

СВЯЗЬ ИСХОДОВ ИНТЕНСИВНОЙ ФАЗЫ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С АКТИВНОСТЬЮ ФЕРМЕНТОВ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА И ЧИСЛЕННОСТЬЮ ПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ CD3⁺CD8⁺



М.Е. Дьякова¹, Н.Б. Серебряная^{3,4}, Д.С. Эсмедляева¹, П.К. Яблонский^{1,2}

¹ ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Мониторинг активности воспалительного процесса, субпопуляций лимфоцитов может уже на ранних этапах лечения помочь оценить эффективность интенсивной фазы терапии (ИФТ). Цель исследования — определить связь изменения концентрации и активности ферментов, связанных с метаболизмом пуринов, и субпопуляционного состава лимфоцитов крови с эффективностью ИФТ у больных с впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ). *Материалы и методы.* У 141 обследованного больного с верифицированным диагнозом ИТЛ результаты ИФТ представлены в следующих градациях: «значительное улучшение» — исчезновение симптомов интоксикации, абациллирование, закрытие полостей распада; «менее выраженное улучшение» — ликвидация симптомов интоксикации, абациллирование, выраженное рассасывание очаговых и инфильтративных изменений, уменьшение полостей распада. Оценивали активность аденозиндезаминазы в сыворотке крови (eADA-1, 2), мононуклеарах и нейтрофилах, концентрацию экто-5'-нуклеотидазы (eNT5E) в сыворотке крови, CD26 (DPPIV) в сыворотке (s, растворимая форма) и мононуклеарах (m, мембранная форма), субпопуляционный состав лимфоцитов. *Результаты.* У больных ИТЛ выявлено увеличение концентрации eNT5E, mCD26 (DPPIV), активности eADA-2 и напротив, снижение внутриклеточной активности ADA-1. В ходе ИФТ отмечалось повышение концентрации sCD26 (DPPIV) в группе «менее выраженное улучшение». Исследуемые группы различались по количеству лимфоцитов и доле CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов. Кроме того, активность eADA-2, более высокая у больных группы «менее выраженное улучшение», еще возросла после ИФТ, чего не наблюдалось у больных группы «значительное улучшение». Концентрация

Адрес для переписки:

Дьякова Марина Евгеньевна
194064, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2–4,
ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт фтизиопульмонологии.
Тел.: 8 921 375-54-32. E-mail: marinadyakova@yandex.ru

Contacts:

Marina E. Dyakova
194064, Russian Federation, St. Petersburg, Ligovskiy pr., 2–4,
St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology.
Phone: +7 921 375-54-32. E-mail: marinadyakova@yandex.ru

Для цитирования:

Дьякова М.Е., Серебряная Н.Б., Эсмедляева Д.С., Яблонский П.К. Связь исходов интенсивной фазы терапии у больных с впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких с активностью ферментов пуринового метаболизма и численностью популяции лимфоцитов CD3⁺CD8⁺ // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 1. С. 77–85.
doi: 10.15789/2220-7619-RBT-17607

Citation:

Dyakova M.Ye., Serebryanaya N.B., Esmedyaeva D.S., Yablonskiy P.K. Relationship between the outcomes of intensive phase therapy in patients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis and activity of purine metabolism enzymes as well as CD3⁺CD8⁺ lymphocyte level // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 1, pp. 77–85. doi: 10.15789/2220-7619-RBT-17607

© Дьякова М.Е. и соавт., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-RBT-17607>

mCD26 (DPPIV) была выше у больных группы «значительное улучшение» до начала терапии, и, хотя в группе «менее выраженное улучшение» после ИФТ этот показатель увеличился, он все же оставался ниже, чем в группе сравнения. *Заключение.* Таким образом, исход ИФТ у больных ИТЛ связан с распределением популяций Т-лимфоцитов в крови и изменением активности ферментов пуринового метаболизма. Исследование eADA-2, CD26 (DPPIV) в мембранной и растворимой формах и относительное количество CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов в периферической крови на ранних этапах терапии может дать необходимую информацию для коррекции персонализированной патогенетической терапии больных впервые выявленным ИТЛ.

Ключевые слова: ферменты пуринового метаболизма, популяции лимфоцитов, исходы терапии, туберкулез.

RELATIONSHIP BETWEEN THE OUTCOMES OF INTENSIVE PHASE THERAPY IN PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED INFILTRATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS AND ACTIVITY OF PURINE METABOLISM ENZYMES AS WELL AS CD3⁺CD8⁺ LYMPHOCYTE LEVEL

Дьякова М.Е.^a, Сербрянная Н.В.^{c,d}, Есмедьяева Д.С.^a, Яблонский П.К.^{a,b}

^a St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg University, St. Petersburg, Russian Federation

