

Įvairių veiksnių įtaka skreplių pasėlio konversijai gydant daugeliui vaistų atsparią tuberkuliozę

INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS ON SPUTUM CULTURE CONVERSION IN THE TREATMENT OF MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

GRETA MUSTEIKIENĖ¹, ASTRA VITKAUSKIENĖ², MARIUS ŽEMAITIS¹, SKAIDRIUS MILIAUSKAS¹

¹ LSMU MA Pulmonologijos klinika, ² LSMU MA Laboratorinės medicinos klinika

Santrauka. Įvadas. Iki šiol nėra aišku, nuo kokių veiksnių gali priklausyti skreplių pasėlio konversija gydant daugeliui vaistų atsparią tuberkuliozę (DVA-TB). Taip pat nėra ir visuotinai priimto vieno biožymens, kuris leistų anksti numatyti tuberkuliozės (TB) gydymo baigtis. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti įvairių veiksnių įtaką skreplių pasėlio konversijai gydant DVA-TB. **Tyrimo metodai.** Prospektyvusis dvejus metus trukęs tyrimas, kuriame dalyvavo pacientai, kuriems pirmą kartą gyvenime nustatyta plaučių TB ir patvirtinta DVA-TB. Tyrimo metu vertinta galimų TB biožymenų (C reaktyviojo baltymo (CRB), tirpios tarpplūstelinės adhezijos molekulės – 1 (sICAM-1), tirpaus urokinazės tipo plazminogeno aktyvatoriaus receptoriaus (suPAR) koncentracijos, nespecifinių T limfocitų subpopuliacijų dydžiai periferiniame kraujyje, pacientų socialiniai veiksniai, galintys turėti įtakos skreplių pasėlio konversijai. **Rezultatai.** Skreplių pasėlio konversijos neįvykimo rizika po pirmo gydymo mėnesio buvo 48 kartus didesnė alkoholi vartojantiems asmenims, lyginant su alkoholio nevartojančiais. Kitų socialinių veiksnių, biožymenų koncentracijų, nespecifinių T limfocitų subpopuliacijų dydžių įtakos skreplių pasėlio konversijai nebuvo nustatyta. **Išvados.** Skreplių pasėlio konversijos dažniui, esant DVA-TB, didelę įtaką turi alkoholio vartojimo įpročiai.

Reikšminiai žodžiai: skreplių pasėlio konversija, daugeliui vaistų atspari tuberkuliozė, CRB, sICAM-1, suPAR.

Summary. Introduction. It is still unclear what factors may influence sputum culture conversion in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Also, there is still no single accepted biomarker that could be used to predict tuberculosis (TB) treatment results at an early stage of the treatment. **Aim of the study.** To evaluate the influence of various factors on sputum culture conversion during treatment of MDR-TB. **Methods.** A prospective, two-year study with MDR-TB patients who were diagnosed with TB for the first time in their lifetime. Concentrations of possible TB biomarkers (C-reactive protein (CRB), soluble intercellular adhesion molecule – 1 (sICAM-1), soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR)), non-specific T lymphocyte subpopulations in the peripheral blood and social factors of the TB patients were evaluated. **Results.** The risk of sputum culture non-conversion after the first month of MDR-TB treatment was 48-fold higher in alcohol users. The influence of other social factors, biomarker concentrations, and non-specific T lymphocyte subpopulations on sputum culture conversion was not observed. **Conclusions.** Alcohol consumption is a major risk factor for sputum culture non-conversion in MDR-TB patients.

Keywords: sputum culture conversion, multidrug-resistant tuberculosis, CRP, sICAM-1, suPAR.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.966>

ĮVADAS

Pasaulyje tuberkuliozė (TB) yra viena iš dešimties dažniausių mirties priežasčių, sukiamų vieno infekcijos sukėlėjo [1]. Vien 2020 m. šia liga užsikrėtė apie 10 milijonų žmonių, nuo jos mirė – 1,5 milijono [1].

Remiantis Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) rekomendacijomis, siekiama išgydyti bent 85 proc. naujų bakteriologiškai patvirtintų plaučių TB atvejų [2]. Įprastai vaistams jautri TB sėkmingai išgydoma per 6 mėn., tačiau, nustačius atsparumą rifampicinui, vienam veiksmingiausių vaistų nuo TB – gydymo trukmė žymiai ilgėja, o pasveikimo tikimybė mažėja. Daugeliui vaistų atspari TB (DVA-TB) – atspari mažiausiai dviem

vaistams nuo TB: izoniazidui ir rifampicinui. Nepaisant ilgos DVA-TB gydymo trukmės, tik 57 proc. pacientų pasaulyje pavyksta sėkmingai išgydyti [3]. Lietuvoje sėkmingai išgydoma dar mažiau – 2018–2020 m. duomenimis, 43,1 proc. [4].

Siekiant užkirsti kelią TB plitimui populiacijoje, svarbu nustatyti sergančiuosius TB, kurių skrepliuose randama tuberkuliozės mikobakterijų (TM). Šie žmonės yra epidemiologiškai pavojingi aplinkiniams. Priklausomai nuo atskirų valstybių įstatymų ir gydymo rekomendacijų, pacientai, kurių skrepliuose randama TM, gali būti izoliuojami. Lietuvoje šie pacientai dažniausiai hospitalizuojami ir gydomi ligoninėje.

