

УДК [616.155.34:616.34-002]:[616.98:578.828НIV]

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ
ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ
С ОБЩИМ ВАРИАБЕЛЬНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ**

*Прокопович С. С.¹, Новикова И. А.¹,
Плотникова Н. М.², Сердюкова О. А.²*

**¹Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»,
²Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

Общий переменный иммунодефицит (ОВИД) представляет собой первичный гуморальный иммунодефицит. Основным иммунологическим дефектом ОВИД является нарушение дифференцировки В-лимфоцитов и, как следствие, гипогаммаглобулинемия [1]. ОВИД весьма неоднороден по иммунологическим характеристикам и протекает с большим количеством клинических проявлений и осложнений [1]. Около 60 % пациентов с ОВИД имеют преходящий или стойкий диарейный синдром, у некоторых пациентов развивается мальабсорбция и потеря веса [2]. Помимо бактериальных и паразитарных инфекций ЖКТ, серьезными проблемами для пациентов с ОВИД являются воспалительные заболевания кишечника (ВЗК). Кроме того, желудочно-кишечные заболевания при ОВИД рассматриваются как факторы риска ранней смертности [1, 3]. Заместительная терапия и антибиотикотерапия значительно улучшили прогноз жизни для пациентов. Однако по мере того, как инфекционные осложнения становятся менее выраженными, на первый план выходят проблемы, связанные с аутовоспалением и иммунной дисрегуляцией.

В настоящее время имеются данные о способности нейтрофилов (Нф) как активировать, так и ингибировать функционирование иммунокомпетентных клеток [3]. Изменения параметров функциональных свойств фагоцитирующих клеток у пациентов с ОВИД в зависимости от особенностей клинических проявлений изучены недостаточно.

Цель

Проанализировать изменения параметров функциональной активности нейтрофилов крови у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника на фоне общего переменного иммунодефицита.

Материал и методы исследования

В исследование включены 35 пациентов с верифицированным диагнозом ОВИД (критерии ESID, 2020) в возрасте от 15 до 65 лет. Обследование проводилось в стадии ремиссии инфекционно-воспалительных заболеваний накануне заместительной терапии. Контрольную группу составили 50 сопоставимых по полу и возрасту практически здоровых лиц без клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности.

Всем пациентам проведена оценка функционального статуса нейтрофилов (Нф), включающая способность к образованию активных форм кислорода (АФК) и экстрацеллюлярных сетей (нетоз, NET), а также параметры поглотительной и апоптотической активности Нф. Материалом для исследования служила взвесь лейкоцитов, полученных из гепаринизированной крови (10 Ед/мл) с содержанием Нф 5×10^6 клеток/мл. В качестве стимулятора в тестах использовали убитый нагреванием преопсонизированный музейный штамм *S. aureus* ATCC 25923 (концентрация микробных тел 10^8 КОЕ/мл).

Кислород-продуцирующую активность Нф оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в двух вариантах: спонтанный (НСТсп) и стимулированный (НСТст). Поглотительную способность определяли в реакции фагоцитоза *S. aureus* с подсчетом фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ). Определение нетоза (*NETosis*) проводили по методу И. И. Долгушина и соавт. (2010) в нашей модификации. Микроскопически подсчитывали количество хорошо визуализированных NETs при краткосрочной (30 мин) и длительной (150 мин) инкубации клеток в среде без стимулятора (спонтанный тест — NETсп) и в присутствии стимулятора (стимулированный тест — NETст). Апоптотическую готовность Нф оценивали по методике А. Gorman: суспензию окрашивали смесью акридинового оранжевого с этидиумом бромидом, с помощью люминесцентной микроскопии определяли долю апоптотических клеток в спонтанном и стимулированном тестах (Асп; Аст).

Концентрацию иммуноглобулинов класса А, М и G определяли методом ELISA на анализаторе «Architect».

Обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ StatSoft «Statistica» 13.0 (Trial-версия) с использованием непараметрических методов: U-критерия Манн — Уитни. Результаты представлены как медиана и интерквартильный размах (25 %; 75 %). Различия считали значимым при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования представлены в таблице 1. Как видно из таблицы, в обследуемой группе пациентов с ОВИД наблюдались выраженные изменения показателей функционального статуса Нф. Так, отмечалось увеличение спонтанной АФК-продуцирующей способности Нф (НСТсп $z = 11,549$; $p < 0,001$), но снижение параметров стимулированного теста (НСТст $z = -8,397$; $p < 0,001$). У пациентов обнаруживалась более высокая способность Нф к образованию экстрацеллюлярных сетей, прежде всего в тесте «витального» нетоза (NET30сп $z = 9,846$; $p < 0,001$; NET30ст $z = 9,376$, $p < 0,001$). В то же время способность к «суицидальному» нетозу повышалась в меньшей степени и только в спонтанном (NET150сп $z = 6,426$, $p < 0,001$), но не стимулированном тесте (NET150ст: пациенты 10 [8,0; 12,] % vs доноры 9,0 [9,0; 10] %). Степень повышения показателей «витального» *NETosis* в обследуемой группе в 2,5 раза выше, чем в группе контроля, тогда как параметры «суицидального» нетоза превышали значения только в 1,4 раза. Апоптотическая активность Нф пациентов была выше соответствующих значений контрольной группы (Асп $z = 11,056$, $p < 0,001$; Аст $z = 4,827$, $p < 0,001$). Нами установлено, что на фоне выраженной активации Нф отмечалось снижение поглотительной функции Нф (ФИ: $z = -10,350$; $p < 0,001$) в сравнении с контролем.