^c Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^d I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Monitoring activity of inflammatory process and lymphocyte subsets can help assess the effectiveness of intensive phase therapy (IPT) already in the early stages of treatment. The goal is to evaluate changes in the concentration and activity of enzymes associated with purine metabolism and peripheral blood lymphocyte subset composition, and to determine their relationship with IPT effectiveness in patients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis (IPTb). Materials and methods. In 141 IPTb patients, the IPT data were presented as follows: “significant improvement” (SI) — disappearance of intoxication symptoms, abacillation, closure of decay cavities; “less pronounced improvement” (LMI) — eliminated symptoms of intoxication, abacillation, pronounced resorption of focal and infiltrative changes, reduction of decay cavities. We assessed the activity of adenosine deaminase in blood serum (eADA-1, 2), mononuclear cells and neutrophils, the concentration of blood serum ecto-5'-nucleotidase (eNT5E), CD26 (DPPV) in blood serum (s, soluble form) and mononuclear cells (m, membrane form), subpopulation composition. Results. Patients exhibit increased concentrations of eNT5E, mCD26 (DPPIV) and eADA-2 activity, and decreased intracellular ADA-1 activity. In the “LMI” group, after IPT, an increased sCD26 (DPPV) level was noted. The groups differed in lymphocyte counts and percentage of CD3⁺CD8⁺ cells. eADA-2 activity was higher in the LMI group and increased after IPT, in contrast to comparison group. mCD26 (DPPIV) concentrations are higher in PD patients before therapy and after IPT. Conclusion. Thus, the outcome of IPT in IPTb patients is associated with altered T-lymphocyte populations and severity of the inflammatory process. Studying the activity of membrane and soluble eADA-2, CD26 (DPPIV) and percentage of CD3⁺CD8⁺ T-lymphocytes in the early stages of therapy can provide the necessary information for correcting personalized pathogenetic therapy of patients with newly diagnosed IPTb.

Key words: purine metabolism enzymes, lymphocyte population, the outcomes of therapy, tuberculosis.

Введение

Специфическое воспаление при туберкулезе возникает в результате сложного многофазного ответа, направленного на защиту организма от *Mycobacterium tuberculosis*, опосредуемого взаимодействием между иммунными клетками и растворимыми медиаторами. Эффективность защитных иммунных реакций при туберкулезе существенно зависит от определенных субпопуляций Т-лимфоцитов [24]. Мониторинг активности воспалительного процесса, субпопуляций лимфоцитов может уже на ранних этапах лечения помочь оценить эффективность интенсивной фазы противотуберкулезной терапии [1, 2, 35].

Среди медиаторов, регулирующих активность воспалительных клеток и лимфоцитов,

особое внимание в последнее десятилетие привлекает аденозин — противовоспалительный пуриновый регулятор. Известно, что аденозин модулирует многочисленные биологические функции посредством связывания с четырьмя специфическими рецепторами P1-типа (A1, A2A, A2B, A3). Аденозин в основном синтезируется внутриклеточно, но также высвобождается с помощью нуклеозидного транспортера ENT [26]. Также аденозин образуется внеклеточно из АТФ через трансформацию до АМФ каскадом эктонуклеотидаз CD39 (эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза NTPD-ase) и CD73 (экто-5'-эктонуклеотидаза), и дезаминированием АМФ до инозина аденозиндеаминазой (ADA). Внеклеточные концентрации аденозина в физиологических условиях поддерживаются на низком уровне, но повышаются в условиях ги-

поксии, повреждения тканей и воспаления [28]. Снижение концентрации аденозина внутри клеток происходит при увеличении активности эктоизофермента eADA-1, а в сыворотке крови — eADA-2, на который приходится более 75% внеклеточной активности [7, 12, 17, 30]. eADA-2 не только снижает повышенные концентрации внеклеточного аденозина, но индуцирует дифференцировку моноцитов в макрофаги и стимулирует пролиферацию CD4⁺ Т-клеток и макрофагов [31, 34]. eADA-1 на поверхности клеток взаимодействует с дипептидилпептидазой-4 (CD26 (DPPIV)), этот комплекс усиливает активацию, адгезию и дифференцировку лимфоцитов [10, 14, 25]. Мембранная форма (m)CD26 (DPPIV) определена как костимулирующая молекула, представленная преимущественно на CD4⁺ Т-клетках памяти [27].

В дополнение к своей мембранной форме фермент CD26 (DPPIV) также присутствует в плазме крови в растворимой форме (s)CD26 (DPPIV). Показано, что sCD26 (DPPIV) может стимулировать воспаление, увеличивая секрецию провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (IL)-6, IL-8 и MCP-1, и усиливая экспрессию Toll-подобных рецепторов [22, 33].

Цель настоящего исследования — оценить изменения концентрации и активности ферментов, связанных с метаболизмом пуринов, и субпопуляционный состав лимфоцитов крови, определить их связь с эффективностью интенсивной фазы терапии у больных с впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Материалы и методы

Обследован 141 больной с верифицированным диагнозом впервые выявленного инфильтративного туберкулеза легких (ИТЛ, 62 мужчины и 79 женщин в возрасте от 18 до 65 лет, Me — 29), находившихся на лечении в клинике ФГБУ СПб НИИФ МЗ РФ. Анализ проводили в группах, сформированных ретроспективно согласно результату терапии в интенсивной фазе лечения. У всех пациентов после завершения интенсивной фазы терапии (ИФТ) зафиксировано улучшение. Результаты терапии были представлены в следующих градациях: «значительное улучшение», n = 88 (исчезновение симптомов интоксикации, абациллирование, закрытие полостей распада); «менее выраженное улучшение», n = 53 (ликвидация симптомов интоксикации, абациллирование, выраженное рассасывание очаговых и инфильтративных изменений, уменьшение полостей распада). Клиническая характеристика больных анализируемых групп представлена в табл. 1.

Обследование пациентов проводили перед началом противотуберкулезной химиотерапии и по окончании ИФТ. Референсную группу составили здоровые доноры (РГ) (n = 35).

