

УДК 616.24-002.5:612.112

Динамика показателей функциональной активности лейкоцитов у больных инфильтративным туберкулезом легких

М.Е. Дьякова¹, Н.П. Алексеева^{1,2}, Д.С. Эсмедляева¹, Т.Л. Перова¹,
Е.Г. Соколович^{1,3}, Н.Н. Петрищев², П.К. Яблонский^{1,3}

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

³ Санкт-Петербургский государственный университет

Dynamics of indicators of the functional activity of leukocytes in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis

M. Dyakova¹, N. Alexeeva^{1,2}, D. Esmedlyaeva¹, T. Perova¹,
E. Cokolovich^{1,3}, N. Petrishchev², P. Yablonskiy^{1,3}

¹ St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology

² Pavlov First St. Petersburg State Medical University

³ St. Petersburg State University

© Коллектив авторов, 2018 г.

Резюме

В гетерогенной популяции клеточных элементов, участвующих в развитии воспаления, реакция фагоцитов на агрессию *Mycobacterium tuberculosis* признается наиболее ранним звеном патогенеза воспаления, предшествующим включению других механизмов, ответственных за клинический исход. С этой точки зрения представляется перспективным изучение функциональной активности фагоцитирующих клеток, вовлеченных в формирование иммунного ответа и воспалительной реакции при туберкулезе легких. Больные впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ, n=106), исходя из динамики клинко-рентгенологических данных, ретроспективно были поделены на две группы: «значительное улучшение» — исчезновение симптомов интоксикации, абациллирование, закрытие полостей распада; «улучшение» — ликвидация симптомов интоксикации, абациллирование, выраженное рассасывание очаговых и

инфильтративных изменений, уменьшение полостей распада. У больных ИТЛ оценивали функциональный статус лейкоцитов до лечения и по окончании интенсивной фазы химиотерапии. Для больных впервые выявленным ИТЛ независимо от выраженности клинко-рентгенологического эффекта характерны односторонние, но разной степени выраженности изменения активности ферментов пуринового метаболизма, уровня оксидативного и нитрозилирующего стресса иммунокомпетентных клеток, кислороднезависимой бактерицидной активности нейтрофилов. Уровень экспрессии экто-АДА-2 зависел от выраженности клинко-рентгенологического эффекта. Кооперация мононуклеарных фагоцитов и нейтрофилов, обеспечивающая функционирование единого фагоцитарного комплекса, играющего ключевую роль в элиминации *Mycobacterium tuberculosis*, характерна для «значительного улучшения». Сохраняющиеся высокие/низкие показатели функционального статуса лейкоцитов свиде-

тельствуют об активности специфического процесса, о незавершенности воспаления, несмотря на абациллирование, и необходимости продолжения лечения.

Ключевые слова: мононуклеары, нейтрофилы, аденозиндезаминаза, CD26, оксидативный и нитрозилирующий стресс, кислороднезависимая бактерицидная активность

Summary

In a heterogeneous population of cellular elements involved in the development of an inflammatory response, the phagocyte response to *Mycobacterium tuberculosis* aggression is recognized as the earliest link in the pathogenesis of inflammation prior to inclusion of other mechanisms responsible ultimately for the clinical outcome. From this point of view, it seems promising to study phagocytes cells involved in the formation of an immune response and an inflammatory reaction in pulmonary tuberculosis. Patients newly diagnosed with untreated infiltrative pulmonary tuberculosis (ITL, n=106), based on the dynamics of clinical and radiological data, were retrospectively divided into two groups: «significant improvement» — disappearance of symptoms of intoxication,

abacillation, closure of decay cavities; «improvement» — elimination of symptoms of intoxication, abacillation, pronounced resolution of focal and infiltrative changes, reduction of cavities of decay. For patients ITL, irrespective of the severity of the clinical and radiological effect, unidirectional but different degrees of severity, changes in the activity of the enzymes of purine metabolism, the level of oxidative and nitrosylating stress of immunocompetent cells, oxygen-independent bactericidal activity of neutrophils are characteristic. The expression level of ecto-ADA-2 depended on the severity of the clinical and radiological effect. The co-operation of mononuclear phagocytes and polymorphonuclear leukocytes, which ensures the functioning of a single phagocytes cellular domain that plays a key role in the elimination of Mtb, is characteristic of a «significant improvement». The remaining high/low indicators of the functional status of leukocytes indicate the preservation of the activity of a specific process, the incompleteness of inflammation, despite the abacillation, and the need for continued treatment.

