

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛЫМ СЕПСИСОМ И СЕПТИЧЕСКИМ ШОКОМ

© 2019 г. И. И. Долгушин¹, А. Ю. Савочкина^{1*}, Л. Р. Пыхова¹,
О. С. Абрамовских¹, Е. А. Четвернина¹, А. Е. Полторак²

*E-mail: alina7423@mail.ru

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия;

²ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Проведен сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от тяжести течения заболевания. Выявлено увеличение общего количества лейкоцитов, нейтрофильных внеклеточных сетей, показателей поглотительной активности нейтрофилов и активности внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных с септическим шоком.

Ключевые слова: тяжелый сепсис, септический шок, нейтрофильные внеклеточные ловушки

DOI: 10.31857/S102872210006586-9

Адрес: 454092, Челябинск, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Долгушин Илья Ильич. Тел.: +79127725806.

E-mail: alina7423@mail.ru

Авторы:

Долгушин И. И., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

Савочкина А. Ю., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

Пыхова Л. Р., старший лаборант ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

Абрамовских О. С., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

Четвернина Е. А., ассистент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

Полторак А. Е., врач-хирург хирургического отделения № 1 ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Пока учёные делают научные открытия и проводят исследования в области лечения СПИДа, диабета и рака, в мире всё ещё остаются заболевания, которые для многих людей заканчиваются летальным исходом. Одним из таких является сепсис. Даже в ведущих клиниках на сегодняшний день летальность при тяжелом сепсисе достигает 40% и 80–90% при септическом шоке [1]. Начиная с 1991 г. и до 2016 г. трижды менялись представления о диагностических критериях и определении понятия сепсис. Согласно новым дефинициям (Sepsis-3, 2016 г.) сепсис необходимо рассматривать не как синдром системной воспалительной реакции в ответ на инфекцию, а как угрожающую жизни дисфункцию, причиной которой является дисрегуляторный ответ организма на инфекцию [1]. Дисрегуляторные нарушения при сепсисе могут наблюдаться в частности со стороны работы иммунной системы и непосредственно врожденного иммунитета, так как именно он является первой линией защиты нашего организма. Нейтрофильным

гранулоцитам в настоящее время отводится важная роль в развитии и поддержании воспалительных процессов, что обусловлено продукцией ими различных медиаторов воспаления [2]. Помимо способности к фагоцитозу и дегрануляции нейтрофилы обладают способностью образовывать внеклеточные структуры. Эти структуры получили название «нейтрофильные внеклеточные ловушки» (Neutrophil Extracellular Traps, NETs или НВЛ) [3]. Нейтрофильные ловушки – один из важных механизмов противоинфекционной защиты при сепсисе, биологическая роль которого не менее важна, чем способность к фагоцитозу и секреции медиаторов. Однако гиперактивация иммунной системы и резкое увеличение нейтрофильных сетей несет негативный характер и, как правило, приводит к летальному исходу [4].

Исходя из этого, **целью** настоящего исследования явилось изучение показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от тяжести течения заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 34 пациента с диагнозом сепсис, находившихся на лечение в хирургических отделениях и ОРИТ ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница». В зависимости от тяжести течения заболевания обследуемые были разделены на две группы: в 1-ю группу (n=15) включены пациенты с тяжелым сепсисом, во 2-ю группу (n=19) – с септическим шоком. Проводили забор венозной крови в динамике с момента постановки диагноза. Пациентам проводили комплекс лабораторных тестов по оценке функциональной активности нейтрофилов периферической крови, который включал: подсчет количества лейкоцитов (счетная камера Горяева) и лейкоцитарной формулы (окраска по Романовскому-Гимзе, световая иммерсионная микроскопия); проводили оценку фагоцитарной активности нейтрофилов (по методу Фрейдлин И. С., 1984), рассчитывали активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число; проводили оценку внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов (постановку НСТ-теста осуществляли в модификации А. Н. Маянского и М.К Виксмана 1979); проводили подсчет нейтрофильных внеклеточных ловушек (окраска по Романовскому-Гимзе, световая иммерсионная микроскопия). Полученные данные были обработаны методами дескриптивной статистики

