

УДК 616.24-002.5-036.17

## ЗНАЧЕНИЕ ХЕМОКИНА IP-10(CXCL-10) В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА НА ПОЗДНЕЙ СТАДИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Дудченко А.В., Авербах М.М. (мл.), Карпина Н.Л.

ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва,  
e-mail: amm50@mail.ru

Проведено исследование концентрации хемокина IP-10 (CXCL-10) в сыворотке крови больных на поздней стадии ВИЧ инфекции (n = 14 чел.) и сочетания ВИЧ-инфекции на поздней стадии и различных форм туберкулеза органов дыхания (n = 21 чел.). Показана достоверно более высокая концентрация хемокина IP-10 сыворотки больных на поздней стадии ВИЧ инфекции и различных форм туберкулеза органов дыхания. Установлено, что уровень хемокина IP-10(CXCL-10) у больных на поздней стадии ВИЧ инфекции в сочетании с туберкулезом зависит от бактериовыделения. Показатель сывороточного хемокина IP-10 в подгруппе больных с бактериовыделением и без бактериовыделения составил соответственно: 2713,02 ± 498,15 pg/ml (CI ± 967,3 pg/ml) и 988,01 ± 319,28 pg/ml (CI ± 625,8 pg/ml) (P = 0,012103). Концентрации хемокина IP-10 (CXCL-10) у больных ВИЧ-инфекцией в сочетании с туберкулезом не зависят от распространенности туберкулезного процесса. Для подгруппы больных с распространенными формами туберкулеза уровень сывороточного IP-10 составил 2021,39 ± 465,9 pg/ml (CI ± 913,16 pg/ml) и для подгруппы больных с локальными формами туберкулеза – 2616,25 ± 466,7 pg/ml (CI ± 914,7 pg/ml). Определение хемокина IP-10 является дополнительным диагностическим критерием в диагностике туберкулеза у больных на поздней стадии ВИЧ-инфекции.

**Ключевые слова:** ВИЧ, туберкулез, хемокин IP-10

## IMPORTANCE OF CHEMOKINE IP-10 (CXCL-10) IN DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS AT THE LATE STAGE OF HIV INFECTION

Dudchenko A.V., Averbakh M.M. (jr.), Karpina N.L.

Central Research Institute for Tuberculosis, Moscow, e-mail: amm50@mail.ru

The concentration of chemokine IP-10 (CXCL-10) was determined in the serum of patients in the late stage of HIV infection (n = 14) and the combination of HIV infection at a late stage and various forms of respiratory tuberculosis (n = 21). A significantly higher concentration of IP-10 serum chemokine of patients at a late stage of HIV infection and various forms of tuberculosis of respiratory organs was shown. The level of chemokine IP-10 (CXCL-10) in patients with advanced HIV infection in combination with tuberculosis depends on bacterial excretion. The serum chemokine IP-10 in the subgroup of patients with bacterial excretion and without bacterial excretion was 2713.02 ± 498.15 pg / ml (CI ± 967.3 pg / ml) and 988.01 ± 319.28 pg / ml (CI ± 625.8 pg / ml) (P = 0.012103). Concentrations of IP-10 (CXCL-10) chemokine in patients with HIV infection in combination with tuberculosis does not depend on the prevalence of the tuberculosis process. For a subgroup of patients with extensive forms of tuberculosis, serum IP-10 level was 2021.39 ± 465.9 pg / ml (CI ± 913.16 pg / ml) and for a subgroup of patients with local forms of tuberculosis – 2616.25 ± 466.7 pg / ml (CI ± 914.7 pg / ml). The definition of chemokine IP-10 is an additional diagnostic criterion in the diagnosis of tuberculosis in patients at a late stage of HIV infection.

**Keywords:** HIV, tuberculosis, chemokine IP-10

Интерферон-гамма индуцибельный протеин 10 (IP-10), или CXCL10, является членом семейства СХС α-хемокинов, которые стимулируют миграцию и адгезию активированных Тх 1 клеток посредством связывания с CXCR3 рецептором [1]. IP-10 секретируется непосредственно макрофагальными клетками, инфицированными вирусами и бактериями, и еще в большей степени после того, как Т-клетки распознают специфические пептины на поверхности антиген-презентирующих клеток. Секреция IP-10 усиливается ИНФ-γ, вырабатываемым Т-хелперами 1 типа и многочисленными провоспалительными цитокинами IL-2, IFN-α, IFN-β, IL-27, IL-17, IL-23, вырабатываемыми аутокринно антиген-презентирующими клетками [1, 2].

К настоящему моменту во многих исследованиях показана диагностическая

ценность спонтанной и антиген-стимулированной продукции IP-10 для выявления латентных форм туберкулеза и мониторинга эффективности лечения туберкулеза у детско-подросткового и взрослого контингента больных [3, 4].

