

УДК 616.24-002.5-06:612.226:577.29
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-54-62>

Молекулярные механизмы воспаления в патогенезе нарушений внешнего дыхания у больных туберкулезом легких

Дьякова М.Е.¹, Серебряная Н.Б.^{2,3,4}, Кирюхина Л.Д.¹, Эсмедяева Д.С.¹, Яблонский П.К.^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (СПбНИИФ) Россия, 191036, г. Санкт-Петербург, Лиговский проспект, 2-4

² Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ) Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ им. И.И. Мечникова) Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

⁴ Институт экспериментальной медицины (ИЭМ) Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить функцию внешнего дыхания и ее связь с активностью воспаления и активностью ферментов пуринового метаболизма у больных острой и хронической формой туберкулеза легких (ТЛ).

Материалы и методы. У больных острой (ОФТЛ) и хронической формой ТЛ (ХФТЛ) оценивали активность аденозиндезаминазы (ADA-1, 2) в сыворотке крови (eADA), мононуклеарах и нейтрофилах, концентрацию экто-5'-нуклеотидазы (eNT5E) в сыворотке крови, CD26 (дипептидилпептидазы-4, DPPIV) в сыворотке крови и мононуклеарах, продукцию активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) в мононуклеарах и нейтрофилах, функцию внешнего дыхания (ФВД).

Результаты. У больных ТЛ выявлено: увеличение концентрации eNT5E и активности eADA-2 в сыворотке крови, стимулированной продукцией АФК нейтрофилами; снижение концентрации DPPIV (CD26) в мононуклеарах, продукции АФА мононуклеарами и нейтрофилами; при ХФТЛ снижение активности ADA-1 в мононуклеарах и концентрации DPPIV (CD26) в сыворотке крови; при ОФТЛ снижение активности eADA-1 в сыворотке крови, ADA-1 в нейтрофилах, продукции АФК мононуклеарами и увеличение спонтанной продукции АФК нейтрофилами. Выявлены корреляции между параметрами ФВД и концентрацией eNT5E в сыворотке крови, спонтанной продукцией АФК мононуклеарами, АФА нейтрофилами при ХФТЛ; активностью eADA-2 в сыворотке крови, ADA-1 в нейтрофилах, DPPIV (CD26) в мононуклеарах, продукцией АФК и АФА мононуклеарами и нейтрофилами.

Заключение. Полученные данные позволяют связать регуляцию внешнего дыхания с показателями пуринового обмена, в частности с концентрацией и активностью ферментов, ответственных за образование и метаболизм аденозина, определяющих его уровень вне клеток и внутри мононуклеаров и нейтрофилов, с экспрессией кофакторных молекул, а также с длительностью активации клеток врожденного иммунитета, нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, определяемой в значительной степени возможностями аденозиновой регуляции.

Ключевые слова: пуриновый метаболизм, воспаление, туберкулез легких, функция внешнего дыхания

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

✉ Дьякова Марина Евгеньевна, marinadyakova@yandex.ru

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено независимым этическим комитетом Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии (протокол № 57 от 11.09.2012).

Для цитирования: Дьякова М.Е., Серебряная Н.Б., Кирюхина Л.Д., Эсмедляева Д.С., Яблонский П.К. Молекулярные механизмы воспаления в патогенезе нарушений внешнего дыхания у больных туберкулезом легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(4):54–62. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-54-62>.

Molecular mechanisms of inflammation in the pathogenesis of respiratory disorders in patients with pulmonary tuberculosis

Dyakova M.Ye.¹, Serebryanaya N.B.^{2,3,4}, Kiryukhina L.D.¹, Esmedlyayeva D.S.¹, Yablonskiy P.K.^{1,2}

¹ St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology
2–4, Ligovsky Av., St. Petersburg, 191036, Russian Federation

² St. Petersburg University
7–9, Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

³ I.I.Mechnikov North-Western State Medical University
41, Kirochnaya Str., St. Petersburg, 191015, Russian Federation

⁴ Institute of Experimental Medicine
12, Akademika Pavlova Str., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess external respiration (ER) and its relationship with the activity of enzymes involved in purine metabolism in patients with acute and chronic forms of pulmonary tuberculosis (TB).

Materials and methods. In patients with acute and chronic TB, we assessed the activity of adenosine deaminase (ADA)-1, 2 in the blood serum (eADA), mononuclear cells, and neutrophils, the concentration of ecto-5'-nucleotidase (eNT5E) in the blood serum, the level of CD26 (dipeptidyl peptidase-4, DPPiV) in the blood serum and mononuclear cells, production of reactive oxygen intermediates (ROI) and reactive nitrogen intermediates (RNI) in mononuclear cells and neutrophils, as well as parameters of ER.

Results. Patients with TB were found to have an increase in the concentration of eNT5E and eADA-2 activity in the blood serum, stimulated production of ROI in neutrophils, a decrease in the concentration of DPPiV (CD26) in mononuclear cells, and a fall in the production of RNI in mononuclear cells and neutrophils. In patients with chronic TB, a decrease in the activity of ADA-1 in mononuclear cells and a fall in the concentration of DPPiV (CD26) in the blood serum were noted. In patients with acute TB, a decrease in the activity of eADA-1 in the blood serum and ADA-1 in neutrophils, reduced production of ROI in mononuclear cells, and an increase in spontaneous production of ROI in neutrophils were revealed. Correlations were found between the parameters of ER and the concentration of eNT5E in the blood serum, spontaneous production of ROI in mononuclear cells and production of RNI in neutrophils in chronic TB, as well as between eADA-2 in the blood serum, ADA-1 in neutrophils, DPPiV (CD26) activity in mononuclear cells, and ROI and RNI production in mononuclear cells and neutrophils.

Conclusion. The data obtained make it possible to associate regulation of external respiration with parameters of purine metabolism, in particular with the concentration and activity of enzymes responsible for generation and metabolism of adenosine, that determine its level outside cells and inside mononuclear cells and neutrophils, with expression of cofactor molecules, as well as with the duration of activation of cells in innate immunity, neutrophils, and monocytes/ macrophages, determined largely by the potential of adenosine regulation.

Keywords: purine metabolism, inflammation, pulmonary tuberculosis, respiratory function

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at St. Petersburg State Research Institute of Phthiisopulmonology (Protocol No. 57 of 11.09.2012).

For citation: Dyakova M.Ye., Serebryanaya N.B., Kiryukhina L.D., Esmedlyaeva D.S., Yablonskiy P.K. Molecular mechanisms of inflammation in the pathogenesis of respiratory disorders in patients with pulmonary tuberculosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(4):54–62. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-54-62>.

ВВЕДЕНИЕ

Треть населения мира инфицирована *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), и ежегодно регистрируется 10 млн новых случаев туберкулеза [1–3]. При туберкулезе легких (ТЛ) формируется гранулематозное воспаление, поддерживаемое сложным каскадом воспалительных сигнальных молекул – цитокинов и аутокинов, таких как пуриновый нуклеозид аденозин. Аденозин (ADO) контролирует активность, объем, продолжительность и разрешение воспалительной реакции, меняя метаболизм задействованных клеток через активацию специфических рецепторов (ADORA A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃), широко представленных на клетках организма [4].

Показано, что при остром воспалении, в частности при повреждении легких, аденозин обладает противовоспалительным и тканезащитным действием [5–7]. Однако при хроническом повреждении легких аденозин усиливает провоспалительные и профибротические процессы [8].

В условиях воспаления, ишемии и гибели клеток концентрация внеклеточного аденозина увеличивается. Стрессированные клетки высвобождают аденозинтрифосфат, который ступенчато дефосфорилируется при скоординированной активности эктонуклеотидаз, в основном эктонуклеотидтрифосфатдифосфогидролазой 1 (CD39, E-NTPDase1) и экто-5'-нуклеотидазой (CD73, eNTP5E) до аденозина. Вне- и внутриклеточный аденозин дезаминируется аденозиндеаминазой (ADA) или трансформируется в аденозинмонофосфат ферментом аденозинкиназой [9].

Изоферменты ADA (ADA-1 и ADA-2) являются ключевыми ферментами путей спасения пуринов и крайне важны в контроле пуринового метаболизма [10]. ADA-1 локализуется не только в цитозоле и ядре клеток, но также в виде эктоформы присутствует на клеточной мембране, где создает комплексы с дипептидилпептидазой IV (CD26) и (или) аденозиновыми рецепторами A₁ и A_{2B} [11].

ADA-2 локализуется в основном во внеклеточном пространстве, преобладавая в сыворотке крови. Основным источником ADA-2 являются моноциты-макрофаги, в которых сосуществуют обе изоформы,

ADA-1 и ADA-2 [12]. При физиологических концентрациях аденозина каталитическая активность ADA-2 близка к нулю, однако эта изоформа эффективна для дезаминирования при повышенных уровнях аденозина в слабнокислой среде, например во время гипоксии [13].

Поскольку пуринергическая регуляция аденозинтрифосфатом и аденозином влияет на функциональное состояние клеток дыхательной и иммунной систем, изучение молекулярных механизмов воспаления в ткани легких может помочь в понимании патогенеза легочных повреждений у больных туберкулезом легких и указать новые мишени для направленной терапии, что необходимо для повышения эффективности лечения больных ТЛ.

Цель настоящего исследования – оценить функцию внешнего дыхания и ее связь с активностью воспаления и экспрессией, активностью ферментов пуринового метаболизма у больных острой и хронической формой туберкулеза легких.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 60 больных с верифицированным диагнозом «туберкулез легких», находившихся на лечении в клинике Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии. Группу больных острой формой ТЛ (ОФТЛ) составили 15 пациентов с впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких, 6 мужчин и 9 женщин в возрасте 25,0–31,0 лет (средний возраст – 29,0 лет), хронической (ХФТЛ) – 45 с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких, 30 мужчин и 15 женщин в возрасте 28,0–42,0 года (средний возраст – 32,0 года). Всем больным с ТЛ проведено комплексное исследование функции внешнего дыхания. Критерий исключения – пациенты с хронической обструктивной болезнью легких. В референтную (контрольную) группу (РГ) были включены 20 практически здоровых доноров с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту.

Группы больных ТЛ значительно различались по статусу курения (курящие/некурящие – 33,3/66,7% и 71,4/28,6%; $p = 0,01$) и по длительности заболева-

ния (длительность заболевания до года – 100,0% и 17,1%; $p = 0,00001$): больные с ХФТЛ в 2 раза чаще курили и значительно дольше болели.

