

### **Заключение**

Экспериментальный гипотиреоз нарушает «технологию» адаптации организма к стрессу: устраняет реакцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, определяет большее снижение ОМС, ОМТ, поведенческой активности животных, усугубляет повреждение СОЖ и приводит к падению физической выносливости крыс в стадию тревоги стресс-реакции; фактически устраняет стадию устойчивости и провоцирует наибольшее падение резистентности и более высокую смертность животных в стадию истощения стресс-реакции.

УДК 616 – 091.818:616.155.34 – 074]:616.9 – 036.12 – 0.36.87

## **ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ АПОПТОЗА И НЕТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

*Гусакова Н. В.*

**Уреждение образования**

**«Гомельский государственный медицинский университет»**

**г. Гомель, Республика Беларусь**

### **Введение**

В основе формирования и развития хронических рецидивирующих инфекций (ХРИ), наряду с биологическими особенностями возбудителя, в последнее время большое внимание уделяют нарушениям функциональных свойств иммунокомпетентных клеток, прежде всего нейтрофильных гранулоцитов (НГ) [2]. В настоящее время различные механизмы клеточной гибели рассматривают как одно из проявлений функциональной активности НГ в процессе реализации своего бактерицидного потенциала, во многом определяющих развитие, течение и прогноз инфекционной патологии различного генеза. Так, установлено, что замедление апоптоза НГ способствует выраженному повреждению тканей вплоть до развития синдрома системной воспалительной реакции, тогда как усиление лежит в основе иммунологической «ареактивности» организма [3]. Относительно недавно был открыт и детально изучен еще один из механизмов активной клеточной смерти — нетоз. Оказалось, что НГ в ответ на различные антигенные стимулы формируют во внеклеточном пространстве сетеподобные структуры (neutrophil extracellular traps, NET), состоящие из ядерной ДНК и компонентов нейтрофильных гранул. Имеются сообщения о формировании NET в условиях *in vivo* при инфекционных заболеваниях различной этиологии, включая бактериальный вагиноз, малярию, кожный лейшманиоз, экспериментальную дизентерию, пневмонию, инвазивный бронхолегочный аспергиллез, при этом неспособность клеток врожденного иммунитета формировать NET приводит к сепсису и другим инфекционным осложнениям [4]. Параметры апоптоза в сравнительном аспекте с NET-образующей функцией НГ у пациентов с ХРИ не исследовались, что и определило цель нашей работы.

Оценить параметры апоптоза и нетоза НГ у пациентов с ХРИ различного генеза.

### **Материалы и методы**

В исследование были включены 71 пациент (17 мужчин и 54 женщины; возраст 18–47 лет) с хронической рецидивирующей герпетической инфекцией (ХРГИ) и 39 пациентов (23 женщин и 16 мужчин; возраст 19–52 лет) с хроническим рецидивирующим фурункулезом (ХРФ) тяжелого течения в стадии ремиссии. Степень тяжести определялась согласно общепринятым критериям [2]. Контрольную группу составили 65 сопоставимых по возрасту и полу практически здоровых лиц. Материалом для исследования служили лейкоциты периферической венозной крови. Клетки получали путем отстаивания гепаринизированной

крови (10 Ед/мл) в течение 45 минут при 37 °С, отбирали нижний слой плазмы с лейкоцитарной пленкой, количество НГ в суспензии доводили до концентрации  $5 \times 10^6$  клеток/мл путем разведения необходимым количеством фосфатно-солевого буфера (рН = 7,4). Жизнеспособность НГ в тесте исключения трипанового синего составляла не менее 95 %.

Интенсивность процессов апоптоза, некроза и нетоза НГ оценивали после инкубации клеточной взвеси в течение 150 минут при 37 °С в среде RPMI-1640 («Sigma-Aldrich», США) без стимулятора (спонтанный уровень) и в присутствии растворимых продуктов *S. aureus* (стимулированный уровень). Способ получения растворимых продуктов *S. aureus* и подбор оптимальной концентрации для стимуляции функциональных свойств НГ описан нами ранее [1]. После инкубации клеточную суспензию центрифугировали 5 минут при 250 g, осадок наносили на предметное стекло и, не высушивая, окрашивали смесью акридинового оранжевого (АО; 100 мкг/мл) с этидиумом бромидом (ЭБ; 100 мкг/мл) в соотношении 1:1 [8]. Изучали препараты с помощью люминесцентного микроскопа Axiostar plus HBO 50/AC («ZEISS», Германия;  $\lambda_{\text{возбуждения}}$  490 нм;  $\lambda_{\text{эмиссии}}$  520 нм; увеличение  $\times 1000$ ). Определяли долю жизнеспособных и апоптотических клеток, а также количество образовавшихся NET, подсчитывая не менее 200 нейтрофилов.

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов, результаты выражали в виде Me (25 %; 75 %), где Me — медиана, 25 % — нижний квартиль, 75 % — верхний квартиль. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Результаты проведенных исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Параметры апоптоза и нетоза у пациентов с ХРИ

Формы клеточной гибели, %	Здоровые лица, (n = 65)	ХРИ	
		ХРГИ, (n = 71)	ХРФ, (n = 39)
Асп	10,0 (8,5; 14,5)	7,0 (7,0; 9,0)*/**	12,5 (10,0; 15,5)
Аст	31,5 (26,5; 35,0)	25,0 (22,0; 28,0)*	27,5 (23,0; 33,0)
NETсп	5,0 (4,0; 6,0)	3,0 (2,0; 5,0)*	3,0 (2,0; 5,0)*
NETст	9,0 (8,0; 12,0)	14,0 (12,0; 17,0)*	14,0 (12,0; 17,0)*

\*Различия значимы ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой здоровых лиц; \*\*различия значимы ( $p < 0,05$ ) между показателями в группах пациентов.

Как видно из таблицы 1, как у пациентов с ХРГИ, так и у лиц с ХРФ, отмечалось значимое увеличение NETст на фоне снижения NETсп ( $p < 0,001$ ) в сравнении с группой контроля. В то же время, изменение уровня апоптотических НГ наблюдалось лишь у лиц с ХРГИ, о чем свидетельствовало уменьшение процентного содержания Асп ( $p = 0,003$ ) и Аст ( $p < 0,001$ ) по отношению к контрольной группе. При проведении сравнительного анализа между группами пациентов с ХРГИ и ХРФ было выявлено значимое различие по способности НГ к спонтанному апоптозу, уровень которого у лиц с ХРГИ было значительно ниже ( $p < 0,001$ ), чем у пациентов с ХРФ, у которых показатель Асп соответствовал значениям здоровых лиц. По другим изучаемым формам клеточной гибели НГ различий между группами пациентов обнаружено не было. Полученные результаты свидетельствуют, с одной стороны, о схожих изменениях параметров NET-образующей активности у лиц с ХРИ (снижение NETсп и повышение NETст) в сравнении с группой контроля, что может быть свидетельством формирования типовых реакций НГ в ответ на воздействие инфекционных агентов, склонных к длительной персистенции в организме. С другой стороны, при анализе апоптотической готовности НГ выявлены значимые межгрупповые различия (снижение уровня Асп у лиц с ХРГИ). По-видимому, данные изменения связаны с ингибирующим действием белков (Us3, gJ, gD) вируса простого герпеса на процесс программируемой гибели НГ.

### **Выводы**

1. У пациентов с ХРИ в стадии ремиссии, независимо от этиологического фактора, обнаружены однонаправленные изменения параметров нетоза: значимое увеличение NETст на фоне снижения NETсп ( $p < 0,001$ ) относительно здоровых лиц.

2. У лиц с ХРГИ, но не с ХРФ, в сравнении с группой контроля, было выявлено снижение как спонтанного (Асп), так и стимулированного уровня (Аст) апоптотических НГ ( $p = 0,003$  и  $p < 0,001$  соответственно), при этом различия по Асп между сравниваемыми группами пациентов оказались статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Гусакова, Н. В. Образование экстрацеллюлярных сетей нейтрофилами периферической крови / Н. В. Гусакова, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. — 2011. — № 3. — С. 27–31.
2. Железникова, Г. Ф. Инфекция и иммунитет: стратегии обеих сторон / Г. Ф. Железникова // Медицинская иммунология. — 2006. — № 5–6. — С. 597–614.
3. Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski [et al.] // Acta Haematol. — 2004. — Vol. 111. — P. 56–66.
4. Dying for a cause: NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality / Q. Remijsen [et al.] // Cell Death and Differentiation. — 2011. — № 18. — P. 581–588.

УДК 616.151.514-08-039.71-035-036.838

## **НУЖДАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОФИЛИЕЙ В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ: РЕАБИЛИТАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ**

*Дашкевич Э. В., Глинская Т. Н., Луцинская С. И.*

**Государственное учреждение  
«Республиканский научно-практический центр  
трансфизиологии и медицинских биотехнологий»  
г. Минск, Республика Беларусь  
Государственное учреждение  
«Республиканский научно-практический центр  
медицинской экспертизы и реабилитации»  
Минский р-н, пос. Городище, Республика Беларусь**

### **Введение**

По данным Республиканского регистра коагулопатий на учете состоит 815 пациентов с данными формами патологии, из них 69 % составляют пациенты с гемофилией А и В. Тяжелые и среднетяжелые формы гемофилии диагностированы у большинства пациентов. В силу особенностей патогенеза заболевания, наличия стойких функциональных нарушений, ограничения жизнедеятельности большинство таких пациентов является инвалидами с детства. Профилактика геморрагических осложнений гемофилии проводится путем введения концентратов факторов свертывания крови [1, 2]. В Республике Беларусь с 2011 г. начато профилактическое лечение пациентов с гемофилией (Приказ Минздрава № 799 от 05 августа 2011 г., подготовлена инструкция о проведении вторичной профилактики геморрагических проявлений гемофилии А и В у детей и взрослых), согласно данному приказу «вторичная профилактика — это регулярно продолжающееся лечение, которое начинают у детей в возрасте старше двух лет в случае наличия в анамнезе двух и более внутрисуставных кровоизлияний». Вторичная профилактика сопряжена с реабилитационными мероприятиями, в совокупности эти меры позволяют избежать прогрессирования гемофилической артропатии и инвалидизации пациентов.

Количественно обосновать нуждимость пациентов с гемофилией, проживающих в Республике Беларусь, в профилактическом лечении и проведении реабилитационных мероприятий.