Таблица 1 — Функциональный статус нейтрофилов у пациентов с ОВИД

Показатель, единица измерения	Контрольная группа (n = 50)	Обследованные пациенты	
		ОВИД (n = 35)	ВЗК (n = 12)
НСТсп, %	6,0 (4,0; 9,0)	23,0 (15,0; 32,0)*	19,0 (15,0; 30,0)*
НСТст, %	56,0 (49,0; 60,0)	43,0 (37,0; 49,0)*	40,0 (34,0; 47,0)* ^{**}
ФИ, %	70,0 (66,0; 73,0)	56,0 (51,0; 63,0)*	55,0 (51,0; 63,5)*
ФЧ	7,0 (6,0; 8,0)	7,0 (6,0; 9,0)	7,0 (6,0; 9,0)
NET30сп, %	2,0 (2,0; 3,0)	5,0 (3,0; 8,0)*	4,5 (3,0; 6,5)*
NET30ст, %	4,0 (3,0; 5,0)	7,0 (5,0; 9,0)*	7,0 (4,0; 8,0)*
NET150сп, %	5,0 (4,0; 5,0)	7,0 (5,0; 9,0)*	6,0 (5,0; 8,0)*
NET150ст, %	9,0 (9,0; 10,0)	10,0 (8,0; 12,0)	11,0 (9,0; 13,0)*
Асп, %	10,0 (8,0; 12,0)	20,0 (16,0; 29,0)*	23,0 (18,0; 29,0)*
Аст, %	26,0 (25,0; 29,0)	30,0 (26,0; 36,0)*	29,0 (26,0; 36,0)*

Примечание. Данные представлены в виде Me (25 %; 75 %); * — значимые различия относительно контрольной группы ($p < 0,05$); ** — значимы различия между «ОВИД без ВЗК» и «ОВИД + ВЗК» ($p < 0,05$).

Нами отдельно проанализированы параметры функционального статуса Нф у пациентов с наличием воспалительных заболеваний кишечника (хронический илеит, хронический колит, синдром раздраженного кишечника с диареей). При этом выявлены более выраженные, по сравнению с общей группой пациентов, изменения резервной АФК-продуцирующей функции Нф (НСТст $z = -2,375$, $p = 0,04$) и нетозообразования (NET150ст $z = 2,720$, $p = 0,006$).

Поскольку компоненты NETs могут выступать индукторами аутоагрессии, то максимальная степень увеличения показателей NET-образующей активности у пациентов с ВЗК при ОВИД может являться патогенетической основой развития и поддержания аутоиммунного воспаления в ЖКТ [4].

Дополнительно нами было проанализировано содержание иммуноглобулинов основных классов в сыворотке у пациентов с ВЗК при ОВИД. Установлено, что у пациентов с сочетанным клиническим фенотипом «ОВИД + ВЗК» отмечался более низкий уровень иммуноглобулинов класса А в сыворотке крови ($z = -2,527$; $p = 0,011$), тогда как концентрация сывороточных Ig M и G, напротив, была значительно выше таковой у пациентов с ОВИД без заболеваний кишечника воспалительного характера (Ig M: $z = 3,054$; $p = 0,002$; Ig G: $z = 3,649$; $p < 0,001$).

Выводы

1. У пациентов с ОВИД выявлены нарушения функциональных свойств Нф в виде увеличения параметров АФК- и NET-образующей активности (НСТсп $p < 0,001$; NET30сп, ст $p < 0,001$; NET150сп $p < 0,001$), а также повышение апоптотической готовности (Асп, ст $p < 0,001$), на фоне снижения поглотительной функции Нф ($p < 0,001$).

2. Обнаружены более выраженные изменения показателей функционального статуса Нф у пациентов с клиническим фенотипом «ОВИД + ВЗК» по сравнению с общей группой пациентов ОВИД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades / E. Resnick [et al.] // Blood. — 2013. — Vol. 119, № 7. — P. 1650–1657.
2. Прокопович, С. С. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с общей вариательной иммунологической недостаточностью / С. С. Прокопович, И. А. Новикова, А. П. Саливончик // Проблемы здоровья и экологии. — 2020. — № 2 (64). — С. 52–57.
3. Tam, J. Common Variable Immunodeficiency / J. Tam, J. Rautes // American Journal of Rhinology & Allergy. — 2013. — Vol. 27, № 4. — P. 260–265.
4. Yipp, B. G. NETosis: how vital is it? / B. G. Yipp, P. Kubes // Blood. — 2013. — Vol. 122, № 16. — P. 2784–2794.

УДК 618.3-06:616.151.511-07

ВЫЯВЛЕНИЕ СКЛОННОСТИ К ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Талако Т. М.¹, Кабаева Е. Н.¹, Шашок Л. В.²

¹Государственное учреждение образования

«Белорусская медицинская академия последипломного образования»,

²Учреждение здравоохранения

«Минский клинический консультативно-диагностический центр»

г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Тромбозы являются актуальной проблемой современного здравоохранения, приводя к инвалидизации и значительному снижению качества жизни пациентов, в том числе трудоспособного возраста [1]. С проявлениями тромбозов артериального и венозного русла, а также сосудов микроциркуляции может встретиться врач любой специальности, в связи с чем особое значение в настоящее