Пуриновый метаболизм оценивали по активности аденозиндезаминазы (ADA-1 и ADA-2) в сыворотке крови (eADA), лизированных мононуклеарах и нейтрофилах, определяемой методом G. Giusti (1974) на спектрофотометре PV1251C (Беларусь). Концентрацию экто-5'-нуклеотидазы (eNT5E) в сыворотке крови, CD26 (DPPIV) в сыворотке (s, растворимая форма) и в лизированных мононуклеарах (m, мембранная форма) определяли методом ELISA (Ecto NT5E, USCN, Китай и Humans CD26 Platinum ELISA, eBioscience, Австрия), согласно протоколу производителя, на фотометре для микропланшетов автоматической серии «ELx808» производства Bio Tek Instruments Inc. (США).

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов крови основывалось на оценке их поверхностного фенотипа с использованием набора моноклональных антител фирмы Becton Dickinson (США) к маркерам клеточной дифференцировки (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺) и проточного цитофлюориметра (FACS Calibur, BD, США).

Мононуклеары выделяли из периферической крови в градиенте плотности верографин — фикола (1,077 г/л), из оставшегося осадка (после лизиса эритроцитов и дополнительного центрифугирования) — нейтрофилы.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q1; Q3]. Оценивали достоверность различий метрических величин (критерий Вилкоксона), их корреляционную зависимость между собой (критерий Спирмена) и с количественными признаками (критерий Крускала—Уоллеса).

Результаты

Оценка показателей пуринового метаболизма у больных ИТЛ выявила статистически значимое увеличение концентрации eNT5E, CD26 (DPPIV) в мононуклеарах, активности eADA-2 и, напротив, снижение внутриклеточной активности ADA-1 по сравнению с референсными значениями (табл. 2). Такие результаты свидетельствуют о повышенной активности эктоферментов, обеспечивающих образование и трансформацию внеклеточного аденозина. При этом выявили, что в ходе терапии значимо снижалась активность eADA-1 в группе «значительное улучшение» и повышалась концентрация sCD26 (DPPIV) в группе «менее выраженное улучшение».

Таблица 1. Клиническая характеристика больных в группах по результатам лечения, абс. (%)

Table 1. Treatment outcome-related clinical characteristics of patients, abs. (%)

Признаки Signs	Значительное улучшение Significant improvement	Менее выраженное улучшение Less pronounced improvement
Распространенность процесса в легком Magnitude of pulmonary process		
Ограниченный Limited	51 (58)	24 (45,3)
Распространенный Extended	37 (42)	29 (54,7)
Наличие полости Presence of a cavity		
Нет No	21 (23,9)	11 (20,7)
Есть Yes	67 (76,1)	42 (79,3)
Бактериовыделение Bacterial excretion		
Нет No	25 (28,4) ^{*(p = 0,037)}	7 (13,2)
Есть Yes	63 (71,6)	46 (86,8)
Резистентность к лекарственным препаратам Drug resistance		
Нет No	40 (63,5)	20 (43,5)
Есть Yes	23 (36,5)	26 (56,5) ^{*(p = 0,047)}

Примечание. Оценка качественных признаков проводилась с использованием таблиц сопряженности (Crosstabulation tables); * — различия статистически значимы между группами «значительное улучшение» и «менее выраженное улучшение».

Note. The assessment of qualitative characteristics was carried out using contingency tables (Crosstabulation tables); * — significant differences between the "significant improvement" and "less pronounced improvement" groups.

Как свидетельствуют представленные в табл. 2 данные, в группе «значительное улучшение» активность eADA-2 была умеренно повышена как до лечения, так и по окончании ИФТ, что можно связать с увеличением активности клеток моноцитарно-макрофагального звена в присутствии патогена.

У больных с менее выраженным улучшением активность eADA-2 в ходе терапии значимо повышалась, а концентрация mCD26 (DPPIV) хотя и повышалась, но оставалась значимо более низкой, чем в группе больных со значительным улучшением. После завершения ИФТ у больных с менее выраженным улучшением зарегистрировали наиболее высокие значения активности eADA-2, этот показатель превысил не только референсные значения, но и показатели больных со значительным улучшением как до лечения, так и после окончания ИФТ. Такое повышение активности eADA-2 у больных с менее выраженным улучшением, по-видимому, связано с более тяжелым течением заболевания, при котором увеличение концентрации внеклеточного аденозина может усиливать продукцию провоспалительных цитокинов и активировать

тучные клетки и макрофаги, что способствует тканевому повреждению [7, 34].

Представленные в табл. 3 данные свидетельствуют, что у больных обеих групп ИТЛ по сравнению с референсной группой статистически значимо увеличено относительное содержание Т-лимфоцитов, Т-хелперов, а абсолютное содержание Т-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов значимо не изменялось. При этом в группе «значительное улучшение» статистически значимо повышено абсолютное содержание Т-хелперов и иммунорегуляторный индекс (соотношение Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток) как по сравнению с референсной группой, так и с группой «менее выраженное улучшение». А в группе «менее выраженное улучшение» значимо снижено абсолютное число лимфоцитов по сравнению с группой «значительное улучшение», и также снижено относительное число лимфоцитов по сравнению как с референсной группой, так и группой сравнения и, напротив, повышено относительное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов по сравнению как с референсной группой, так и группой сравнения.

Проведение ИФТ существенно не повлияло на показатели субпопуляции лимфоцитов, можно отметить только небольшое снижения относительного содержания Т-хелперов в группе «менее выраженное улучшение».