Пуриновый метаболизм оценивали по активности аденозиндезаминазы-1 и 2 (ADA-1 и ADA-2) в сыворотке крови (eADA-1 и eADA-2), лизате мононуклеаров и нейтрофилов (путем трехкратного замораживания и оттаивания), определяемой методом G. Giusti (1974) на спектрофотометре PV 1251C (Беларусь); концентрации в сыворотке крови белков экто-5'-нуклеотидазы (eNT5E), CD26 (дипептидилпептидаза-4, DPPIV) (растворимая форма, sCD26 (DPPIV) и в лизате мононуклеаров – методом ELISA (Ecto NT5E, USCN, Китай и Human sCD26 Platinum EIIISA, eBioscience, Австрия). Продукцию активных форм кислорода фагоцитами оценивали по показателям респираторного взрыва в тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест): спонтанному (НСТс.) и индуцированному зимозаном (НСТи).

Мононуклеары (мн) выделяли из периферической крови в градиенте плотности верографин – фиколл (1,077 г/л), из оставшегося осадка (после лизиса эритроцитов и дополнительного центрифугирования) – нейтрофилы (нф). Генерацию оксида азота определяли по уровню нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-) в мононуклеарах и нейтрофилах методом ELISA (R&D Systems, Канада).

Комплексное исследование функции внешнего дыхания включало спирометрию, бодиплетизмографию, исследование диффузионной способности легких на установке MasterScreen Body Diffusion (VIASYS Healthcare, Германия) согласно международным рекомендациям по стандартизации легочных функциональных тестов и национальному руководству по функциональной диагностике [14–18]. Анализировались общая емкость легких (ОЕЛ), ее структура – жизненная емкость легких (ЖЕЛ), остаточный объем легких (ООЛ), отношение ООЛ/ОЕЛ, емкость вдоха (Евд.), резервный объем выдоха (РОВд.) и параметры, характеризующие проходимость дыхательных путей: объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ₁), отношение ОФВ₁/ФЖЕЛ (индекс Генслера). Легочный газообмен оценивали по диффузионной способности легких (ДСЛ) и трансфер-коэффициенту по угарному газу – отношению ДСЛ к альвеолярному объему (ДСЛ/АО). Для исключения влияния антропометрических характеристик значения показателей, имеющих должные величины (Д), выражали в процентном отношении от Д для соответствующего пола, роста, массы тела, возраста. В качестве референтных значений использовали должные величины, предложенные Европейским сообществом угля и стали (European Coal and Steel Community, 1993) [19].

Анализ показателей функции внешнего дыхания у пациентов с ОФТЛ и ХФТЛ выявил, что значения большинства функциональных характеристик находились в пределах референтного диапазона, кроме значимо сниженного ДСЛ% (71,4 и 78,6% у больных ОФТЛ и ХФТЛ соответственно). При этом больные ТЛ значимо различались только по значению индекса Генслера, который был выше в группе с ОФТЛ по сравнению с группой с ХФТЛ (83,6 (75,9–85,7) и 76,5 (70,2–81,1) соответственно, $p = 0,025$).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программ Statistica для Windows, версия 13.0. Метрические показатели представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (LQ-UQ)$. Проверку гипотез однородности по двум выборкам проводили по U -критерию Манна – Уитни. При корреляционном анализе метрических величин использовали ранговый коэффициент Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение показателей пуринового метаболизма у обследованных больных ТЛ выявило по сравнению с референтной группой значимое увеличение концентрации eNT5E в сыворотке крови, от которой зависит образование аденозина, и снижение концентрации DPPIV (CD26) в лизатах мононуклеаров. Это указывает на снижение экспрессии данного белка на мембране этих клеток, которое ведет к снижению его способности образовывать комплексы с eADA-1 и нарушает иммунорегуляторную способность моноцитов по отношению к Т-лимфоцитам (табл. 1). У больных ХФТЛ также была значимо снижена концентрация растворимой формы DPPIV (CD26) в сыворотке крови по сравнению с референтной группой.

Таблица 1

Показатель	Концентрация ферментов пуринового метаболизма у больных острой и хронической формой туберкулеза легких в сыворотке крови, $Me (LQ-UQ)$		
	РГ	ОФТЛ	ХФТЛ
eNT5E, нг/мл	0,06 (0,01–0,6)	0,7*($p = 0,006$) (0,46–1,3)	0,9*($p = 0,01$) (0,45–1,4)
sDPPIV(CD26), нг/мл	692,5 (625,0–875,0)	560,0 (550,0–585,0)	473,5*($p = 0,04$) (265,0–628,2)
DPPIV(CD26) мн, нг/10 ⁶ клеток	19,2 (12,8–25,0)	1,46* ($p = 0,0004$) (1,03–3,0)	3,95*($p = 0,0008$) (1,2–6,6)

Примечание. РГ – референтная группа; ОФТЛ – острая форма туберкулеза легких; ХФТЛ – хроническая форма туберкулеза легких; eNT5E – экто-5'-нуклеотидаза; DPPIV(CD26) – дипептидилпептидаза-4; sDPPIV(CD26) – ее растворимая форма.

* уровень статистической значимости различий по сравнению с референтной группой.