Keywords: mononuclears, neutrophils, adenosine deaminase, CD26, oxidative and nitrosylating stress, oxygen-independent bactericidal activity

Введение

В формировании туберкулезного процесса в легких важное место отводится состоянию системы защитных клеточных реакций в очаге поражения. В гетерогенной популяции клеточных элементов, участвующих в развитии воспаления, реакция фагоцитов на агрессию *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) признается наиболее ранним звеном патогенеза воспаления, предшествующим включению других механизмов, ответственных за клинический исход.

С этой точки зрения представляется перспективным изучение функциональной активности фагоцитирующих клеток, вовлеченных в формирование иммунного ответа и воспалительной реакции при туберкулезе легких. Для оценки клеточного звена воспалительного процесса используются биохимические индикаторы функциональной активности клеток [1–3]. Важное место при этом отводится особенностям межклеточного взаимодействия, которое может быть скоординированным или дезинтегрированным на различных этапах воспалительного процесса, в том числе и под влиянием лекарственного воздействия.

Несмотря на то, что ранее уже изучались некоторые характеристики функционального состояния циркулирующих фагоцитов у больных с разными

вариантами течения туберкулеза легких [4–6], комплексное исследование функциональных свойств лейкоцитов у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких не проводилось.

Цель исследования

Оценить функциональный статус лейкоцитов у больных инфильтративным туберкулезом легких до и после завершения интенсивной фазы противотуберкулезной терапии в зависимости от выраженности клинко-рентгенологического эффекта.

Материалы и методы исследования

Обследованы 106 больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ): 47 мужчин и 59 женщин в возрасте 17–74 лет (M=28). Обследование больных ИТЛ осуществляли при поступлении в клинику института и по окончании интенсивной фазы (ИФ) химиотерапии [7]. В зависимости от динамики клинко-рентгенологических данных ретроспективно были выделены две группы: «значительное улучшение» (n=69) — исчезновение симптомов интоксикации, абациллирование, закрытие полостей распада; «улучшение» (n=37) — ликвидация симптомов интоксикации, абациллирование, выраженное рассасывание очаговых и инфильтративных изменений, уменьшение полостей распада.

Сравниваемые группы больных значимо не различались по распространенности специфического процесса ($p=0,05$), массивности бактериовыделения, лекарственной чувствительности *Mtb* к противотуберкулезным препаратам ($p=0,05$) (табл. 1).

В референсную (контрольную) группу (РГ) были включены 20 практически здоровых доноров с сопоставимыми по полу и возрасту характеристиками.

Оксидативный стресс оценивали по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тесту): спонтанному (НСТс), индуцированному зимозаном (НСТи) и их соотношению — индексу стимуляции (Инд.ст.).

Нитрозилирующий стресс оценивали по генерации стабильных метаболитов NO. Концентрацию общего ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$), эндогенного (NO_2^-) нитрита и нитрата (NO_3^-) в мононуклеарах и нейтрофилах определяли с помощью набора Total NO/Nitrite/Nitrate (R&D Systems, Канада).

Мононуклеары (мн) и нейтрофилы (н) выделяли из периферической крови в градиенте плотности (1,077) верографин-фиолла [8]. Кислороднезависимую бактерицидную активность нейтрофилов изучали по активности эластазы (Эл) — методом L. Visser и E.R. Blout и уровню лактоферрина (Лф) — методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов лактоферрин-стрип D4156 (ЗАО «Вектор-Бест»).

Активность аденозиндезаминазы (АДА) и ее изоферментов (АДА-1 и АДА-2) определяли в сыворотке крови (экто-АДА) и лизатах моноцитов и нейтрофилов — методом G. Giusti (1974).