Remiantis Lietuvoje galiojančiomis rekomendacijomis, rekomenduojama skreplių pasėlius dėl TM kartoti po 2 mėn. gydymo, vertinant skreplių pasėlio konversiją. Skreplių pasėlio konversija laikoma situacija, kai dviejuose iš eilės skreplių pasėliuose su 30 dienų pertrauka nebeaptinkamos TM, kai pasėlyje prieš tai jos buvo aptiktos. Iki šiol nėra visiškai aišku, nuo kokių veiksnių gali priklausyti skreplių pasėlio konversija. Lietuvoje tyrimų šia tema iki šiol nepavyko rasti. Taip pat radome tik keletą pasaulyje publikuotų tyrimų, vertinančių skreplių pasėlio konversiją lemiančius veiksnius DVA-TB atveju.

Iki šiol nėra ir visuotinai priimto biožymens, kuris leistų anksti numatyti TB gydymo baigtis. Tai būtų didelis pasiekimas vykdant veiksmingą TB kontrolę, klinikinius naujų prieštuberkuliozinių vaistų tyrimus, o atskiro paciento atveju tai leistų spręsti, ar galima sutrumpinti gydymo laiką ir anksti įtarti gydymo nesėkmę. Kaip galimai susijusius su skreplių pasėlio konversija, tyrėme C reaktyvųjų baltymą (CRB), tirpią tarpląstelinės adhezijos molekulę – 1 (angl. *soluble intercellular adhesion molecule 1*, sICAM-1); aprašoma, kad sICAM-1 gali būti naudingas biožymuo vertinant TB gydymo veiksmingumą [5, 6]), tirpų urokinazės tipo plazminogeno aktyvatoriaus receptorių (angl. *soluble urokinase-type plasminogen activator receptor*, suPAR; suPAR koncentracijos didėjimas ligos metu susietas su blogesne ligos prognoze [7–9]), nespecifinių T limfocitų subpopuliacijas. Ir šie, ir daugelis kitų tyrinėjamų biožymenų nėra specifiški TB ir jų praktinė nauda nėra pakankamai aiški, nors yra tyrimų, kuriuose skelbiama, kad jie gali būti informatyvūs vertinant TB išplitimą ir prognozuojant gydymo baigtis [10].

TYRIMO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Tyrimo tikslas – įvertinti socialinių, laboratorinių ir kitų veiksnių galimą įtaką skreplių pasėlio konversijai gydant DVA-TB. Suformuluoti tyrimo uždaviniai:

Nustatyti ir įvertinti skreplių pasėlio konversijos sąsajas su socialiniais veiksniais, kūno masės indeksu (KMI), albumino ir vitamino D koncentracijomis kraujyje, sergant DVA-TB.

Nustatyti ir įvertinti sergančiųjų DVA-TB uždegimo žymenų (CRB, sICAM-1, suPAR) koncentracijų kraujyje ir skreplių pasėlio konversijos sąsajas.

Nustatyti ir įvertinti nespecifinių T limfocitų subpopuliacijų kraujo plazmoje sąsajas su skreplių pasėlio konversija.

TYRIMO METODAI

Tyrimo dalyvauti kviešti visi pacientai, kurie buvo hospitalizuoti į Romainių TB ligoninę nuo 2016 m. balandžio iki 2018 m. balandžio mėn., kuriems skreplių mikroskopijos tyrimu įtarta arba skreplių pasėlio tyrimu pirmą kartą gyvenime patvirtinta plaučių TB.

Į tyrimą nebuvo įtraukiamos nėščios arba krūtimi maitinančios moterys, autoimuninėmis ligomis sergantys asmenys, taip pat asmenys, kuriems penkerių metų laikotarpyje buvo diagnozuota onkologinė liga ir sergantys kitomis psichikos ir (arba) vidaus organų ligomis arba būklėmis, kurios galėtų paveikti imuninių žymenų koncentracijas arba, tyrėjo nuomone, gali būti neįtraukimo kriterijus.

Tiriamųjų imtis – 113 pacientų. Šiame straipsnyje pateikiami duomenys tik apie pacientus, kuriems buvo patvirtinta DVA-TB. Pacientų amžius DVA-TB grupėje buvo nuo 19 iki 77 metų. Vidurkis – 43 metai.

Tyrimo eiga:

1. Prieš pradėdant gydymą, patikslinta paciento anamnezė ir tirti socialiniai veiksniai (pilietybė, gyvenamoji vieta, šeiminė padėtis, išsilavinimas, esamas užsiėmimas (dirbantis, bedarbis, pensininkas, mokinys), lytis, amžius, narkotikų, alkoholio vartojimas anamnezėje, rūkymo statusas), paimtas kraujas iš periferinės venos CRB, albumino, vitamino D, suPAR, sICAM-1 nustatymui bei periferinių T limfocitų imunofenotipinei charakteristikai tėkmės citometrijos metodu nustatyti. Alkoholio vartojimo vertinimas pateiktas remiantis ligos istorijose ir TB registracijos formose nurodoma alkoholio vartojimo klasifikacija. Skrepliai sėti į skystą mitybinę terpę bakteriologiniam TB patvirtinimui ir atsparumo vaistams nustatymui.
2. Praėjus mėnesiui po gydymo pradžios, kartota skreplių mikroskopija dėl rūgščiai atsparių bakterijų (RAB), skreplių pasėlis dėl TM, paimta kraujo iš periferinės venos CRB, suPAR, sICAM-1 ištyrimui.
3. Praėjus 2 mėn. po gydymo pradžios kartotas skreplių pasėlis, kad būtų įvertinta, ar įvyko skreplių pasėlio konversija.
4. Praėjus 5 mėn. po gydymo pradžios, kartota skreplių mikroskopija dėl RAB ir pasėlis dėl TM, paimta kraujo CRB, suPAR, sICAM-1 nustatymui bei periferinių T limfocitų imunofenotipinei charakteristikai.

