

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ НЕТОЗА С КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Железко В. В., Новикова И. А.

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

Введение

В настоящее время исследованию функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ) при ревматоидном артрите (РА) уделяется большое значение [1]. Открытие в 2004 г. V. Brinkmann с соавторами механизма высвобождения нейтрофильных внеклеточных сетей (neutrophil extracellular traps, NETs) определило перспективное направление в области улучшения диагностики и мониторинга течения аутоиммунных заболеваний. NETs представляют собой структуры, напоминающие сети, из ДНК, гистонов, специфических белков и ферментов гранул. Известно существование двух основных механизмов экстружии ловушек нейтрофилами, которые определены как «витальный» и «суицидальный» [2]. Первый реализуется в сроки от 5 до 60 минут и является кислород-независимым; при этом происходит упаковка фрагментов ДНК в везикулы и последующая экстернализация содержимого в межклеточное пространство. Примечательно, что жизнеспособность НГ при этом сохранена. Второй механизм является кислород-зависимым и осуществляется в сроки от 2 до 4 ч, при этом происходит деконденсация хроматина и растворение цитоплазматических гранул; процесс завершается распадом ядерной оболочки и лизисом нейтрофила. Предполагается, что компоненты NETs могут выступать факторами аутоагрессии, усугубляя, тем самым, течение аутоиммунного процесса [3].

Целесообразность изучения популяции НГ при РА обусловлена тем, что показатели функциональной активности этих клеток характеризуют активность патологического процесса и определяют его динамику.

Цель

Установить и оценить характер взаимосвязи параметров NET-образования с клинико-лабораторными особенностями ревматоидного артрита.

Материал и методы исследования

В исследование включены 57 пациентов с достоверным диагнозом РА (критерии ACR/EULAR 2010 г.). Общая характеристика исследуемых пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Общая характеристика исследуемых пациентов

| Клиническая характеристика | | Число пациентов (n = 57) | |
|--|-----------|--------------------------|------|
| | | абс. | % |
| Пол | мужской | 11 | 19,3 |
| | женский | 46 | 80,7 |
| Степень активности (DAS28) | низкая | 18 | 31,6 |
| | умеренная | 26 | 45,6 |
| | высокая | 13 | 22,8 |
| Рентгенологическая стадия по Штейнброккеру | I | 13 | 22,8 |
| | II | 21 | 36,9 |
| | III | 17 | 29,8 |
| | IV | 6 | 10,5 |
| Функциональный класс | 1 | 10 | 17,5 |
| | 2 | 33 | 57,9 |
| | 3 | 14 | 24,6 |

Окончание таблицы 1

| Клиническая характеристика | | Число пациентов (n = 57) | |
|----------------------------|---------------------|--------------------------|------|
| | | абс. | % |
| Длительность РА | до 1 года | 14 | 24,6 |
| | от 1 года до 2х лет | 17 | 29,8 |
| | свыше 2х лет | 26 | 45,6 |
| Ревматоидный фактор | позитивный | 35 | 61,4 |
| | негативный | 22 | 38,6 |
| АЦЦП | позитивный | 23 | 40,4 |
| | негативный | 34 | 59,6 |

В контрольную группу вошли 40 практически здоровых лиц без клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности, сопоставимых по полу и возрасту с группой пациентов.

Материалом для исследования служила взвесь лейкоцитов (содержание НГ 5×10^6 клеток/мл), полученных из гепаринизированной крови (10 Ед/мл).

Процесс экстружии внеклеточных ловушек нейтрофилами оценивали по методу И. И. Долгушина и соавт. (2010) в нашей модификации [4] при культивировании лейкоцитов в среде без стимулятора (спонтанный тест — NET_{СП}) и с инактивированным *S. aureus* (10^8 КОЕ/мл) в качестве индуктора (стимулированный тест — NET_{СТ}) в течение 30 минут и 150 минут. Результат выражали в процентах.

Концентрацию общего ревматоидного фактора (РФ) и С-реактивного белка (СРБ) определяли в сыворотке крови методом латекс-агглютинации (тест-системы ООО «Анализ МедПром», Республика Беларусь); иммуноферментный анализ маркеров РА (антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (АМЦВ) производили с помощью автоматического анализатора ALEGRIA (Orgentec, Германия).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ «Statistica» 6.0 (StatSoft Inc., США). Результат выражали в виде медиан и интерквартильных интервалов (Me (25; 75%). Для изучения взаимосвязи двух признаков использовался корреляционный анализ по Спирмену (r_s). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Мы оценили образование нейтрофилами внеклеточных ловушек у пациентов с РА. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Нетотическая активность нейтрофилов крови у пациентов с РА

| Показатель, единицы измерения | Здоровые лица n = 40 | Пациенты с РА (n = 57) |
|-------------------------------|----------------------|------------------------|
| NET _{СП30} , % | 2,0 (2,0; 3,0) | 9,0 (7,0; 12,0)* |
| NET _{СТ30} , % | 4,0 (3,0; 5,0) | 13,0 (11,0; 16,0)* |
| NET _{СП150} , % | 5,0 (3,0; 7,0) | 12,0 (11,0; 14,0)* |
| NET _{СТ150} , % | 6,0 (4,0; 9,0) | 16,0 (14,0; 19,0)* |

Примечание — данные представлены в виде Me (25; 75%); * — различия значимы относительно группы здоровых лиц.