Представленные данные в табл. 2 и 3 свидетельствуют, что исследуемые группы больных ИТЛ различаются по количеству лимфоцитов и доле цитотоксических лимфоцитов CD3⁺CD8⁺, кроме того, активность eADA-2, более высокая в группе больных с менее выраженным улучшением, еще возросла после ИФТ, чего не наблюдалось в группе больных со значительным улучшением. Напротив, концентрация mCD26 (DPPIV) была выше у больных со значительным улучшением до начала терапии, и, хотя в группе с менее выраженным улучшением после терапии этот показатель увеличивался, он все же оставался существенно ниже, чем в группе сравнения.

Проведенный анализ выявил в группе «значительное улучшение» корреляционную связь между внутриклеточной активностью ADA-1 и концентрацией eNT5E ($r = 0,38$; $p = 0,01$), что

свидетельствует о согласованной работе ферментов по образованию и утилизации аденозина, что предотвращает повышение уровня аденозина в клетках и, частично, во внеклеточной среде. В этой же группе определена взаимосвязь активности eADA-1 с уровнем mCD26 (DPPIV) моноцитов ($r = 0,3$; $p = 0,05$), что, вероятно, связано с образованием молекулярного комплекса, который более эффективно уменьшает концентрацию внеклеточного аденозина и регулирует функцию иммунных клеток [15].

Показано, что активность ферментов пуринового метаболизма влияет на функциональное состояние клеток иммунной системы, причем mCD26 (DPPIV) может активировать Т-клетки, тогда как eNT5E является их ингибитором [3, 22, 23]. Выявленная нами отрицательная взаимосвязь между mCD26 (DPPIV) и eNT5E ($r = -0,34$; $p = 0,037$) полностью соответствует представлениям об этой регуляторной функции ферментов.

Другая установленная взаимосвязь между активностью eADA-2 и количеством моноцитов ($r = 0,3$; $p = 0,007$), вероятно, отражает высво-

Таблица 2. Показатели пуринового метаболизма у больных ИТЛ в исследуемых группах, Ме [Q1; Q3]
Table 2. Indicators of purine metabolism in IPTb patients in study groups, Me [Q1; Q3]

Показатели Indicators	Группы Groups				
	Референсная Reference	Значительное улучшение Significant improvement		Менее выраженное улучшение Less pronounced improvement	
		До лечения Before treatment	После лечения After treatment	До лечения Before treatment	После лечения After treatment
В сыворотке крови In blood serum					
eNT5E, ng/ml	0,06 [0,01; 0,6]	0,58 * $(p = 0,02)$ [0,4; 1,1]		1,4 * $(p = 0,001)$ [0,7; 1,6]	
eADA-1, E/l	3,3 [2,2; 4,2]	2,6 * $(p = 0,0007)$ [1,6; 3,1]	2,4 * $(p = 0,02)$ [1,7; 3,5]	2,8 [2,1; 3,7]	2,3 * $(p = 0,002)$ [1,4; 3,0]
eADA-2, E/l	11,2 [9,6; 12,1]	13,1 * $(p = 0,000000)$ [11,5; 15,5]	13,1 * $(p = 0,00001)$ [10,9; 15,5]	15,5 * $(p = 0,00000)$, ** $(p = 0,002)$ [12,9; 18,2]	18,0 * $(p = 0,001)$, ** $(p = 0,01)$, *** $(p = 0,007)$ [12,0; 25,0]
sCD26 (DPPIV), ng/ml	692,5 [625,0; 875,0]	555,5 [380,0; 977,3]	1016,0 *** $(p = 0,0003)$ [690,0; 1555,0]	491,2 * $(p = 0,004)$ [312,5; 611,5]	775,0 *** $(p = 0,003)$ [493,5; 1653,7]
В мононуклеарах In mononuclear cells					
ADA-1, E/10 ⁶ cells	2,0 [1,1; 3,0]	0,91 * $(p = 0,000000)$ [0,5; 1,5]	1,1 * $(p = 0,000007)$ [0,7; 1,7]	1,0 * $(p = 0,000002)$ [0,5; 1,6]	1,2 * $(p = 0,0004)$ [0,6; 2,0]
CD26 (DPPIV), ng/10 ⁶ cells	19,2 [12,8; 25,0]	53,3 * $(p = 0,03)$ [25,0; 101,7]	83,7 * $(p = 0,0009)$ [46,7; 110,9]	26,8 * $(p = 0,04)$, ** $(p = 0,03)$ [1,9; 53,3]	70,4 * $(p = 0,005)$ [28,9; 105,0]
В нейтрофилах In neutrophils					
ADA-1, E/10 ⁶ cells	1,5 [0,9; 1,8]	0,6 * $(p = 0,0002)$ [0,3; 1,1]	0,5 * $(p = 0,0007)$ [0,3; 1,3]	0,6 * $(p = 0,0002)$ [0,3; 1,2]	0,7 * $(p = 0,007)$ [0,4; 1,2]

Примечание. * — различия статистически значимы по сравнению с референсной группой, ** — различия статистически значимы между группами «значительное улучшение» и «менее выраженное улучшение», *** — различия статистически значимы внутри групп между сроками исследования.

Note. * — significant differences compared to reference group, ** — significant differences between the “significant improvement” and “less pronounced improvement” groups, *** — significant differences within the groups between the study periods.