Laboratoriniai tyrimai buvo atliekami Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Laboratorinės medicinos klinikos laboratorijoje. SuPAR ir sICAM-1 koncentracijoms nustatyti buvo naudojamas ELISA (angl. *enzyme linked immunosorbent assay*, imunofermeninė analizė) metodas. Tiriant limfocitus tėkmės citometrijos metodu, buvo taikyta tiesioginio dažymo metodika su ląstelių lizavimu ir plovimu (angl. *stain lyse wash*). Veninio kraujo mėginiai buvo inkubuojami su fluorochromais žymėjais monokloniniais antikūnais prieš žmogaus ląstelių antigenus: CD3 (CD – angl. *cluster of differentiation*) (FITC, klonas UCHT1), CD4

Moksliniai darbai ir apžvalgos

(PE-Cy^{TM7}, klonas SK3), CD8 (APC-Cy^{TM7}, klonas SK1), CD45RA (PerCP-Cy^{TM5.5}, klonas HI100), CD27 (APC, klonas M-T271), CD38 (PE, klonas HIT2). Mėginiai analizuoti naudojant *FACS Canto* tėkmės citometrą (*BD Immunocytometry Systems Biosciences*, JAV). Duomenų analizei naudota *FACSDiva* programinė įranga (*Becton Dickinson*, JAV). T limfocitų populiacija buvo identifikuota ir jos santykinis dydis apskaičiuotas remiantis morfologinių savybių – ląstelių dydžio ir struktūriškumo, nustatytą pagal priekinę ir šoninę sklaidą – deriniu su CD3 raiška. Limfocitų subpopuliacijų santykiniai dydžiai nustatyti vertinant subpopuliacijai specifinių žymenų raišką, nurodant limfocitų subpopuliacijos dydį procentais nuo T limfocitų populiacijos skaičiaus. Analizės metu vertintos šios subpopuliacijos: CD4+CD45RA+CD27+ (naivūs T limfocitai); CD4+CD45RA-CD27+ (atminties T limfocitai); CD4+CD45RA+CD27-; CD4+CD45RA-CD27- (atminties, efektoriniai T limfocitai); CD8+CD45RA+CD27+ (naivūs T limfocitai); CD8+CD45RA-CD27+ (atminties T limfocitai); CD8+CD45RA+CD27- (citotoksiniai efektoriniai T limfocitai); CD8+CD45RA-CD27- (atminties, efektoriniai T limfocitai); CD8+CD38+CD3+ (aktyvuoti supresoriai, citotoksiniai T limfocitai); CD8+CD38-CD3+. Absoliutūs T limfocitų ir jų subpopuliacijų skaičiai apskaičiuoti naudojant bendrą limfocitų skaičių, nustatytą automatinė hematologine sistema *Sysmex XE-5000* (*Sysmex Corporation*, Japonija), bei santykinę (procentinę) reikšmę, nustatytą tėkmės citometrijos metodu. Atsparumas vaistams nuo TB buvo nustatomas fenotipiniais metodais.

Naudoti aprašomosios ir analitinės statistikos metodai. Duomenų normalumas buvo vertintas taikant Kolmogorovo ir Smirnov testą. Normalųjų skirstinių tenkinantys duomenys pateikiami kaip vidurkis ir standartinė vidurkio paklaida, normaliojo skirstinio netenkinantys – kaip mediana ir interkvartilinis intervalas. Kategoriniai kintamieji buvo lyginti taikant Pearson chi kvadrato (χ^2) testą, tolydieji kintamieji – naudojant Mann-Whitney U testą. Koreliacijoms įvertinti – Spearman ranginės koreliacijos koeficientas. Dvireikšmė logistinė regresija naudota su dichotominiais kintamaisiais. Kai dvireikšmės logistinės regresijos metu vertinti tolydieji kintamieji, jie perkoduoti į dviejų reikšmių kintamąjį, medianą naudojant kaip ribą tarp dviejų reikšmių. Rezultatai laikyti statistiškai reikšmingais, kai statis-

tinis patikimumas (p) buvo < 0,05. Statistinė analizė atlikta naudojant *SPSS v.23.0 Statistical Package for the Social Sciences* (Čikaga, JAV).

REZULTATAI

DVA-TB grupę sudarė 31 pacientas (28,7 proc. iš visų tirtų pacientų). Stigo duomenų apie trijų pacientų pasėlio konversiją (netinkamai paimtas arba nepaimtas skreplių ėminys). Iš tirtų pacientų, skreplių pasėlio konversija po 1 mėn. gydymo įvyko 11 (39,3 proc.) pacientų, neįvyko – 17 (60,7 proc.).

Visi tirti pacientai buvo Lietuvos piliečiai, imigrantų iš kitų šalių nebuvo, visi neigė narkotikų vartojimą, tik vienas pacientas neturėjo nuolatinės gyvenamosios vietos, todėl šių veiksnių įtakos skreplių pasėlio konversijai ištirti nepavyko. Kitų tirtų veiksnių skirtumai tarp DVA-TB konversijos grupių, kuomet įvyko ir neįvyko konversija, pateikiami 1 lentelėje.