и представлены в виде средней арифметической и её стандартной ошибки ($M \pm m$). Различия между группами выявляли с помощью критерия Манна-Уитни и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведения вышеописанных методик было выявлено несколько различий, имеющих статистическую значимость, а часть показателей имела тенденцию к увеличению в группе больных с септическим шоком. Наблюдалась тенденция к увеличению относительного и абсолютного количества нейтрофилов, общего количества лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов в группе 2. Установлено достоверное увеличение относительного и абсолютного количества НВЛ у пациентов с септическим шоком. Результаты спонтанного НСТ-теста у больных с тяжелым сепсисом были выше, чем у больных с септическим шоком, а результаты индуцированного НСТ-теста ниже. Показатели поглотительной активности нейтрофилов (активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число) у больных с септическим шоком отличаются достоверным увеличением от таковых у больных с тяжелым сепсисом. Также было установлено снижение количества моноцитов и лимфоцитов в группе 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании установлено, что подавляющее большинство показателей функциональной активности нейтрофилов и общее количество лейкоцитов у больных с септическим шоком при сравнении с аналогичными у больных с тяжелым сепсисом отличаются и характеризуются увеличением. Аналогичные данные были получены нами ранее при сравнении данных показателей у больных с летальным исходом с группой больных с благоприятным исходом [2]. Обращает на себя внимание тот факт, что летальность при септическом шоке почти в два раза выше нежели при тяжелом сепсисе. Это и объясняет прямую зависимость полученных нами ранее данных в группе больных с летальным исходом с данными полученными в этом исследовании в группе с септическим шоком. Все это говорит о том, что гиперактивация иммунной системы, чрезмерное образование сетей ДНК, содержащих различные медиаторы воспаления, нарушения регуляции фагоцитарной реакции биологически активными веществами (нейро-

медиаторами, гормонами, простагландинами, биогенными аминами, пептидами и др.) может вызвать локальные аутоиммунные реакции с повреждением тканей, а токсичность ферментов лизосом и метаболитов кислорода, присутствующих в нейтрофильных внеклеточных ловушках, ведет к повреждению эндотелия, появлению очагов внутрисосудистого воспаления, что наряду с действием микроорганизмов и их токсинов, приводит к развитию полиорганной недостаточности и наступлению смерти [2].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Shankar-Hari M., Phillips G. S., Levy M. L., Seymour C. W., Liu V. X., Deutschman C. S., Angus D. C., Rubenfeld G. D., Singer M. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *J.A.M.A.* 2016, 315(8), 775–787.
2. Долгушин И. И., Торопова Л. Р., Савочкина А. Ю., Абрамовских О. С., Четвернина Е. А., Полторак А. Е. Динамика изменения показателей функциональной активности нейтрофилов у больных сепсисом с неблагоприятным исходом. *Российский иммунологический журнал* 2017, 11(20), 2, 295–296. In: *Dolgushin I. I., Toropova L. R., Savochkina A. Y., Abramovskikh O. S., Chetvernina E. A., Poltorak A. E.* Dynamics of changes functional parameters of neutrophils in septic patients with a faroble outcome. *Russian journal of immunology* 2017, 11(20), 2, 295–296.
3. Brinkmann V., Rechard V., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D. S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004, 303, 1532–1535.
4. Савочкина А. Ю., Пыхова Л. Р., Абрамовских О. С., Полторак А. Е., Четвернина Е. А. Сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от исхода. *Российский иммунологический журнал* 2018, 12(21), 4, 407–411 [A. Y. Savochkina, L. R. Pykhova, O. S. Abramovskikh, A. E. Poltorak, E. A. Chetvernina. Comparative analysis of the indicators of the functional activity of neutrophils peripheral blood in patients with sepsis depending on the exodusion. *Russian journal of immunology* 2018, 12(21), 4, 407–411.]

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INDICATORS OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH SEVERE SEPSIS AND SEPTIC SHOCK

© 2019 I. I. Dolgushin¹, A. Y. Savochkina^{1*}, L. R. Pykhova¹, O. S. Abramovskikh¹, E. A. Chetvernina¹, A. E. Poltorak²

*E-mail: alina7423@mail.ru

¹South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

²Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

A comparative analysis of the functional activity of peripheral blood neutrophils in patients with sepsis, depending on the severity of the disease, has been carried out. An increase in the total number of leukocytes, neutrophil extracellular networks, indicators of neutrophil absorption activity and the activity of intracellular oxygen-dependent metabolism of neutrophils in patients with septic shock was detected.

Key words: severe sepsis, septic shock, neutrophil extracellular traps

Authors:

Dolgushin I. I., Ph.D. Professor of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD, academician of RAS, honored scientist of the RF, president South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

Savochkina A. Y., ✉ Ph.D. Professor of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: alina7423@mail.ru;

Pykhova L. R., Senior laboratory assistant of the central research laboratory South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

Abramovskikh O. S., Ph.D. Professor of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

Chetvernina E. A., Assistant of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

Poltorak A. E., doctor surgeon of surgical department № 1 Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia.