

NET-ОБРАЗУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Н.В. Гусакова¹, А.С. Прокопович²

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

²ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Герпетическая инфекция является одной из наиболее актуальных проблем современной клинической медицины в связи с широким распространением, увеличением хроническим форм, учащением случаев рецидивирования и высокой резистентностью к проводимой терапии. Развитие хронической рецидивирующей инфекции (ХРГИ) и дальнейшее ее прогрессирование напрямую связано с состоянием систем защиты макроорганизма. Исследования последних лет показывают, что тяжелая герпесвирусная инфекция сопровождается дисфункцией клеточных и гуморальных звеньев иммунитета, а также неспецифических факторов защиты. Продемонстрировано нарушение процессов фагоцитоза и секреторной дегрануляции нейтрофилов, снижение кислород-продуцирующей функции, уменьшение активности катионных белков и миелопероксидазы.

В 2004 г. Arturo Zychlinsky открыл новый механизм реализации бактерицидных свойств нейтрофилов – формирование сетевидных образований (neutrophil extracellular traps, NET), состоящих из нуклеиновых кислот, белков-гистонов и гидролитических ферментов. Роль NET в реализации противовирусного иммунитета на данный момент остается малоизученной, исследования в этом направлении немногочисленны. Так, в экспериментальных моделях на животных продемонстрировано увеличение образования NET при инфицировании вирусом лейкемии, вирусом гриппа А. До настоящего времени отсутствуют сведения о значении NET при герпесвирусных инфекциях, что и определило цель нашего исследования.

Цель: изучить NET-образующую активность нейтрофилов у пациентов с ХРГИ.

Объектом исследования были лейкоциты крови 25 пациентов (9 мужчин и 16 женщин, возраст 18-46 лет) с ХРГИ тяжелого течения. Критериями тяжелого течения считали более 6 рецидивов в год, распространенный характер высыпаний, наличие симптомов общей интоксикации. Продолжительность заболевания варьировала от 1 года до 15 лет. У 16 пациентов диагностирована герпетическая инфекция внегенитальной локализации (лабиальный и назальный герпес), у 5 – аногенитальной области, у 4 – сочетание первых двух форм (смешанная). На момент обследования все пациенты находились в стадии ремиссии заболевания, исследования проводили до назначения медикаментозной терапии. Контрольную группу составили 37 сопоставимых по возрасту и полу практически здоровых лиц.

Оценивали образование NET в культурах лейкоцитов, инкубируемых в течение 150 мин без (спонтанный уровень; NET_{сп}) и с растворимыми продуктами *S. aureus* (стимулированный уровень; NET_{ст}). Далее суспензию наносили на предметное стекло, окрашивали акридиновым оранжевым по методике И.И. Долгушина с последующей люминесцентной микроскопией. Нейтрофильными экстрацеллюлярными сетями считали тонкие свободнолежащие ярко-зеленые нити, занимающие пространство, в 2-3 раза превосходящее диаметр неизменного нейтрофила. Учитывали четко дифференцируемые NET, сосчитанные на 200 нейтрофилов.

Статистический анализ проводился с использованием непараметрического U-критерия Манн-Уитни и метода Спирмена (r_s) для корреляционного анализа. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25%; 75%).

Выявлено, что у пациентов с ХРГИ количество NET в нестимулированных культурах лейкоцитов было значимо ниже, чем у здоровых лиц (3% (2; 4) и 5% (4; 7) соответственно, $p < 0,001$), тогда как в культурах с добавлением стимулятора – показатели NET у больных, напротив, превышали значения контрольной группы (15% (13; 16) и 9% (8; 11) соответственно, $p < 0,001$).

При индивидуальном анализе результатов каждого отдельного пациента мы обратили внимание на существенные различия по способности нейтрофилов к образованию NET и предположили, что это может быть обусловлено клиническими особенностями заболевания.

Учитывая данные других исследователей, что по мере увеличения продолжительности заболевания наблюдается усугубление иммунологической недостаточности, мы сравнили NET-образующую активность нейтрофилов у пациентов с длительностью заболевания менее 2 лет ($n=15$) и свыше 2 лет ($n=10$), при этом значимых различий между ними обнаружено не было.

Среди обследованных лиц с тяжелым течением ХРГИ частота рецидивов составляла ≥ 6 раз в год, однако у 13 пациентов заболевание приобретало непрерывно рецидивирующее, перманентное течение (количество обострений ≥ 12 раз в год). Значимых особенностей изменений показателей NET-образующей активности нейтрофилов в выделенных группах обнаружено не было.

При исследовании параметров NET в группах пациентов в зависимости от локализации герпетической инфекции у лиц с аногенитальной и смешанной формой выявлена значимо более высокая способность к образованию NETст в сравнении с лицами с внегенитальным герпесом (18% (16; 19) и 13% (11,5; 15) соответственно, $p < 0,001$). Полученные данные дополнительно подтверждаются наличием прямой взаимосвязи между уровнем NETст и локализацией герпетических высыпаний у обследованных больных ($r_s = 0,75$; $p < 0,001$).

Результаты исследования свидетельствуют, что у пациентов с ХРГИ образование нейтрофилами экстрацеллюлярных сетей имеет свои особенности: спонтанная NET-образующая активность снижена, тогда как стимулированная, напротив, повышена относительно значений контрольной группы. Нами не установлено различий параметров NET в зависимости от длительности и частоты рецидивирования заболевания, но обнаружена более высокая способность к формированию NET стимулированными культурами лейкоцитов у пациентов с аногенитальной и смешанной формой герпесвирусной инфекции в сравнении с лицами с внегенитальным герпесом.