Из таблицы 2 видно, что у пациентов с РА имеет место увеличение способности нейтрофилов к экстружии внеклеточных ловушек как «витальным» (NET_{СТ30}, NET_{СП30}), так и «суицидальным» (NET_{СТ150}, NET_{СП150}) путем ($p < 0,05$). Более того, обращает на себя внимание значимое увеличение экстружии сетей в спонтанных пробах ($p < 0,001$ для NET_{СП30} и $p < 0,001$ для NET_{СП150}). Данное обстоятельство может быть связано как с функциональной неоднородностью популяции нейтрофилов, так и с потенцирующим влиянием аутоантител на процесс образования внеклеточных ловушек НГ [3, 5].

На следующем этапе нами были определены корреляционные взаимосвязи параметров NET-образования с клинико-лабораторными особенностями РА (рисунок 1).

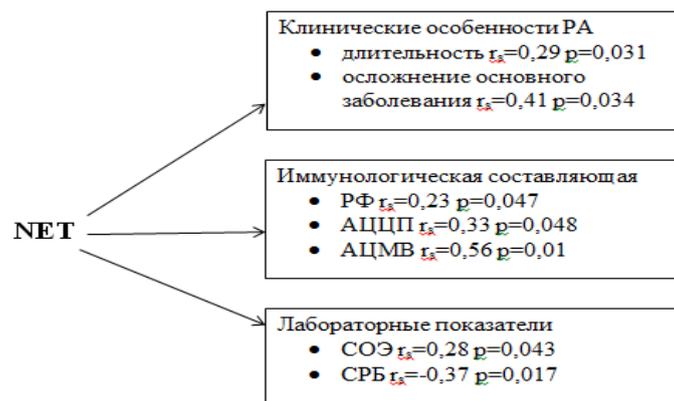


Рисунок 1 — Корреляционная связь параметров NET-образования с клинико-лабораторными особенностями РА

Как следует из рисунка 1, у пациентов с РА параметры нетотической активности были прямо взаимосвязаны с длительностью РА и наличием осложнений основного заболевания, количеством аутоантител (РФ, АЦЦП, АЦМВ) и величиной СОЭ, но обратно с уровнем СРБ.

Выводы

1. У пациентов с РА NET-образующая активность нейтрофилов превышала аналогичные показатели здоровых лиц ($p < 0,05$).
2. Установлены взаимосвязи нетотической активности клеток периферической крови с клиническими, иммунологическими и лабораторными особенностями РА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carmelo, Carmona-Rivera. Synovial fibroblast-neutrophil interactions promote pathogenic adaptive immunity in rheumatoid arthritis / Carmona-Rivera Carmelo // Sci Immunol. — 2017. — Vol. 2, № 10. — P. 3358–3372.
2. Yipp, B. G. NETosis: how vital is it? / B. G. Yipp // Blood. — 2013. — Vol. 122, № 16. — P. 2784–94.
3. Brinkmann, V. Neutrophil extracellular traps in the second decade / V. Brinkmann // J Innate Immun. — 2018. — Vol. 10. — P. 414–421.
4. Железко, В. В. Функциональные свойства нейтрофилов крови у пациентов с ревматоидным артритом / В. В. Железко, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. — 2015. — № 3 (45). — С. 50–54.
5. Kusworini, H. 1,25(OH)₂D₃ inhibits endothelial apoptosis by neutrophil extracellular traps externalization in systemic lupus erythematosus patients / H. Kusworini, A. P. Benny // Turk J Immunol. — 2017. — Vol. 5, № 3. — P. 89–95.

УДК 616.72-002.77-097-008.852-008.853.4-052

ТРОМБОЦИТ-АССОЦИИРОВАННЫЙ НЕТОЗ У ПАЦИЕНТОВ С ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Зубкова Ж. В.

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

Введение

Нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps, NETs) играют значительную роль в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний (ИВРЗ), таких как ревматоидный артрит (РА) и системная красная волчанка (СКВ). Из литературных данных известно, что, образуемые нейтрофилами экстрацеллюлярные