Statistiškai reikšmingai skyrėsi tik alkoholio vartojimo įpročiai abiejose konversijos grupėse. Atlikus dvireikšmės logistinės regresijos analizę, nustatyta, kad reikšmingą ryšį su skreplių pasėlio konversija turėjo tik

1 lentelė. Pacientų socialiniai ir kiti veiksniai (kūno masės indeksas, albumino ir vitamino D koncentracijos) skirtingose skreplių pasėlio konversijos grupėse, gydant daugeliui vaistų atsparią tuberkuliozę

Veiksnys	Įvykusios konversijos grupė, N=11	Neįvykusios konversijos grupė, N=17	p reikšmė
Lytis, n (proc.):			
Vyrai	6 (54,5)	10 (58,8)	SN
Moterys	5 (45,4)	7 (41,2)	
Amžius metais, mediana [IQR]	56 [20–60]	43 [32,5–52]	SN
Gyvenamoji vieta, n (proc.):			
Miestas	8 (72,7)	8 (47)	SN
Kaimas	2 (18,2)	9 (53)	
Šeimtinė padėtis, n (proc.):			
Vienišas	3 (27,3)	10 (58,8)	SN
Su šeima, partneriu	8 (72,7)	7 (41,2)	
Darbas, n (proc.):			
Dirba, mokosi	7 (63,6)	6 (35,3)	SN
Bedarbis, pensininkas	4 (36,4)	11 (64,7)	
Išsilavinimas, n (proc.):			
Vidurinis arba žemesnis	5 (45,5)	12 (70,6)	SN
Aukštesnysis arba aukštasis	6 (54,5)	5 (29,4)	
Alkoholio vartojimas, n (proc.):			
2–3 k. per savaitę ir dažniau	1 (9,1)	6 (35,3)	0,004
Rečiau nei 2–3 k./sav.	3 (27,3)	10 (58,8)	
Nevartoja	7 (63,6)	1 (5,9)	
Pakmečiai, m., mediana [IQR]	2,5 [0,5–2,3]	10 [3,5–25,5]	SN
KMI (kg/m²), mediana [IQR]	22,26 [19,2–25,5]	21,97 [20,3–23,6]	SN
Albumino koncentracija kraujyje, g/l, mediana [IQR]	40 [39,5–41,5]	40 [37–40]	SN
Vitamino D koncentracija, nmol/l, mediana [IQR]	35,5 [19,3–60,5]	47,9 [26,3–62]	SN

p reikšmė pateikiama pagal Pearson chi kvadrato (χ^2) testą. IQR – interkvartilinis plotis; KMI – kūno masės indeksas; N – tiriamųjų skaičius; SN – statistiškai nereikšminga.

tai, ar pacientas buvo vartojantis alkoholi, ar ne. Pacientams, kurie hospitalizacijos metu teigė, kad vartojo alkoholi, buvo mažesnė tikimybė po pirmo mėnesio gydymo nustatyti skreplių pasėlio konversiją (reliatyvi rizika – 48, 95 proc. pasikliautinasis intervalas – 2,4–985,24, $p = 0,01$).

Taip pat siekėme įvertinti, ar CRB, sICAM-1, suPAR koncentracijos, išmatuotos prieš pradedant gydymą, turi sąsają su skreplių pasėlio konversija. Vertinta skreplių pasėlio konversija po 1 ir po 5 mėn. gydymo. Pradiniai uždegiminių žymenų koncentracijų skirtumai įvykusios ir neįvykusios skreplių pasėlio konversijos (po pirmo mėnesio gydymo) grupėse pateikiami 2 lentelėje.

Atliekant dvireikšmę logistinę regresiją, nenustatyta, kad CRB arba sICAM-1, arba suPAR koncentracijų kiekybiniai įverčiai, prieš pradedant gydymą nuo TB, turėtų statistiškai reikšmingos sąsajos su skreplių pasėlio konversija po pirmo TB mėnesio gydymo. Po 5 mėn. konversija neįvyko tik dviem pacientams, todėl statistinių skaičiavimų atlikti nepavyko.

Tiriant T limfocitų subpopuliacijų sąsajas su skreplių pasėlio konversija, vertintos šios TM nespecifinių limfocitų subpopuliacijos: CD4+/CD45RA+/CD27+; CD4+/CD45RA-/CD27+; CD4+/CD45RA+/CD27-; CD4+/CD45RA-/CD27-; CD8+/CD45RA+/CD27+; CD8+/CD45RA-/CD27+; CD8+/CD45RA+/CD27-; CD8+/CD45RA-/CD27-; CD8+/CD38+/CD3+; CD8+/CD38-/CD3+, taip pat absoliutūs T limfocitų skaičius, CD4+, CD8+, CD3+ limfocitai. Jų skirtumai įvertinti tarp skirtingų konversijos grupių, tačiau reikšmingų T limfocitų subpopuliacijų skirtumų tarp DVA-TB konversijos grupių po pirmo mėnesio gydymo nerasta.

