

Оценивали интенсивность свечения —  $I_{\max}$  (у.е.), площадь под кривой хемилюминесценции — светосумма люминол-зависимого свечения в течение 5 мин ( $S$ , у.е.). Результат выражали в процентах по отношению к значениям ХЛ радикалообразующей смеси в отсутствии биоматериала. Дополнительно рассчитывали соотношение  $I_{\max}/S$ , как интегральный показатель антиокислительного потенциала.

### Результаты исследования и их обсуждение

Полученные значения ЛЗХЛ плазмы у доноров представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Люминол-зависимая хемилюминесценции плазмы крови у доноров

| Параметр       | Доноры (n = 96)   |
|----------------|-------------------|
| $I_{\max}$ , % | 52,2 (46,5; 59,0) |
| $S$ , %        | 49,0 (43,0; 54,2) |
| $I/S$          | 1,1 (1; 1,1)      |

Примечание. Данные представлены в виде Ме (25 %; 75 %)

Как видно из таблицы 1, для параметров ЛЗХЛ плазмы крови здоровых лиц установлены следующие референтные интервалы: максимальная интенсивность свечения,  $I_{\max}$  — от 46,45 до 59 %; площадь под кривой хемилюминесценции, светосумма  $S$  — от 43 до 54,2 %; коэффициент отношения максимальной интенсивности хемилюминесценции к светосумме на уровне 1,1.

### Выводы

Установлены референтные величины показателей люминол-зависимой хемилюминесценции плазмы крови у практически здоровых лиц.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Gaschler, M. M. Lipid peroxidation in cell death / M. M. Gaschler, B. R. Stockwell // Biochem Biophys Res Commun. — 2017. — Jan 15. — № 482(3). — P. 419–425.
2. Блеббинг плазмолеммы лимфоцитов периферической крови как маркер окислительного стресса / Д. А. Евсеенко [и др.] // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. — 2019. — № 2(22). — С. 30–35.
3. Киселев, П. А. Тест-система для определения общей антиокислительной (антирадикальной) активности / П. А. Киселев, В. С. Камышников // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. Материалы VIII съезда врачей клиничко-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь. — 2016. — Приложение. — С. 102.
4. Петренко, Т. С. Состояние про/антиоксидантной системы крови у реципиентов почечного трансплантата / Т. С. Петренко, И. А. Новикова, С. А. Зыблев // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. — 2017. — № 2. — С. 224–231.

УДК 616.155.34-052-097

## АПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОБЩЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Прокопович С. С.

Научный руководитель: д.м.н., профессор И. А. Новикова

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

### Введение

Общая переменная иммунологическая недостаточность (ОВИН) является первичным иммунодефицитом с преимущественным нарушением синтеза антител. В основе патогенеза ОВИН лежит нарушение антигензависимой дифференцировки В-лимфоцитов. В то же время в ряде работ установлены выраженные изменения субпопуляционного состава лимфоцитов: увеличение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов на фоне уменьшения Т-хелперов, изменение функционального потенциала Т-лимфоцитов в виде повышения экспрессии молекул ранней и поздней активации, различного рода дефекты костимулиру-

ющих молекул [1]. Также сообщается об аномалиях со стороны врожденной иммунной системы у пациентов с ОВИН, в частности, нарушениях дифференцировки и созревания дендритных клеток, гиперактивности моноцитов, дефектном фагоцитозе моноцитарно-макрофагальными клетками. На нейтрофильных гранулоцитах (НГ) описано нарушение экспрессии адгезионных молекул (CD11b, CD15, и CD62L, а также CD16b (FcγRIIIb)), что проявляется снижением процессов дегрануляции и фагоцитоза [1, 3].

Апоптоз является генетически детерминированным каспазозависимым процессом гибели НГ. Он характеризуется уменьшением количества цитоплазматических гранул, округлением ядра и конденсацией хроматина, что сопровождается функциональной депрессией клеток. Описано изменение апоптотической готовности нейтрофилов при ряде заболеваний, в том числе при некоторых первичных иммунодефицитах [3]. На современном этапе запуск суицидальной программы НГ при ОВИН представляет значительный интерес как один из возможных механизмов патогенеза коморбидных состояний.

### **Цель**

Оценить апоптотическую активность нейтрофилов у пациентов с ОВИН.

### **Материал и методы исследования**

Обследовано 25 человек в возрасте от 15 до 65 лет (13 мужчин и 12 женщин) с диагнозом ОВИН. Диагноз ОВИН выставлен в соответствии с критериями Европейского общества иммунодефицитов (ESID). Все пациенты на момент обследования находились в стадии ремиссии инфекционно-воспалительных заболеваний. Образцы периферической крови исследовали перед ежемесячным внутривенным введением иммуноглобулинов. Контрольную группу составили 25 сопоставимых по полу и возрасту практически здоровых лиц, не имеющих клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности.

Материалом для исследования служили лейкоциты, полученные из гепаринизированной венозной крови (10 ЕД/мл) путем отстаивания в термостате при 37 °С в течение 45 мин. Количество НГ в рабочей суспензии составляло  $5 \times 10^6$  клеток/мл. Апоптотическую активность НГ оценивали по методике А. Gorman. Лейкоциты инкубировали в фосфатно-солевом буфере (рН = 7,4) в течение 150 мин при 37 °С без стимулятора (спонтанный уровень,  $A_{сп}$ ) и в присутствии активатора (стимулированный уровень,  $A_{ст}$ ). В качестве стимулятора в тестах использовали убитый нагреванием музейный штамм *S. aureus* ATCC 25923 (концентрация микробных тел  $10^8$  КОЕ/мл). Суспензию окрашивали смесью акридинового оранжевого с этидиумом бромидом (Sigma, США), микроскопировали с помощью люминесцентного микроскопа Axiostar plus HBO 50/AC (ZEISS, Германия). Определяли долю апоптотических клеток на 200 сосчитанных НГ. Результат выражали в процентах. Индекс функционального резерва апоптотической готовности (ФРА) рассчитывали по формуле:  $ФРА = A_{ст}/A_{сп}$ .

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ StatSoft «Statistica» 13.0 (Trial-версия). Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов: U-критерия Манн — Уитни. Результат выражали в виде медианы и интерквартильный размах (Me; 25 %; 75 %). Для оценки двух независимых групп по одному признаку применяли U-критерий Манна — Уитни. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

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

Выявлено повышение как готовности Нф к апоптозу, так и стимулированной апоптотической активности у пациентов с ОВИН по сравнению с показателями контрольной группы. Так, значения  $A_{сп}$  составили 27 % (26; 30) у пациентов, тогда как у здоровых лиц — 10 % (9; 12) ( $p < 0,001$ );  $A_{ст}$  — 32 % (30; 39) в группе обследуемых и 24 % (19; 29) у доноров ( $p = 0,001$ ). Данные представлены на рисунке 1.

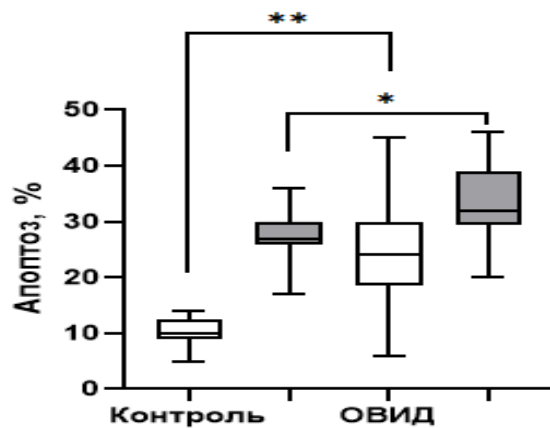


Рисунок 1 — Показатели апоптотической активности НГ

Примечание. \* — различия значимы,  $p < 0,05$ ; \*\* — различия значимы,  $p < 0,001$ ;  
 □ —  $A_{сп}$ ; ■ —  $A_{ст}$

Следует отметить, что параметры спонтанного апоптоза ( $A_{сп}$ ) повышались практически у всех обследованных нами пациентов ( $n = 23$ ; 92,3 % случаев), при этом степень повышения показателей была максимальна по сравнению с  $A_{ст}$ . Изменения апоптотической активности в стимулированном варианте теста носили неоднозначный характер: повышение параметров отмечалось только в 16 (64 %) случаях, тогда как у 9 (36 %) пациентов находилось в пределах диапазона референтных значений. Степень повышения  $A_{ст}$  составила 1,3 раза, что значительно ниже значений аналогичного показателя  $A_{сп}$  у пациентов с ОВИН.

Известно, что спонтанный тест отражает готовность НГ к апоптозу, а стимулированный — общий функциональный резерв внутриклеточных систем НГ. Поэтому нами дополнительно была проведена оценка значений индекса  $A_{ст}/A_{сп}$ . Выявлено снижение данного индекса у пациентов с ОВИН в сравнении с группой контроля ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует о повышенной апоптотической готовности НГ.

Известно, что апоптоз представляет собой регулируемый, энергетически затратный процесс, который может быть инициирован двумя механизмами: внутренний митохондриальный путь апоптоза запускается посредством генерации активных форм кислорода; внешний путь инициируется экстрацеллюлярными событиями через рецепторы клеточной поверхности к фактору некроза опухоли. Возможно, повышенная готовность к апоптозу связана с описанным нами ранее повышением кислород-продуцирующей активности НГ в спонтанном НСТ-тесте у пациентов с недостаточностью антителообразования [2].

### Выводы

У пациентов с ОВИН выявлено повышение показателей апоптотической готовности НГ относительно показателей контрольной группы; дополнительная стимуляция НГ приводит к снижению функционального резерва НГ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Прокопович, С. С. Иммунофенотипические особенности цитотоксических лимфоцитов у пациентов с общей вариабельной иммунологической недостаточностью / С. С. Прокопович, И. А. Новикова // Материалы XX междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых и V Форума молодежных научных обществ. — Витебск: ВГМУ, 2020. — Т. 1. — С. 130–133.
2. Прокопович, С. С. Показатели фагоцитарной активности у пациентов с нарушением антителопродукции / С. С. Прокопович, Е. И. Курицкая (научный руководитель И.А. Новикова) // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сб. науч. ст. XII Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых. — Гомель: ГГМУ, 2020. — Т.4. — С. 185–187.
3. Defective functions of polymorphonuclear neutrophils in patients with commonvariable immunodeficiency / S. Casulli [et al.] // Immunol Res. — 2014. — Vol. 60, № 1. — P. 69–76.