

## **Роль белков нервной регуляции PGP 9,5 и NGF в механизме туберкулёзного воспаления**

**Зубарева Т.С.<sup>1,5</sup>, Лыкова К.О.<sup>1,2</sup>, Леонтьева Д.О.<sup>1,5</sup>, Крылова Ю.С.<sup>1,3</sup>, Дохов М.А.<sup>1,4</sup>**

- <sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации. 191036, Санкт-Петербург, Лиговский проспект, д. 2–4
- <sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого». 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29
- <sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
- <sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2
- <sup>5</sup> Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3

## ***The role of nervous regulation proteins PGP 9.5 and NGF in the mechanism of tuberculous inflammation***

**Zubareva T.S.<sup>1,5</sup>, Lykova K.O.<sup>1,2</sup>, Leontieva D.O.<sup>1,5</sup>, Krylova Yu.S.<sup>1,3</sup>, Dokhov M.A.<sup>1,4</sup>**

- <sup>1</sup> St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Ligovskiy Prospekt 2-4, St. Petersburg 191036, Russian Federation
- <sup>2</sup> Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University, Polytechnicheskaya Str. 29, St.Petersburg 195251, Russian Federation
- <sup>3</sup> I.P.Pavlov St. Petersburg First State Medical University, L'va Tolstogo str. 6-8, St. Petersburg 197022, Russian Federation
- <sup>4</sup> St. Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya str. 2, St. Petersburg 194100, Russian Federation
- <sup>5</sup> Research Center, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Dynamo Pr. 3, St. Petersburg 197110, Russian Federation

Нейрональные белки NGF и PGP9,5 были описаны, как белки регуляции нервной системы, однако они синтезируются многими типами клеток и обладают большим разнообразием функций за пределами нервной системы, участвуя, в том числе, в нормальных и патологических процессах в дыхательной системе. В легких присутствуют многочисленные источники NGF, он экспрессируется эпителиальными клетками легких, фибробластами, нейрональными, эндотелиальными и иммунными клетками. Большинство иммунных клеток имеют высоко- и низкоафинные рецепторы к NGF, через которые NGF стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов. При этом провоспалительные цитокины (TNF (фактор некроза опухоли) и инерлейкин-1 $\beta$ ) вызывают повышение экспрессии NGF. Белок PGP9,5 чаще всего используется в качестве маркера симпатических и парасимпатических нервных волокон. Известно, что PGP9,5 также играет роль в воспалении, репарации и ремоделировании тканей, однако точные механизмы этих процессов до конца не изучены. Многие работы по изучению

PGP9,5 иллюстрируют как положительные, так и отрицательные эффекты данного белка при различных заболеваниях. Воспаление при туберкулезе характеризуется образованием специфических узелков — гранулем, представленных скоплениями клеток моноцитарно-макрофагального ряда и лимфоцитами. Центральные зоны гранулем подвергаются казеозному некрозу с одномоментным началом репаративных процессов. Восстановление ткани происходит в результате замещения дефекта соединительной ткани и регенерации паренхиматозных клеток ткани. Воспаление при туберкулезе носит циклический характер, воспаление и разрушение ткани сменяется на фазу репаративных процессов. В литературных данных отмечено, что нейрональные белки NGF и PGP9,5 участвуют, как в процессе воспаления, так и в процессах репарации, поэтому оценка их экспрессии в гранулемах при туберкулезе легких позволит оценить их роль в развитии данной патологии.

**Цель работы.** Определить уровень экспрессии нейрональных белков NGF и PGP9,5 на протяжении

формирования и развития гранулем при туберкулезном воспалении.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 27 пациентов, получивших хирургическое лечение очаговых форм туберкулеза легких. Для исследования были отобраны образцы легочной ткани, содержащие туберкулемы и эпителиоидноклеточные гранулемы. По соотношению воспалительных и репаративных процессов внутри гранулем, были сформированы 3 группы: 1 – преобладание в гранулеме репаративных процессов, 2 – стихание воспаления, стабилизация процесса, начало репарации, 3 – активное воспаление с наличием нейтрофильных лейкоцитов.

С помощью методов иммуногистохимии внутри гранулем были верифицированы белки NGF (ab52918, Abcam, UK, 1:200) и PGP9,5 (ab108986, Abcam, UK, 1:1000). Исследование образцов проводили с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Olympus IX73, цифровой камеры Olympus DP80, персонального компьютера на базе AMD Ryzen 3 3200G и программного обеспечения CellSens. Для количественной оценки экспрессии биомаркера определяли относительную площадь экспрессии, которая рассчитывалась, как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражалась в процентах.

**Результаты.** В результате исследования было определено, что относительная площадь экспрессии белка PGP9,5 в сформированных группах исследования составляет: 1 – 1,42%; 2 – 1,02%; 3 – 0,70% со статистически значимыми различиями между 1 группой (преобладание в гранулеме репаративных процессов) и 3 группой (активное воспаление с наличием нейтрофильных лейкоцитов). При этом уровни экспрессии белка NGF не показали статистически значимых различий между

группами и составляли: 1 – 1,33%; 2 – 1,12%; 3 – 1,02% соответственно. Накопление большого количества иммунных клеток, необходимых для борьбы с микобактерией туберкулеза, приводит к выбросу большого количества медиаторов воспаления, с последующим некрозом ткани. Низкие показатели маркера в стадии активного воспаления связаны с преобладанием пула нейтрофилов и деструкции над пролиферацией. С началом репаративного процесса уровень увеличивается с продолжающимся ростом. Высокие уровни PGP9,5 в группе с преобладанием в гранулеме репаративных процессов демонстрируют важную роль белка в восстановлении и обеспечении роста нервных терминалей, что ассоциировано с лучшим прогнозом для выздоровления. Тенденция к повышению уровня NGF внутри гранулемы с преобладанием репаративных процессов связана с увеличением количества источников NGF – фибробластов, клеток, продуцирующих элементы внеклеточного матрикса, необходимых для замещения поврежденного участка соединительной тканью. Однако, одновременно с этим, наблюдается стихание воспаления, в результате чего снижается продукция провоспалительных белков, которые активировали дополнительный синтез NGF. Эти два процесса привели к тому, что статистически значимых различий уровней NGF в гранулемах на разных этапах развития не выявлено.

**Заключение.** Проведенная работы продемонстрировала участие нейрональных факторов в течении туберкулезного процесса. Фактор роста NGF показал волнообразную экспрессию в процессе развития воспаления и репарации при туберкулезе, что ограничивает его использование в качестве возможного диагностического критерия для определения активности туберкулезного процесса. Экспрессия же PGP9,5 значимо отличалась в диагностических группах, что позволяет рассматривать его как возможный диагностический критерий.