Активность изоферментов eADA-1 и eADA-2 в сыворотке крови (рис.1, а) в группах больных ТЛ в основном изменялась однонаправленно по сравнению с референтной группой. В случае eADA-1 выявлено значимое снижение активности для больных ОФТЛ, а в случае eADA-2, основная функция которого – деградация внеклеточного аденозина, повышение активности было зарегистрировано в обеих группах больных ТЛ. Активность ADA-1 в лизате мононуклеаров была ниже у больных ХФТЛ, чем в референтной группе, а в лизате нейтрофилов – у больных ОФТЛ. Однако различий по активности ADA-1 в лизате мононуклеаров и нейтрофилов у больных ОФТЛ и ХФТЛ не выявлено ($p = 0,91$ и $p = 0,28$ соответственно, рис. 1, b).

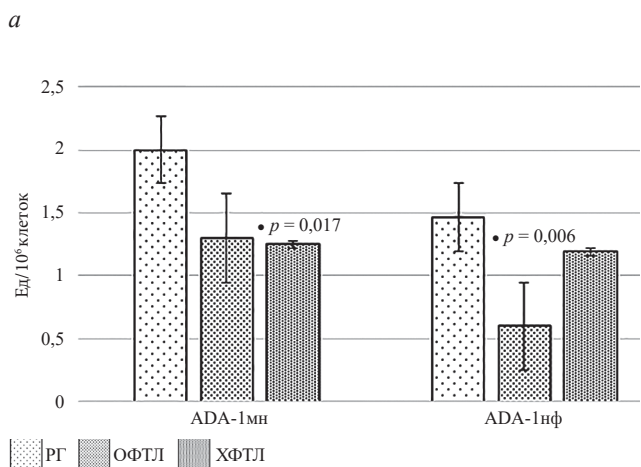
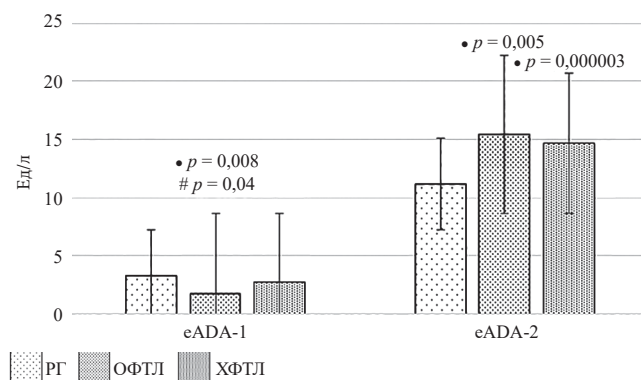


Рис. 1. Показатели вне- (а) и внутриклеточной (b) активности аденозиндезаминазы в группах больных ОФТЛ и ХФТЛ и РГ. Здесь и на рис. 2, 3: РГ – референтная группа, ОФТЛ – острая форма туберкулеза легких, ХФТЛ – хроническая форма туберкулеза легких. eADA-1 и eADA-2 – активность аденозиндезаминазы 1 и 2 в сыворотке крови, ADA-1 – активность аденозиндезаминазы

• уровень статистической значимости различий по сравнению с референтной группой, # уровень статистической значимости различий между группами; уровень значимости приведен в скобках

Таким образом, в обеих группах больных, как с острой, так и хронической формой заболевания, распределение активности ферментов пуринового метаболизма и ассоциированных с ними молекул указывает на повышение концентрации внеклеточного аденозина и снижение иммунорегуляторных свойств клеток иммунной системы. При этом у больных ОФТЛ значимое снижение активности eADA-1 создает условия для более выраженного повышения уровня аденозина, угнетения функций моноцитов и Т-лимфоцитов.

Известно, что клеткам врожденного иммунитета – моноцитам, макрофагам и нейтрофилам – принадлежит ключевая роль в контроле над распространением *Mtb*; и активностью тканевого воспаления. О функциональном состоянии этих клеток можно судить по продукции ими активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА).

Представленные на рис. 2 данные свидетельствуют, что в обеих обследованных группах больных ТЛ стимулированная бактериальными компонентами продукция АФК нейтрофилами была повышена. Это говорит о высокой степени их активации. В группе больных ОФТЛ спонтанная и стимулированная продукция АФК мононуклеарами была значимо снижена по сравнению с референтной группой, а при сравнении с больными ХФТЛ – по стимулированной продукции АФК. Это свидетельствует о существенном нарушении функциональных возможностей этих клеток. При этом и спонтанная, и индуцированная продукция АФК нейтрофилами у больных этой группы была существенно выше, чем в референтной группе.

Для уничтожения *Mtb* необходимым компонентом являются АФА, которые обладают микробицидным действием по отношению к внутриклеточным патогенам.

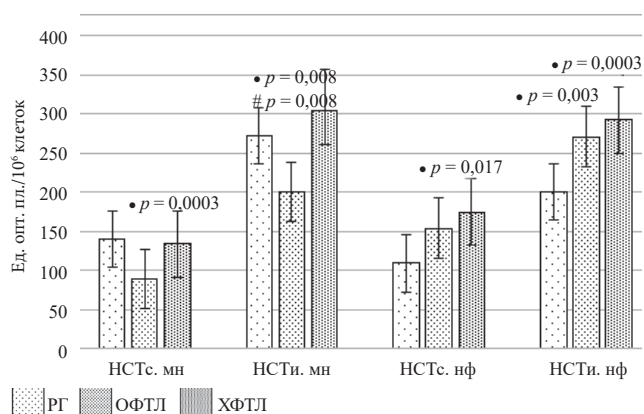


Рис. 2. Показатели оксидативного взрыва в группах больных ОФТЛ и ХФТЛ и РГ. Здесь и в табл. 2: NSTc. mn, nf и NSTi. mn, nf – тест восстановления нитросинего тетразолия: спонтанный (NSTc.) и индуцированный тимозаном (NSTi) в мононуклеарах и нейтрофилах

Количество радикалов нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-), произведенных мононуклеарами и нейтрофилами больных ТЛ, было значимо снижено по сравнению с референтной группой, при этом продукция нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-) нейтрофилами больных ОФТЛ еще больше снижена, чем больных ХФТЛ (рис. 3). Известно, что нейтрофилы, активные участники воспаления при ТЛ, в отличие от активированных макрофагов, не производят значительных количеств метаболитов NO [20].

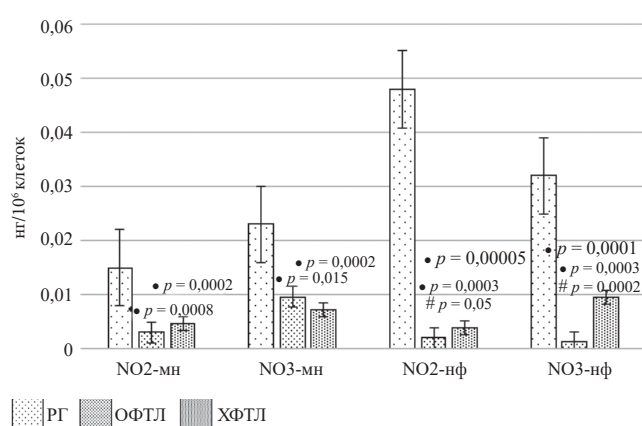


Рис. 3. Генерация активных форм азота в группах больных ОФТЛ и ХФТЛ и РГ. Здесь и в табл. 2: NO_2^- мн, нф и NO_3^- мн и нф – уровни нитритов и нитратов в мононуклеарах и нейтрофилах. • – отличия значимы по сравнению с референтной группой, # – отличия значимы между анализируемыми группами

В целом сниженная продукция метаболитов NO мононуклеарами и нейтрофилами у больных ТЛ, безусловно, определяет нарушение иммунного ответа к микобактериям туберкулеза, причем более выраженное снижение продукции метаболитов NO нейтрофилами, наблюдаемое у больных ОФТЛ, можно расценивать как более глубокое нарушение микробицидных функций по сравнению с больными с ХФТЛ.

Об участии пуриновых медиаторов в регуляции активности фагоцитов у больных ХФТЛ свидетельствует выявленная позитивная корреляция ($r = 0,7$; $p = 0,037$) между уровнем индуцированной продукции АФК нейтрофилами и активностью внутриклеточной ADA-1 нейтрофилов. Интересно, что для больных ОФТЛ корреляция индуцированной продукции АФК нейтрофилами с активностью внутриклеточной ADA-1 нейтрофилов оказалась негативной ($r = -0,4$; $p = 0,03$). То есть у больных ОФТЛ при активации нейтрофилов уровень внутриклеточного аденозина увеличивается, что способствует глубокому угнетению их функций.

Анализ зависимости нарушений параметров внешнего дыхания от способности фагоцитов производить реактивные радикалы кислорода и азота показал, что у больных ХФТЛ параметры, характеризующие статические легочные объемы (ЖЕЛ и РОВыд) и трансфер-коэффициент (ДСЛ/АО, характеризующий газообменную функцию легких), были связаны со спонтанной продукцией АФК мононуклеарами и генерации радикалов нитрита и нитрата нейтрофилами ($r = -0,4$; $p = 0,04$, $r = -0,6$; $p = 0,04$, $r = -0,7$; $p = 0,01$ соответственно). У больных ОФТЛ корреляций между активностью фагоцитов и параметрами внешнего дыхания выявлено значительно больше, что свидетельствует о большем напряжении в системе регуляции внешнего дыхания [21].

Такие параметры, как статические легочные объемы (ОЕЛ, ЖЕЛ, РОВыд, ООЛ, отношение ООЛ/ОЕЛ, Евд.), динамические легочные объемы, характеризующие также проходимость дыхательных путей (ОФВ₁, индекс Генслера) и ДСЛ, характеризующий газообменную функцию легких, имели значимые корреляции со спонтанной продукцией АФК мононуклеарами, спонтанной и индуцированной продукцией АФК нейтрофилами и генерацией нитратных радикалов мононуклеарами и нитритных – нейтрофилами (табл. 2). Таким образом, выявленные корреляции подтверждают, что активация и нарушение функций нейтрофилов и мононуклеаров связаны с изменением параметров внешнего дыхания больных ТЛ.

Таблица 2

Корреляционные связи между характеристиками окислительного взрыва, метаболитами оксида азота и параметрами внешнего дыхания (коэффициент корреляции и его значимость) у больных острой формой туберкулеза легких		
Пары признаков		ОФТЛ
НСТс. мн	ООЛ/ОЕЛ	0,7 (0,02)
	ОФВ ₁	-0,6 (0,05)
НСТс. нф	Евд.	-0,6 (0,01)
	ОЕЛ	-0,6 (0,04)
	ДСЛ	-0,7 (0,02)
НСТн. нф	ООЛ/ОЕЛ	0,6 (0,03)
	ООЛ	0,6 (0,04)
NO ₃ ⁻ мн	РОВыд.	0,7 (0,02)
	Евд.	-0,7 (0,04)
	ДСЛ	-0,7 (0,02)
NO ₂ ⁻ нф	ОФВ ₁ /ФЖЕЛ	0,7 (0,04)
	ЖЕЛ	-0,7 (0,03)

Примечание. ОЕЛ – общая емкость легких; ООЛ – остаточный объем легких; ООЛ%/ОЕЛ – их отношение; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1 с; Евд. – емкость вдоха; ДСЛ – диффузионная способность легких; РОВыд. – резервный объем выдоха; ЖЕЛ – жизненная емкость легких; ОФВ₁/ФЖЕЛ – индекс Генслера.

Важная роль в модуляции активности фагоцитов и высвобождении ими микробицидных радикалов кислорода и азота отводится аденозину. Проведенное нами исследование показало, что при ХФТЛ имеется значимая корреляция между индексом Генслера, характеризующим проходимость дыхательных путей, и концентрацией eNT5E в сыворотке крови, ферментом, синтезирующим аденозин ($r = 0,5$; $p = 0,02$).

У больных ОФТЛ определены позитивные корреляции между параметрами внешнего дыхания (РОВд., ООЛ) и активностью ферментов (eADA-2 в сыворотке крови, ADA-1 в нейтрофилах), разрушающими аденозин до цитопротекторного инозина ($r = 0,7$; $p = 0,004$; $p = 0,04$ соответственно), а снижение концентрации в мононуклеарах кофакторной для eADA-1 молекулы DPPIV (CD26), было отрицательно связано с показателями ОФВ₁ ($r = -0,7$; $p = 0,04$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Фиброзно-кавернозный туберкулез (ФКТ) определяется как хроническая форма туберкулеза, конечная стадия неблагоприятного исхода инфильтративного ТЛ при его естественном развитии или в результате неэффективного лечения. Необходимо отметить, что даже после микробиологического излечения от туберкулеза, у 50% пациентов сохраняется посттуберкулезная легочная недостаточность (ПТЛН) [22], обусловленная повреждением структуры паренхимы, дыхательных путей, сосудов и средостения, что составляет суть патоморфологических изменений при ФКТ. Причину развития ПТЛН и ее тяжесть связывают с притоком нейтрофилов и их избыточной активностью [23, 24].

Полученные нами данные подтверждают, что в обеих обследованных группах больных ТБ нейтрофилы действительно производили избыточное количество активных радикалов кислорода, способных (при истощении антиоксидантной системы, что характерно для хронического воспаления) повреждать собственные клетки и межклеточные структуры. При этом способность производить важные для микобактериальной микробицидности метаболиты NO была снижена как для нейтрофилов (более выражено у больных ОФТЛ), так и для мононуклеаров больных ТЛ.

Результаты нашего исследования показали, что уровень аденозина (судя по активности экто-5'-нуклеотидазы (eNT5E)) был в равной степени повышен у больных ТЛ, независимо от клинической формы заболевания. При туберкулезном процессе в условиях высокого уровня внеклеточного аденозина из активированных макрофагов высвобождается eADA-2, которую определяют как маркер воспалительного ответа и тяжести туберкулезного процесса [25].

Подтверждением регуляторного воздействия аденозина на показатели внешнего дыхания (опосредовано через контроль активности фагоцитов) является выявленная позитивная ассоциация между активностью eADA-2 в сыворотке крови и резервным объемом выдоха (параметром, характеризующим статические легочные объемы у больных ОФТЛ). Другой значимой корреляционной связью, выявленной нами, была связь активности ADA-1 в нейтрофилах больных ОФТЛ (сниженная в 2,2 раза по сравнению с референтной группой) с показателем функции внешнего дыхания, характеризующем остаточный объем легких.

У больных ОФТЛ снижение внутриклеточной активности ADA-1 может приводить к росту концентрации аденозина в клетке, что определяет повышение экспрессии P1-рецепторов, в частности низкоаффинного A_{2B} рецептора, стимуляция которого сдерживает воспаление и способствует восстановлению тканей [4, 26]. В случае активации иммунных клеток при высоких уровнях аденозина происходит усиление экспрессии рецепторов A_{2A}, A_{2B} и A₃ на макрофагах, и продукция ими оксида азота угнетается [27]. По-видимому, различия в длительности активации иммунных клеток и экспрессии ими P1-рецепторов определяют тот факт, что при острой и хронической форме ТЛ нами выявлены разнонаправленные корреляции между внутриклеточной активностью ADA-1 и уровнем индуцированного респираторного взрыва нейтрофилов.

Известно, что внеклеточный аденозин не только регулирует воспалительный ответ, но и модулирует взаимодействие клеток врожденного и адаптивного иммунитета. Т. Hashikawa с соавт. (2006) показали, что при воспалении некротические клетки могут стать источником eADA-1, которая впоследствии может образовать комплекс с DPPIV (CD26). В нашем исследовании выявлено снижение экспрессии DPPIV (CD26) мононуклеарами (наиболее выраженное при ОФТЛ) [28]. По-видимому, нарушение взаимодействия моноцит-Т-лимфоцит при снижении экспрессии DPPIV (CD26) мононуклеарами и сниженной активности eADA-1 в сыворотке крови у больных ОФТЛ определяет нарушенную регуляцию воспаления и появление негативной ассоциации между уровнем экспрессии мононуклеарами DPPIV и объемом форсированного выдоха. Показано, что уровень растворимой формы DPPIV при хронических заболеваниях обратно коррелирует с тяжестью заболевания, выраженностью воспаления и распространенностью легочного фиброза [29, 30].

В нашем исследовании у больных ХФТЛ зарегистрирован значимо сниженный уровень растворимой

формы DPPIV (CD26) в сыворотке крови, что определяет снижение компенсаторных возможностей при хроническом течении инфекционно-воспалительного процесса и объясняет выявленное нами снижение показателей внешнего дыхания в этой группе больных ТЛ. При этом у больных ОФТЛ, у которых поддерживается уровень растворимой формы DPPIV в сыворотке крови в пределах референтных значений, функция внешнего дыхания не нарушена (определяемые параметры находятся в пределах референтных значений).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют связать регуляцию внешнего дыхания с показателями пуринергического обмена, в частности с концентрацией и активностью ферментов, ответственных за образование и метаболизм аденозина, определяющих его уровень вне клеток и внутри мононуклеаров и нейтрофилов, с экспрессией кофакторных молекул, а также с длительностью активации клеток врожденного иммунитета, нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, определяемой в значительной степени возможностями аденозиновой регуляции. Выявленные закономерности дают возможность наметить новые пути к своевременной диагностике, профилактике и, возможно, терапии формирующейся легочной недостаточности у больных ТЛ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization. URL: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (дата обращения: 20.10.2020).
- Ворончихин Т.А., Аветисян А.О., Васильев И.В., Кудряшов Г.Г., Яблонский П.К. Результаты комплексного лечения ограниченного фиброзно-кавернозного туберкулеза легких. *Медицинский альянс*. 2018;3:56–64.
- Багищева Н.В., Мордык А.В., Гольяпин В.В. Прогнозирование результатов лечения туберкулеза у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Медицинский альянс*. 2019;1:13–19.
- Antonioli L., Csóka B., Fornai M., Colucci R., Kókai E., Dranuzzi C. et al. Adenosine and inflammation: what's new on the horizon? *Drug Discov. Today*. 2014;19(8):1051–1068. DOI: 10.1016/j.drudis.2014.02.010.
- Ohta A., Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in down-regulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature*. 2001;414(6866):916–920. DOI: 10.1038/414916a.
- Rivo J., Zeira E., Galun E., Matot I. Activation of A3 adenosine receptors attenuates lung injury after *in vivo* reperfusion. *Anesthesiology*. 2004;101(5):1153–1159. DOI: 10.1097/0000542-200411000-00015.
- Day Y.J., Marshall M.A., Huang L., McDuffie M.J., Okusa M.D., Linden J. Protection from ischemic liver injury by activation of A2A adenosine receptors during reperfusion: inhibition of chemokine induction. *Am. J. Physiol.* 2004;286(2):285–293. DOI: 10.1152/ajpgi.00348.203.
- Chunn J.L., Molina J.G., Mi T., Xia Y., Kellems R.E., Blackburn M.R. Adenosine-dependent pulmonary fibrosis in adenosine deaminase-deficient mice. *The Journal of Immunology*. 2005;175(3):1937–1946. DOI: 10.4049/jimmunol.175.3.1937.
- Antonioli L., Fornai M., Colucci R., Ghisu N., Tuccori M., Del Tacca M. et al. Pharmacological modulation of adenosine system: novel options for treatment of inflammatory bowel diseases. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2008;14(4):566–574. DOI: 10.1002/ibd.20316.
- Cristalli G., Costanzi S., Lambertucci C., Lupidi G., Vittori S., Volpini R. et al. Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Medicinal Research Reviews*. 2001;21(2):105–128. DOI: 10.1002/1098-1128(200103)21:2<105::aid-med1002>3.0.co;2-u
- Gakis C. Adenosine deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 and ADA2: diagnostic and biological role. *Eur. Respir. J.* 1996;9(4):632–633. DOI: 10.1183/09031936.96.09040632.
- Zavialov A.V., Gracia E., Glaichenhaus N., Franco R., Zavialov A.V., Lauvau G. Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of t helper cells and macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 2010;88(2):279–290. DOI: 10.1189/jlb.1109764.
- Watanabe N., Gao S., Kajigaya S., Diamond C., Alemu L., Ombrello A. et al. Analysis of deficiency of adenosine deaminase 2 pathogenesis based on single cell RNA sequencing of monocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2021;110(3):409–424. DOI: 10.1002/JLB.3HI0220-119.
- Giusti G. Adenosine deaminase. Methods of enzymatic analysis. H. Bergmeyer (ed.). New York: Academic Press, 1974;2:1092–1099.
- Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Coates A. et al. Standardisation of spirometry. *Eur. Respir. J.* 2005;26(2):319–338. DOI: 10.1183/09031936.05.00034805.
- Wanger J., Clausen J.L., Coates A., Pedersen O.F., Brusasco V., Burgos F. et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur. Respir. J.* 2005;26(3):511–522. DOI: 10.1183/09031936.05.00035005.
- Graham B.L., Brusasco V., Burgos F., Cooper B.C., Jensen R., Kendrick A. et al. 2017 ERS/ATS standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung. *Eur. Respir. J.* 2017;49(1):1600016. DOI: 10.1183/13993003.00016-2016.
- Функциональная диагностика состояния внешнего дыхания. Функциональная диагностика: национальное руководство. Под ред. Н.Ф. Берестень, В.А. Сандрикова, С.И. Федоровой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019:566–645.
- Quanjer P.H., Tammeling G.J., Cotes J.E., Pedersen O.F., Peslin R., Yennault J.-C. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993;6:5–40. URL: https://erj.ersjournals.com/content/erj/6/Suppl_16/5.full.pdf.
- Mishra B.B., Lovewell R.R., Olive A.J., Zhang G., Wang W., Eugenin E. et al. Nitric oxide prevents a pathogen-permissive granulocytic inflammation during tuberculosis. *Nat. Microbiol.* 2017;2:17072. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2017.72

21. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. М.: Наука, 1990:224.
22. Chushkin M.I., Ots O.N. Impaired pulmonary function after treatment for tuberculosis: the end of the disease? *J. Bras. Pneumol.* 2017;43(1):38–43. DOI: 10.1590/s1806-37562016000000053.
23. Gopal R., Monin L., Torres D., Slight S., Mehra S., McKenna K.C. et al. S100A8/A9 proteins mediate neutrophilic inflammation and lung pathology during tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188(9):1137–1146. DOI: 10.1164/rccm.201304-0803OC.
24. Pantelev A.V., Nikitina I.Y., Burmistrova I.A., Kosmiadi G.A., Radaeva T.V., Amanshedov R.B. et al. Severe tuberculosis in humans correlates best with neutrophil abundance and lymphocyte deficiency and does not correlate with antigen-specific CD4 T-cell response. *Front. Immunol.* 2017;8:963. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00963.
25. Zaviyalov A.V., Gracia E., Glaichenhaus N., Franco R., Zaviyalov A.V., Lauvau G. Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of T helper cells and macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 2010;88(2):279–290. DOI: 10.1189/jlb.1109764.
26. Sun Y., Huang P. Adenosine A2B Receptor: from cell biology to human diseases. *Front. Chem.* 2016;4:37. DOI: 10.3389/fchem.2016.00037.
27. Antonioli L., Fornai M., Blandizzi C., Pacher P., Haskó G. Adenosine signaling and the immune system: When a lot could be too much. *Immunology Letters.* 2019;205:9–15. DOI: 10.1016/j.imlet.2018.04.006.
28. Hashikawa T., Takedachi M., Terakura M., Yamada S., Thompson L.F., Shimabukuro Y., Murakami I. Activation of adenosine receptor on gingival fibroblasts. *J. Dent. Res.* 2006;85(8):739–744. DOI: 10.1177/154405910608500810.
29. Tamaki Z., Kubo M., Yazawa N., Mimura Y., Ashida R., Tomita M. et al. Serum levels of soluble CD26 in patients with scleroderma. *J. Dermatol. Sci.* 2008;52(1):67–69. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2008.05.004.
30. Somborac-Baćura A., Buljević S., Rumora L., Čulić O., Detel D., Pancirov D. et al. Decreased soluble dipeptidyl peptidase IV activity as a potential serum biomarker for COPD. *Clin. Biochem.* 2012;45(15):1245–1250. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.04.023.

Вклад авторов

Дьякова М.Е. – разработка концепции и дизайна статьи, выполнение биохимических исследований, анализ и интерпретация данных, написание и оформление рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Серебряная Н.Б. – написание и редактирование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Кирюхина Л.Д. – проведение и оценка комплексного исследования функции внешнего дыхания. Эсмедляева Д.С. – выполнение биохимических исследований. Яблонский П.К. – окончательное утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Дьякова Марина Евгеньевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, СПбНИИФ, г. Санкт-Петербург, marinadyakova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7810-880X>

Серебряная Наталья Борисовна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией общей иммунологии, ИЭМ; профессор, кафедра цитологии и гистологии, биологический факультет, СПбГУ; профессор, кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии, СЗГМУ им. И.М. Мечникова, г. Санкт-Петербург, nbvma@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2418-9368>

Кирюхина Лариса Дмитриевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, зав. отделением функциональной диагностики, СПбНИИФ, г. Санкт-Петербург, kiryuhina_larisa@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6550-817X>

Эсмедляева Диляра Салиевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, СПбНИИФ, г. Санкт-Петербург, diljara-e@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9841-0061>

Яблонский Петр Казимирович – д-р мед. наук, профессор, директор СПбНИИФ; декан медицинского факультета, СПбГУ, г. Санкт-Петербург, piotr_yablonskii@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4385-9643>

✉ Дьякова Марина Евгеньевна, marinadyakova@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.12.2021;
одобрена после рецензирования 14.04.2022;
принята к публикации 09.06.2022