Концентрацию CD26 в мононуклеарах и нейтрофилах крови определяли иммуноферментным набором Elisa Human sCD26 Platinum ELISA («eBioscience», Австрия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0. Метрические показатели представлялись в виде среднего и ошибки среднего ($X \pm m$), порядковые — в виде минимум-максимум. Оценка достоверности различия метрических показателей проводилась с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни, проверка значимости ре-

зультатов ранговых коэффициентов корреляции Спирмена — на основе статистики Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

При сопоставлении средних значений показателей функциональной активности мононуклеаров в обеих анализируемых группах по сравнению с РГ до лечения было отмечено: снижение синтеза ключевого фермента пуринового метаболизма — АДА ($p<0,00002$) за счет уменьшения активности его изофермента АДА-1 ($p<0,0002$) наряду с ростом экспрессии экто-АДА-2 ($p=0,00000$) и CD26 ($p<0,0003$) этими клетками (табл. 2). У больных с улучшением активность экто-АДА-2 была выше ($p=0,01$), чем у пациентов со значительным улучшением.

Уровни бактерицидной активности мононуклеаров не различались у анализируемых групп (табл. 3). При этом уровни показателей оксидативного стресса определялись в пределах референсного диапазона, а нитрозилирующего (концентрация нитрита суммарного и эндогенного) — ниже ($p<0,003$). Уровень функционального резерва мононуклеаров у больных со значительным улучшением был выше референсного ($p=0,047$), тогда как в группе сравнения значимо от них не отличался. Продукция нитрата мононуклеарами в группе «улучшение» была выше ($p=0,016$), чем в РГ, а в группе «значительное улучшение» — идентична таковой в РГ. При этом уровень NO_3^- ниже пороговой величины ($X-\sigma$) у больных с улучшением определялся в 1,7 раза чаще ($p=0,04$), чем в группе сравнения.

Активность ферментов пуринового метаболизма нейтрофилов не зависела от выраженности клинико-рентгенологического эффекта. В обеих группах, по сравнению с референсной, отмечено снижение синтеза внутриклеточной активности АДА за счет АДА-1, рост экспрессии CD26 нейтрофилами.

Изменение показателей кислороднезависимой и кислородзависимой бактерицидной активности нейтрофилов в обеих анализируемых группах было однонаправленное, но разной степени выраженности. В обеих группах был отмечен рост уровня Лф и активности Эл: 56 и 35% выше порогового уровня ($p=0,07$)

Таблица 1

Характеристика больных ИТЛ с учетом результатов противотуберкулезной терапии

Группа	Распространенность поражения		Массивность бактериовыделения (степень)			Резистентность <i>Mtb</i>		
	1–2 сегмента	3–5 сегментов	с отсутствием <i>Mtb</i>	1	2	3	чувствительные	резистентные
Значительное улучшение	38 (55,0%)	31 (45,0%)	17 (25,0%)	23 (33,0%)	13 (19,0%)	16 (23,0%)	38 (55,0%)	31 (45,0%)
Улучшение	13 (45,0%)	24 (65,0%)	5 (14,0%)	10 (27,0%)	6 (16,0%)	16 (43,0%)	13 (35,0%)	24 (65,0%)

Показатели пуринового метаболизма у больных с впервые выявленным туберкулезом легких до и по окончании интенсивной фазы химиотерапии в зависимости от выраженности клинико-рентгенологического эффекта

Показатель	Группы				
	РГ	значительное улучшение		улучшение	
		до лечения	по окончании ИФ ХТ	до лечения	по окончании ИФ ХТ
Мононуклеары					
АДА-2, ед./л	11,0±0,2	14,1±0,45*	15,6±0,94*	17,1±1,3* **	19,4±1,68* **
АДА, ед./10 ⁶ кл.	2,95±0,3	1,7±0,18*	2,05±0,15*	1,6±0,19*	2,1±0,27*
АДА-1, ед./10 ⁶ кл.	2,18±0,2	1,3±0,18*	1,33±0,12*	1,15±0,18*	1,45±0,17*
АДА-2, ед./10 ⁶ кл.	0,74±0,2	0,45±0,06	0,73±0,11	0,43±0,1	0,68±0,2
CD26, нг/10 ⁶ кл.	20,6±4,2	85,7±10,4*	79,9±9,8*	70,1±9,9*	63,2±9,0*
Нейтрофилы					
АДА, ед./10 ⁶ кл.	1,7±0,2	1,2±0,16*	1,3±0,15*	1,4±0,18*	1,39±0,2*
АДА-1, ед./10 ⁶ кл.	1,51±0,2	0,96±0,14*	0,96±0,12*	1,06±0,15*	1,0±0,19*
АДА-2, ед./10 ⁶ кл.	0,16±0,1	0,25±0,07	0,35±0,07	0,36±0,08	0,39±0,1
CD26, нг/10 ⁶ кл.	28,1±5,6	103,3±15,2*	105,8±24,7*	123,6±20,7*	116,2±29,8*

* Различия значимы по сравнению с референсной группой; ** различия значимы между группами.

в группе «значительное улучшение» и «улучшение» соответственно. Однако активность Эл в группе «улучшение» выявлялась ниже пороговой величины в 2,3 раза чаще ($p=0,04$), чем в группе сравнения, что и отразилось на ее средних значениях, не выходящих за пределы референсного диапазона.

Несмотря на то, что уровень спонтанного оксидативного стресса в группе «значительное улучшение» был в пределах референсного диапазона, а в группе «улучшение» превышал его ($p=0,046$), частота выявления уровня НСТс выше порогового значимо не зависела от выраженности клинико-рентгенологического эффекта (25 и 43%, $p=0,08$ в группах «значительное улучшение» и «улучшение» соответственно). В обеих группах уровень индуцированного оксидативного стресса определялся выше референсных значений ($p<0,02$), а индекс стимуляции значимо от них не отличался. Генерация нейтрофилами нитрита суммарного и эндогенного была снижена ($p<0,02$) независимо от выраженности клинико-рентгенологического эффекта. Уровень нитрата в группе «улучшение» определялся ниже референсных значений ($p=0,003$), а в группе сравнения — в их пределах. При этом в обеих группах уровень NO_3^- выше порогового выявлялся с идентичной частотой — 52 и 80% ($p=0,1$).

Таким образом, до начала химиотерапии у больных с улучшением активность экто-АДА-2 как маркера

активности мононуклеаров (моноцитов/макрофагов) была выше и чаще выявлялись сниженная продукция нитрата этими клетками и активность Эл.

К моменту завершения интенсивной фазы химиотерапии в группе «значительное улучшение», по сравнению с исходными данными, наблюдалось незначительное снижение ($p>0,05$) спонтанного уровня свободнорадикального окисления и продукции нитрата мононуклеарами, средние значения которых стали определяться значимо ниже референсного уровня ($p<0,03$). При этом индекс стимуляции нейтрофилов имел тенденцию к росту ($p>0,05$) и стал определяться выше референсного значения ($p=0,028$). Продукция нитрата этими клетками несколько снизилась ($p>0,05$) и стала ниже, чем в РГ ($p=0,0007$). Кислород-независимая функция, судя по уровню Лф, незначимо снизилась ($p=0,06$), но оставалась выше референсных значений.

У больных с улучшением индекс стимуляции мононуклеаров несколько возрос и стал выше ($p=0,01$), чем в РГ, то есть увеличился бактерицидный резерв. Активность Эл также незначительно возросла ($p>0,05$) и стала определяться значимо выше референсного уровня ($p=0,02$), что отражает рост дегрануляционной активности нейтрофилов.

Таким образом, по окончании интенсивной фазы лечения по сравнению с исходными данными у больных

Показатели бактерицидной активности лейкоцитов у больных с впервые выявленным туберкулезом легких до и по окончании интенсивной фазы химиотерапии в зависимости от выраженности клинко-рентгенологического эффекта

Показатель	Группы				
	РГ	значительное улучшение		улучшение	
		до лечения	по окончании ИФ ХТ	до лечения	по окончании ИФ ХТ
Мононуклеары					
НСТс, ед. опт. пл./10 ⁶ кл.	154,0±11,1	142,37±9,3	128,5±7,1*	155,6±12,3	134,5±10,8
НСТи, ед. опт. пл./10 ⁶ кл.	271,0±14,3	300,9±16,13	301,17±18,5	310,7±21,4	299,97±22,4
ИНДст.	1,9±0,14	2,25±0,11*	2,4±0,1*	2,17±0,14	2,37±0,14*
NO ₂ /NO ₃ ⁻ , нг/10 ⁶ кл.	0,04±0,004	0,019±0,003*	0,015±0,001*	0,016±0,003*	0,011±0,001*
NO ₂ , нг/10 ⁶ кл.	0,02±0,002	0,005±0,001*	0,006±0,001*	0,004±0,001*	0,005±0,001*
NO ₃ , нг/10 ⁶ кл.	0,02±0,0025	0,015±0,003	0,009±0,001*	0,011±0,003*	0,006±0,002*
Нейтрофилы					
Эл, мЕ	157,6±5,3	195,1±5,93*	196,3±6,5*	179,1±8,3	183,9±7,03*
Лф, нг/мл	404,5±33,3	1220,7±90,7*	975,8±126,4*	1558,6±223,3*	1483,4±318,3*
НСТс, ед. опт. пл./10 ⁶ кл.	114,8±7,26	135,0±5,97	132,3±6,5	145,7±10,0*	154,7±11,4*
НСТи, ед. опт. пл./10 ⁶ кл.	206,4±12,4	275,0±15,0*	296,3±17,9*	313,9±25,1*	308,3±20,5*
ИНД ст.	1,8±0,06	2,09±0,09	2,25±0,1*	2,13±0,11	2,14±0,11
NO ₂ /NO ₃ ⁻ , нг/10 ⁶ кл.	0,08±0,012	0,043±0,009*	0,026±0,005*	0,026±0,006*	0,022±0,005*
NO ₂ , нг/10 ⁶ кл.	0,05±0,008	0,02±0,005*	0,014±0,004*	0,01±0,003*	0,014±0,006*
NO ₃ , нг/10 ⁶ кл.	0,03±0,0036	0,025±0,006	0,013±0,002*	0,015±0,003*	0,008±0,002*

