

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ
ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ**

Гапаева Я. С., Железко В. В.

Научный руководитель: д.м.н., профессор И. А. Новикова

**Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

В настоящее время установлена важная роль нейтрофильных гранулоцитов (НГ) в развитии и течении ревматоидного артрита (РА) [1, 2]. На современном этапе представление о роли НГ в патогенезе РА было дополнено открытием способности НГ к образованию в ответ на действие эндо- и экзогенных стимулов так называемых нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps, NET) [3], которые предполагается участвуют в формировании аутоиммунного воспаления и могут выступать факторами аутоагрессии [1, 4]. Процесс образования внеклеточных ловушек НГ в совокупности с другими проявлениями бактерицидной активности нейтрофилов определяют их функциональный статус. При этом изменение параметров NET в комплексе с другими проявлениями реактивности НГ в зависимости от лабораторных особенностей РА не изучалось.

Цель

Оценить функциональный статус нейтрофилов при РА.

Материал и методы исследования

Исследовали лейкоциты 34 пациентов (22 серопозитивных и 12 серонегативных по РФ) с достоверным диагнозом РА (критерии ACR/EULAR 2010 г.) в возрасте от 20 до 50 лет, среди которых 22 женщины и 12 мужчин. Длительность заболевания варьировала от 3 месяцев до 26 лет. Степень активности РА согласно индексу DAS28 квалифицировалась как низкая у 17 пациентов, умеренная — у 11, высокая — у 6. Рентгенологическая стадия I по Штейн-брокеру установлена у 8 (23 %) пациентов, II — у 16 (47 %) пациентов, III — у 5 (15 %) пациентов, IV — у 5 (15 %) пациентов. По функциональному классу пациенты распределились следующим образом: с 1 ФК 7 пациентов, со 2 ФК 20 пациентов, с 3 ФК 7 пациентов.

Оценивали поглотительную активность НГ в реакции фагоцитоза *S. aureus* (10^8 КОЕ/мл), рассчитывая фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). Кислород-продуцирующую активность НФ определяли в реакции восстановления нитросинеготетразолия в спонтанном (НСТ_{сп}) и стимулированном *S. aureus* (НСТ_{ст}) вариантах с микроскопической оценкой результата. Интенсивность процессов NET-образования лейкоцитами исследовали в соответствии с нашей методикой [2]. Результат выражали как относительное количество внеклеточных ловушек на 100 сосчитанных лейкоцитов. Контрольную группу составили 42 практически здоровых лица, не имеющих клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности.

Концентрацию ревматоидного фактора (РФ) и С-реактивного белка (СРБ) определяли в сыворотке крови методом латекс-агглютинации (ООО «Анализ МедПром», Республика Беларусь), результат выражали в МЕ/мл для РФ и в мг/мл для СРБ.

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов, результаты выражали в виде медианы (Ме) и интерквартильного интервала (25; 75 %). Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты оценки функционального статуса нейтрофилов у пациентов с РА представлены в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что у пациентов с РА имеет место снижение кислородпродуцирующих свойств НГ в культурах клеток с индуктором (НСТ_{ст}) ($p = 0,005$) и поглотительной активности нейтрофилов (показатели ФИ, ФЧ) ($p < 0,05$) в сравнении с группой здоровых лиц. При этом угнетение кислородпродуцирующей активности гранулоцитами отмечалось в общей

группе пациентов с РА, а более значительные отклонения наблюдались у пациентов с высокой активностью воспалительного процесса. Так в группе пациентов с повышенными значениями СОЭ ($n = 14$) и СРБ ($n = 15$) исследование потенциальной способности нейтрофилов к выработке кислородных радикалов в стимулированном НСТ-тесте выявило значительное снижение показателя ($p < 0,01$ и $p < 0,01$ соответственно) относительно контрольной группы. Возможно выявленные особенности связаны с функциональным истощением гранулоцитов, которое максимально выражено по мере повышения активности воспалительного процесса.

