число новых случаев туберкулеза составляет 150–300 на 100 000 населения [1]. Во всем мире туберкулез по-прежнему является наиболее частой причиной смерти среди лиц, умерших на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, несмотря на успехи применения и увеличение доступа к антиретровирусной терапии: в 2016 г. туберкулез стал причиной около 400 000 смертей среди людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), что составляет треть всех летальных исходов в мире, связанных с ВИЧ-инфекцией [2]. В Российской Федерации проблема коинфекции ВИЧ/ТБ с каждым годом приобретает всё большее значение: заболеваемость пациентов сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции с 2009 г. по 2016 г. возросла на 74% [3]. В этих условиях важным направлением работы фтизиатрической службы является химиопрофилактика туберкулеза (ХП). Однако среди пациентов с ВИЧ-инфекцией наблюдается низкая приверженность ХП: рекомендованный курс лечения завершают менее половины пациентов [4, 5], что обусловлено рядом причин, в том числе необходимостью получать ХП на фоне регулярного приема антиретровирусной терапии (АРВТ). Кроме того, в связи с успешным применением АРВТ продолжительность жизни ЛЖВ на данный момент аналогична таковой в общей популяции [6], в связи с чем увеличивается риск лекарственных взаимодей-

ствий между АРВТ, препаратами, применяемыми для ХП туберкулеза, и другими средствами, назначаемыми пациентам на длительный период в связи с необходимостью лечения хронических заболеваний. В таких случаях особенно важно иметь дополнительную информацию о факторах риска развития ТБ для принятия решений о необходимости ХП в клинической практике и обеспечить персонализированный подход к ведению пациента, которого можно достичь, учитывая генетические особенности. Известно, что у ЛЖВ вероятность заболеть активным туберкулезом в 21 раз больше по сравнению с общей популяцией [1], во многом это обусловлено снижением уровня CD4+-лимфоцитов, постепенно развивающимся на фоне естественного течения ВИЧ-инфекции. Однако на развитие активного ТБ у пациентов с ВИЧ влияют и другие механизмы иммунной защиты, эффективность которых, в частности, зависит от полиморфизма генов, кодирующих основные факторы иммунитета, принимающие участие в предотвращении размножения *Mycobacterium tuberculosis*. Так, белок DC-SIGN, является поверхностным рецептором дендритных клеток, распознающим специфические углеводы на поверхности *Mycobacterium tuberculosis*. Показано, что снижение продукции этого белка, связанное с мутацией в гене CD209, ассоциируется с повышенным риском развития туберкулеза у пациентов с ВИЧ [7]. Мутации в гене VDR, регулирующем продукцию

витамина D3, по данным ряда исследований также влияют на риск развития ТБ у ЛЖВ в связи с тем, что витамин D3 индуцирует синтез антимикробного пептида кателицидина, препятствующего размножению *Mycobacterium tuberculosis* в макрофагах [8].

На данный момент в качестве генетических маркеров в иммуногенетических исследованиях широко используются однонуклеотидные полиморфизмы (SNP, single nucleotide polymorphism) — замены в геноме с частотой редкого аллеля не менее 1%. Вся информация о генетических полиморфизмах объединена в международные базы данных, где каждому SNP присвоен свой номер — rs-обозначение (reference SNP). В последние годы было накоплено большое количество информации о значении различных однонуклеотидных полиморфизмов, ассоциированных с туберкулезом легких, однако влияние SNP на развитие туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией изучено мало. Одними из наиболее исследованных полиморфизмов у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ТБ являются мутации в генах, кодирующих Toll-подобные рецепторы и маннозосвязывающий лектин.

Toll-подобные рецепторы (TLR) различных типов, которых на данный момент насчитывается десять, экспрессируются на плазматических и эндосомальных мембранах клеток иммунной системы человека и относятся к семейству поверхностных молекул, для которых лигандами являются специфические участки внешней оболочки бактерий и вирусов [9]. TLR 2-го и 4-го типов распознают микобактериальные структуры и являются мощным индуктором активации макрофагов, запуская иммунный ответ на внедрение микобактериальной инфекции [10]. При исследовании полиморфизма Toll-подобных рецепторов у больных с коинфекцией ВИЧ/ТБ было показано, что у гомозигот по аллелю G гена TLR4 (rs4986790) риск развития туберкулеза увеличен в 2,5–5,5 раза [11, 12].

Маннозосвязывающий лектин (MBL, Mannose-binding lectin) является фактором врожденного иммунитета, распознает маннозу на поверхности антигенов, одновременно обеспечивая опсонизацию и активацию системы комплемента по лектиновому пути [13], способствуя последующему фагоцитозу патогенов, в том числе *M. tuberculosis* [14]. При этом в нескольких исследованиях, проведенных в Восточной Европе и Индии среди пациентов с ВИЧ, было показано, что снижение продукции маннозосвязывающего лектина в связи с мутациями в гене MBL2 ассоциируется с пониженным риском

развития ТБ. Предполагается, что пониженный уровень MBL является селективным защитным механизмом при внедрении внутриклеточных патогенов, в том числе *Mycobacterium tuberculosis*, так как при этом блокируется путь активации комплемента через опсонизацию, который внутриклеточные микроорганизмы используют для проникновения и размножения в клетках организма хозяина [15].

В российской популяции у пациентов с ВИЧ-инфекцией роль генетических полиморфизмов в развитии туберкулеза изучена мало. Кроме того, большинство исследований генетических маркеров у пациентов с ВИЧ проводилось без учета предикторов развития ТБ, что не позволяет на данный момент определить роль генетического фактора в прогнозировании риска развития туберкулеза.

Цель исследования: анализ ассоциации полиморфизма генов Toll-подобных рецепторов и маннозосвязывающего лектина с развитием туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией, с учетом эпидемиологических факторов и степени иммуносупрессии, а также определение частоты встречаемости вариантных аллелей, для рассмотрения возможности применения генетических маркеров как способа оптимизации химиопрофилактики туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Материалы и методы. Пациенты, включенные в исследование. Исследование было проведено по типу случай-контроль, в него были включены 171 человек: 85 пациентов в группе с моноинфекцией ВИЧ, 86 пациентов с коинфекцией ВИЧ/ТБ. Среди пациентов с туберкулезом, 83 человека имели туберкулез органов дыхания, из них у 24 пациентов (29%) был диагностирован генерализованный туберкулез с вовлечением других органов, у 3 человек был диагностирован туберкулез периферических лимфатических узлов. Группы ВИЧ и ВИЧ/ТБ были сопоставимы по полу и возрасту: в группе ВИЧ соотношение мужчин и женщин составило 65 и 35% соответственно, в группе ВИЧ/ТБ 67 и 33%; в обеих группах преобладали пациенты в возрасте 30–39 лет (65 и 66% соответственно).

При сборе эпидемиологического анамнеза были получены данные о контакте с больным туберкулезом и пребывании в учреждениях ФСИН.

Степень иммуносупрессии оценивалась по количеству CD4+ -лимфоцитов. Уровень CD4+ -лимфоцитов регистрировался по данным ретроспективного анализа медицинской документации. В группу ВИЧ/ТБ были включены пациенты с наличием информации о количестве CD4+ -лимфоцитов

в интервале от 6 месяцев перед установлением диагноза «туберкулез» до 1 месяца после установления диагноза «туберкулез». У пациентов в группе ВИЧ фиксировался минимальный уровень CD4+-лимфоцитов по совокупности всех результатов обследования на иммунный статус, проводимого после постановки диагноза ВИЧ-инфекции, при этом минимальный период последующего наблюдения после включения в исследование составлял один год. В течение периода последующего наблюдения ни у одного из пациентов группы ВИЧ не развился активный туберкулез.

Большинство пациентов (94% — 160 человек) не получали антиретровирусную терапию на момент фиксации уровня CD4+-лимфоцитов.

В исследование были включены пациенты, не получавшие химиопрофилактику туберкулеза.

Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, все пациенты, включенные в исследование, ознакомились с содержанием исследования и подписали информированное согласие.

Выбор генетических полиморфизмов. Отбор генов-кандидатов для включения в исследование проводился после анализа литературы и международных баз данных, содержащих информацию об ассоциации генетических полиморфизмов и заболеваний: база данных Национального центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information), база данных по геномике общественного здравоохранения Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC Public Health Genomics Knowledge Base).

Поскольку наличие любой из трех замен приводит к одинаковому результату — экспрессии нестабильного и функционально дефектного MBL, аллели «D», «B» и «C» часто рассматривают в совокупности, обозначая как генотип «O», при этом дикий генотип обозначают как «A» [11].

Определение аллелей генетических полиморфизмов. Для генетического анализа у пациентов проводился однократный забор крови. Выделение ДНК проводилось из лейкоцитов периферической крови с использованием реагента «Гемолитик» и набора «РИБО-преп» («Ампли Сенси», Россия).

Определение аллелей генетических полиморфизмов проводилось методом ПЦР в режиме реального времени и с помощью пиросеквенирования («Pyro Mark Q24», «Qiagen», Германия). Условия постановки ПЦР были аналогичны «Методике 2», описанной в публикации Э. В. Аксельрод и соавт. [16]. Специфичность дифференциации аллелей методом ПЦР в режиме реального времени на этапе разработки подтверждалась с помощью системы генетического анализа «PyroMark Q24». Пиросеквенирование осуществлялось согласно инструкции к набору реагентов «АмплиСенс Пироскрин» производства ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора [17].

Пример сиквенса фрагмента гена MBL2, содержащего полиморфизм 154C>T, представлен на рис. 1 (секвенирование проводилось в обратном направлении).

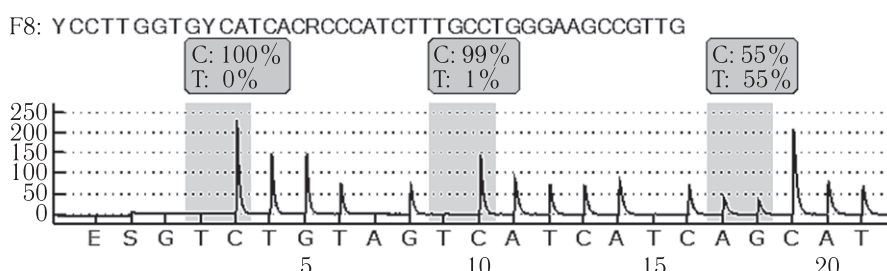


Рисунок. Пример выявления гетерозиготы по полиморфизму rs5030737 (154C>T); полиморфизмы rs1800450 (G161A) и rs1800451 (G170A) обнаружены в гомозиготном состоянии (дикий тип)

Figure. An example of the identification of heterozygotes by polymorphism rs5030737 (154C>T); polymorphisms rs1800450 (G161A) and rs1800451 (G170A) were found in a homozygous state (wild type)

Для анализа были выбраны однонуклеотидные полиморфизмы rs4986790 (A896G) гена TLR4, rs5743708 (G2258A) гена TLR2, а также однонуклеотидные полиморфизмы гена MBL2: rs5030737 (C154T), rs1800450 (G161A), rs1800451 (G170A). Указанные нуклеотидные замены, соответствующие нефункциональному белку, также обозначаются «D», «B» и «C» соответственно.

Статистическая обработка данных. Для оценки соответствия распределения частот исследуемых генотипов закону Харди–Вайнберга, а также оценки различий между группами по качественным признакам использовался критерий χ^2 Пирсона.

Для оценки факторов риска, ассоциирующихся с развитием активного ТБ, проводился расчет отношения шансов и 95% ДИ, множественная логисти-

ческая регрессия использовалась для оценки влияния совокупности факторов. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics v. 19.

Результаты и их обсуждение. Частоты аллелей, полученные в данном исследовании, соответствовали частотам в европеоидной популяции (табл. 1).

тием туберкулеза сохранила свою статистическую значимость.

Контакт с больным туберкулезом в группе ВИЧ имели 7% (6 человек) опрошенных пациентов, в группе ВИЧ/ТБ — 31% (27 человек). Опыт пребывания в учреждениях ФСИН имели 7% (6 человек) опрошенных пациентов, в группе ВИЧ/ТБ — 35%

Таблица 1. Характеристика SNP, включенных в исследование

Table 1. Characteristics of the SNP included in the study

Ген	Полиморфизм	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Частота аллеля в европеоидной популяции, %	Частота аллеля в исследуемой популяции, %	p-value
MBL2	rs5030737	154C>T	Arg52Cys	7,6	6	0,338
	rs1800450	161G>A	Gly54Asp	14,6	13	0,521
	rs1800451	170G>A	Gly57Glu	1,8	1	0,535
TLR2	rs5743708	2258G>A	Arg753Gln	2,6	3	0,790
TLR4	rs4986790	896A>G	Asp299Gly	5,4	8	0,108

* Частоты аллелей в общей популяции приведены по данным базы Exome Aggregation Consortium (выборка до 60702 человек) <http://exac.broadinstitute.org>.

Fn. * Allele frequencies in the general population are given according to the database Exome Aggregation Consortium (sample up to 60702 people)

Распределение частот всех исследуемых генотипов соответствовало закону Харди–Вайнберга (табл. 2).

При расчете отношения шансов статистически значимая ассоциация с развитием активного тубер-

(30 человек). Средний срок пребывания в учреждениях ФСИН в группе ВИЧ и группе ВИЧ/ТБ составил $2,0 \pm 0,67$ и $4,5 \pm 0,79$ года соответственно.

В зависимости от уровня CD4+ -лимфоцитов пациенты были разделены на группы 0–99 кл/мкл,

Таблица 2. Распределение частот исследуемых генотипов и их соответствие равновесию Харди–Вайнберга в группах ВИЧ и ВИЧ/ТБ

Table 2. Frequency distribution of the studied genotypes and their correspondence to the Hardy–Weinberg equilibrium in the HIV and HIV/TB groups

Ген	Генотип	Частота генотипа (ВИЧ, n=84)	ХВ p	ХВ χ^2	Частота генотипа (ВИЧ/ТБ, n=81)	ХВ p	ХВ χ^2
MBL2 154C>T (rs5030737)	CC	88% (74)	0,6	0,9	89% (75)	0,86	0,3
	CT	11% (9)			11% (9)		
	TT	1% (1)			0		
MBL 161G>A (rs1800450)	GG	75% (63)	0,99	0,02	74% (60)	0,33	2,2
	GA	23% (19)			26% (21)		
	AA	2% (2)			0		
MBL 170G>A (rs1800451)	GG	99% (83)	0,99	0,03	98% (79)	0,99	0,01
	GA	1% (1)			2% (2)		
	AA	0			0		
TLR4 299 A>G (rs4986790)	AA	93% (78)	0,09	4,8	75% (61)	0,36	2,04
	AG	6% (5)			25% (20)		
	GG	1% (1)			0		
TLR2 2258 G>A (rs5743708)	GG	94% (79)	0,95	0,1	93% (74)	0,94	0,13
	GA	6% (5)			7% (6)		
	AA	0			0		

кулеза была получена для генотипа AG гена TLR4, rs4986790 (см. табл. 2). С учетом поправки Бонферрони для множественных сравнений, ассоциация генотипа AG гена TLR4, rs4986790 с разви-

100–199 кл/мкл, 200 кл/мкл и более. Далее для каждого из исследуемых показателей был произведен расчет отношения шансов (табл. 3). Статистически значимая ассоциация с развитием

Таблица 3. Результаты расчета отношения шансов (ОШ) для исследуемых SNP

Table 3. Results of calculation of odds ratio (OSH) for the studied SNP

Ген	Rs	Генотип	ВИЧ	ВИЧ/ТБ	p	ОШ; 95% ДИ
MBL2	rs5030737	СТ	11% (9)	11% (9)	0,935	1,0 [0,391; 2,772]
	rs5030737	ТТ	1% (1)	0	—	—
	rs1800450	GA	23% (19)	26% (21)	0,620	1,2 [0,587; 2,443]
	rs1800450	AA	2% (2)	0	—	—
	rs1800451	GA	12% (1)	3% (2)	0,548	2,1 [0,187; 23,634]
	rs1800451	AA	0	0	—	—
	—	A/O*	29	32	0,531	1,2 [1,000; 1,500]
TLR4	—	O/O	3	0	—	—
	rs4986790	AG	6% (5)	25% (20)	0,002	5,2 [1,840; 14,588]
TLR2	rs4986790	GG	1% (1)	0	—	—
	rs5743708	GA	6% (5)	7% (6)	0,708	1,3 [0,370; 4,316]
	rs5743708	AA	0	0	—	—

* Показатели 29 и 32 получены в результате сложения количества гетерозиготных генотипов rs5030737, rs1800450 и rs1800451, в группах ВИЧ и ВИЧ/ТБ.

Fn. * The numbers 29 and 32 were obtained by adding up the number of heterozygous genotypes of rs5030737, rs1800450 and rs1800451 in the groups of HIV and HIV / TB.

активного туберкулеза была получена для следующих факторов: контакт с больным туберкулезом: ОШ=6,0; 95% ДИ 2,4–15,5; $p<0,001$, пребывание в учреждениях ФСИН: ОШ=7,1; 95% ДИ 2,75–18,08; $p<0,001$, уровень CD4+-лимфоцитов 0–99 кл/мкл: ОШ=2,3; 95% ДИ 1,05–5,09; $p=0,040$, уровень CD4+-лимфоцитов более 200 кл/мкл: ОШ=0,2; 95% ДИ 0,11–0,46; $p<0,001$.

Для оценки комплексного влияния генетического полиморфизма и других факторов на развитие был проведен многофакторный анализ с помощью множественной логистической регрессии. В результате анализа было показано, что эпидемиологические факторы и уровень CD4+-лимфоцитов более

Генотип AG гена TLR4, rs4986790 также сохранил свое влияние в присутствии других факторов, увеличивая риск развития туберкулеза в 3,7 раза (ОШ=3,7; 95% ДИ 1,1–13,1; $p=0,046$).

Для большинства инфекций респираторного тракта характерны большая частота развития и более тяжелое течение при снижении продукции или образовании функционально нестабильного белка MBL [18]. Однако в том, что касается туберкулеза, роль белка MBL не так однозначна. В ряде исследований было показано, что мутации в гене MBL2 оказывают разное влияние, в зависимости от возраста и наличия коинфекции: взрослые ВИЧ-инфицированные пациенты с генотипом A/O, подразумевающим снижение

Таблица 4. Результаты расчета отношения шансов для исследуемых факторов риска

Table 4. Results of calculation of odds ratio (OSH) for the studied risk factors

Параметр	ВИЧ	ВИЧ/ТБ	p	ОШ; 95% ДИ
Контакт с больным туберкулезом	7% (6)	31% (27)	<0,001	6,0 [2,43; 15,53]
Пребывание в УФСИН	7% (6)	35% (30)	<0,001	7,1 [2,75; 18,08]
CD4+-лимфоциты 0–99 кл/мкл	17% (14)	32% (26)	0,040	2,3 [1,05; 5,09]
CD4+-лимфоциты 100–199 кл/мкл	23% (19)	32% (26)	0,200	1,6 [0,77; 3,39]
CD4+-лимфоциты 200 кл/мкл и более	79% (66)	45% (37)	<0,001	0,2 [0,11; 0,46]

200 кл/мкл в равной степени влияли на развитие ТБ. При этом контакт с больным туберкулезом (ОШ=5,2; 95% ДИ 1,4–18,5; $p=0,012$) и пребывание в учреждениях ФСИН (ОШ=5,2; 95% ДИ 1,5–17,7; $p=0,009$) увеличивали риск развития туберкулеза в 5,2 раза, а наличие показателя CD4+-лимфоцитов более 200 кл/мкл (ОШ=0,2; 95% ДИ 0,1–0,5; $p=0,001$) оказывало протективный эффект и снижало риск развития ТБ в 5 раз.

продукции и функциональной активности MBL, меньше подвержены развитию активного туберкулеза по сравнению с генотипами A/A и O/O [18–20]. В нескольких исследованиях было показано, что гомозиготы по вариантному аллелю rs1800451, также подразумевающему снижение уровня MBL, достоверно реже заболевают туберкулезом [18]. Механизм протективной роли низкого уровня MBL в развитии ТБ на данный момент до конца не ясен;

существует предположение о том, что снижение продукции MBL является эволюционным механизмом, сформировавшимся для защиты от внутриклеточных патогенов, так как препятствует их проникновению в клетку и развитию незавершенного фагоцитоза [15]. В нашем исследовании не было выявлено достоверной ассоциации между наличием вариантов аллелей гена MBL2 с развитием активного туберкулеза, что может быть связано с небольшим объемом выборки. Поскольку и маннозосвязывающий лектин, и Toll-подобные рецепторы принимают участие в патогенезе ВИЧ-инфекции [21–23], влияние полиморфизма кодирующих их генов на развитие туберкулеза у пациентов с коинфекцией может отличаться от такового у ВИЧ-негативных пациентов. Так, наличие аллелей А гена TLR2 (rs5743708) в исследованной нами когорте пациентов не было ассоциировано с развитием активного туберкулеза, несмотря на то, что у ВИЧ-негативных лиц этот полиморфизм хорошо изучен и доказана ассоциация указанного аллеля с развитием ТБ [24].

При исследовании полиморфизма Toll-подобных рецепторов у больных с коинфекцией ВИЧ/ТБ, проведенном в России с участием 120 человек, у 11 из которых был диагностирован туберкулез, показано, что у гомозигот по аллелю G гена TLR4 (rs4986790) риск развития туберкулеза увеличен в 5,5 раз [11]. Полученные российскими авторами данные соответствуют результатам другого более крупного исследования, проведенного в Испании с участием 468 ВИЧ-положительных пациентов, у 59 из которых был диагностирован активный ТБ: при многофакторном анализе, с учетом других факторов риска развития ТБ, была показана независимая достоверная ассоциация наличия аллеля G гена TLR4 (rs4986790) с развитием туберкулеза [12], что соответствует полученным нами результатам. Следует отметить, что наличие аллеля G (rs4986790) гена TLR4 в нашем исследовании оказывало независимое влияние на риск развития туберкулеза наряду с эпидемиологическими и иммунологическими факторами.

Заключение. На данный момент основанием для назначения химиопрофилактики ТБ у пациентов с ВИЧ является наличие эпидемиологических факторов риска в анамнезе, а также низкий иммунный статус (количество CD4-лимфоцитов). При этом тубер-

кулез не является истинной оппортунистической инфекцией и может развиваться при любом уровне иммунного статуса у пациентов с ВИЧ [25]. Наличие информации о генетических маркерах, достоверно влияющих на риск развития туберкулеза, позволит индивидуализировать назначение химиопрофилактики пациентам с ВИЧ-инфекцией: выявление генетических маркеров, предрасполагающих к развитию ТБ, может расширить показания к назначению химиопрофилактики у пациентов с высоким иммунным статусом. В то же время при низком иммунном статусе в сложных клинических ситуациях, сопряженных с большой лекарственной нагрузкой и риском лекарственных взаимодействий у пациентов с сопутствующей патологией, наличие информации о генетических маркерах поможет определиться со сроками и очередностью назначения химиопрофилактики в схеме лечения пациента. Аллель G гена TLR4 (rs4986790) может рассматриваться как независимый фактор риска развития туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией и имеет достаточную частоту встречаемости (около 8%) в исследованной популяции, что делает его перспективным маркером для использования в клинической практике.

Ограничения в исследовании. Количество CD4-лимфоцитов является одним из ведущих факторов, влияющих на риск развития ТБ у пациентов с ВИЧ, в связи с этим мы не могли не учитывать этот показатель при многофакторном анализе. При этом набрать исключительно пациентов, у которых были бы данные о количестве CD4-лимфоцитов до постановки диагноза «туберкулез», не представлялось возможным — у большинства больных туберкулез и ВИЧ-инфекция диагностировались одновременно, или пациент обращался с клинической картиной туберкулеза и в ходе обследования ему устанавливался диагноз ВИЧ-инфекции, кроме того, развитие туберкулеза у некоторых больных может носить постепенный и малосимптомный характер. В связи с этим достоверно установить количество CD4-лимфоцитов перед развитием туберкулеза для определения влияния их количества на риск развития заболевания мы не могли, и в исследование включались пациенты, у которых был известен иммунный статус за 6 месяцев до постановки диагноза ТБ или не более чем через 1 месяц после установления диагноза.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. WHO, *Latent TB Infection: Updated and consolidated guidelines for programmatic management* [Internet]. WHO. 2018 [cited 2018, May 7]. Available from: <http://www.who.int/tb/publications/2018/latent-tuberculosis-infection/en/>.

2. WHO, *End TB strategy* [Internet]. WHO. 2015 [cited 2018, May 11] Available from: http://www.who.int/tb/End_TB_brochure.
3. Стерликов С.А. и др. ТБ/ВИЧ в Российской Федерации. Эпидемиология, особенности клинических проявлений и результаты лечения. М.: РИОЦНИИОИЗ, 2017. 52 с. [Sterlikov S.A. et al. TB/HIV in the Russian Federation. Epidemiology, Peculiarities of Clinical Manifestations, and Treatment Outcomes. Moscow: Editorial and Publishing Unit of Federal research institute for health organization and informatics of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2017, 52 p. (In Russ.).]
4. Szakaacs T.A., Wilson D., Cameron D.W. et al. Adherence with isoniazid for prevention of tuberculosis among HIV-infected adults in South Africa // *BMC Infect Dis*. 2006, Vol. 6, No. 97. DOI: 10.1186/1471-2334-6-97.
5. Li J., Munsiff S.S., Tarantino T., Dorsinville M. Adherence to treatment of latent tuberculosis infection in a clinical population in New York City // *Int. J. Infect. Dis*. 2010. Vol. 14. No. 4, pp. 292–297. doi:10.1016/j.ijid.2009.05.007.
6. Trickey A., May M.T., Vehreschild J.-J. et al. Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies // *Lancet HIV*. 2017. Vol. 4. No. 8, pp. 349–356. DOI: 10.1016/S2352-3018(17)30066-8.
7. Selvaraj P., Alagarasu K., Swaminathan S., Harishankar M., Narendran G. CD209 gene polymorphisms in South Indian HIV and HIV-TB patients // *Infect. Genet. Evol*. 2009. Vol. 9. 256e62.
8. Alagarasu K., Selvaraj P., Swaminathan S., Narendran G., Narayanan P.R. 5' Regulatory and 3' Untranslated Region Polymorphisms of Vitamin D Receptor Gene in South Indian HIV and HIV-TB Patients // *J. Clin. Immunol*. 2009. Vol. 29. P. 2196–2204. DOI: 10.1007/s10875-008-9234-z.
9. Смольникова М.В. Терещенко С.Ю. Генетические дефекты иммунного реагирования при осложненной и рецидивирующей пневмококковой инфекции у детей // *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 5. Доступно по ссылке <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26764>, дата обращения 12.05.2018 [Smolnikova M.V., Tereschenko S.Y. Genetic defects of immune response in complicated and recurrent pneumococcal infection in children, *Modern problems of science and education*, 2017, No. 5, p. 30 (In Russ.).]
10. Байке Е.Е., Богодухова Е.С. Роль полиморфизма генов Toll-подобных рецепторов в развитии туберкулеза // *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. 2015. № 2. С. 167–173. [Bayke E.E., Bogodukhova E.S. Role of gene polymorphism toll-like receptors in the development of tuberculosis, *Transbaikal Medical Bulletin*, 2015, No. 2, pp. 167–173 (In Russ.).]
11. Байке Е.Е., Богодухова Е.С. Роль генетического полиморфизма Toll-подобных рецепторов в развитии туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией // *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. 2018. № 2. С. 1–6. [Bayke E.E., Bogodukhova E.S. Role of the genetic polymorphism of Toll-like receptor in development of tuberculosis in patients HIV infection. *Transbaikal Medical Bulletin*, 2018, No 2, pp. 1–6 (In Russ.).]
12. Pulido I., Leal M., Genebat M., Pacheco Y.M., Sáez M.E., Soriano-Sarabia N. The TLR4 ASP299GLY polymorphism is a risk factor for active tuberculosis in Caucasian HIV-infected patients // *Curr. HIV Res*. 2010. Vol. 8, No. 3, pp. 253–258. DOI: ABS-66a [pii]
13. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 345с. [Haitov R.M., Pinegin B.V., Yarilin A.A. *Guidelines for Clinical Immunology. Diagnosis of diseases of the immune system*. Guidelines for physicians. Moscow: GEOTAR-Media, 2009, 345 p. (In Russ.).]
14. Areeshi M.Y., Mandal R.K., Akhter N. et al. A Meta-analysis of MBL2 Polymorphisms and Tuberculosis Risk // *Sci. Rep*. 2016. No. 6. 35728. DOI: 10.1038/srep35728.
15. Garciaaorden M., Pena M., Caminero J. et al. Influence of mannose-binding lectin on HIV infection and tuberculosis in a Western-European population // *Mol.Immunol*. 2006. Vol 43. No. 14. P. 2143–2150. DOI: 10.1016/j.molimm.2006.01.008.
16. Аксельрод Э.В., Миронов К.О., Дунаева Е.А. Шипулин Г.А. Сравнение трех молекулярно-генетических методик для определения основных мутаций в гене HFE, связанных с развитием наследственного гемохроматоза // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016. Т.61. № 5. С. 316–320. [Axelrod E.V., Mironov K.O., Dunaeva E.A., Shipulin G.A. The comparison of three molecular genetic techniques for identifying major mutations in gene HFE related to development of inherent hemochromatosis. *Clinical Laboratory Diagnostics*, 2016, Vol. 61, No. 5, pp. 316–320 (In Russ.).]
17. Миронов К.О., Дунаева Е.А., Дрибноходова О.П., Шипулин Г.А. Опыт использования систем генетического анализа на основе технологии пиросеквенирования // *Справочник заведующего КДЛ*. 2016. № 5. С. 33–43. [Mironov K.O., Dunaeva E.A., Dribniodova O.P., Shipulin G.A. Experience in the use of genetic analysis systems based on pyrosequencing technologies. *Handbook of the Director of CDL*, 2016, No. 5, pp. 33–43 (In Russ.).]
18. Терещенко С.Ю., Каспаров Э.В., Смольникова М.В., Кувшинова Е.В. Дефицит маннозсвязывающего лектина при заболеваниях респираторного тракта // *Пульмонология*. 2016. Т.26. № 6. С. 748–752. DOI: 10.18093/0869. [Tereshchenko S.Yu., Kasparov E.V., Smol'nikova M.V., Kuvshinova E.V. Mannose-binding lectin deficiency in respiratory diseases. *Pulmonology*, 2016, Vol. 26, No. 6, pp. 748–752 (In Russ.).]
19. Raghavan S., Alagarasu K., Selvaraj P. Immunogenetics of HIV and HIV associated tuberculosis. *Tuberculosis*. 2012. Vol. 92. No. 1. P. 8–30. DOI: 10.1016/j.tube.2011.08.004.
20. Alagarasu K., Selvaraj P., Swaminathan S., Raghavan S., Narendran G., Narayanan P.R. Mannose binding lectin gene variants and susceptibility to tuberculosis in HIV-1 infected patients of South India // *Tuberculosis (Edinb)*. 2007. Vol. 87. No. 6. P. 535–543. DOI: 10.1016/j.tube.2007.07.007.

21. Ji X., Gewurz H., Spear G.T. Mannose binding lectin (MBL) and HIV // *Mol. Immunol.* 2005. Vol. 42. No. 2. P. 145–152.
22. Alvarez-Carbonell D., Garcia-Mesa Y., Milne S., Das B., Dobrowolski C., Rojas R., Karn J. Toll-like receptor 3 activation selectively reverses HIV latency in microglial cells // *Retrovirology.* 2017. Vol. 14. No. 1. P. 9. doi: 10.1186/s12977-017-0335-8.
23. Nazli A., Dizzell S., Zahoor M.A., Ferreira V.H., Kafka J., Woods M.W., Ouellet M., Ashkar A.A., Tremblay M.J., Bowdish D.M., Kaushic C. Interferon- β induced in female genital epithelium by HIV-1 glycoprotein 120 via Toll-like-receptor 2 pathway acts to protect the mucosal barrier // *Cell Mol. Immunol.* 2019. Vol. 16. No. 19. P. 178–194. DOI: 10.1038/cmi.2017.168.
24. Guo X.-G., Xia Y. The rs5743708 gene polymorphism in the TLR2 gene contributes to the risk of tuberculosis disease // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015. Vol. 8. No. 9. P. 11921–11928.
25. Васильева И.А., Воронин Е.Е., Покровский В.В. и др. *Федеральные клинические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией.* М.: Российское общество фтизиатров, 2016. 42 с. [Vasilyeva I.A., Voronin E.E., Pokrovsky V.V. et al. *Federal clinical guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of tuberculosis in patients with HIV infection.* Moscow: Russian Society of Phthisiatrists, 2016. 42 p. (In Russ.)].

Поступила в редакцию / Received by the Editor: 21.03.2019 г.

Сведения об авторах:

Кулабухова Екатерина Игоревна — врач-инфекционист Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, заведующая лабораторией кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»; 105275, Москва, 8-я Улица Соколиной горы, д. 15, корп. 2; e-mail: ekulabukhova@mail.ru;

Миронов Константин Олегович — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, руководитель научной группы по разработке новых методов выявления генетических полиморфизмов Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; 11123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А; e-mail: mironov@pcr.ru;

Дунаева Елена Алексеевна — младший научный сотрудник научной группы по разработке новых методов выявления генетических полиморфизмов Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; 11123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А; e-mail: ead82@mail.ru;

Киреев Дмитрий Евгеньевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, руководитель научной группы по разработке новых методов диагностики ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора; 11123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А; e-mail: dmitry.kireev@pcr.ru;

Наркевич Артем Николаевич — кандидат медицинских наук, заведующий научно-исследовательской лабораторией медицинской кибернетики и управления в здравоохранении, доцент кафедры медицинской кибернетики и информатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; e-mail: narkevichart@gmail.com;

Зими́на Вера Николаевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»; 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6; e-mail: vera-zim@yandex.ru;

Кравченко Алексей Викторович — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела эпидемиологии и профилактики СПИД Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; 105275, Москва, 8-я ул. Соколиной горы, д. 15, корп. 2; тел. (495) 366-05-18; e-mail: kravtchenko@hivruussia.net.