

IL-10, мы выявили достоверно статистическое повышение данного соотношения как в сравнении до лечения, так и в сравнении с условноздоровыми.

Таким образом, можно предположить, что клиническая ремиссия в группе больных БА на фоне приема ИГКС наступает за счет изменения девиации иммунного ответа на Th1 иммунный ответ. Снижение уровня IL-4 происходит, в основном, за счет значительного ро-

ста IFN- γ и умеренного роста IL-10 в сравнении с иммунными показателями у больных БА в фазе обострения до начала лечения ИГКС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федосеев Г. Б. Бронхиальная астма / Г. Б. Федосеев, В. И. Трофимов. – СПб., 2006. – 308 с.
2. Кетлинский С. А. Иммунология для врачей / С. А. Кетлинский, Н. М. Калинина. – СПб., 1998. – 156 с.

INDEX OF DEVELOPMENT AND INDEX OF RELATIVE TO ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN BRONCHIAL ASTHMA

Ryabova L. V.

FGBOU YUGMU Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia

Against the background of treatment of IHCS of bronchial asthma, clinical remission, perhaps due to a change in the deviation of the immune response to the Th1 immune response.

Key words: bronchial asthma, immunology, cytokines

УЧАСТИЕ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ FX, FXI и FXII В ФОРМИРОВАНИИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ СЕТЕЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫМИ ГРАНУЛОЦИТАМИ

Савочкина А. Ю., Мякишева Э. Н., Абрамовских О. С.,
Тупиков В. А.

*ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научно-исследовательский
институт иммунологии ЮУГМУ, Челябинск, Россия*

Представлены результаты исследований по изучению влияния факторов свертывания крови FX, FXI и FXII на формирование внеклеточных ловушек нейтрофилами, выделенными из периферической крови.

Ключевые слова: нейтрофилы, факторы свертывания крови FX, FXI и FXII, нейтрофильные внеклеточные ловушки

Актуальность. Нейтрофильные гранулоциты являются самой большой популяцией лейкоцитов крови и играют важнейшую роль в механизмах врожденного иммунного ответа [1]. Они первыми приходят в очаг воспаления, где проявляют разнообразные виды активности [2]. Их традиционно относят к фагоцитирующим клеткам. Однако установлено,

что в нейтрофилах присутствуют и синтезируются в процессе активации клетки вещества с разнообразными регуляторными свойствами (простагландины, лейкотриены, ферменты и др.), с помощью которых они могут влиять на функции макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов, эпителиоцитов, фибробластов, на синтез иммуноглобулинов, систему комплимента, фи-

бринолиза, кининов [3]. Такое взаимодействие подтверждает тот факт, что при патогенезе воспалительных заболеваний, сопряженных с тромботическими осложнениями, существенную роль играет чрезмерная активация нейтрофилов с образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [4]. Нити ДНК сетей нейтрофильных гранулоцитов могут являться стимулом для контактной активации фактора XII (FXII) и каллекреин-кининовой системы [5, 6]. В результате такого взаимодействия запускается каскад внутреннего пути свертывания крови, что приводит к усилению процесса свертывания крови и завершается образованием мономеров фибрина с последующим формированием тромба. В то же время установлено, что плазма крови здорового человека ингибирует внеклеточный выброс ДНК нейтрофилами, выделенными из периферической крови [7]. В связи с этим представляло интерес изучить участие факторов свертывания FXII, FXI, FX в формировании НВЛ.

Цель исследования. Оценить участие факторов свертывания крови FXII, FXI, FX в формировании внеклеточных ловушек нейтрофилами, выделенными из периферической крови.

Материалы и методы. В ходе исследования принимали участие 25 условно здоровых женщин в возрасте от 18-35 лет. Критериями включения в исследование являлись: добровольное согласие на обследование; первая фаза менструального цикла; отсутствие приема лекарственных препаратов, хронических заболеваний в стадии обострения.

Материалом для исследования служили чистая фракция нейтрофилов, выделенная из периферической крови; аутологичная плазма здоровых людей; плазма, дефицитная по факторам FX, FXI, FXII (НПО «Ренам», Россия), активатор форбол-12-миристан-13-ацетат (Sigma-Aldrich).

Ход эксперимента. У обследуемых доноров, периферическую кровь забирали из локтевой вены в вакуумную пробирку с гепарином (на 1 мл крови 12-30 МЕ гепарина). Чистую фракцию нейтрофилов получили путем наложения цельной крови, разведенной стерильным физиологическим раствором на двойной градиент фиколла-верографина [8]. Для активации клеток использовали форбол-12-миристан-13-ацетат (ФМА) (Sigma-Aldrich) в концентрации 7,5 мкМ/мл. К полученной взвеси добавляли аутологичную плазму, плазму де-

фицитную по фактору X (FX), дефицитную по фактору XI (FXI), дефицитную по фактору XII (FXII). Все пробы инкубировали при температуре 37 °С в течении 30 минут. Было использовано несколько контролей: K1 – нейтрофилы, инкубированные с физиологическим раствором, K2 – нейтрофилы, активированные ФМА. Для количественной оценки внеклеточных ловушек в чистой фракции нейтрофилов был использован метод индикации НВЛ при окраске по Романовскому-Гимзе. Подсчет осуществляли при помощи световой микроскопии. Оценивали процентное содержание нейтрофилов с сегментированными ядрами, с недифференцированными ядрами и нейтрофильных внеклеточных ловушек. Полученные результаты обрабатывались с помощью пакета прикладных компьютерных программ SPSS – 17.0.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования были получены следующие результаты. В контрольной группе K1 количество нейтрофилов с сегментированным ядром составило 81,9±1,02 %, с недифференцированным ядром 11,4±0,72 %, НВЛ 6,5±0,58 %. После индукции нейтрофилов ФМА количество нейтрофилов с сегментированным ядром составило 36,2±3,46 %, с недифференцированным ядром 24,8±2,3 %, а НВЛ 38,9±3,36 %. Данные в группах K1 и K2 имеют достоверные отличия ($p < 0,05$). Таким образом, наблюдается ответ нейтрофилов на индукцию в нашем эксперименте. При добавлении к индуцированным нейтрофилам плазмы здоровых людей количество НВЛ достоверно снизилось по сравнению с группой индуцированных ФМА нейтрофилов и составило 5,04±0,69, при этом количество сегментоядерных нейтрофилов составило 79,7±1,7, а нейтрофилов с недифференцированным ядром 15,2±1,63. Можно утверждать, что плазма содержит факторы, блокирующие выброс ДНК нейтрофилами, что не противоречит данным других исследователей [3, 7]. При совместной инкубации нейтрофилов с ФМА и плазмами, дефицитными по факторам FXII, FXI и FX, количество НВЛ составило 7,08±0,69, 5,3±0,77 и 8,84±1,1 % соответственно. Это указывает на достоверное снижение количества НВЛ по сравнению с индуцированными нейтрофилами (K2), но и значимо не отличается по сравнению с количеством НВЛ под действием плазмы здоровых людей. Это дает нам основание утверждать, что исключение факторов FXII, FXI и FX не повлияло на

формирование НВЛ. Учитывая результаты нашего исследования, было установлено, что в плазме крови находятся факторы, ингибирующие образование НВЛ, и плазменные факторы свертывания FXII, FXI и FX к ним не относятся.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities / C. Nathan // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – № 6. – P. 173-182.
2. Шмагель К. В., Черешнев В. А. Клетки врожденного иммунитета. Пермь, 2011. 241 с.
3. Долгушин И. И., Андреева Ю. С., Савочкина А. Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. М.: Изд-во РАМН, 2009. 208 с.
4. Fuchs T. A., Brill A., Duerschmied D., Schatzberg D., Monestier M., Myers D. D., Wroblewski S. K., Wakefield T. W., Hartwig J. H., Wagner, D. D., Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 2010 15880-15885.)
5. von Bruhl M. L., Stark K., Steinhart A. et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med* 2012;209:819-35
6. Martinod K., Wagner D. D. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood*. 2014;123(18):2768-2776.
7. Долгушин И. И. Влияние плазмы и сыворотки на формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек / И. И. Долгушин, А. И. Рыжкова, А. Ю. Савочкина, Ю. С. Шишкова, М. А. Свиридов, К. В. Никушкина, Т. Г. Бондаренко // *Вестник Уральской медицинской академической науки.* – 2010. – № 2/1 (29). – С. 68-69
8. Пат. № 2431836 Рос. Федерация Способ выделения нейтрофильных гранулоцитов из периферической крови / И. И. Долгушин, А. И. Рыжкова, А. Ю. Савочкина, Ю. С. Андреева (Российская Федерация). – № 2010105891; заявл. 18.02.2010; опубл. 20.10.2011, Бюл. № 29. – 5с.

PARTICIPATION OF CLOTTING FACTORS OF FX, FXI AND FXII IN FORMATION OF EXTRACELLULAR TRAPS BY NEUTROPHIL GRANULOCYTES

Savochkina A. Y., Myakisheva E. N., Abramovskikh O. S.,
Tupikov V. A.

FSBEI of HI "South-Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Research institute of immunology, Chelyabinsk, Russia

Presents the results of a study on influence of clotting factors FX, FXI and FXII in the formation of extracellular traps by neutrophils isolated from the peripheral blood.

Key words: Neutrophils, clotting factors FX, FXI и FXII, neutrophil extracellular traps