* Различия значимы по сравнению с референсной группой.

со значительным улучшением стал более мощным бактерицидный потенциал нейтрофилов, а у больных с улучшением — мононуклеаров, наряду с ростом кислороднезависимого потенциала нейтрофилов.

По окончании интенсивной фазы лечения активность экто-АДА-2 у больных с улучшением была выше ($p=0,04$), чем в группе сравнения, отражая напряженность функциональной активности макрофагов/моноцитов. Уровень спонтанного НСТ-теста мононуклеаров в группе «улучшение» определялся в пределах референсного диапазона, а в группе сравнения был значимо ниже ($p=0,03$). При этом в обеих группах уровень НСТс.мн ниже $X-\sigma$ встречался с одинаковой частотой (46 и 41%, $p=0,6$). Базальный уровень свободнорадикального окисления нейтрофилов в группе «значительное улучшение» значимо не отличался от референсных значений, а в группе «улучшение» их превышал ($p=0,02$), но частота выявления этого показателя выше порогового уровня значимо не различалась (28 и 46% соответственно, $p=0,06$). Индекс стимуляции нейтрофилов был снижен ($<X-\sigma$) у 30% больных

Таблица 4

Коэффициенты корреляций показателей функциональной активности лейкоцитов исходно и по окончании интенсивной фазы в зависимости от эффективности лечения

Показатель	Значительное улучшение	Улучшение
АДА-2	0,43 (0,0003)	0,49 (0,002)
CD26мн	0,33 (0,00003)	—
NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ мн	0,35 (0,0004)	—
NO ₂ -мн	0,31 (0,003)	—
NO ₃ -мн	0,35 (0,000001)	—
АДАн	—	0,4 (0,02)
CD26нф	0,37 (0,006)	—
Эл	—	0,48 (0,003)
НСТи.нф	0,4 (0,002)	—
NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ нф	—	0,33 (0,04)
NO ₃ -нф	—	0,34 (0,0005)

с улучшением и только у 14% — со значительным улучшением ($p=0,048$), что и отразилось на результатах сравнения этого коэффициента с референсной группой, то есть у больных с лучшей динамикой лечения стал более выраженным бактерицидный резерв нейтрофилов.

С целью оценки прогностической значимости исследованных показателей функциональной активности лейкоцитов был проведен корреляционный анализ каждого показателя до и по окончании ИФ

(табл. 4). В ходе его выполнения выявлен ряд показателей, исходные изменения которых взаимосвязаны с последующей динамикой специфического процесса и могут быть использованы при прогнозировании эффективности интенсивной фазы лечения.

Доказательством этому служит полученная в результате логистического дискриминантного анализа функция:

$$D = -0,0156 \cdot \text{Эл} + 0,1144 \cdot \text{АДА-2} + 0,0088 \cdot \text{НСТс.нф} + 0,0036 \cdot \text{НСТИ.мн} + 0,0036.$$

Таблица 5

Взаимосвязи между показателями функциональной активности лейкоцитов у больных с впервые выявленным туберкулезом легких до и по окончании интенсивной фазы химиотерапии в зависимости от выраженности клинко-рентгенологического эффекта

Корреляционные пары		Группы			
		значительное улучшение		улучшение	
		до лечения	по окончании ИФ химиотерапии	до лечения	по окончании ИФ химиотерапии
Активность фагоцитирующих клеток					
АДА _{мн}	АДА _{нф}	$r=0,34; p=0,008$	—	$r=0,4; p=0,01$	$r=0,35; p=0,05$
АДА-1 _{мн}	АДА-1 _{нф}	$r=0,35; p=0,005$	—	—	—
АДА-2 _{мн}	АДА-2 _{нф}	$r=0,36; p=0,004$	—	$r=0,46; p=0,005$	—
CD26 _{мн}	CD26 _{нф}	$r=0,42; p=0,00001$	—	—	—
	НСТс.мн	$r=0,43; p=0,04$	—	—	—
	НСТИ.мн	—	$r=0,5; p=0,001$	—	—
NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ _{мн}	NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ _{нф}	$r=0,4; p=0,03$	—	—	—
NO ₂ ⁻ _{мн}	NO ₂ ⁻ _{нф}	$r=0,5; p=0,007$	—	—	—
NO ₃ ⁻ _{мн}	NO ₃ ⁻ _{нф}	$r=0,53; p=0,004$	—	—	—
НСТс.мн	НСТИ.мн	$r=0,7; p=0,000000$	$r=0,72; p=0,000000$	$r=0,73; p=0,000001$	$r=0,74; p=0,000000$
	НСТс.нф	$r=0,4; p=0,001$	—	$r=0,42; p=0,01$	—
	НСТИ.нф	—	—	$r=0,37; p=0,028$	—
НСТИ.мн	НСТИ.нф	$r=0,46; p=0,0001$	—	$r=0,34; p=0,048$	—
АДА _{нф}	НСТс.нф	—	—	—	$r=0,4; p=0,02$
	NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ _{нф}	$r=0,48; p=0,01$	—	—	—
	NO ₂ ⁻ _{нф}	$r=0,55; p=0,01$	—	—	—
АДА-1 _{нф}	НСТс.нф	—	—	—	$r=0,47; p=0,004$
	NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ _{нф}	$r=0,48; p=0,01$	—	—	—
	NO ₂ ⁻ _{нф}	$r=0,58; p=0,001$	—	—	—
CD26 _{нф}	НСТИ.нф	$r=0,44; p=0,047$	—	—	—
	NO ₃ ⁻ _{нф}	—	—	$r=0,7; p=0,03$	—
НСТс.нф	НСТИ.нф	$r=0,5; p=0,00002$	$r=0,67; p=0,000005$	$r=0,82; p=0,000000$	$r=0,7; p=0,000000$
	НСТИ.мн	$r=0,4; p=0,001$	—	—	—

При этом с точностью до 76,3% при значениях $D < 0$ пациенты относились к группе «значительное улучшение», а при значении $D > 0$ — к группе — «улучшение». Целесообразность включения в дискриминантную функцию показателей оксидативного стресса согласуется и с исследованиями Н.А. Земляной (2007), Г.О. Каминской (2002).

Проведенный корреляционный анализ в группе «значительное улучшение» до начала противотуберкулезной терапии выявил сопряженность функционирования иммунокомпетентных клеток (табл. 5). Полученные взаимосвязи до лечения между показателями нитрозилирующего, оксидативного стресса в группе «значительное улучшение» и только оксидативного в группе «улучшение», вероятно, позволяют говорить о кооперации мононуклеарных фагоцитов и полиморфноядерных лейкоцитов, которая обеспечивает функционирование единого фагоцитарного клеточного домена, играющего ключевую роль в элиминации *Mtb*. При этом межклеточная кооперация была более выражена у больных с лучшей динамикой.

Отмеченные взаимосвязи между активностью АДА, CD26 мононуклеаров и нейтрофилов, а также между ними и показателями оксидативного и нитрозилирующего стресса иллюстрируют основную функцию АДА — регуляция уровня аденозина, играющего важную роль в клеточном иммунитете, метаболизме фагоцитирующих лейкоцитов. В этой связи АДА рассматривается в качестве маркера напряженности иммунного ответа, в котором принимают участие все три изофермента аденозиндезаминазы — АДА-1, АДА-2 и АДА — в комплексе с протеином (АДАср), идентифицированная как дипептидилпептидаза IV — активационный антиген CD26 [9, 10]. Если основная роль АДА-1 — деградация внутриклеточного аденозина и предохранение клеток от апоптоза, то АДА-2 и комплекса CD26-АДА — дезаминирование внеклеточного аденозина [11, 12]. АДА усиливает генерацию O_2^- нейтрофилами, снижая ингибирующее действие системы аденозин/сАМР и активируя рецептор A_1 [13].