Таблица 3. Субпопуляции лимфоцитов крови у больных ИТЛ в исследуемых группах, Ме [Q1; Q3]

Table 3. Peripheral blood lymphocytes subpopulations in IPTb patients, Me [Q1; Q3]

Показатели Indicators	Группы Groups				
	Референсная Reference	Значительное улучшение Significant improvement		Менее выраженное улучшение Less pronounced improvement	
		До лечения Before treatment	После лечения After treatment	До лечения Before treatment	После лечения After treatment
Лимфоциты, $\times 10^9/л$ Lymphocytes, $\times 10^9/l$	1,7 [1,4; 2,1]	1,8 [1,5; 2,3]	1,7 [1,2; 2,5]	1,5 [#] (p = 0,01) [1,2; 2,1]	1,3 [1,2; 1,6]
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	29,0 [28,0; 35,0]	32,0 [25,0; 39,0]	31,5 [25,0; 39,0]	22,0 [*] (p = 0,0006), ^{**} (p = 0,00008) [17,0; 28,0]	21,5 [*] (p = 0,0002), ^{**} (p = 0,0001) [17,0; 27,0]
CD3 ⁺ , $\times 10^9/l$	1,2 [1,0; 1,6]	1,4 [1,1; 1,8]	1,4 [0,9; 1,6]	1,2 [1,0; 1,6]	1,0 [0,9; 1,4]
CD3 ⁺ , %	71,0 [67,0; 74,0]	77,0 [*] (p = 0,002) [71,0; 80,0]	76,0 [*] (p = 0,01) [70,0; 82,0]	78,0 [*] (p = 0,001) [73,0; 84,0]	78,0 [*] (p = 0,009) [72,0; 82,0]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , $\times 10^9/l$	0,6 [0,5; 1,1]	0,9 [*] (p = 0,05), ^{**} (p = 0,04) [0,7; 1,1]	0,76 [0,6; 1,0]	0,77 [0,6; 0,9]	0,7 [0,5; 1,0]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	40,0 [36,0; 45,0]	48,0 [*] (p = 0,0001) [43,0; 54,0]	48,0 [*] (p = 0,001) [40,0; 54,0]	47,0 [*] (p = 0,0003) [44,0; 53,0]	46,0 ^{***} (p = 0,03) [42,0; 49,0]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , $\times 10^9/l$	0,5 [0,4; 0,6]	0,5 [0,3; 0,6]	0,4 [0,3; 0,6]	0,5 [0,3; 0,6]	0,4 [0,3; 0,6]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	26,0 [23,0; 30,0]	25,0 [21,0; 30,0]	25,0 [21,0; 30,0]	31,0 [*] (p = 0,05), ^{**} (p = 0,007) [25,0; 35,0]	30,5 ^{**} (p = 0,01) [24,5; 35,0]
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,4 [1,3; 1,8]	1,9 [*] (p = 0,006), ^{**} (p = 0,04) [1,5; 2,4]	1,8 [1,4; 2,1]	1,7 [1,3; 1,9]	1,5 [1,2; 1,9]

Примечание. * — различия статистически значимы по сравнению с референсной группой, ** — различия статистически значимы между группами «значительное улучшение» и «менее выраженное улучшение», *** — различия статистически значимы внутри групп между сроками исследования.

Note. * — significant differences compared to reference group, ** — significant differences between the “significant improvement” and “less pronounced improvement” groups, *** — significant differences within the groups between the study periods.

бождение фермента из моноцитов/макрофагов в ответ на инвазию *Mycobacterium tuberculosis* и повышение уровня внеклеточного аденозина [16, 34]. Отмеченная отрицательная корреляция между уровнем sCD26 (DPPIV) и активностью ADA-1 в моноцитах и нейтрофилах ($r = -0,35$; $p = 0,02$ и $r = -0,63$; $p = 0,000008$ соответственно), вероятно, подтверждает предположение Gorell M.D. с соавт., что sCD26, «отвлекая» аденозиндезаминазу [15], уменьшает активность комплекса mCD26 с eADA-1, регулируя активность воспалительных клеток.

У больных с менее выраженным улучшением существенно увеличена активность eADA-2 в сыворотке крови, и можно предположить, что частичное увеличение активности eADA-2 в этой группе больных происходит вследствие разрушения моноцитов/макрофагов, так как, по мнению Hashikawa T. с соавт., лизированные клетки при воспалительных поражениях могут быть источником аденозиндезаминазы [16].

В этой группе больных выявлена корреляция между активностью eADA-2 и концентрацией eNT5E ($r = 0,35$; $p = 0,03$), которая иллюстрирует появление согласованной активности ферментов, участвующих в образовании и дезамини-

ровании внеклеточного аденозина в условиях повышенного внеклеточного уровня пуринергических регуляторов АТФ, АМФ и аденозина.

Исследованиями ряда авторов показана способность ADA связываться с иммунными клетками, усиливая пролиферацию CD4⁺ Т-клеток [20, 34]. Выявленные нами корреляции в группе «значительное улучшение» между активностью eADA-2 и абсолютным содержанием Т-лимфоцитов ($r = 0,26$; $p = 0,04$), Т-хелперов ($r = 0,28$; $p = 0,03$), цитотоксических Т-лимфоцитов ($r = 0,34$; $p = 0,006$), вероятно, свидетельствуют, что eADA-2 стимулирует активацию и пролиферацию Т-клеток. Интересно, что в этой группе больных («значительное улучшение») активность eADA-1 имела обратную связь с абсолютным содержанием Т-лимфоцитов ($r = -0,35$; $p = 0,006$), Т-хелперов ($r = -0,36$; $p = 0,005$) и цитотоксических Т-лимфоцитов ($r = -0,38$; $p = 0,002$). Выявленные разнонаправленные взаимосвязи позволяют предположить, что именно умеренной активностью eADA-2, близкой к нормальным значениям (табл. 2), создаются условия для пролиферации Т-лимфоцитов, в то время как внутриклеточные концентрации аденозина, которые регулируются eADA-1, оказы-

вают противоположный эффект в отношении пролиферации Т-лимфоцитов и их субпопуляций CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺. В целом наше исследование подтверждает заключение, сделанное Dhanwani R. с соавт., что eADA-2 является функциональным регулятором иммунных реакций и воспаления [11].