REZULTATŲ APTARIMAS

Tarp visų mūsų tirtų pacientų DVA-TB nustatyta 28,7 proc. Tai yra reikšmingai daugiau nei bendra Lietuvoje nurodoma DVA-TB dalis tarp naujų TB atvejų (11,7 proc. – pagal 2018 m. Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro pateikiamus duomenis [11]). Nors Romainių TB ligoninės pacientai turėtų būti tinkama imtis, gerai atspindinti situaciją tarp Kauno regiono pacientų, reikia atsižvelgti į tai, kad tyrime nedalyvavo pacientai, turintys neįtraukimo kriterijų, tokių kaip žmogaus imunodeficito viruso (ŽIV) infekcija arba kitos gretutinės ligos.

Įprastai remiantis galiojančiomis rekomendacijomis, skreplių pasėlio konversiją TB sergantiems pacientams rekomenduojama vertinti po 2 mėnesių gydymo. Tarp DVA-TB pacientų skreplių pasėlio konversija po 2 mėn. yra reikšmingai susijusi su gydymo baigtimi

2 lentelė. Pradinės uždegiminių žymenų koncentracijos įvykusios ir neįvykusios skreplių pasėlio konversijos grupėse, vertinant konversiją po pirmo mėnesio gydymo

	Įvykusios konversijos grupė	Neįvykusios konversijos grupė	p reikšmė
CRB koncentracija prieš gydymą, mg/ml, mediana [IQR]	4,84 [1,67–12,97]	11,63 [3,69–39,64]	SN
sICAM-1 koncentracija prieš gydymą, mg/ml, mediana [IQR]	70,37 [30,05–94,46]	101,12 [43,49–101,12]	SN
suPAR koncentracija prieš gydymą, mg/ml, mediana [IQR]	1676,6 [1254,25–1849,87]	2144,33 [1875,15–2616,58]	SN

p reikšmė apskaičiuota pagal Mann-Whitney U testą. CRB – C reaktyvusis baltymas; IQR – interkvartilinis plotis; sICAM-1 – tirpios tarpląstelinės adhezijos molekulės; SN – statistiškai nereikšminga; suPAR – tirpūs urokinazės tipo plazminogeno aktyvatoriaus receptoriai.

[12]. Tačiau ilgas laikotarpis, izoliuojantis ligoninėje, gali turėti didelės įtakos paciento asmeniniam ir profesiniam gyvenimui [13], todėl pasirinkome skreplių pasėlio konversiją vertinti po pirmo mėnesio TB gydymo, ją patvirtinant paėmus dar vieną skreplių pasėlį po 2 mėnesių gydymo. Skreplių konversijos vertinimą po pirmo mėnesio TB gydymo renkasi ir kai kurie kiti tyrimų autoriai [95, 296, 297].

Lietuvos TB registro duomenimis, 2020 m. tarp visų TB sergančių pacientų 27,8 proc. piktnaudžiavo alkoholiu, 65,3 proc. buvo rūkantys. Žinoma, kad alkoholio vartojimas [14] ir tabako rūkymas yra svarbūs TB rizikos veiksniai [15]. Kai kuriuose tyrimuose rūkymas susietas su pertekliniu sisteminiu uždegiminiu atsaku, sunkesne TB eiga ir mirtimi [16, 17], lėtesne mikroskopine ir pasėlio konversija, pradėjus TB gydymą [15]. Nors, kaip publikuota mūsų tyrimo [18] su vaistams jautria plaučių TB sergančiais pacientais, rūkantieji daugiau kaip 20 pakmečių turėjo didesnę riziką nepatirti skreplių pasėlio konversijos po pirmo mėnesio gydymo, tokių duomenų, tiriant pacientus su DVA-TB, negavome. Anksčiau mūsų publikuotame tyrime [18] alkoholio vartojimo įtakos konversijos įvykimui nenustatėme tarp jautrios vaistams TB pacientų, tačiau alkoholio vartojimo įpročių įtaka skreplių pasėlio konversijai nustatyta tarp DVA-TB pacientų. Kitų tyrėjų duomenimis, pacientams, gausiai vartojantiems alkoholi, nustatoma lėtesnė pasėlio konversija [19], didesnė gydymo nesėkmės ir mirties tikimybė [20]. Manoma, kad tai susiję ir su tuo, kad alkoholi vartojantys pacientai yra labiau linkę nesilaikyti TB gydymo režimo [21], nors mūsų tyrimo pacientai pirmus gydymo mėnesius praleido ligoninėje, esant užtikrintam tiesiogiai stebimam gydymui, todėl ši priežastis negalėtų visiškai paaiškinti alkoholio vartojimo įtakos jų skreplių pasėlio konversijai. Taip pat aprašyta, kad alkoholis slopina baktericidinę makrofagų funkciją [22], mažina dendritinių ląstelių [23] ir neutrofilų kiekį

Moksliniai darbai ir apžvalgos

[24] organizme, moduliuoja T limfocitų funkciją [23], taigi, galimai alkoholio įtaka skreplių pasėlio konversijai susijusi ir su sukeliama imunosupresija. Taip pat reikėtų apsvarstyti ir amžiaus, lyties skirtumus tarp įvykusios ir neįvykusios konversijos grupių. Apskritai, vertinant mūsų tyrime tirtus veiksnius, svarbu atkreipti dėmesį, kad tyrimas atliktas lignoninėje, kur vykdomas tiesiogiai stebimas kontroliuojamas gydymas (kitur TB gydymas dažnai skiriamas ambulatoriškai [25–27]), o tai gali turėti reikšmę vertinant aprašytų veiksmų įtaką skreplių pasėlio konversijai. Kaip pavyzdį pateikiant alkoholio vartojimą, lignoninėje gydomas pacientas turi gerokai mažiau galimybių tęsti alkoholio vartojimą, taip pat nesuvaldyti skiriamų vaistų. Galima daryti prielaidą, kad, gydant stacionare, kai užtikrinamas tiesiogiai stebimas gydymas, socialinių veiksnių įtaka sumažėja.

