

3. TREC and KREC in very preterm infants: reference values and effects of maternal and neonatal factors [Electronic resource] / G. Remaschi [et al.] // J. of Maternal-Fetal Neonatal Medicine. – 2019. – 29 Dec. – Mode of access: <https://scihub.se/10.1080/14767058.2019.1702951.pdf>. – Date of access: 23.06.2022.

4. TREC and KREC profiling as a representative of thymus and bone marrow output in patients with various inborn errors of immunity [Electronic resource] / M. Dasouki [et al.] // Clinical a. Experimental Immunology. – 2020. – Vol. 202, № 1. – Mode of access: <https://sci-hub.se/10.1111/cei.13484>. – Date of access: 21.07.2022.

УДК 616.155.34-052-097

С. С. Прокопович¹, И. А. Новикова¹, О. А. Сердюкова²

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

²Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»

г. Гомель, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМИ ГУМОРАЛЬНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ

Введение

Первичные иммунодефициты гуморального типа представляют собой гетерогенную группу генетически детерминированных заболеваний иммунной системы, характеризующихся нарушением антителопродукции [1]. Продемонстрировано, что патогенез гуморальных первичных иммунодефицитов (ПИД) может быть связан не только с внутренним дефектом В-лимфоцитов, но также с дисфункцией Т-клеток, нарушением дифференцировки и созревания дендритных клеток, гиперактивностью моноцитов, дисбалансом цитокинов [1, 2, 3]. Учитывая тот факт, что нейтрофилы (Нф) способны как активировать, так и ингибировать функционирование иммунокомпетентных клеток, оценка их реактивности при гуморальных ПИД представляет значительный интерес.

Цель

Изучить особенности функциональной активности нейтрофилов крови у пациентов с первичными гуморальными иммунодефицитами.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 80 пациентов (35 мужчин и 45 женщин в возрасте $36,9 \pm 11,8$ года) с верифицированным в соответствии с критериями PAGID и ESID (2020) гуморальным ПИД: 40 пациентов с общим переменным иммунодефицитом (ОВИД) и 40 человек с селективным дефицитом IgA (SIgAD). Контрольную группу составили 60 сопоставимых по полу и возрасту практически здоровых лиц без клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности.

Всем пациентам проведена оценка функционального статуса Нф, включающая образование активных форм кислорода (АФК) и экстрацеллюлярных сетей (нетоз, NETs), поглотительную и апоптотическую активность. Материалом для исследования служила взвесь лейкоцитов, полученных из гепаринизированной крови (10 Ед/мл) с содержанием Нф 5×10^6 клеток/мл. В качестве индуктора использовали инактивированный нагреванием преопсонизированный музейный штамм *S. aureus* ATCC 25923.

Супероксид-продуцирующую активность Нф оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в двух вариантах: спонтанный (НСТсп) и стимулированный (НСТст). Функциональный резерв Нф рассчитывали по формуле: $ФР = НСТст - НСТсп / НСТст$. Поглонительную способность определяли в реакции фагоцитоза *S. aureus* с подсчетом фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ). Определение нетоза проводили по методу И. И. Долгушина и соавт. (2010) в нашей модификации. Микроскопически подсчитывали количество хорошо визуализируемых NETs при краткосрочной (30 минут, витальный нетоз) и длительной (150 минут, суицидальный нетоз) инкубации клеток в среде без индуктора (спонтанный тест — NETсп) и в присутствии стимулятора (стимулированный тест — NETст). Апоптотическую готовность Нф оценивали по методике А. Gorman: суспензию окрашивали смесью акридинового оранжевого с этидиумом бромидом, с помощью люминесцентной микроскопии определяли долю апоптотических клеток в спонтанном и стимулированном тестах (Асп; Аст).

Обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ StatSoft «Statistica» 13.0 (Trial-версия) с использованием непараметрических методов: U-критерия Манн — Уитни. Результаты представлены как медиана и интерквартильный размах (25 %; 75%). Различия считали значимым при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Выявлены выраженные изменения параметров функциональной активности Нф у пациентов с гуморальными ПИД (таблица 1). Так, отмечалось увеличение спонтанной супероксид-продуцирующей активности Нф (НСТсп $p < 0,001$) на фоне снижения значений стимулированного теста (НСТст $p < 0,001$) относительно группы контроля. Обнаруживалась также более высокая способность Нф пациентов к образованию экстрацеллюлярных сетей как при краткосрочной инкубации культур клеток, так и при длительной (NET30сп, NET30ст, NET150сп $p < 0,001$; NET150ст $p = 0,003$). При этом максимальная степень (более чем в 2 раза) увеличения нетотической активности Нф в группе пациентов с ПИД наблюдалась в тестах витального нетоза. Апоптотическая активность Нф пациентов была выше соответствующих значений контрольной группы (Асп, Аст $p < 0,001$). Одновременно на фоне выраженной активации Нф отмечалось снижение их поглонительной функции (ФИ $p < 0,001$) в сравнении с контрольной группой.