Повышенные доли CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов, которое зафиксировано у больных с менее выраженным улучшением как до лечения, так и после завершения ИФТ (табл. 3), по-видимому, вызвано их экспансией в ответ на продукты *Mycobacterium tuberculosis* в условиях персистирующей инфекции [4]. Кноринг Б.Е. с соавт. сделали предположение об участии цитотоксических Т-лимфоцитов как в защитных реакциях, так и в иммунопатогенезе туберкулезной инфекции [5]. В нашем случае статистически значимое повышение доли CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов ассоциировано с сохранением полостей распада после лечения. Это согласуется с исследованиями Andersson J. с соавт., которые показали зависимость присутствия CD8⁺ Т-лимфоцитов и экспрессии ими перфорина и гранулизына в инфицированных участках с наличием полостей распада [6]. Нужно отметить, что после окончания ИФТ в этой группе больных прослеживается корреляция между долей цитотоксических Т-лимфоцитов и активностью eADA-2 ($r = 0,45$; $p = 0,47$), которая иллюстрирует связь пуринергических показателей с пролиферацией этой субпопуляции Т-лимфоцитов.

Ряд исследователей на мышинной модели показали, что привлечение CD8⁺ Т-клеток ингибируется при повышении активности дипептидилпептидазы-IV [18]. Вероятно, эту закономерность иллюстрирует полученная нами отрицательная корреляция у больных со значительным улучшением между mCD26 (DPPIV) и цитотоксическими Т-клетками, как до лечения ($r = -0,41$; $p = 0,02$), так и после лечения ($r = -0,54$; $p = 0,02$).

В группе больных с менее выраженным улучшением после окончания ИФТ появляется положительная ассоциация между уровнем mCD26 (DPPIV) и CD4⁺ Т-клетками ($r = 0,57$; $p = 0,0048$), которая подтверждает стимулирующую роль CD26 (DPPIV) при пролиферации Т-лимфоцитов-хелперов.

Ряд исследователей рассматривают растворимую форму CD26 (DPPIV) как негативный регулятор острой фазы воспаления, так как концентрации этого фермента снижены у пациентов с ревматоидным артритом, воспалительными заболеваниями кишечника, васкулитами, ассоциированными с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА) и системной красной волчанкой [8, 19, 21, 29]. Показано, что уровень sCD26 (DPPIV) отражает активность воспаления при этих системных заболеваниях [9, 13, 32]. В нашем исследовании показано, что самые низкие концентрации sCD26 (DPPIV) отмечаются у больных с менее выраженным улучшением до начала лечения, а после завершения ИФТ его концентрации возрастают по сравнению с исходным уровнем в обеих группах ИТЛ, что подтверждает отрицательную связь сывороточной концентрации этого фермента с активностью воспаления.

Таким образом, можно заключить, что исход интенсивной фазы терапии у больных ИТЛ связан с распределением популяций Т-лимфоцитов в крови и остротой воспалительного процесса. При оценке перечисленных характеристик существенную информацию позволяют получить данные об активности ферментов пуринового метаболизма — eADA-2, CD26 (DPPIV) в мембранной и растворимой формах и относительное количество CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов в периферической крови. Исследование перечисленных показателей на ранних этапах терапии может дать необходимую информацию для коррекции персонализированной патогенетической терапии больных впервые выявленным ИТЛ.

Список литературы/References

1. Багишева Н.В., Мордык А.В., Гольтыпин В.В. Прогнозирование результатов лечения туберкулеза у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Медицинский Альянс. 2019. Т. 7, № 1. С. 13–19. [Bagisheva N., Mordyk A., Golytyn V. Prediction of the results of tuberculosis treatment in patients with chronic obstructive lung disease. *Meditsinskii Alyans = Medical Alliance*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 13–19. (In Russ.)]
2. Багишева Н.В., Мордык А.В., Гольтыпин В.В., Моисеева М.В., Батищева Т.Л., Ситникова С.В., Ширинская Н.В. Варианты прогноза эффективности терапии туберкулеза: в фокусе пациенты с хронической обструктивной болезнью легких // Медицинский Альянс. 2023. Т. 11, № 1. С. 19–25. [Bagisheva N., Mordyk A., Golytyn V., Moiseeva M., Batishcheva T., Sitnikova S., Shirinskaya N. Options in predicting the effectiveness of tuberculosis therapy: focus on patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Meditsinskii Alyans = Medical Alliance*, 2023, vol. 11, no. 1, pp. 19–25. (In Russ.)] doi: 10.36422/23076348-2023-11-1-19-25
3. Иванова Е.А., Золотов Н.Н., Позднев В.Ф., Воронина Т.А. Активность дипептидилпептидазы IV при экссудативном воспалении у грызунов // Патогенез. 2018. Т. 16, № 1. С. 51–57. [Ivanova E., Zolotov N., Pozdnev V., Voronina T. Alteration of dipeptidyl peptidase IV activity in rodents with exudative inflammation. *Patogenez = Pathogenesis*, 2018, vol. 16, no. 1, pp. 51–57. (In Russ.)] doi: 10.25557/2310-0435.2018.01.51-57

