

**NET-ОБРАЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ
ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ***Мелеш Т. Н.***Научный руководитель: д.м.н., профессор И. А. Новикова****Учреждение образования****«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь*****Введение***

В настоящее время установлена ведущая роль дисфункции нейтрофилов (НФ), в формировании патологических процессов различной природы [1]. Известно множество проявлений функциональной реактивности НФ (хемотаксис, миграция, адгезия, фагоцитоз, продукция кислородных радикалов и другие) [3]. В 2004 г. впервые описана способность активированных НФ выбрасывать во внеклеточное пространство сетеподобные структуры (Neutrophil Extracellular Traps — NET), в состав которых входит ДНК, гистоны, а также различные белки и ферменты гранул, такие как эластаза и миелопероксидаза [1]. Функциональная роль данного процесса мало изучена. Предполагается, что образование ловушек является одним из механизмов проявления бактерицидности нейтрофилов, способствуя сдерживанию инфекции [2]. В то же время процесс NETоза может активироваться и при других патологических состояниях [1]. Как соотносится образование внеклеточных сетей с другими проявлениями функциональной активности НФ остается мало изученным.

Цель

Изучить изменения NETоза при различных заболеваниях и его ассоциация с другими функциональными свойствами нейтрофилов.

Материал и методы исследования

Обследовано 98 пациентов в возрасте от 29 до 51 года с различной патологией (54 человека с рецидивирующими инфекционно-воспалительными заболеваниями, 14 — с атопическим дерматитом, 30 пациентов — с хронической болезнью почек 4 стадии) в стадии ремиссии. Контрольную группу составили 36 практически здоровых лиц сопоставимых по возрасту и полу.

Материалом для исследования служили лейкоциты периферической венозной крови. Лейкоциты получали путем отстаивания гепаринизированной (10 Ед/мл) крови в течение 45 мин при 37 °С. Функциональный статус нейтрофилов оценивали по комплексу показателей: способность к фагоцитозу, кислород-продуцирующая активность, образование внеклеточных сетей (NET). Поглотительную способность НФ определяли в реакции с инактивированным нагреванием *S. aureus*, подсчитывая фагоцитарный индекс (ФИ, процент фагоцитирующих НФ) и фагоцитарное число (ФЧ, среднее число частиц в одном фагоците). Кислород-продуцирующую активность НФ оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в спонтанном (НСТсп) и стимулированном (НСТст) вариантах с микроскопической оценкой результата [3]. Формирование NET учитывали по методике И. И. Долгушина в нашей модификации [4] после инкубации лейкоцитов в течение 30 и 150 мин при 37 °С в фосфатно-солевом буфере без стимулятора (спонтанный уровень, NETсп) и в присутствии инактивированных нагреванием *S. aureus* (стимулированный уровень, NETст). Далее клеточную суспензию наносили на предметное стекло, окрашивали по Романовскому — Гимзе с последующей микроскопией. В качестве NET расценивали тонкие свободные нити сине-фиолетового цвета. Подсчитывали количество образовавшихся NET в 200 нейтрофильных гранулоцитах, результат выражали в процентах.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием компьютерной программы «Statistica» 10.0 (StatSoft, USA). Для выявления наиболее значимых показателей был проведен частотный анализ. Для выявления взаимосвязей был проведен

непараметрический корреляционный анализ по Спирмен (r_s). Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Наиболее часто у обследованных пациентов регистрировались отклонения от нормы (интерквартильный диапазон значений контрольной группы) показателей способности НФ к образованию внеклеточных сетей. Так, повышенные значения NET отмечались у 67 (68 %) человек из 98 обследованных, у 19 (20 %) пациентов показатели не отличались от нормы, а у 12 (12 %) больных количество NET было ниже значений контрольной группы. В большинстве случаев ($n = 40$, 60 %) показатели NETоза повышались одновременно при краткосрочном культивировании (30 мин) и при более длительной инкубации (150 мин). Только в 19 % случаев (13 пациентов) наблюдалось изолированное повышение NET при инкубации 30 мин и в 21 % (14 обследованных) — при 150-минутной инкубации. При сравнении NET-образующей способности в спонтанном и стимулированном тесте, у большинства пациентов (56 человек, 83 % случаев) были повышены оба параметра ($\chi^2 = 57,8$; $p < 0,001$), тогда как повышение только NETсп отмечалось у 7 (10 %) пациентов, а NETст — у 4 (6 %).

По данным литературы инкубация лейкоцитов в течение 150 мин необходима для активации НАДФ-оксидазы, обеспечивающей процесс NETоза [4]. В то же время описано образование NET лейкоцитами без активации НАДФ в течение 20–30 мин культивирования [2]. Процесс, в отличие от предыдущего («суицидального»), получил название «витальный» NETоз. В этом аспекте полученные нами результаты свидетельствуют, что активация витального NETоза у большинства пациентов сопровождается активацией суицидального.

Кислород-продуцирующая и поглотительная активность НФ у обследованных пациентов в большинстве случаев (80 %) не изменялась.

У пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями повышение активности NETоза также было преобладающим изменением среди показателей функционального статуса нейтрофилов (63 %), причем, как правило, параметры спонтанного и стимулированного NETоза в 30- и 150-минутных культурах изменялись содружественно. Аналогичная картина наблюдалась и у пациентов с хронической болезнью почек и атопическим дерматитом.

Полученные данные подтверждены наличием корреляций между показателями NETоза при различной длительности инкубации. Так, у пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями имела значимая корреляция $NET_{30} \leftrightarrow NET_{150}$ ($r_s = 0,37$; $p = 0,005$ в спонтанном тесте; $r_s = 0,47$; $p < 0,001$ — в стимулированном тесте). Обнаружена также взаимосвязь показателей $NET_{сп} \leftrightarrow NET_{ст}$ ($r_s = 0,81$; $p < 0,001$ при инкубации 30 мин; $r_s = 0,66$; $p < 0,001$ при 150-минутной инкубации). У пациентов с хронической болезнью почек также были выявлены статистически значимые взаимосвязи между значениями NET при различной длительности инкубации ($NET_{30} \leftrightarrow NET_{150}$, $r_s = 0,90$; $p < 0,001$ в культурах клеток без стимулятора; $r_s = 0,81$; $p < 0,001$ при стимуляции), а также $NET_{сп} \leftrightarrow NET_{ст}$ ($r_s = 0,96$; $p < 0,001$; $r_s = 0,83$; $p < 0,001$). Корреляции между показателями NETоза и другими проявлениями функциональных свойств НФ не установлены.

У здоровых лиц статистически значимой была взаимосвязь показателей спонтанного и стимулированного NETоза $NET_{сп} \leftrightarrow NET_{ст}$ ($r_s = 0,58$; $p < 0,001$ при инкубации культур в течение 30 мин; $r_s = 0,52$; $p < 0,001$ при 150-минутной инкубации). Кроме того обнаруживалась обратная ассоциация $NET_{ст} \leftrightarrow HCT_{ст}$ ($r_s = -0,58$; $p < 0,001$).

Выводы

При заболеваниях различной природы (инфекционно-воспалительной, аллергической, хронической болезни почек) обнаруживаются сходные изменения способности нейтрофилов к образованию экстрацеллюлярных сетей. У 60–80 % пациентов регистрируется повышение показателей NETоза ($p < 0,001$). У обследованных пациентов, в отличие от здоровых лиц, не выявлено значимых корреляций показателей NETоза с кислород-продуцирующей и поглотительной активностью нейтрофилов крови. Сопряженность показателей NETоза между собой (спонтанный и стимулированный тест, активность образования сетей при инкубации 30 и 150 мин) максимально выражена у пациентов ($r_s = 0,66–0,96$; $p < 0,01$ – $p < 0,001$), но не у здоровых лиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева, Н. В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии / Н. В. Воробьева, Б. В. Пинегин // Биохимия. — 2014. — Т. 79, № 12. — С. 1580–1591.
2. Camicia, G. Neutrophil extracellular traps in sepsis / G. Camicia, R. Pozner, G. de Larranaga // Shock. — 2014. — Vol. 42, № 4. — P. 286–294.
3. Новикова, И. А. Комплексная лабораторная оценка иммунного статуса / И. А. Новикова, Е. С. Афанасьева. — Витебск: Изд-во ВГМУ, 2003. — 40 с.
4. Гусакова, Н. В. Образование экстрацеллюлярных сетей нейтрофилами периферической крови / Н. В. Гусакова, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. — 2011. — № 3 (29). — С. 27–31.

УДК 612.13:37

ВЛИЯНИЕ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА НА СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ЛИЦЕИСТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА САМОРЕГУЛЯЦИИ КРОВООБРАЩЕНИЯ

Мельник В. В., Афанасьева Т. С.

Научный руководитель: д.м.н., доцент Н. А. Трушель

Учреждение образования

**«Белорусский государственный медицинский университет»
г. Минск, Республика Беларусь**

Введение

Охрана и укрепление здоровья детей и подростков особенно важны, поскольку истоки многих болезней взрослых лежат в детском возрасте. Перестройка среднего образования сопряжена с усложнением учебной программы, интенсификацией учебно-воспитательного процесса, обуславливающих повышение требований к функциональному состоянию детского организма [1].

Цель

Оценить влияние учебного процесса на состояние центральной гемодинамики лицеистов в зависимости от типа саморегуляции кровообращения.

Материал и методы исследования

Обследование проводилось на базе УО «Гомельский государственный областной лицей». В состоянии физиологического покоя обследован 41 учащийся 10 классов (28 девочек и 13 мальчиков), средний возраст которых составил 16 лет. Обследования проводили в сентябре (когда лицеисты адаптировались к новым условиям обучения, в которых они оказались после базовой школы) и в мае (конец учебного года).

Общепринятой методикой определяли систолическое (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД), частоту сердечных сокращений (ЧСС). Используя полученные данные, рассчитали: ударный объем по формуле Старра (УО, в норме 58–86 мл), минутный объем крови (МОК, в норме 4,5–6,5 л/мин), сердечный индекс (СИ, в норме: 2,2–3,7 л/(мин×м²)), общее периферическое сопротивление (ОПС, в норме 1200–1900 дин×с×см⁻⁵).

Так как данные подчинялись закону нормального распределения, согласно критериям Колмогорова — Смирнова, они были представлены как $M \pm SD$ — средняя арифметическая ± SD — стандартное отклонение, а при сравнении 2-х независимых групп использовался критерий Стьюдента (t-test). Статистическую обработку полученного материала осуществляли с использованием пакета прикладных программ «Statistica» 7.0. Результаты анализа считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования их обсуждение

Тип саморегуляции кровообращения (ТСК) дает возможность оценивать уровень напряжения в регуляции ССС. ТСК определяется по формуле $TCK = (ДАД/ЧСС) \times 100$ и разделяется на 3 вида: сердечно-сосудистый (ТСК от 90 до 110), сосудистый (ТСК > 110), сердечный (ТСК < 90).