В исследовании M. Ruhwald и соавт. (2008) [5] на взрослом контингенте была определена точка cut-off для антиген стимулированного синтеза IP-10 в 673 пг/мл, при превышении которой реакция считалась диагностически. J. Lighter и соавт. (2009) [4] определили аналогичный показатель для детей и подростков, который составил 732 пг/мл.

Исследования по использованию этого хемокина в качестве дополнительного диагностического иммунологического критерия для диагностики туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией крайне мало-

численные. Е.В. Васильева и соавт. (2015) изучали продукцию хемокина IP-10 у больных ВИЧ-инфекцией и впервые выявленным активным туберкулезом органов дыхания, подтвержденным ростом *Mtb* на питательных средах, в сравнении с пациентами с ВИЧ-инфекцией, у которых по результатам скрининга не было выявлено признаков активного туберкулеза [6]. При использовании выбранного авторами порогового значения 1087 пг/мл для IP-10 показана чувствительность выявления туберкулезного инфицирования 67% (ДИ 50-81) и специфичность 92% (ДИ 79-98). Garcia-Basteiro A.L. et al (2017) [7] определяли уровень выработки IP-10 у больных с сочетанием ВИЧ инфекции и туберкулеза, подтвержденного бактериологическим посевом до и в течение проведения курса противо туберкулезной химиотерапии. Авторы выявили превышение выбранной ими пороговой концентрации IP-10 в 781 пг/мл у 68,5% больных ВИЧ-ТБ, не получавших антиретровирусную терапию, и у 70,5% больных, получавших терапию концентрация IP-10 превышала уровень 1081 пг/мл. Petrone L. et al (2016) [8] исследовали концентрацию IP-10 в сыворотке и моче у больных ВИЧ-инфекцией, больных активными формами туберкулеза, сочетание ВИЧ + ТБ и здоровых доноров. Уровень хемокина сыворотки был выше у больных туберкулезом и у больных сочетанием ВИЧ + ТБ, тогда как в моче его концентрация повышалась преимущественно у больных активным туберкулезом.

**Целью нашего исследования** явилось определение диагностической значимости хемокина IP-10 (CXCL-10) в сыворотке больных на поздней стадии ВИЧ-инфекции и сочетанием ВИЧ-инфекции на поздней стадии с локальными и распространенными формами туберкулеза органов дыхания.

#### **Материалы и методы исследования**

Проведено обследование 35 больных на поздней стадии ВИЧ-инфекции, находившихся на обследовании в Клинической инфекционной больнице № 2 (КИБ № 2), г. Москва, и туберкулезной больнице им. А.Е. Рабухина ДЗМ по поводу интоксикационного синдрома и впервые выявленных изменений в легких. Среди обследованных было мужчин – 23 (65,7%), женщин – 12 (34,3%). Возраст пациентов варьировал от 19 до 62 лет. Критерии включения в исследование: ВИЧ-инфицированные в возрасте 18 лет и старше, имеющие симптомы вторичных заболеваний, с впервые выявленными изменениями в легких, независимо от количества CD4+ лимфоцитов. Критерии исключения из исследования: пациенты ВИЧ-инфекцией с хроническими формами туберкулеза и рецидивами туберкулеза. При сборе анамнеза жизни и заболевания было установлено, что на момент обследования в КИБ № 2 г. Москва ВИЧ-инфекция была впервые выявлена у 13

чел. (37,1%), у 12 чел. (34,3%) ВИЧ-инфекция была выявлена более 10 лет назад, антиретровирусную терапию (АРВТ) получали только 5 чел. (14,3%).

Клинико-лабораторное обследование пациентов включало клинический и биохимический анализ крови. Для обнаружения возбудителя туберкулеза были применены микробиологические методы исследования диагностического материала (мокрота, БАЛ, спинномозговая жидкость): люминесцентная микроскопия, культуральные методы (посевы на твердые или жидкие – Versa TREK среды), молекулярно-генетическое исследование для обнаружения ДНК МБТ (ПЦР в режиме реального времени). Всем больным было проведено комплексное лучевое обследование органов грудной клетки, которое включало аналоговую рентгенографию, линейную томографию и спиральную компьютерную томографию высокого разрешения. Проводился анализ данных рентгенологического исследования и составление диагностических рядов, которое базировалось на изучении локализации изменений, установлении преимущественного поражения тех или иных отделов легких, формы, интенсивности и структуры отдельных элементов. Фибробронхоскопия с комплексом биопсий была выполнена у 18 чел. (51,4%). Исследование выполнялось эндоскопами фирмы Olympus (Япония). В комплекс биопсий входили: диагностический бронхоальвеолярный лаваж с определением эндотитогаммы и микробиологическим исследованием диагностического материала (люминесцентная микроскопия, ПЦР-исследование, культуральные методы).

В соответствии с целью исследования пациенты были разделены на 2 группы: группа – ВИЧ-инфицированные (14 чел.) и группа ВИЧ + ТБ (21 чел.) – пациенты ВИЧ инфекцией, у которых по результатам обследования был диагностирован туберкулез. У всех пациентов туберкулез был диагностирован впервые. Среди клинических форм туберкулеза органов дыхания у пациентов группы ВИЧ + ТБ преобладала диссеминированная – 16 чел. (76,2%), туберкулез внутригрудных лимфоузлов (ТВГЛ) и очаговая форма туберкулеза легких были диагностированы в единичных наблюдениях: у 4 чел. (19%) и 1 чел. (4,8%) соответственно. В зависимости от распространенности специфического поражения органов дыхания были выделены распространенные процессы (диссеминированный) и локальные процессы (ТВГЛУ и очаговый туберкулез). В группе пациентов «ВИЧ-инфекция» были диагностированы различные неспецифические заболевания органов дыхания, среди которых превалировала внебольничная пневмония – 12 чел. (85,8%). Генерализованная цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ) была выявлена у 1 чел. (7,1%) и генерализованная криптококковая инфекция у 1 чел. (7,1%).

Определение IP-10 в сыворотке проводили методом ИФА с помощью набора DuoSet Human IP-10 (CXCL-10) (R@D (Великобритания). Уровень сывороточного липоарабиноманна определяли методом ИФА с помощью тест-системы LAM ELISA kit (SunLong Biotech Co., LTD). Результаты обрабатывали статистически с помощью Microsoft Excel.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Уровень содержания IP-10 в сыворотке крови больных в группе ВИЧ + ТБ соста-

вил  $2055,88 \pm 378,6$  pg/ml (CI  $\pm 742,06$  pg/ml) и был достоверно выше, чем в группе больных с ВИЧ инфекцией –  $956,74 \pm 142,8$  pg/ml (CI  $\pm 279,9$  pg/ml;  $P = 0,013747$ ). Аналогичные различия выявлены и для показателей содержания ЛАМ в сыворотке больных этих двух групп (группа больных ВИЧ + ТБ  $14,64 \pm 3,24$  pg/ml и группа больных с ВИЧ инфекцией  $5,07 \pm 1,1$  pg/ml;  $P = 0,011868$ ) (рис. 1).

Проведен сравнительный анализ уровня сывороточного хемокина IP-10 в зависимости от распространенности туберкулезного процесса и наличия бактериовыделения. Для подгруппы с распространенными формами туберкулеза ( $n = 16$  чел.) уровень сывороточного IP-10 составил  $2021,39 \pm 465,9$  pg/ml (CI  $\pm 913,16$  pg/ml) и для подгруппы локальных форм туберкулеза ( $n = 5$  чел.) –  $2616,25 \pm 466,7$  pg/ml (CI  $\pm 914,7$  pg/ml) и не имел достоверных различий. Показатели сывороточного хемокина IP-10 в подгруппе больных с бактериовыделени-

ем (МБТ+) ( $n = 14$  чел.) были достоверно выше, чем в подгруппе больных без бактериовыделения (МБТ-) ( $n = 7$  чел.) и составили  $2713,02 \pm 498,15$  pg/ml (CI  $\pm 967,3$  pg/ml) и  $988,01 \pm 319,28$  pg/ml (CI  $\pm 625,8$  pg/ml) ( $P = 0,012103$ ). Результаты представлены на рис. 2.

Рассматривая уровень IP-10 в группе больных ВИЧ ( $956,74 \pm 142,8$  pg/ml) с учетом доверительного интервала показатель этого хемокина в сыворотке более  $1236,64$  pg/ml будет свидетельствовать в пользу наличия туберкулеза у этих больных.

Полученный нами показатель достаточно близок к таковому, выявленному в исследовании Е.В. Васильевой и соавт. (2015) [6]. Нами впервые выявлено значение влияния фактора бактериовыделения, подтвержденного культуральными методами, на показатель содержания IP-10 и отсутствие различий в уровне хемокина в зависимости от распространенности туберкулезного процесса.

