

**А. М. Линкевич**

*Научный руководитель: старший преподаватель Ж. В. Зубкова*

*Учреждение образования*

*«Гомельский государственный медицинский университет»*

*г. Гомель, Республика Беларусь*

## **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С РОЖЕЙ**

### ***Введение***

Рожа занимает важное место в структуре инфекционной патологии. Большинство случаев рожи обусловлено стрептококковой моноинфекцией. Основными факторами, провоцирующими возникновение заболевания, являются нарушения целостности кожи, грибковые инфекции, стресс, а также переохлаждение или перегрев организма. Патогенез рожи характеризуется угнетением местного иммунитета (в том числе клеточного и гуморального), повышенной чувствительностью организма к антигенам бета-гемолитического стрептококка серогруппы А (по Ленсфильду), развитию хронического течения заболевания (вследствие сохранения L-форм стрептококка в дерме), в виде очагов эндогенной инфекции, а также избыточной выработкой Т-лимфоцитами и мононуклеарами цитокинов, обладающих биоповреждающим действием. Заболевание отличается увеличением случаев с первичной и тяжелыми геморрагическими формами (более 60 %), подверженностью к развитию рецидивирующего течения (30–40 %), медленным восстановлением в очаге воспаления, сложностью проведения дифференциальной диагностики [1].

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются важнейшим компонентом в развитии и поддержании воспаления при инфекционных заболеваниях. Как известно, они реализуют свой потенциал через основные стратегии уничтожения и удаления любых чужеродных веществ, а именно фагоцитоз, дегрануляцию и продукцию активных форм кислорода (АФК) [2]. Активация этих процессов происходит в разные временные интервалы и оказывает различное воздействие на окружающие ткани. Так, поглощение инородного тела при фагоцитозе может вызвать минимальное повреждение клеток, в тоже время дегрануляция и образование АФК могут привести к их массивной деструкции. Данные о том, что НГ является важным компонентом в возникновении, течении и прогрессировании различных заболеваний, обусловили интерес к оценке характера изменений параметров функциональной активности НГ при различной инфекционной патологии.

### ***Цель***

Оценить параметры функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов при роже.

### ***Материал и методы исследования***

В исследование включены 43 пациента с рожей и рожистым воспалением в возрасте от 18 до 92 лет.

В качестве материала для исследования использовали взвесь лейкоцитов ( $5 \times 10^6$  клеток/мл), полученную из периферической гепаринизированной крови (10 ЕД /мл).

Продукцию нейтрофилами АФК определяли в реакции восстановления нитросинего тетразолия в спонтанном и стимулированном *S. aureus* вариантах (НСТСП и НСТСТ соответственно) с микроскопической оценкой результатов реакции.

Фагоцитарную активность оценивали по способности нейтрофилов поглощать инaktivированные нагреванием бактерии *S. aureus* ( $10^8$  КОЕ/ мл, контроль по стандарту мут-

ности шкалы McFarland). Результат оценивали микроскопически в мазках, окрашенных по Романовскому – Гимзе. Определяли фагоцитарный индекс (ФИ) – доля нейтрофилов, поглотивших *S. aureus*; фагоцитарное число (ФЧ) – среднее количество микробных частиц в одном нейтрофиле.

Образование NET оценивали по методу И. И. Долгушина и соавт. (2010) в модификации [3] при краткосрочном (30 мин) и длительном (150 мин) культивировании лейкоцитов в среде без стимулятора (спонтанный тест – NET<sub>СП30</sub> и NET<sub>СП150</sub> соответственно) и с *S. aureus* в качестве индуктора (стимулированный тест – NET<sub>СТ30</sub> и NET<sub>СТ150</sub>). Производили подсчет четко визуализируемых NET<sub>s</sub>, подсчитывая не менее 200 нейтрофилов. Результат выражали в процентах.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимые по полу и возрасту. Статистический анализ данных проводился при помощи пакета прикладных программ Statistica 10.0 (Stat Soft Inc., США). Результат выражали в виде медианы и интерквартильного интервала (Ме (25 %; 75 %)). Для оценки двух независимых групп по одному признаку применяли U-критерий Манна – Уитни.

Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследований и их обсуждение**

Данные по параметрам функциональной активности оцениваемых нейтрофилов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры функционального статуса нейтрофильных гранулоцитов периферической крови пациентов с рожей

Параметр, единицы измерения	Доноры (n = 43)	Пациенты с рожей (n = 43)	Уровень статистической значимости (p)
NET <sub>СП30</sub> , %	2,0 (2,0; 3,0)	4,0 (3,0; 7,0)*	0,0001
NET <sub>СТ30</sub> , %	5,0 (4,0; 6,0)	7,0 (5,0; 10,0)*	0,0002
NET <sub>СП150</sub> , %	6,0 (5,0; 7,0)	7,0 (5,0; 10,0)*	0,01
NET <sub>СТ150</sub> , %	9,0 (7,0; 10,0)	12,0 (9,0; 14,0)*	0,00002
НСТ <sub>СП</sub> , %	8,0 (6,0; 11,0)	10,0 (5,0; 13,0)	> 0,05
НСТ <sub>СТ</sub> , %	49,0 (43,0; 55,0)	49,0 (45,0; 55,0)	> 0,005
ФИ, %	69,0 (65,0; 72,0)	64,0 (62,0; 69,0)*	0,001
ФЧ, ед.	7,0 (6,0; 8,0)	6,0 (5,0; 7,0)*	0,00003

Примечание: данные представлены в виде Ме (25 %; 75 %); \* – различия значимы в сравнении с группой доноров ( $p < 0,050$ ; U-критерий Манна – Уитни)

Как видно из таблицы 1, у пациентов с рожей наблюдались изменения NET-продуцирующей способности нейтрофилов. Отмечалось увеличение уровня NETs по NADPH-независимому пути в спонтанном и стимулированном варианте ( $p = 0,0001$  и  $p = 0,0002$  соответственно). Также наблюдалась активация NADPH-зависимого пути формирования нейтрофильных сетей (NETСП:  $p = 0,01$ ; NETСТ:  $p = 0,00002$ ).

В настоящее время известны два основных механизма экстрюзии внеклеточных ловушек нейтрофилами: «витальный» и «суицидальный». Первый занимает от 5 до 60 минут, реализуется через упаковку фрагментов ДНК в везикулы, с последующей их транспортировкой через цитоплазму и выбросом хроматина в межклеточное пространство. Реализация второго механизма экстрюзии NETS занимает от 2-х до 4-х часов и сводится к активации NADPH-оксидазы, деконденсации хроматина, растворении цитоплазматических гранул с последующим распадом ядерной оболочки и специфическим лизисом нейтрофилов [4].

При изучении параметров фагоцитоза нейтрофилов у пациентов с рожей установлено снижение уровня их фагоцитарной активности в сравнении со здоровыми лицами

(ФИ:  $p = 0,001$ ; ФЧ:  $p = 0,00003$ ). Следует отметить, что способность нейтрофильных гранулоцитов к продукции АФК значимо не изменялась.

Таким образом, у обследуемых с рожей и рожистым воспалением наблюдаются изменения в функциональной активности нейтрофилов, которые носят разнонаправленный характер.

### **Выводы**

1. У пациентов рожей способность нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей кислород-зависимым и кислород-независимыми путями превышает аналогичные показатели здоровых лиц ( $p < 0,005$ ).

2. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с рожей и рожистым воспалением снижена в сравнении с контрольной группой (ФИ:  $p = 0,001$ ; ФЧ:  $p = 0,00003$ ).

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Особенности клиники и дифференциальной диагностики рожи. Обзор / В. А. Кадышев [и др.] // Архив внутренней медицины. – 2017. – № 7. – С. 327–339.
2. Хаитов, Р. М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 328 с.
3. Инструкция по применению метода диагностики нарушений фагоцитарного звена иммунитета по оценке потенциальной бактерицидной активности нейтрофилов: утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 18. 06. 2015. – Гомель: ГГМУ, 2015 – 9 с.
4. Yipp, B. G. NETosis: how vital is it? / B. G. Yipp, P. Kubes // Blood. – 2013. – Vol. 12, № 16. – P. 2784–2794.

**УДК [616.98:579.852.13]:616.34-008.314.4-07**

**А. С. Мартинчик**

*Научные руководители: к.б.н., доцент Н. И. Шевченко*

*Учреждение образования*

*«Гомельский государственный медицинский университет»*

*г. Гомель, Республика Беларусь*

## **РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ ТЕСТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ CLOSTRIDIODES DIFFICILE**

### **Введение**

Известно, что *Clostridioides difficile* – это один из возбудителей внутрибольничной диареи у пациентов, получавших антимикробную терапию. Сама распространенность инфицирования *C. difficile* становится все более актуальной для экономически развитых стран, где больницы широко используют антибиотики широкого спектра действия при лечении пациентов [1, 2]. По литературным данным, в США ежегодно возникает свыше 250 000 случаев *C. difficile*-ассоциированной диареи, экономический ущерб от которых ежегодно составляет около 1 млрд долл. США [3, 4]. Антибиотико-ассоциированная диарея, вызванная *C. difficile*, характеризуется быстрым развитием клинической симптоматики, тяжестью клинического течения, угрожающими жизни пациента осложнениями. В совокупности это не только затрудняет ее лечение, но и ведет к огромным затратам организаций здравоохранения, связанных с диагностикой и профилактикой данной патологии [3, 4, 5]. Отдельно стоит отметить еще и сложности в диагностике, так как не все лаборатории способны в полном объеме провести необходимые диагностические мероприятия. Все это вынуждает врачей искать новые методы диагностики клостридиальной инфекции, а также методы лечения, что обуславливает актуальность проблемы.

*C. difficile* – грамположительный облигатный анаэроб семейства *Peptostreptococcaceae*, который является представителем нормальной микрофлоры кишечника у детей до