Таблица 1 — Функциональный статус нейтрофилов у пациентов с РА

Показатель	Здоровые лица ($n = 42$)	Пациенты с РА ($n = 34$)
НСТ _{сп} , %	13,0 (9,0; 13,0)	10,0 (7,0; 16,0)
НСТ _{ст} , %	49,5 (46,0; 54,0)	42,0 (37,0; 52,0)*
NET _{сп} , %	3,0 (2,0; 3,0)	6,0 (3,0; 7,0)*
NET _{ст} , %	5,0 (3,0; 7,0)	9,0 (6,0; 12,0)*
ФИ, %	73,0 (68,0; 78,0)	59,0 (53,0; 65,0)*
ФЧ	8,0 (7,0; 8,0)	6,0 (5,0; 7,0)*

* Различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с группой здоровых лиц.

Противоположная тенденция наблюдалась при оценке образования нейтрофильных внеклеточных сетей (таблица 1) и выражалась в увеличении количества ловушек в NET_{сп} и NET_{ст} ($p < 0,01$ и $p < 0,01$ соответственно) по сравнению со здоровыми лицами. Причины данного явления до конца не ясны. По данным современных научных исследований, одним из индукторов высвобождения NET может выступать РФ [1], что в нашем исследовании подтверждалось наличием взаимосвязи средней силы ($r_s = 0,53$, $p = 0,027$) между концентрацией РФ и количеством внеклеточных ловушек в NET_{ст}. Дополнительное исследование параметров функциональной активности НГ и лабораторных особенностей РА у пациентов с максимально высокими значениями NET_{ст} (от 10 до 21 %, $n = 10$) выявило более высокое содержание лейкоцитов в периферической крови ($11,2$ ($9,5$; $12,9 \times 10^9/\text{л}$), $p < 0,043$ относительно здоровых лиц) в данной группе пациентов, а также установило взаимосвязи NET_{ст} ↔ НСТ_{сп} ($r_s = -0,5$; $p = 0,039$) и NET_{ст} ↔ концентрация РФ ($r_s = 0,48$; $p = 0,049$). Также отмечалась значимая взаимосвязь способности нейтрофилов к образованию ловушек (NET_{ст}) с количеством лейкоцитов ($r_s = 0,56$; $p = 0,031$) и сегментоядерных нейтрофилов ($r_s = 0,55$; $p = 0,049$) в периферической крови, не характерную для остальных пациентов с РА.

Примечательно сочетание повышенного уровня образования NET с угнетением кислородпродуцирующей активности НГ (таблица 1). Согласно данным литературы, за участие в этих процессах ответственны различные субпопуляции НГ [4]. Так образование нейтрофильных внеклеточных ловушек при 30-минутной инкубации происходит в основном через кислороднезависимый механизм, не связанный с NADPH-оксидазой [5]. Возможно, этим объясняется отсутствие значимых взаимосвязей между количеством NET и формазан-позитивных клеток (НСТ-тест). В то же время между NET_{сп} и поглотительной активностью НГ (ФИ) взаимосвязь была значимой и носила обратный характер ($r_s = -0,34$, $p = 0,026$). Это вполне логично, если учесть, что образование NET рассматривается как альтернативный фагоцитозу процесс [3].

Выводы

1. У пациентов с РА наблюдалось угнетение кислородпродуцирующей (НСТ-тест) и поглотительной (фагоцитоз *S. aureus*) активности нейтрофилов крови на фоне повышенной способности к образованию NET.
2. Установлена прямая взаимосвязь между концентрацией РФ в сыворотке крови и количеством нейтрофильных сетей.
3. Выявлено выраженное угнетение потенциальной способности нейтрофильных гранулоцитов к продукции кислородных радикалов у пациентов РА с высокой степенью активности воспалительного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. The multifactorial role of neutrophils in rheumatoid arthritis / L. Helen [et al.] // Nature Reviews Rheumatology [Electronic resource]. — 2014.