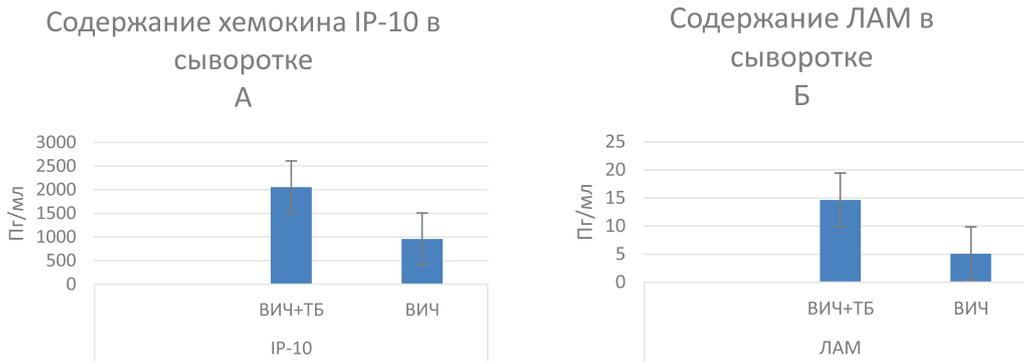


Рис. 1. Содержание хемокина IP-10 (А) и ЛАМ(Б) в сыворотке крови обследованных больных



Рис. 2. Содержание хемокина IP-10 (CXCL-10) у больных группы ВИЧ + ТБ в зависимости от факторов распространенности процесса и бактериовыделения

**Выводы**

1. Концентрация хемокина IP-10 (CXCL-10) у больных на поздней стадии ВИЧ-инфекции в сочетании с туберкулезом достоверно превышает таковую у больных ВИЧ инфекцией.

2. Уровень концентрации хемокина IP-10 (CXCL-10) у больных на поздней стадии ВИЧ-инфекции в сочетании с туберкулезом зависит от бактериовыделения. Так, показатель сывороточного хемокина IP-10 в подгруппе больных с бактериовыделением и без бактериовыделения составил соответственно:  $2713,02 \pm 498,15$  pg/ml (CI  $\pm 967,3$  pg/ml) и  $988,01 \pm 319,28$  pg/ml (CI  $\pm 625,8$  pg/ml) ( $P = 0,012103$ ).

3. Уровень концентрации хемокина IP-10 (CXCL-10) у больных ВИЧ-инфекцией в сочетании с туберкулезом не зависит от распространенности туберкулезного процесса. Для подгруппы больных с распространенными формами туберкулеза уровень сывороточного IP-10 составил  $2021,39 \pm 465,9$  pg/ml (CI  $\pm 913,16$  pg/ml) и для подгруппы больных с локальными формами туберкулеза –  $2616,25 \pm 466,7$  pg/ml (CI  $\pm 914,7$  pg/ml).

**Список литературы**

1. Groom J.R., Luster A.D. CXCR3 ligands: redundant, collaborative and antagonistic functions // *Immunol Cell Biol.* – 2011. – V. 89. – P. 207–205.
2. Farber J.M. Mig and IP-10: CXC chemokines that target lymphocytes // *J. Leukoc Biol.* – 1997. – V. 61. – P. 246–257.
3. Alsleben N., Ruhwald M., Rüssmann H., Marx F.M., Wahn U., Magdorf K. Interferon-gamma inducible protein 10 as a biomarker for active tuberculosis and latent tuberculosis infection in children: A case – control study // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases.* – 2012. – V. 44. – P. 256–262.
4. Lighter J., Rigaud M., Huie M., Peng C-H., Pollack H. Chemokine IP-10: an adjunct marker for latent tuberculosis infection in children // *Int J. Tuberc Lung Dis.* – 2009. – V.13. – P. 731–736.
5. Ruhwald M., Bodmer T., Maier C., Jepsen M., Haaland M.B., Eugen-Olsen J., Ravn P. Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as biomarkers for the diagnosis of tuberculosis // *Eur Respir J.* – 2008. – V.32. – P.1607–1615.
6. Васильева Е.В., Пантелеев А.М., Вербов В.Н., Тотолян А.А. Значение квантиферонового теста и IP-10 в диагностике туберкулеза у пациентов с ВИЧ-инфекцией // *Медицинская иммунология (Иммунология туберкулеза, специальный выпуск).* – 2015. – Т. 17. – С. 131–132.
7. Garcia-Basteiro A.L., Mambuque E., den Hertog A., Saavedra B., Cuamba I., Oliveras L., Blanco S., Bulo H., Brew J., Cuevas L.E., Cobelens F., Nhabomba A., Anthony R. IP-10 Kinetics in the First Week of Therapy are Strongly Associated with Bacteriological Confirmation of Tuberculosis Diagnosis in HIV Infected Patients // *ScieNTific Reports.* – 2017. | 7: 14302 | DOI:10.1038/s41598-017-13785-3.
8. Petrone L., Cannas A., Vanini V., Cuzzi G., Aloï F., Nsubuga M., Sserunkuma J., Nazziwa R.A., Jugheli L., Lukindo T., Girardi E., Antinori A., Pucci L., Reither K., Goletti D. Blood and urine inducible protein 10 as potential markers of disease activity // *Int J Tuberc Lung Dis.* – 2016. – V.20. – P. 1554–1561.