Kai kurių autorių duomenimis, mažas KMI yra susijęs su blogesne ligos prognoze [28]. Nustatyta, kad TB pacientai su per mažu KMI turėjo radiologiškai išplitusią plaučių TB, jiems ilgiau užtruko pasėlio konversija ir buvo didesnė gydymo nesėkmės arba mirties tikimybė [29]. Kiti tyrimai to nepatvirtina [30]. Žema albumino koncentracija susijusi su didesniu mirtingumu lignoninėje. Pacientai, kuriems nustatyta hipoalbuminemia, taip pat buvo labiau linkę patirti TB gydymo nesėkmę [29]. Atkreiptinas dėmesys ir į tai, kad dauguma pasaulyje atliktų tyrimų vertina KMI ir TB gydymo baigčių ryšį, o ne skreplių pasėlio konversiją, todėl išsamiau palyginti mūsų tyrimo rezultatų su kitais negalime.

Dar vienas biocheminis tyrimas, kai kur atliekamas vertinant TB gydymo veiksmingumą, yra vitamino D koncentracijos kraujyje nustatymas. Seniai žinoma, kad vitamino D koncentracija priklauso nuo geografinio regiono. Pavyzdžiui, tiriant TB pacientus Malaizijoje, vitamino D stygius buvo nustatytas labai mažai daliai pacientų [31], o mūsų tyrime su Lietuvos pacientais optimalus vitamino D kiekis nustatytas tik trims iš tirtų pacientų.

Tyrimų, kurių metu vertinta socialinių veiksnių (išskyrus amžių ir lytį) įtaka skreplių pasėlio konversijai, radome labai nedaug. 1994–1995 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose atliktame tyrime nurodoma, kad tokie socialiniai veiksniai, kaip nuolatinės gyvenamosios vietos neturėjimas, injekcinių narkotikų vartojimas, neturėjo įtakos skreplių pasėlio konversijai [32]. Kinijoje 2020 m. atliktame tyrime tirta įvairių socialinių veiksnių (etninė grupė, gyvenamoji vieta, darbo pobūdis, amžius, lytis) įtaka, tačiau jų įtakos skreplių pasėlio konversijai nenustatyta [25]. Vieno tyrimo autoriai taip pat teigia, kad vyresnis amžius susijęs su lėtesne skreplių pasėlio konversija [33], nors tarp mūsų tirtų pacientų konversija dažniau įvyko vyresniems pacientams, tačiau šie pokyčiai nebuvo statistiškai reikšmingi. Kitų tirtų socialinių veiksnių

(išskyrus alkoholio vartojimą) įtakos skreplių pasėlio konversijai tarp tirtų pacientų neradome.

CRB – turbūt vienas iš daugiausia tyrinėtų uždegiminių žymenų esant aktyviai plaučių TB. CRB koncentracija linkusi mažėti TB gydymo metu, o šios koncentracijos nemažėjimas po 2 savaičių gydymo yra susijęs su blogesne TB prognoze [34]. Vis tik remiantis kitais anksčiau atliktais tyrimais, CRB reikšmė, prognozuojant skreplių pasėlio konversiją, yra diskutuotina. Vienų autorių duomenimis, aukštos CRB vertės gali būti susijusios su vėlyvesne skreplių pasėlio konversija [35], tačiau kiti autoriai, kaip ir mes, tokio ryšio nenustatė.

SuPAR ir sICAM-1 taip pat laikomi potencialiais TB biožymenimis ir yra susiję su TB išplitimu, ligos sunkumu bei prognoze [8]. Tačiau skirtingų autorių duomenys išsiskiria ir ne visi tyrėjai nustato šių biožymenų ryšį su gydymo rezultatais [35]. Svarbu atkreipti dėmesį, kad ir ankstesniuose, ir mūsų tyrime naudotos mažos tiriamųjų grupės. Nepavyko rasti nė vieno publikuoto tyrimo, kurio metu būtų vertinta suPAR arba sICAM-1 ryšį su skreplių pasėlio konversija, todėl negalime išsamiau palyginti mūsų gautų rezultatų su kitų autorių duomenimis.

T limfocitų atsakas yra būtinas veiksmingam imuniniam atsakui į *M. tuberculosis* infekciją. Šis atsakas gali būti išsamiau aprašomas vertinant T limfocitų fenotipus periferiniame kraujyje [36]. Dalis tyrėjų renkasi vertinti imuniteto atsaką į TB tirdami *in vitro* stimuliuotus limfocitus, kad įvertintų specifinį atsaką į TB [37], tačiau mes nusprendėme ištirti nespecifines T limfocitų populiacijas, nes atlikti šiuos tyrimus klinikinėje praktikoje būtų pigiau ir paprasčiau. Tyrimų su nespecifiškais T limfocitais TB atvejų iki šiol nėra daug [36, 38, 39]. Tiriant nespecifiškus T limfocitus TB ligos metu, nustatytas didesnis procentinis CD38+ T limfocitų kiekis nei sveikiems savanoriams [36]. Minėto tyrimo autorių nuomone, tai susiję su bendra T limfocitų aktyvacija esant aktyviai TB infekcijai [36]. Mūsų tyrimo metu neradome duomenų, kad T limfocitų subpopuliacijų vertinimas, siekiant prognozuoti skreplių pasėlio konversiją, būtų naudingas. Galbūt, būtų tikslinga ištirti didesnių skaičių pacientų, norint gauti tikslesnius duomenis.