После завершения интенсивной фазы химиотерапии независимо от ее эффективности отмечены связи между показателями оксидативного стресса только внутри каждого вида клеток при отсутствии «межклеточных взаимоотношений», что, по-видимому, объясняется абациллированием.

Таким образом, у больных ИТЛ активность экто-АДА-2 имела тенденцию к росту по окончании интенсивной фазы химиотерапии. Наши данные согласуются с исследованием Z. Kartaloglu и соавт. (2006), которые показали, что уровень АДА-2 при туберкулезе слабо повышается в первые месяцы лечения, но снижается в течение последующего лечения (6 мес) параллельно эффективности терапии, и это можно связать с активацией лимфоцитов. Так как среди активированных клеток доминируют клетки, экспрессирующие CD26 и АДА, можно предположить, что при впервые выявленном ИТЛ независимо от выраженности клинко-рентгенологического эффекта иммунокомпетентные клетки активированы и после завершения интенсивной фазы лечения. Это подтверждается мобилизацией оксидативного бактерицидного потенциала фагоцитирующих клеток и ростом кислороднезависимой бактерицидной активности нейтрофилов.

Выводы

- Для больных впервые выявленным ИТЛ независимо от выраженности клинко-рентгенологического эффекта характерны односторонние, но разной степени выраженности изменения активности ферментов пуринового метаболизма, уровня оксидативного и нитрозилирующего стресса иммунокомпетентных клеток, кислороднезависимой бактерицидной активности нейтрофилов.
- Уровень экспрессии экто-АДА-2 зависит от выраженности клинко-рентгенологического эффекта.
- Кооперация мононуклеарных фагоцитов и нейтрофилов, обеспечивающая функционирование единого фагоцитарного комплекса, играющего ключевую роль в элиминации *Mtb*, характерна для «значительного улучшения».
- Сохраняющиеся высокие/низкие показатели функционального статуса лейкоцитов свидетельствуют об активности специфического процесса, о незавершенности воспаления, несмотря на абациллирование, и необходимости продолжения лечения.

Список литературы

1. Абдуллаев Р.Ю., Каминская Г.О., Комисарова О.Г. Бактерицидная активность легочных и циркулирующих фагоцитов при туберкулезе легких // Туберкулез и болезни легких. 2014. № 12. С. 8–24. Abdullaev R.Yu., Kaminskaya G.O., Komisarova O.G.

2. Дьякова М.Е., Журавлев В.Ю., Торкатюк Е.А. и др. Аденозиндезаминаза в патогенезе инфильтративного туберкулеза легких и пневмонии // Медицинский альянс. 2015. № 4. С. 60–67.