2. Железко, В. В. Функциональные свойства нейтрофилов крови у пациентов с ревматоидным артритом / В. В. Железко, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. — 2015. — № 3. — С. 50–54.
3. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkmann [et al.] // Science. — 2004. — Vol. 303. — P. 1532–1535.
4. Kaplan, M. J. Neutrophils in the pathogenesis and manifestations of SLE / M. J. Kaplan // Nat Rev Rheumatol. — 2012. — Vol. 7 (12). — P. 691–699.
5. Gabriela, C. Neutrophil extracellular traps in sepsis / C. Gabriela, R. Pozner, G. de Larranaga // Shock. — 2014. — Vol. 42, № 4. — P. 286–294.

УДК 616.379-008.64-08-092:612.015.1

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДАТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА

Гвозд М.-Г. И., Стадник Л. В., Будзин А. В.

Научные руководители: к.б.н., доцент О. П. Хаврона;
к.б.н., ассистент Л. П. Билецкая

Учреждение образования

«Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого»
г. Львов, Украина

Введение

Согласно последним научным данным, течение сахарного диабета I типа (СД I) происходит в условиях оксидативного стресса, возникновение которого обусловлено: гипергликемией (неферментативный источник активных форм кислорода), дисфункцией NO-синтазы (ферментативный источник АФК) и перенасыщением энергетическим субстратом митохондрий. Следствием этих процессов является истощение антиоксидантных систем защиты организма. Это, в свою очередь, требует адекватного лечения СД I типа, которое бы обеспечивало снижение уровня АФК, что пагубно влияют на клеточные структуры и тем самым осложняют течение заболевания.

Цель

Определить уровень гидропероксидов липидов (ГПЛ), ТБК-активных продуктов, степень окислительных модификаций белков (ОМБ) и содержания стабильных метаболитов азотаоксида (NO) в крови людей, больных сахарным диабетом I типа после проведенного лечения.

Материал и методы исследования

Для исследования использовали кровь 23 человек в возрасте 30–45 лет больных СД I типа, а также их кровь после проведенной стандартной терапии. Больные находятся на лечение в эндокринологическом отделении 4-й городской клинической больницы г. Львова. Активность процессов липопероксидации определяли по содержанию ТБК-активных продуктов по методу Р. А. Тимирбулатова (1981). Концентрацию ГПЛ по методу В. Б. Гаврилова (1983). Содержание ОМБ определяли по методике Е. Е. Дубининой. Содержание NO оценивали по методу L. C. Green, A. W. David (1982). Полученные результаты статистически обработаны по t-критерию Стьюдента с помощью программного обеспечения «Microsoft Excel» 8.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования показали, что при СД I типа наблюдается активация оксидативно-нитрозактивного стресса, на что указывают следующие результаты: уровень ГПЛ увеличился на 59,6 % ($p < 0,05$), МДА — на 90,7 % ($p < 0,05$), ОМБ — на 72,5 % ($p < 0,05$), NO — на 81,3 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. После проведенного лечения СД I типа происходит незначительное снижение уровня прооксидантов и значительное (в пределах нормы) уменьшение содержания NO в крови больных людей: уровень ГПЛ уменьшился до 41,1 % ($p < 0,05$), МДА — до 72,5 % ($p < 0,05$), ОМБ — до 37,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Уровень NO уменьшился на 2,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с нормой (таблица 1).

Таблица 1 — Результаты исследования крови людей, больных сахарным диабетом I типа после проведенного лечения

Показатели	ГПЛ, нмоль/мл	МДА, мкмоль/г белка	ОМБ, оог/мл	NO, мкмоль/мг белка
Контроль	4,165	40,10	3,42	5,84
СД I типа	6,648	76,50	5,90	10,59
СД I типа послелечения	5,920	69,18	4,70	5,70