Be ganėtinai mažos tiriamųjų grupės dar vienas iš mūsų tyrimo trūkumų yra tai, kad ne visiems DVA-TB grupės pacientams tinkamas gydymas pagal galiojančias DVA-TB gydymo rekomendacijas buvo pradėtas iš karto po TB diagnozės nustatymo. Tai nutiko dėl to, kad tyrimo atlikimo metu Lietuvos sveikatos mokslų universiteto lignoninėje Kauno klinikose dar nenaudoti genotipiniai TB diagnostikos metodai, todėl atsparumas vaistams buvo nustatomas fenotipiniais TB diagnostikos metodais, kas prailgino atsparumo vaistams nustatymo laiką.

IŠVADOS

1. Pacientams, vartojantiems alkoholių, rečiau įvyko skreplių pasėlio konversija. Skreplių pasėlio konversijos neįvykimo rizika po pirmo mėnesio gydymo buvo 48 kartus didesnė alkoholių vartojantiems asmenims. Skreplių pasėlio konversijos sąsajų su kitais tirtais paciento socialiniais veiksniais, kūno masės indekso, albumino, vitamino D koncentracijų kraujyje prieš gydymą nerasta.
2. Skreplių pasėlio konversijos sąsajų su uždegimo žymenų (CRB, sICAM-1, suPAR) koncentracijomis kraujyje, prieš pradėdant plaučių TB gydymą, nerasta.
3. DVA-TB grupėje reikšmingų T limfocitų subpopuliacijų skirtumų tarp įvykusios ir neįvykusios konversijos grupių nerasta.