4. Кетлинский С.А. Генетический анализ чувствительности организма к туберкулезной инфекции // Вестник Российской академии медицинских наук. 2001. № 1. С. 11–24. [Ketlinsky S.A. Genetic analysis of the body's sensitivity to tuberculosis infection. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2001, no. 1, pp. 11–24. (In Russ.)]
5. Кноринг Б.Е., Давыдова Н.И., Басек Т.Ф., Ница Н.А., Елькин А.В. Показатели иммунитета у больных прогрессирующим фиброзно-кавернозным туберкулезом в зависимости от выраженности деструктивных изменений в легких // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 4–5. С. 329–336. [Knoring B.E., Davydova N.A., Basek T.S., Nica N.A., Elkin A.V. Immune indexes in patients with progressive fibrous-cavernous tuberculosis dependent on severity of destructive changes in the lungs. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, vol. 14, no. 4–5, pp. 329–336. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-329-336
6. Andersson J., Samarina A., Fink J., Rahman S., Grundström S. Impaired expression of perforin and granulysin in CD8⁺ T cells at the site of infection in human chronic pulmonary tuberculosis. *Infect. Immun.*, 2007, vol. 75, no. 11, pp. 5210–5222. doi: 10.1128/IAI.00624-07
7. Antonioli L., Csóka B., Fornai M., Colucci R., Kókai E., Blandizzi C., Haskó G. Adenosine and inflammation: what's new on the horizon? *Drug Discov. Today*, 2014, vol. 19, no. 8, pp. 1051–1068. doi: 10.1016/j.drudis.2014.02.010
8. Busso N., Wagtman N., Herling C., Chobaz-Péclat V., Bischof-Delaloye A., So A., Grouzmann E. Circulating CD26 is negatively associated with inflammation in human and experimental arthritis. *Am. J. Pathol.*, 2005, vol. 166, no. 2, pp. 433–442. doi: 10.1016/S0002-9440(10)62266-3
9. Ciferská H., Horák P., Heřmanová Z., Ordeltová M., Zadražil J., Tichý T., Ščudla V. The levels of sCD30 and of sCD40L in a group of patients with systemic lupus erythematosus and their diagnostic value. *Clin. Rheumatol.*, 2007, vol. 26, no. 5, pp. 723–728. doi: 10.1007/s10067-006-0389-9
10. Cortés A., Gracia E., Moreno E., Mallol J., Lluís C., Canela E.I., Casadó V. Moonlighting adenosine deaminase: a target protein for drug development. *Med. Res. Rev.*, 2015, vol. 35, no. 1, pp. 85–125. doi: 10.1002/med.21324
11. Dhanwani R., Takahashi M., Mathews I.T., Lenzi C., Romanov A., Jeramie D., Watrous J.D., Pieters B., Hedrick C.C., Benedict C.A., Linden J., Nilsson R., Jain M., Sharma S. Cellular sensing of extracellular purine nucleosides triggers an innate IFN- β response. *Sci. Adv.*, 2020, vol. 6, no. 30: eaba3688. doi: 10.1126/sciadv.aba3688
12. Eltzschig H.K., Thompson L.F., Karhausen J., Cotta R.J., Ibla J.C., Robson S.C., Colgan S.P. Endogenous adenosine produced during hypoxia attenuates neutrophil accumulation: coordination by extracellular nucleotide metabolism. *Blood*, 2004, vol. 104, no. 13, pp. 3986–3992. doi: 10.1182/blood-2004-06-2066
13. Gao R., Sun W., Chen Y., Su Y., Wang C., Dong L. Elevated serum levels of soluble CD30 in ankylosing spondylitis patients and its association with disease severity-related parameters. *Biomed Res. Int.*, 2015, vol. 2015, pp. 617282–617288. doi: 10.1155/2015/617282
14. Ginés S., Mariño M., Mallol J., Canela E.I., Morimoto C., Callebaut C., Hovanessian A., Lluís C., Franco R. Regulation of epithelial and lymphocyte cell adhesion by adenosine deaminase-CD26 interaction. *Biochem J.*, 2002, vol. 361, pp. 203–209. doi: 10.1042/0264-6021:3610203
15. Gorrell M.D., Gysbers V., McCaughan G.W. CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand. J. Immunol.*, 2001, vol. 54, pp. 249–264.
16. Hashikawa T., Takedachi M., Terakura M., Yamada S., Thompson L.F., Shimabukuro Y., Murakami S. Activation of adenosine receptor on gingival fibroblasts. *J. Dent Res.*, 2006, vol. 85, no. 8, pp. 739–744. doi: 10.1177/154405910608500810
17. Haskó G., Cronstein B.N. Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity. *Trends Immunol.*, 2004, vol. 25, no. 1, pp. 33–39. doi: 10.1016/j.it.2003.11.003
18. Henderson J.M., Xiang M.S.W., Huang J.C., Wetzel S., Jiang L., Lai J.H., Wu W., Kench J.G., Bachovchin W.W., Roediger B., McCaughan G.W., Zhang H.E., Gorrell M.D. Dipeptidyl peptidase inhibition enhances CD8 T cell recruitment and activates intrahepatic inflammasome in a murine model of hepatocellular carcinoma. *Cancers*, 2021, vol. 13: 5495. doi: 10.3390/cancers13215495
19. Hildebrandt M., Rose M., Ruter J., Salama A., Monnikes H., Klapp B.F. Dipeptidyl peptidase IV (DP IV, CD26) in patients with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2001, vol. 36, no. 10, pp. 1067–1072. doi: 10.1080/003655201750422675
20. Kaljas Y., Liu C., Skaldin M., Wu C., Zhou Q., Lu Y., Aksentijevich I., Zavalov A. Human adenosine deaminases ADA1 and ADA2 bind to different subsets of immune cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2017, vol. 74, no. 3, pp. 555–570. doi: 10.1007/s00018-016-2357-0
21. Kobayashi H., Hosono O., Mimori T., Kawasaki H., Dang N.H., Tanaka H., Morimoto C. Reduction of serum soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enzyme activity and its correlation with disease activity in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 2002, vol. 29, no. 9, pp. 1858–1866.
22. Lee D.S., Lee E.S., Alam M.M., Jang J.H., Lee H.S., Oh H., Kim Y.-C., Manzoor Z., Koh Y.-S., Kang D.-G., Lee D.H. Soluble DPP-4 up-regulates toll-like receptors and augments inflammatory reactions, which are ameliorated by vildagliptin or mannose-6-phosphate. *Metabolism*, 2016, vol. 65, no. 2, pp. 89–101. doi: 10.1016/j.metabol.2015.10.002
23. Liang D., Shao H., Born W.K., O'Brien R.L., Kaplan H.J., Sun D. High level expression of A2ARs is required for the enhancing function, but not for the inhibiting function, of $\gamma\delta$ T cells in the autoimmune responses of EAU. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 6: e0199601. doi: 10.1371/journal.pone.0199601
24. Lyadova I.V., Pantelev A.V. Th1 and Th17 cells in tuberculosis: protection, pathology, and biomarkers. *Mediators Inflamm.*, 2015, vol. 2015, no. 10: 854507. doi: 10.1155/2015/854507
25. Martínez-Navio J.M., Casanova V., Pacheco R., Naval-Macabuhay I., Climent N., Garcia F., Gatell J.M., Mallol J., Gallart T., Lluís C., Franco R.J. Adenosine deaminase potentiates the generation of effector, memory, and regulatory CD4⁺ T cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2011, vol. 89, no. 1, pp. 127–136. doi: 10.1189/jlb.1009696
26. Ohta A., Sitkovsky M. Extracellular adenosine-mediated modulation of regulatory T cells. *Front. Immunol.*, 2014, vol. 5, pp. 304–313. doi: 10.3389/fimmu.2014.00304