Таблица 1 — Функциональная активность нейтрофилов у пациентов с гуморальными ПИД

Показатель, единица измерения	Контрольная группа (n = 60)	Обследованные пациенты		
		ПИД (n = 80)	SIgAD (n = 40)	ОВИД (n = 40)
НСТсп, %	6,0 (4,0; 9,0)	20,0 (12,0; 31,0) *	12,0 (7,0; 18,0) *	23,0 (15,0; 32,0) */**
НСТст, %	56,0 (49,0; 60,0)	45,0 (38,0; 52,0) *	51,0 (45,0; 56,0) *	43,0 (37,0; 49,0) */**
ФИ, %	70,0 (66,0; 73,0)	58,0 (52,0; 66,0) *	65,5 (61,0; 72,0) *	56,0 (51,0; 63,0) */**
ФЧ	7,0 (6,0; 8,0)	7,0 (6,0; 9,0)	8,0 (6,0; 9,0)	7,0 (6,0; 9,0)
NET30сп, %	2,0 (2,0; 3,0)	5,0 (3,0; 7,0) *	4,0 (3,0; 6,5) *	5,0 (3,0; 8,0) *
NET30ст, %	4,0 (3,0; 5,0)	7,0 (5,0; 9,0) *	6,5 (5,0; 9,0) *	7,0 (5,0; 9,0) *
NET150сп, %	5,0 (4,0; 5,0)	7,0 (5,0; 9,0) *	9,0 (6,0; 11,0) *	7,0 (5,0; 9,0) */**
NET150ст, %	9,0 (9,0; 10,0)	10,0 (8,0; 13,0) *	13,0 (9,0; 16,0) *	10,0 (8,0; 12,0) */**
Асп, %	10,0 (8,0; 12,0)	20,0 (16,0; 29,0) *	20,0 (12,0; 28,0) *	21,0 (15,0; 29,0) *
Аст, %	26,0 (25,0; 29,0)	30,0 (26,0; 36,0) *	26,5 (26,0; 32,0)	30,5 (25,0; 36,0) *

Примечание. Данные представлены в виде Me (25 %; 75 %) . * значимые различия относительно контрольной группы ($p < 0,05$); ** значимы различия между «SIgAD» и «ОВИД» ($p < 0,05$)

Мы провели сравнительный анализ параметров функционального статуса Нф у пациентов с SIgAD и ОВИД. Выявлена более выраженная спонтанная генерация АФК у пациентов с ОВИД, тогда как функциональный резерв образования супероксидных анионов и поглотительная способность Нф, напротив, оказались значимо ниже таковых при SIgAD (НСТсп, НСТст, ФР, ФИ $p < 0,001$). Между значениями базальной супероксид-продуцирующей активности Нф и показателями витального нетоза обнаруживалась слабая корреляция (NET30сп $r_s = 0,257$, $p < 0,001$), тогда как в контрольной группе указанная взаимосвязь была статистически незначимой. В литературе широко описаны молекулярные механизмы витального нетоза как одной из бактерицидных стратегий Нф [4]. Вышеуказанные сдвиги в реактивности Нф могут быть следствием хронической персистенции микробных антигенов. В то же время остается неясным, почему эти изменения в наибольшей степени касаются пациентов с ОВИД, ведь они, в отличие от SIgAD, получают заместительную терапию препаратами иммуноглобулинов, и не лидируют и по частоте и тяжести инфекционно-воспалительных осложнений.

По показателям витального нетоза (NET30) различий между сравниваемыми группами (SIgAD и ОВИД) мы не обнаружили. Однако у пациентов с SIgAD в сравнении с ОВИД имелась более выраженная активация программы суицидального нетозообразования (NET150) (NET150сп $p = 0,03$; NET150ст $p = 0,004$). Известно, что компоненты NETs могут выступать в качестве антигена, индуцировать формирование аутоантител и образование иммунных комплексов. С этой позиции можно объяснить максимальную стимуляцию нетоза именно у больных SIgAD, которые, по данным литературы, наиболее склонны к формированию реакций гиперчувствительности III типа. Результаты проведенных исследований указывают на перспективность оценки параметров функциональной активности Нф как возможных предикторов развития коморбидных заболеваний у пациентов с гуморальными ПИД.

Выводы

1. У пациентов с гуморальными ПИД относительно контрольной группы повышена супероксид-продуцирующая, NET-образующая активность (НСТсп, NET30сп,ст, NET150сп $p < 0,001$; NET150ст $p = 0,003$) и апоптотическая готовность нейтрофилов (Асп, ст $p < 0,001$), на фоне снижения их поглотительной функции (ФИ, $p < 0,001$).

2. В группе пациентов с ОВИД по сравнению с SIgAD выявлены более выраженные изменения показателей супероксид-продуцирующей активности Нф (НСТсп, НСТст $p < 0,001$), тогда как при SIgAD — параметров нетоза (NET150сп $p = 0,03$; NET150ст $p = 0,004$).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. King, J. Screening for Primary Immunodeficiency Diseases: History, Current and Future Practice / J. King, L. Hammastrom // Journal of Clinical Immunology. – 2018. – Vol. 38, № 1. – P. 56–66.
2. Lymphocytes and B-cell abnormalities in patients with common variable immunodeficiency (CVID) / L. Berron-Ruiz [et al.] // Allergol Immunopathol. – 2014. – Vol. 42, № 1. – P. 35–43.
3. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades / E. Resnick [et al.] // Blood. – 2013. – Vol. 119, № 7. – P. 1650–1657.
4. Yipp, B.G. NETosis: how vital is it? / B.G. Yipp, P. Kubes // Blood. – 2013. – Vol. 122, № 16. – P. 2784–2794.