Gauta 2022 03 07

Priimta 2022 03 31

LITERATŪRA

1. World Health Organisation Fact sheets. Tuberculosis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. Date last accessed: January 1, 2022.
2. Ending tuberculosis is a race against time and drug resistance. <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/ending-tuberculosis-race-against-time-and-drug-resistance>. Date last accessed: January 1, 2022.
3. World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. World Health Organization; 2020.
4. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020 – 2018 data. Stockholm: ECDC; 2020.
5. Demir T, Yalcinoz C, Keskinel I, Demiröz F, Yildirim N. sICAM-1 as a serum marker in the diagnosis and follow-up of treatment of pulmonary tuberculosis. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. Int J Tuberc Lung Dis. 2002;6(2):155–9.
6. Oh SM, Jang JH, Choi SI, Lee HB, Lee YC, Rhee YK. sICAM-1, sE-selectin, sVCAM-1 Concentration in Patients with Pulmonary Tuberculosis. Tuberculosis and Respiratory Diseases. Tuberc Respir Dis. 2001;44(6):1256–62.
7. Eugen-Olsen J, Gustafson P, Sidenius N, Fischer T, Parner J, Aaby B, et al. The serum level of soluble urokinase receptor is elevated in tuberculosis patients and predicts mortality during treatment: a community study from Guinea-Bissau. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. Int J Tuberc Lung Dis. 2002;6(8):686–92.
8. suPAR Monograph. <https://www.virogates.com/publications/about-super/> Date last accessed: October 13 2021.
9. Lyngbæk S, Marott JL, Sehested T, Hansen TW, Olsen MH, Andersen O, et al. Cardiovascular risk prediction in the general population with use of suPAR, CRP, and Framingham Risk Score. Int J Cardiol. 2013;167(6):2904–11.
10. Mukae H, Ashitani J, Tokojima M, Ihi T, Kohno S, Matsukura S. Elevated levels of circulating adhesion molecules in patients with active pulmonary tuberculosis. Respiriology. 2003;8(3):326–31.
11. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2021. ECDC; 2021.
12. Holtz TH, Sternberg M, Kammerer S, Laserson KF, Riekstina V, Zarovska E, et al. Time to sputum culture conversion in multidrug-resistant tuberculosis: predictors and relationship to treatment outcome. Ann Intern Med. 2006;144(9):650–9.
13. Long NH, Johansson E, Diwan VK, Winkvist A. Fear and social isolation as consequences of tuberculosis in VietNam: a gender analysis. Health Policy. 2001;58(1):69–81.
14. Lönnroth K, Williams BG, Stadlin S, Jaramillo E, Dye C. Alcohol use as a risk factor for tuberculosis—a systematic review. BMC Public Health. 2008;8(1):1–12.
15. Mahishale V, Patil B, Lolly M, Eti A, Khan S. Prevalence of Smoking and Its Impact on Treatment Outcomes in Newly Diagnosed Pulmonary Tuberculosis Patients: A Hospital-Based Prospective Study. Chonnam Med J. 2015;51(2):86–90.
16. Bates MN, Khalakdina A, Pai M, Chang L, Lessa F, Smith KR. Risk of tuberculosis from exposure to tobacco smoke: a systematic review and meta-analysis. Arch Intern Med. 2007;167(4):335–42.
17. Lin H-H, Ezzati M, Murray M. Tobacco smoke, indoor air pollution and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS Med. 2007;4(1):e20.
18. Musteikiene G, Miliauskas S, Zaveckiene J, Zemaitis M, Vitkauskienė A. Factors associated with sputum culture conversion in patients with pulmonary tuberculosis. Medicina (Kaunas). 2017;53(6):386–93.
19. Volkmann T, Moonan P, Miramontes R, Oeltmann J. Tuberculosis and excess alcohol use in the United States, 1997–2012. Int J Tuberc Lung Dis. 2015;19(1):111–9.
20. Ragan E, Kleinman M, Sweigart B, Gnatienco N, Parry C, Horsburgh C, et al. The impact of alcohol use on tuberculosis treatment outcomes: a systematic review and meta-analysis. Int J Tuberc Lung Dis. 2020;24(1):73–82.
21. Myers B, Bouton TC, Ragan EJ, White LE, McIlleron H, Theron D, et al. Impact of alcohol consumption on tuberculosis treatment outcomes: a prospective longitudinal cohort study protocol. BMC Infect Dis. 2018;18(1):1–9.
22. Liang Y, Harris FL, Brown LAS. Alcohol induced mitochondrial oxidative stress and alveolar macrophage dysfunction. Biomed Res Int. 2014;2014.
23. Jasenosky LD, Scriba TJ, Hanekom WA, Goldfeld AE. T cells and adaptive immunity to Mycobacterium tuberculosis in humans. Immunol Rev. 2015;264(1):74–87.
24. Simet SM, Sisson JH. Alcohol's effects on lung health and immunity. Alcohol Res. 2015;37(2):199.
25. Li Q, Lu M, Hsieh E, Wu L, Wu Y, Wang M, et al. Time to sputum culture conversion and its predictors among patients with multidrug-resistant tuberculosis in Hangzhou, China: A retrospective cohort study. Medicine (Baltimore). 2020;99(50).
26. Shibabaw A, Gelaw B, Wang S-H, Tessema B. Time to sputum smear and culture conversions in multidrug resistant tuberculosis at University of Gondar Hospital, Northwest Ethiopia. PloS one. 2018;13(6):e0198080.
27. Visser ME, Stead MC, Walzl G, Warren R, Schomaker M, Grewal HM, et al. Baseline predictors of sputum culture conversion in pulmonary tuberculosis: importance of cavities, smoking, time to detection and W-Beijing genotype. PloS one. 2012;7(1):e29588.
28. Matos E, Moreira Lemos A. Association between serum albumin levels and in-hospital deaths due to tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2006;10(12):1360–6.
29. Kornfeld H, Sahukar SB, Procter-Gray E, Kumar NP, West K, Kane K, et al. Impact of diabetes and low body mass index on tuberculosis treatment outcomes. Clin Infect Dis. 2020;71(9):e392–8.
30. Kim D, Kim H, Kwon S, Yoon H, Lee C, Kim Y, et al. Nutritional deficit as a negative prognostic factor in patients with miliary tuberculosis. Eur Respir J. 2008;32(4):1031–6.
31. Ralph AP, Ali MRSR, William T, Piera K, Parameswaran U, Bird E, et al. Vitamin D and activated vitamin D in tuberculosis in equatorial Malaysia: a prospective clinical study. BMC Infect Dis. 2017;17(1):1–11.
32. Liu Z, Shilkret KL, Ellis HM. Predictors of sputum culture conversion among patients with tuberculosis in the era of tuberculosis resurgence. Arch Intern Med. 1999;159(10):1110–6.
33. Güler M, Ünsal E, Dursun B, Aydın Ö, Capan N. Factors influencing sputum smear and culture conversion time among patients with new case pulmonary tuberculosis. Int J Clin Pract. 2007;61(2):231–5.
34. Kwas H, Guermazi E, Zendah I, Jemia EB, Khattab A, Khouaja I, et al. C-reactive protein and pulmonary tuberculosis: what correlation with disease severity. Eur Respir J. 2015; 46: PA2751.
35. Siawaya JFD, Bapela NB, Ronacher K, Veenstra H, Kidd M, Gie R, et al. Immune parameters as markers of tuberculosis extent of disease and early prediction of anti-tuberculosis chemotherapy response. J Infect. 2008;56(5):340–7.

Moksliniai darbai ir apžvalgos

36. **Rodrigues D do S da S, Medeiros EAS de, Weckx LY, Bonnez W, Salomão R, Kallas EG.** Immunophenotypic characterization of peripheral T lymphocytes in Mycobacterium tuberculosis infection and disease. *Clin Exp Immunol.* 2002;128(1):149–54.
37. **Agrawal S, Parkash O, Palaniappan AN, Bhatia AK, Kumar S, Chauhan DS, et al.** Efficacy of T regulatory cells, Th17 cells and the associated markers in monitoring tuberculosis treatment response. *Front Immunol.* 2018;9:157.
38. **Bernal-Fernández G, Hermida C, Espinosa-Cueto P, Cubilla-Tejeda AC, Salazar-González JF, Ortiz-Ortiz L, et al.** Impact of opportunistic Mycobacterium tuberculosis infection on the phenotype of peripheral blood T cells of AIDS patients. *J Clin Lab Anal.* 2006;20(3):80–6.
39. **Goovaerts O, Jennes W, Massinga-Loembé M, Ondoa P, Ceulemans A, Vereecken C, et al.** Lower pre-treatment T cell activation in early- and late-onset tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome. *PLoS one.* 2015;10(7):e0133924.