- D'yakova M.E., Zhuravlev V.Yu., Torkatyuk E.A. i dr.* Adenozindezaminaza v patogeneze infil'trativnogo tuberkuleza legkih i pnevmonii // Medicinskij alyans. 2015. N 4. S. 60–67.
3. *Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Павлова М.В. и др.* Неоптерин сыворотки крови как интегральный показатель активности процесса у больных инфильтративным туберкулезом легких // Медицинский альянс. 2016. № 2. С. 20–25. *Ehsmedlyayeva D.S., Alekseeva N.P., Pavlova M.V. i dr.* Neopterin syvorotki krovi kak integral'nyj pokazatel' aktivnosti processa u bol'nyh infil'trativnym tuberkulezom legkih // Medicinskij alyans. 2016. N 2. С. 20–25.
 4. *Каминская Г.О., Абдуллаев Р.Ю., Серебряная Б.А., Мартынова Е.В.* Биохимические аспекты оценки реактивности организма у больных туберкулезом легких // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2001. № 7. С. 62–65. *Kaminskaya G.O., Abdullaev R.Yu., Serebryanaya B.A., Martynova E.V.* Biohimicheskie aspekty ocenki reaktivnosti organizma u bol'nyh tuberkulezom legkih // Problemy tuberkuleza i boleznej legkih. 2001. N 7. S. 62–65.
 5. *Каминская Г.О., Абдуллаев Р.Ю.* Некоторые метаболические характеристики циркулирующих фагоцитов у больных с разными вариантами течения туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза. 2002. № 3. С. 38–42. *Kaminskaya G.O., Abdullaev R.Yu.* Nekotorye metabolicheskie harakteristiki cirkuliruyushchih fagocitov u bol'nyh s raznymi variantami techeniya tuberkuleza legkih // Problemy tuberkuleza i boleznej legkih. 2002. N 3. S. 38–42.
 6. *Земляная Н.А.* Клинико-иммунологические особенности туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.43, 14.00.26. Томск, 2007. 23 с. *Zemlyanaya N.A.* Kliniko-immunologicheskie osobennosti tuberkuleza legkih s mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu: avtoref. dis. ... kand. med. nauk: 14.00.43, 14.00.26. Tomsk, 2007. 23 s.
 7. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации / под ред. П.К. Яблонского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 240 с.
 8. *Томолян А.А., Балдуева И.А., Бубнова Л.Н. и др.* Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека // Клиническая лабораторная диагностика. 2001. № 8. С. 38–45. *Totolyan A.A., Baldueva I.A., Bubnova L.N. i dr.* Standartizacia metodov immunofenotipirovaniya kletok krovi i kostnogomozgacheloveka // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2001. N 8. S. 38–45.
 9. *Zanini D., Schmatz R., Pimentel V.C. et al.* Lung cancer alters the hydrolysis of nucleotides and nucleosides in platelets // Bio-med. Pharmacother. 2012. Vol. 66, N 1. P. 40–45. doi: 10.1016/j.biopha.2011.09.003.
 10. *Кноринг Б.Е., Титаренко О.Т., Сахарова И.Я. и др.* Взаимосвязь продукции цитокинов и активности аденозиндезаминазы при туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза и болезни легких. 2000. № 3. С. 38–41. *Knoring B.E., Titarenko O.T., Saharova I.Ya. i dr.* Vzaimosvyaz' produkciicitokinov i aktivnostiadenzaminazy pri tuberkuleze legkih // Problemy tuberkuleza i bolezni legkih. 2000. N 3. S. 38–41.
 11. *Franco R., Pacheco R., Gatell J.M. et al.* Enzymatic and extraenzymatic role of adenosine deaminase 1 in T-cell-dendritic cell contacts and in alterations of the immune function // Crit. Rev. Immunol. 2007. Vol. 27. P. 495–509. doi: 10.1615/CritRevImmunol.V27.i6.10.
 12. *Eckle T., Koeppen M., Eltzsching H.K.* Role of extracellular adenosine in acute lung injury // Physiology. 2009. Vol. 24, N 5. P. 298–306. doi: 10.1152/physiol.00022/2009.
 13. *Kälvegren H., Fridfeldt J., Bengtsson T.* The role of plasma adenosine deaminase in chemoattractant-stimulated oxygen radical production in neutrophils // Eur. J. Cell Biol. 2010. Vol. 89, N 6. P. 462–467. doi:10.1016/j.jecb.2009.12.004.
 14. *Kartaloglu Z., Okutan O., Bozkanat E. et al.* The course of serum adenosine deaminase levels in patients with pulmonary tuberculosis // Med. Sci. Monit. 2006. Vol. 12, N 11. P. 476–480.

Поступила в редакцию 22.01.2018 г.

Сведения об авторах:

Дьякова Марина Евгеньевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 194064, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 32; e-mail: marina-dyakova@yandex.ru;

Алексеева Нина Петровна — кандидат математических наук, заведующая лабораторией биомедицинской статистики отдела фармакоэпидемиологии и биомедицинской статистики Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д. 12; старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: ninaalexejeva@mail.ru;

Эсмедляева Дилжара Салиевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 194064, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 32; e-mail: diljara-e@yandex.ru;

Перова Татьяна Леонидовна — научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 194064, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 32; e-mail: tanyaphome@yandex.ru;

Соколович Евгений Георгиевич — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; e-mail: sokole@mail.ru;

Петрищев Николай Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра лазерной медицины Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8; e-mail: lasmed@yandex.ru;

Яблонский Петр Казимирович — доктор медицинских наук, профессор, директор Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2–4; декан медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета; 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9; e-mail: piotr_yablonskii@mail.ru.