27. Pan K., Ohnuma K., Morimoto C., Dang N.H. CD26/dipeptidyl peptidase IV and its multiple biological functions. *Cureus*, 2021, vol. 13, no. 2: e13495. doi: 10.7759/cureus.13495
28. Pasquini S., Contri C., Borea P.A., Vincenzi F., Varani K. Adenosine and inflammation: here, there, and everywhere. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22: 7685. doi: 10.3390/ijms22147685
29. Schonermark U., Csernok E., Trabandt A., Hansen H., Gross W.L. Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA-associated vasculitides. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2000, vol. 18, no. 4, pp. 457–463.
30. Thompson L.F., Eltzschig H.K., Ibla J.C., Van De Wiele C.J., Resta R., Morote-Garcia J.C., Colgan S.P. Crucial role for ecto-5'-nucleotidase (CD73) in vascular leakage during hypoxia. *J. Exp. Med.*, 2004, vol. 200, no. 11, pp. 1395–1405. doi: 10.1084/jem.20040915
31. Tiwari-Heckler S., Yee E.U., Yalcin Y., Yalcin Y., Park J., Nguyen D.-H.T., Gao W., Csizmadia E., Afdhal N., Mukamal K.J., Robson S.C., Lai M., Schwartz R.E., Jiang Z.C. Adenosine deaminase 2 produced by infiltrative monocytes promotes liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Cell. Rep.*, 2021, vol. 37, no. 4: 109897. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109897
32. Ulusoy H., Kamanli A., Ilhan N., Kuru O., Arslan S., Alkan G., Ozgocmen S.. Serum levels of soluble CD26 and CD30 and their clinical significance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.*, 2012, vol. 32, no. 12, pp. 3857–3862. doi: 10.1007/s00296-011-2302-3
33. Wronkowitz N., Görgens S.W., Romacho T., Villalobos L.A., Sánchez-Ferrer C.F., Peiró C., Sell H., Eckel J. Soluble DPP4 induces inflammation and proliferation of human smooth muscle cells via protease-activated receptor 2. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, vol. 1842, no. 9, pp. 1613–1621. doi: 10.1016/j.bbdis.2014.06.004
34. 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. Leuk. Biol.*, 2010, vol. 88, no. 2, pp. 279–290. doi: 10.1189/jlb.1109764
35. Zhan M., Xue H., Wang Y., Wu Z., Wen Q., Shi X., Wang J. A clinical indicator-based prognostic model predicting treatment outcomes of pulmonary tuberculosis: a prospective cohort study. *BMC Infect. Dis.*, 2023, vol. 23, no. 1: 101. doi: 10.1186/s12879-023-08053-x

Авторы:

Дьякова М.Е., д.б.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальной медицины ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Серебряная Н.Б., д.м.н., профессор, зав. лабораторией общей иммунологии отдела общей патологии и патофизиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Эсмедляева Д.С., к.б.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальной медицины ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;

Яблонский П.К., д.м.н., профессор, директор ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия; проректор по медицинской деятельности ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Dyakova M.E., DSc (Biology), Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Serebryanaya N.B., DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of General Immunology, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Esmedlyeva D.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Yablonskiy P.K., DSc (Medicine), Professor, Director of the St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation; Vice-Rector for Medical Activities, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation.