

ОСОБЕННОСТИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ И СОСТОЯНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА

А.А. Савченко^{1,2}, И.И. Гвоздев¹, А.Г. Борисов^{1,2}, Д.В. Черданцев², О.В. Первова², И.В. Кудрявцев^{3,4,5}, А.В. Мошев¹

¹ ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

² ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия

³ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия

⁵ ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом (РГП) в динамике послеоперационного периода. Обследованы пациенты с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП. Забор крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода. Уровень фагоцитоза нейтрофилов определяли методом проточной цитометрии с помощью FITC-меченного стафилококкового белка А. Подсчитывали процент флуоресцирующих нейтрофилов (определяли как фагоцитарный индекс — ФИ) и средний уровень флуоресценции клеток (фагоцитарное число — ФЧ). По интенсивности флуоресценции разделяли нейтрофилы на активно фагоцитирующие (с высоким уровнем ФЧ) и слабо фагоцитирующие (с низким уровнем ФЧ). Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа. Установлено, что у больных РГП уже в дооперационном периоде повышена фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов крови. Максимум фагоцитарной активности наблюдается на 7 сутки послеоперационного периода и к 24 суткам количество фагоцитирующих клеток снижается до контрольного уровня, тогда как фагоцитарная активность клеток остается на дооперационном уровне. В дооперационном периоде у больных РГП количество активно фагоцитирующих нейтрофилов крови в 3,3 раза превышает число слабо фагоцитирующих клеток. К концу периода наблюдения количество активно и слабо фагоцитирующих нейтрофилов нормализуется. При исследовании состояния респираторного взрыва в нейтрофилах больных РГП

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН.
Тел.: (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12,
Scientific Research Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Библиографическое описание:

Савченко А.А., Гвоздев И.И., Борисов А.Г., Черданцев Д.В., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Особенности фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 51–60. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60

Citation:

Savchenko A.A., Gvozdev I.I., Borisov A.G., Cherdancev D.V., Pervova O.V., Kudryavcev I.V., Moshev A.V. Features of the phagocytic activity and respiratory burst state of blood neutrophils of patients with widespread purulent peritonitis in the dynamics of the postoperative period // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 51–60. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60

обнаружено, что уровень синтеза первичных активных форм кислорода (АФК) возрастает только с 7 суток послеоперационного периода и индуцированная активность НАДФН-оксидазы остается повышенной к концу периода наблюдения. В то же время, синтез вторичных АФК в нейтрофилах крови больных РГП повышен уже в дооперационном периоде и остается высоким до конца обследования. С помощью корреляционного анализа установлено, что, если у здоровых людей выявляются конкурентные взаимосвязи между уровнем синтеза первичных АФК и активностью фагоцитоза, то все обнаруженные корреляционные связи у больных РГП характеризуют высокий уровень скоординированности между респираторным взрывом и фагоцитарной активностью нейтрофилов. Указанные взаимосвязи выявляются только в дооперационном периоде, в послеоперационном периоде — отсутствуют. Можно предположить, что оперативное вмешательство и последующее лечение приводят к полной дискоординации в нейтрофилах крови механизмов фагоцитоза и респираторного взрыва.

Ключевые слова: перитонит, динамика послеоперационного периода, нейтрофилы, фагоцитоз, респираторный взрыв, активные формы кислорода.

PHAGOCYTOTIC ACTIVITY AND BLOOD NEUTROPHILS RESPIRATORY BURST STATE FEATURES AMONGST WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS PATIENTS IN THE POSTOPERATIVE PERIOD DYNAMICS

Savchenko A.A.^{a,b}, Gvozdev I.I.^a, Borisov A.G.^{a,b}, Cherdancev D.V.^b, Pervova O.V.^b, Kudryavcev I.V.^{c,d,e}, Moshev A.V.^a

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation

^c Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^d Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

^e Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The research aim was to study the phagocytic activity and the blood neutrophils respiratory burst state amongst the patients with widespread purulent peritonitis (WPP) in the dynamics of the postoperative period. The study was involved patients with acute surgical diseases and injuries of the abdominal organs complicated by WPP. Blood sampling was performed prior to surgery (pre-operative period) and at 7, 14 and 24 day post-operative period. The neutrophil phagocytosis level was determined by flow cytometry using FITC-labeled staphylococcal protein A. There was counted the percentage of fluorescent neutrophils (defined as the phagocytic index — PI) and average of the cell fluorescence (phagocytic number — PN). According to the fluorescence intensity divided phagocytic neutrophils in an active (high PN) and weakly phagocytic (low PN). Condition of the respiratory burst in the neutrophils was examined using a chemiluminescent assay. It was found that patients with WPP in the preoperative period had increased phagocytic activity of the blood neutrophils. The maximum phagocytic activity observed on day 7 of the postoperative period and by 24 days the number of phagocytic cells is reduced to control level whereas phagocytic activity of the cells remains at the preoperative level. In the preoperative period in patients with WPP the amount of active phagocytic blood neutrophils 3.3 times higher than the number of weakly phagocytic cells. By the end of the observation period the number of active and weakly phagocytic neutrophils returning to normal. In the study of the state of respiratory burst in the neutrophils by the WPP patients discovered that the primary synthesis levels of reactive oxygen species (ROS) increases only with 7 days of postoperative period and the induced activity of NADPH-oxidase remains elevated to the end of the observation period. At the same time, the synthesis of secondary ROS in the blood neutrophil of the WPP patients increased already in the preoperative period and remains high until the end of the survey. Using correlation analysis it was found that if healthy people had a competitive relationship between the level of synthesis of primary ROS and the activity of phagocytosis then all detected correlations in the WPP patients characterized by high level of coordination between the respiratory burst and the phagocytic activity of the neutrophils. These relationships are identified in the preoperative period, postoperatively do not exist. It can be assumed that the surgery and the subsequent treatment leads to complete incoordination in the neutrophils the mechanisms of phagocytosis and respiratory burst.

Key words: peritonitis, dynamics of the postoperative period, neutrophils, phagocytosis, respiratory burst, reactive oxygen species.

Введение

Течение инфекционного процесса в брюшной полости при распространенном гнойном перитоните (РГП), характер и особенности развития гнойных послеоперационных осложнений определяются не только тяжестью основного заболевания и полнотой проводимой интенсивной терапии, но и во многом зависят от характера изменений в иммунной системе

пациента [1, 3, 16]. Доказано, что у больных РГП дисфункция иммунной системы наблюдается чаще, чем несостоятельность любой другой органной системы [4]. Системная иммунодепрессия нарастает параллельно с манифестацией признаков системной воспалительной реакции, которая клинически может маскировать факт ее развития и углубления. В действительности тяжелая дисфункция иммунной системы является не просто ранним и надежным признаком

развивающейся полиорганной недостаточности (ПОН), но и в значительной степени обеспечивает ее возникновение и последующее прогрессирование [4, 9, 19].

Нейтрофильные гранулоциты являются ключевыми клетками воспаления, представляют собой высокорепродуктивное звено в иммунной системе. Они первыми мобилизуются в очаг воспаления, от их фагоцитарной активности во многом зависит эффективность противомикробной защиты организма [5, 7, 21]. Воспринимаемая многочисленными сигналами о дестабилизации внутренней среды, нейтрофилы модулируют свои функции, нацеленные на ее восстановление. Активированные нейтрофилы сами становятся мощными эффекторами пусковых и регуляторных механизмов каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Это связано с тем, что нейтрофильные гранулоциты способны не только в качестве эффекторов продуцировать цитотоксические молекулы, но и, как регуляторные клетки, синтезировать широкий спектр различных цитокинов [4, 10, 11]. В связи с этим, изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов позволит на клеточном уровне охарактеризовать особенности генеза воспалительных процессов при такой тяжелой хирургической патологии как РГП.

Хемилюминесцентная активность характеризует состояние респираторного взрыва нейтрофилов, который развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза [5]. Обсуждается значение синтеза ряда активных форм кислорода (АФК) в системе внешнего киллинга [14, 18]. В связи с этим, изучение особенностей фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов у больных РГП позволит охарактеризовать механизмы воспалительного процесса, его регуляцию и в дальнейшем разработать методы прогноза характера течения и исхода заболевания.

Целью исследования явилось изучение фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

Материалы и методы

На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» обследовано 27 пациентов с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 30–65 лет. Из исследования были исключены пациенты, у которых причиной РГП являлись: острый деструктивный панкреатит (панкреонекроз), тотальный мезентериальный тромбоз, онкологические заболевания, туберкулез. Объем оперативного вмешательства и количество санаций определялись лечащим врачом в зависимости от состояния больного. Забор

крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода. В качестве контроля обследовано 67 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Уровень фагоцитоза нейтрофилов определяли методом проточной цитометрии с помощью FITC-меченного стафилококкового белка А [2]. Конъюгацию выполняли следующим образом: к стафилококковому белку А (разведен в бикарбонатном буфере, рН = 9,0) добавляли FITC (предварительно растворяли в ДМСО до концентрации 1 мкг/мл), инкубировали в темноте в течение 1 ч, трижды отмывали и по стандарту мутности доводили концентрацию белка до 1 млн/мл. К 100 мкл гепаринизированной крови добавляли 10 мкл FITC-меченного белка А и инкубировали 30 мин при температуре 37°C. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента «VersaLyse» (Beckman Coulter, США). Для гашения адгезированного на поверхности нейтрофилов FITC-меченного белка А к суспензии клеток добавляли раствор трипанового синего (0,2 мг/мл). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, США). В каждой пробе анализировали не менее 50 000 нейтрофилов. Подсчитывали процент флуоресцирующих нейтрофилов (определяли как фагоцитарный индекс — ФИ) и средний уровень флуоресценции клеток (фагоцитарное число — ФЧ). По интенсивности флуоресценции разделяли нейтрофилы на активно фагоцитирующие (с высоким уровнем ФЧ) и слабо фагоцитирующие (с низким уровнем ФЧ).

Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа [6]. В качестве индикаторов хемилюминесценции использовали люминол и люцигенин. Оценка спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществлялась в течение 90 мин на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3606» (Россия). Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение интенсивности (I_{max}), а также площадь под кривой (S) хемилюминесценции. Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, оценивали отношением площади индуцированной хемилюминесценции ($S_{инд}$) к площади спонтанной ($S_{сп}$) и определяли как индекс активации ($S_{инд}/S_{сп}$).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C₂₅ и C₇₅). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

Исследование фагоцитарной активности общей фракции нейтрофилов крови позволило установить, что уже в дооперационном периоде у больных РГП относительно контрольных значений ФИ повышается в 2,4 раза (p < 0,001), ФЧ — в 2,6 раза (p < 0,001). Максимального уровня фагоцитарная активность нейтрофилов у больных РГП достигает на 7 сутки послеоперационного периода и затем к 24 суткам снижается до контрольного диапазона по ФИ (p > 0,05), тогда как ФЧ в этот же период наблюдения превышает контрольные значения в 2,5 раза (p < 0,001).

При разделении общей фракции нейтрофилов на активно и слабо фагоцитирующие обнаружено, что процент активно фагоцитирующих клеток у больных РГП в дооперационном периоде в 2,1 раза превышает контрольные значения, тогда как ФИ слабо фагоцитирующих нейтрофилов у обследованных пациентов в 2,7 раза ниже, чем у лиц контрольной группы (табл. 1). При этом ФЧ у активно и слабо фагоцитирую-

щих нейтрофилов у больных РГП значительно превышает контрольный диапазон. На 7 сутки послеоперационного периода у больных наблюдается сохранение активности фагоцитоза для активно фагоцитирующих нейтрофилов. В этот период наблюдения ФИ для слабо фагоцитирующих клеток у пациентов с РГП в 2,1 ниже, чем у лиц контрольной группы, но при сохранении высоких значений ФЧ. На 14 сутки после операции у обследованных пациентов ФИ активно фагоцитирующих нейтрофилов уже соответствует контрольным значениям, тогда как ФЧ остается повышенным. Подобные изменения выявляются и для слабо фагоцитирующих клеток: ФИ повышается до уровня контрольного диапазона, значения ФЧ сохраняются на высоком уровне. На 24 сутки после операции у больных ФИ и ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов соответствуют контрольным уровням. В этот же период наблюдения значения ФИ слабо фагоцитирующих клеток у больных РГП также соответствуют контрольному уровню, тогда как значения ФЧ остаются значительно повышенными.

В дооперационном периоде и на 7 сутки после операции показатели спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов больных РГП соответствовали контрольным значениям (табл. 2). На 14 сутки обследования у больных РГП в 2,4 раза увеличивается площадь под кривой хемилюминесценции. На 24 сутки у больных выявляется снижение максимума интенсивности спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции относительно контрольных значений и понижение до контрольного уровня площади под кривой хемилюминесценции.

Таблица 1. Фагоцитарный индекс и фагоцитарное число активно и слабо фагоцитирующих нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅–C₇₅)

Table 1. Phagocytic index (PI) and phagocytic number (PN) of neutrophils (Ne) with high and low phagocytic activity from patients with widespread purulent peritonitis (WPP) during the postoperative period (Me, C₂₅–C₇₅)

Группы Groups		Активно фагоцитирующие Ne with high phagocytic activity				Слабо фагоцитирующие Ne with low phagocytic activity			
		ФИ/PI, %		ФЧ/PN		ФИ/PI, %		ФЧ/PN	
		Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Контроль/Healthy control	n = 67	36,82	9,14–67,75	113,0	52,7–205,5	64,04	29,41–75,19	2,4	1,9–5,6
Больные РГП/Patients with WPP									
Дооперационный период Before surgery	n = 27	76,21	39,81–91,22	249,0	202,1–319,2	23,42	18,71–59,15	45,3	37,6–52,2
		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,002		p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
7 сутки после операции 7 days post surgery	n = 25	71,44	45,41–83,62	345,5	199,5–428,5	22,52	15,78–52,26	49,6	38,5–58,7
		p ₁ = 0,012		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,022		p ₁ < 0,001	
14 сутки после операции 14 days post surgery	n = 21	55,13	53,99–74,60	214,0	211,0–253,0	43,32	25,17–43,98	50,7	50,0–54,1
				p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,048				p ₁ = 0,002	
24 сутки после операции 24 days post surgery	n = 21	65,29	56,67–75,46	187,0	186,8–281,1	33,75	24,36–39,71	45,6	34,7–54,8
				p ₂ = 0,034				p ₁ = 0,034	

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контрольными значениями; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных РГП на 7 сутках после операции.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus 7 days post surgery patients with WPP.

Таблица 2. Спонтанная люцигенин-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅–C₇₅)Table 2. Spontaneous lucigenin-dependent chemiluminescence (LDCL) of neutrophil activity from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅–C₇₅)

Группы Groups		T _{max} , c/sec.		I _{max} , о.е. × 10 ³		S, о.е. × c/sec. × 10 ⁵	
		Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Контроль/Healthy control	n = 67	2380	1698–3541	7,26	2,92–15,05	3,12	1,06–6,91
Больные РГП/Patients with WPP							
Дооперационный период Before surgery	n = 27	1775	1302–2921	5,57	1,21–14,08	4,98	1,09–16,00
7 сутки после операции 7 days post surgery	n = 25	1694	1126–2551	7,36	2,56–17,23	4,75	2,85–12,00
14 сутки после операции 14 days post surgery	n = 21	1844	891–4115	8,46	1,5–12,43	7,63	2,12–11,5
						p ₁ < 0,001	
24 сутки после операции 24 days post surgery	n = 21	2300	1865–3444	3,02	2,08–5,61	3,58	2,31–10,92
				p ₃ = 0,048		p ₂ = 0,036	

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями дооперационного периода; p₃ — с показателями 14 суток после операции.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 14 days post surgery patients with WPP. T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min.

В дооперационном периоде у больных РГП показатели зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов соответствуют контрольному диапазону (табл. 3). На 7 сутки после операции у обследованных пациентов в 2,4 раза повышается максимум интенсивности относительно контрольного диапазона и увеличивается площадь под кривой хемилюминесценции, как относительно контрольных значений, так и диапазона, выявляемого у больных в дооперационном периоде. На 14 сутки обследования обнаружено превышение в 1,5 раза только площади под кривой хемилюминесцен-

ции. На 24 сутки обследования наблюдается понижение в 3,9 раза максимума интенсивности зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции относительно значений, выявленных у больных РГП до операции, а также более высокая величина площади под кривой хемилюминесценции, чем у лиц контрольной группы. Кроме того, в этот период обследования при РГП повышен индекс активации относительно величин, выявленных в дооперационном периоде и на 14 сутки после операции.

При исследовании спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов

Таблица 3. Зимозан-индуцированная люцигенин-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅–C₇₅)Table 3. Zymosan-induced LDCL of neutrophil activity from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅–C₇₅)

Группы		T _{max} , c/sec.		I _{max} , о.е. × 10 ³		S, о.е. × c/sec. × 10 ⁵		S _{инд} /S _{сп} S _{инд} /S _{сп}	
		Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅	Me	C ₂₅ –C ₇₅
Контроль/Healthy control	n = 67	2046	1620–2710	11,75	7,58–27,71	4,85	2,94–9,94	1,76	1,12–3,19
Больные РГП									
Дооперационный период Before surgery	n = 27	1748	1489–2653	7,84	3,41–27,30	8,96	2,14–28,00	1,79	1,13–2,51
7 сутки после операции 7 days post surgery	n = 25	1706	1485–2016	28,32	14,79–50,56	25,8	16,44–27,90	4,62	1,46–8,22
				p ₁ = 0,033		p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,012			
14 сутки после операции 14 days post surgery	n = 21	1533	708–4888	7,85	2,48–17,43	7,33	1,65–12,10	1,29	0,69–2,11
						p ₁ < 0,001			
24 сутки после операции 24 days post surgery	n = 21	2253	1622–3756	7,31	4,78–12,82	10,81	8,76–13,50	3,28	1,40–4,99
				p ₂ = 0,036		p ₁ = 0,013		p ₂ = 0,049 p ₃ = 0,047	

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями дооперационного периода; p₃ — с показателями 14 суток после операции.

Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 14 days post surgery patients with WPP. T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min. S_{инд}/S_{сп} — the ration between zymosan-induced and spontaneous LDCL.

Таблица 4. Спонтанная люминол-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)

Table 4. Spontaneous LDCL activity of neutrophils from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅-C₇₅)

Группы		T _{max} c/sec.		I _{max} o.e. × 10 ³		S, o.e. × c/sec. × 10 ⁵	
		Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Контроль/Healthy control	n = 67	1009	615-1583	8,97	3,26-22,48	2,74	1,13-7,32
Больные РГП/Patients with WPP							
Дооперационный период Before surgery	n = 27	1804	1133-2398	32,72	8,79-44,61	23,51	7,68-48,7
		p ₁ = 0,005		p ₁ = 0,005		p ₁ < 0,001	
7 сутки после операции 7 days post surgery	n = 25	1535	1324-2685	31,05	19,86-46,29	44,25	29,65-58,3
		p ₁ = 0,027		p ₁ = 0,002		p ₁ < 0,001	
14 сутки после операции 14 days post surgery	n = 21	1589	644-2020	36,73	14,47-46,13	20,91	9,59-29,6
		p ₁ = 0,041		p ₁ = 0,008		p ₁ < 0,001	
24 сутки после операции 24 days post surgery	n = 21	2004	1511-3106	27,91	12,32-43,26	3,58	2,31-10,92
		p ₁ = 0,014		p ₁ = 0,029		p ₂ = 0,049	

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями дооперационного периода.
 Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery.
 T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min.

у больных РГП в дооперационном периоде в 1,8 раза удлиняется время выхода на максимум, в 3,6 раза повышается максимум интенсивности и в 8,6 раз площадь под кривой хемилюминесценции (табл. 4). На 7 и 14 сутки послеоперационного периода все эти показатели остаются повышенными. На 24 сутки обследования также обнаружено повышение времени выхода на максимум и максимума интенсивности спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов относительно контрольных значений, но при снижении площади под кривой хемилюминесценции до контрольного уровня.

При исследовании показателей зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов обнаружено, что у больных РГП в доопераци-

онном периоде в 3,4 раза повышен максимум интенсивности и в 9,7 раза площадь под кривой хемилюминесценции относительно показателей контрольной группы (табл. 5). Подобные особенности данного типа хемилюминесценции выявляются и на 7 сутки послеоперационного периода. На 14 сутки обследования у больных РГП при сохранении повышенных значений максимума интенсивности и площади под кривой хемилюминесценции удлиняется время выхода на максимум относительно контрольного диапазона. На 24 сутки обследования у больных максимум интенсивности в 2,2 раза превышает контрольный диапазон, тогда как площадь под кривой хемилюминесценции — в 10,0 раз. Сохраняется более длительный период выхода на максимум хемилюминесценции, чем у лиц контрольной группы.

Таблица 5. Зимозан-индуцированная люминол-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофилов больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)

Table 5. Zymosan-induced LDCL activity of neutrophils from patients with WPP during the postoperative period (Me, C₂₅-C₇₅)

Группы		T _{max} c/sec.		I _{max} o.e. × 10 ³		S, o.e. × c/sec. × 10 ⁵		S _{инд} /S _{сп} S _{инд} /S _{сп}	
		Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Контроль/Healthy control	n = 67	1122	814-1526	18,02	7,02-36,56	5,82	2,08-12,7	1,73	1,33-2,53
Больные РГП/Patients with WPP									
Дооперационный период Before surgery	n = 27	1549	684-2035	60,93	19,24-108,02	56,65	17,5-104	2,28	1,52-3,00
		p ₁ = 0,002		p ₁ < 0,001					
7 сутки после операции 7 days post surgery	n = 25	1230	878-1604	78,36	54,87-97,24	66,21	57,3-127,5	2,43	1,09-3,62
		p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001					
14 сутки после операции 14 days post surgery	n = 21	1559	1130-1889	48,14	36,72-68,69	46,41	21,6-62,9	1,27	1,13-3,13
		p ₁ = 0,028		p ₁ = 0,010		p ₁ < 0,001			
24 сутки после операции 24 days post surgery	n = 21	1720	1127-2563	39,46	23,55-80,77	58,23	38,06-89,3	1,74	1,26-2,06
		p ₁ = 0,032		p ₁ = 0,038		p ₁ < 0,001			

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы.
 Note: p₁ — statistically significant differences versus controls. T_{max} — time to maximum, I_{max} — maximum intensity value, reflecting the maximum reactive oxygen species level synthesis, S — the area under the curve, describing total synthesis of reactive oxygen species during 90 min.
 S_{инд}/S_{сп} — the ration between zymosan-induced and spontaneous LDCL.

При исследовании взаимосвязи между показателями фагоцитарной активности и респираторного взрыва установлено, что у лиц контрольной группы процент фагоцитирующих нейтрофилов отрицательно взаимосвязан с интенсивностью зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = -0,38$, $p = 0,024$) и положительно — со временем выхода на максимум индуцированной люцигенин-зависимой ($r = 0,57$, $p < 0,001$) и люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,38$, $p = 0,019$). ФИ активно фагоцитирующих нейтрофилов положительно коррелирует со временем выхода на максимум спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,39$, $p = 0,016$), тогда как ФЧ данной фракции клеток отрицательно взаимосвязана с максимумом интенсивности индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r = -0,37$, $p = 0,026$) и положительно — со временем выхода на максимум этой же кривой ($r = 0,44$, $p = 0,007$). Кроме того, у лиц контрольной группы время выхода на максимум спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов положительно взаимосвязано с ФЧ слабо фагоцитирующих клеток ($r = 0,43$, $p = 0,008$).

У больных РГП обнаружено меньшее количество взаимосвязей между показателями фагоцитарной активности и респираторного взрыва нейтрофилов. При этом с показателями респираторного взрыва коррелируют только параметры фагоцитоза активно и слабо фагоцитирующих клеток. Так, у обследованных пациентов ФЧ активно фагоцитирующих клеток положительно взаимосвязано максимумом интенсивности спонтанной ($r = 0,73$, $p = 0,025$) и зимозан-индуцированной ($r = 0,75$, $p = 0,020$) люцигенин-зависимой хемилюминесценции, а также с площадью под кривой, индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,72$, $p = 0,030$). ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов отрицательно коррелирует со временем выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r = -0,68$, $p = 0,042$), тогда как ФЧ слабо фагоцитирующих клеток — положительно с максимумом интенсивности спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,73$, $p = 0,025$). В послеоперационном периоде взаимосвязей между показателями фагоцитарной активности и уровнем респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных РГП не обнаружено.

Обсуждение

Нейтрофильные гранулоциты играют ведущую роль в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе и при РГП [4, 19, 21]. Установлено, что фагоцитарная активность нейтрофилов в дооперационном периоде у больных РГП значительно повышена. Причем значительно увеличивается не только

количество фагоцитирующих нейтрофилов в крови, но и активность собственно фагоцитоза (исходя из величины ФЧ). Активность фагоцитоза при РГП достигает максимума на 7 сутки послеоперационного периода и к 24 суткам количество фагоцитирующих нейтрофилов крови снижается до контрольного диапазона. Однако фагоцитарная активность нейтрофилов крови у больных РГП остается практически на уровне дооперационного периода. Выявленные особенности динамики количества и активности фагоцитирующих нейтрофилов при РГП определяются лечением и, соответственно, клиническим состоянием больных в послеоперационном периоде [3, 4]. За счет снижения количества лейкоцитов в периферической крови обследованных пациентов понижается уровень нейтрофильных гранулоцитов и, соответственно, количество фагоцитирующих клеток, но при сохранении высокой функциональной активности.

При реализации цитометрического протокола оценки фагоцитарной активности нейтрофилов было обнаружено, что общая фракция клеток, исходя из значений ФЧ, делится на две субпопуляции. В связи с этим, все фагоцитирующие нейтрофилы были разделены на фракции: активно фагоцитирующие клетки и слабо фагоцитирующие. Действительно, субпопуляционная гетерогенность нейтрофильных гранулоцитов отмечена в ряде исследований [8, 13, 15, 17]. Доказано, что различные субпопуляции нейтрофилов по разному реализуют свою функциональную активность при воспалительных и онкологических заболеваниях. В целом, выделяют фракции нейтрофилов с преимущественно эффекторной функцией (фагоцитоз) и регуляторные (синтезирующие различные цитокины).

Нами обнаружено, что у здоровых лиц (группа контроля) в периферической крови преобладают слабо фагоцитирующие нейтрофилы (в 1,7 раза), у больных РГП в до- и послеоперационном периоде — активно фагоцитирующие клетки (в 3,3 раза в дооперационном периоде и в 1,3 раза на 14 сутки послеоперационного периода). Количество активно фагоцитирующих нейтрофилов крови у больных РГП в дооперационном периоде и на 7 сутки послеоперационного периода превышает контрольные показатели, на 14 и 24 сутки после операции — соответствуют контрольному уровню. При этом активность фагоцитоза для клеток данной фракции у обследованных пациентов нормализуется только к 24 суткам послеоперационного периода. Количество слабо фагоцитирующих нейтрофилов крови при РГП в дооперационном периоде и на 7 сутки после операции снижено по сравнению с контрольными значениями. С 14 суток послеоперационного периода их количество нормализуется. Однако фагоцитарная активность данной фракции нейтрофилов остается значительно повышенной относительно контрольных значений на весь период наблюдений.

Активность респираторного взрыва нейтрофилов определяется уровнями синтеза первичных и вторичных АФК и опосредует процессы фагоцитоза и киллинга [4, 6, 18]. Состояние респираторного взрыва было исследовано с помощью двух хемилюминесцентных индикаторов: люцигенина и люминола. Люцигенин окисляется и люминесцирует только под влиянием супероксид-радикала, который определяется как первичная АФК и синтезируется в системе НАДФН-оксидазы [12, 20]. Люцигенин не проходит через мембрану клеток и связывается с супероксид-радикалом только во внеклеточном пространстве. Соответственно, исследование люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов позволяет охарактеризовать состояние активности НАДФН-оксидазы и уровень выделения супероксид-радикала для реализации механизма внешнего киллинга у больных РГП.

У больных РГП в дооперационном периоде уровень синтеза супероксид-радикала нейтрофилами крови соответствует контрольным значениям. На 7 сутки послеоперационного периода выявляется повышение индуцированной активности НАДФН-оксидазы под действием опсонизированного зимозана. На 14 сутки послеоперационного периода наблюдается повышение спонтанной и индуцированной активности НАДФН-оксидазы в нейтрофильных гранулоцитах больных РГП. На 24 сутки выявляется снижение основных интегральных характеристик активности НАДФН-оксидазы в клетках больных РГП до уровней контрольных значений. Следовательно, уровень синтеза наиболее бактерицидной формы АФК — супероксид-радикала — нейтрофилами крови у больных РГП в дооперационном периоде соответствует контрольным значениям, достигает максимума на 14 сутки послеоперационного периода и к концу периода наблюдения снижается до уровней контрольного диапазона.

В формировании пула вторичных АФК в нейтрофильных гранулоцитах принимают участие такие ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, миелопероксидаза и др. [4, 6, 7]. Для оценки интенсивности синтеза вторичных АФК нейтрофилами крови нами использовалась люминол-зависимая хемилюминесценция. Необходимо отметить, что люминол способен вступать в хемилюминесцентную реакцию как с первичными, так и со вторичными АФК [4, 6].

При исследовании люминол-зависимой хемилюминесценции обнаружено, что уже в дооперационном периоде уровень спонтанного и индуцированного синтеза вторичных АФК нейтрофилами крови у больных РГП значительно повышен. При этом удлиняется время выхода на максимум спонтанной хемилюминесценции. Данный показатель характеризует скорость развития респираторного взрыва от момента регуляторного или антигенного воздействия

на клетку до максимальной активации ферментов, синтезирующих АФК [4, 5]. Интенсивность спонтанного синтеза вторичных АФК нейтрофилами при РГП снижается до контрольного уровня к 24 суткам послеоперационного периода. При индукции зимозаном высокий уровень синтеза сохраняется весь период наблюдения.

С помощью корреляционного анализа установлено, что у здоровых людей активность НАДФН-оксидазы, индуцированная зимозаном, и, соответственно, синтез супероксид-радикала отрицательно взаимосвязана с ФИ общей фракции нейтрофилов крови и ФЧ активно фагоцитирующих клеток, что указывает на конкурентные механизмы синтеза первичных АФК и фагоцитарной активности нейтрофилов. В то же время показатели фагоцитарной активности (ФИ и ФЧ) положительно коррелируют с временем выхода на максимум спонтанной и индуцированной люцигенин- и люминол-зависимой реакции, что также определяет увеличение времени развития респираторного взрыва при высокой фагоцитарной активности клеток. В дооперационном периоде у больных РГП обнаружены только положительные корреляционные связи между показателями фагоцитарной активности нейтрофилов и интенсивностью синтеза первичных и вторичных АФК. В том числе обнаружена инверсия знака корреляционной связи между ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов и максимумом интенсивности индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции: при РГП — положительная взаимосвязь, у лиц контрольной группы — отрицательная. Единственной отрицательной корреляционной связью при РГП является взаимосвязь между временем выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции и ФЧ активно фагоцитирующих нейтрофилов. Данная взаимосвязь указывает на сокращение скорости развития синтеза первичных АФК при высокой фагоцитарной активности клеток. Можно заключить, что у больных РГП в дооперационном периоде наблюдается высокий уровень координации между респираторным взрывом и фагоцитарной активностью нейтрофилов. Оперативное вмешательство и последующее лечение приводят к полной дискоординации между респираторным взрывом и фагоцитозом, что проявляется в отсутствии корреляционных связей между ними.

Таким образом, у больных РГП уже в дооперационном периоде значительно повышена фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов крови. Максимум фагоцитарной активности наблюдается на 7 сутки послеоперационного периода и к 24 суткам количество фагоцитирующих клеток снижается до контрольного уровня, тогда как фагоцитарная активность клеток остается на дооперационном уровне. В дооперационном периоде у больных

РГП количество активно фагоцитирующих нейтрофилов крови в 3,3 раза превышает число слабо фагоцитирующих клеток. К концу периода наблюдения количество активно и слабо фагоцитирующих нейтрофилов нормализуется. Но, если фагоцитарное число активно фагоцитирующих нейтрофилов у больных РГП также нормализуется, то фагоцитарная активность фракции слабо фагоцитирующих клеток остается значительно повышенной относительно контрольного уровня. При исследовании состояния респираторного взрыва в нейтрофилах больных РГП установлено, что уровень синтеза первичных АФК возрастает только с 7 суток послеоперационного периода и индуцированная активность НАДФН-оксидазы остается повышенной к концу периода наблюдения. В то же время, синтез вторичных АФК в нейтрофилах крови больных РГП повышен уже в дооперационном периоде и остается высоким до конца обследования. С помощью корреляционного анализа установлено, что если у здоровых людей выявляются конкурентные взаимосвязи между уровнем синтеза первичных АФК и активностью

фагоцитоза, то все обнаруженные корреляционные связи у больных РГП характеризуют высокий уровень скоординированности между респираторным взрывом и фагоцитарной активностью нейтрофилов. Причем, данные взаимосвязи выявляются только в дооперационном периоде, в послеоперационном периоде — отсутствуют. Можно предположить, что оперативное вмешательство и последующее лечение приводит к полной дискоординации в нейтрофилах крови механизмов фагоцитоза и респираторного взрыва. Выявленные особенности фагоцитарной активности нейтрофилов крови и интенсивности респираторного взрыва в данном типе клеток у больных РГП может быть использовано при разработке иммунотерапевтических методов, направленных на оптимизацию функциональной активности фагоцитирующих клеток при острых инфекционно-воспалительных заболеваниях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности».

Список литературы/References

1. Борисов А.Г., Савченко А.А., Смирнова С.В. К вопросу о классификации нарушений функционального состояния иммунной системы // Сибирский медицинский журнал. 2008. Т. 23, № 3 (вып. 1). С. 13–18. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Smirnova S.V. On the classification of the functional state of the immune system disorders. *Sibirskii meditsinskii zhurnal = Siberian Medical Journal*, vol. 23, no. 3 (iss. 1), pp. 13–18. (In Russ.)]
2. Мазуров Д.В., Пинегин Б.В. Применение проточной цитометрии для оценки поглотительной и бактерицидной функций гранулоцитов и моноцитов периферической крови // Аллергия, астма и клиническая иммунология. 1999. № 9. С. 154–156. [Mazurov D.V., Pinegin B.V. Application of flow cytometry for evaluating the absorbency and the antibacterial functions of granulocytes and monocytes of peripheral blood. *Allergiya, astma i klinicheskaya immunologiya = Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 1999, no. 9, pp. 154–156. (In Russ.)]
3. Савченко А.А., Борисов А.Г., Здзитовецкий Д.Э., Кудрявцев И.В. Состояние клеточного и гуморального иммунитета в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 1. С. 63–70. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Zdzitoveckij D.E., Kudryavtsev I.V. The cellular and humoral immunity state depending on the outcome of a widespread purulent peritonitis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 63–70. doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-63-70 (In Russ.)]
4. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г. Иммунометаболические нарушения при распространенном гнойном перитоните. Новосибирск: Наука, 2013. 142 с. [Savchenko A.A., Zdzitoveckij D.E., Borisov A.G. Immunometabolicheskie narusheniya pri rasprostranennom gnoynom peritonite [The immune and metabolic disorders by the widespread purulent peritonitis]. *Novosibirsk: Nauka*, 2013. 142 p.]
5. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов и уровни концентрации цитокинов у больных распространенным гнойным перитонитом // Цитокины и воспаление. 2013. Т. 12, № 1–2. С. 115–119. [Savchenko A.A., Zdzitoveckij D.E., Borisov A.G., Luzan N.A. The chemiluminescent activity of neutrophils and concentration levels of cytokines in patients with widespread purulent peritonitis. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2013, vol. 12, no. 1–2, pp. 115–119. (In Russ.)]
6. Шкапова Е.А., Куртасова Л.М., Савченко А.А. Показатели люцигенин- и люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком почки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 149. № 2. С. 201–203. [Shkapova E.A., Kurtasova L.M., Savchenko A.A. The indicators of the lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence of blood neutrophils by the patients with kidney cancer. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 149, no. 2, pp. 201–203. (In Russ.)]
7. Allen R.C. Neutrophil leukocyte: combustive microbicidal action and chemiluminescence. *J. Immunol. Res.*, vol. 2015: 794072, 11 p. doi: 10.1155/2015/794072
8. Arnardottir H.H., Freysdottir J., Hardardottir I. Dietary fish oil increases the proportion of a specific neutrophil subpopulation in blood and total neutrophils in peritoneum of mice following endotoxin-induced inflammation. *J. Nutr. Biochem.*, 2013, vol. 24, no. 1, pp. 248–255. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.05.012
9. Bilen Y., Cankaya E., Bilen N., Keles M., Erdem F., Uyanik A., Hamidullah Uyanik M. Peritonitis incidence was correlated with duration of peritoneal dialysis rather than leptin or neutrophil to lymphocyte (n/l) ratio in peritoneal dialysis patients. *Eurasian J. Med.*, 2014, vol. 46, no. 3, pp. 145–150. doi: 10.5152/eajm.2014.45
10. Dupont A., Dury S., Gafà V., Lebargy F., Deslée G., Guenounou M., Antonicelli F., Le Naour R. Impairment of neutrophil reactivity to elastin peptides in COPD. *Thorax*, 2013, vol. 68, no. 5, pp. 421–428. doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-201833

11. Grandel U., Heygster D., Sibelius U., Fink L., Sigel S., Seeger W., Grimminger F., Hattar K. Amplification of lipopolysaccharide-induced cytokine synthesis in non-small cell lung cancer/neutrophil cocultures. *Mol. Cancer Res.*, 2009, vol. 7, no. 10, pp. 1729–1735. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0048
12. Guedes-Martins L., Silva E., Gaio A.R., Saraiva J., Soares A.I., Afonso J., Macedo F., Almeida H. Fetal-maternal interface impedance parallels local NADPH oxidase related superoxide production. *Redox Biol.*, 2015, vol. 5, pp. 114–123. doi: 10.1016/j.redox.2015.04.007
13. Matsushima H., Geng S., Lu R., Okamoto T., Yao Y., Mayuzumi N., Kotol P.F., Chojnacki B.J., Miyazaki T., Gallo R.L., Takashima A. Neutrophil differentiation into a unique hybrid population exhibiting dual phenotype and functionality of neutrophils and dendritic cells. *Blood*, 2013, vol. 121, no. 10, pp. 1677–1689. doi: 10.1182/blood-2012-07-445189
14. Mikami S., Aiboshi J., Kobayashi T., Kojima M., Morishita K., Otomo Y. Discrete roles of intracellular phospholipases A2 in human neutrophil cytotoxicity. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2015, vol. 79, no. 2, pp. 238–246. doi: 10.1097/TA.0000000000000730
15. Nayak N.M., Madhumitha S., Annigeri R.A., Venkataraman R., Balasubramaian S., Seshadri R., Vadamalai V., Rao B.S., Kowdle P.C., Ramakrishnan N., Mani M.K. Clinical utility of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin measured at admission to predict outcomes in heterogeneous population of critically ill patients. *Indian J. Nephrol.*, 2016, vol. 26, no. 2, pp. 119–124. doi: 10.4103/0971-4065.157800
16. Nemzek J.A., Fry C., Moore B.B. Adoptive transfer of fibrocytes enhances splenic T-cell numbers and survival in septic peritonitis. *Shock*, 2013, vol. 40, no. 2, pp. 106–114. doi: 10.1097/SHK.0b013e31829c3c68
17. Sagiv J.Y., Michaeli J., Assi S., Mishalian I., Kisos H., Levy L., Danti P., Lumbroso D., Polyansky L., Sionov R.V., Ariel A., Hovav A.H., Henke E., Fridlender Z.G., Granot Z. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell Rep.*, 2015, vol. 10, no. 4, pp. 562–573. doi: 10.1016/j.celrep.2014.12.039
18. Saroni Arwa P., Zeraik M.L., Ximenes V.F., Da Fonseca L.M., Bolzani Vda S., Siqueira Silva D.H. Redox-active biflavonoids from *Garcinia brasiliensis* as inhibitors of neutrophil oxidative burst and human erythrocyte membrane damage. *J. Ethnopharmacol.*, 2015, vol. 174, pp. 410–418. doi: 10.1016/j.jep.2015.08.041
19. Watzlawick R., Kenngott E.E., Liu F.D., Schwab J.M., Hamann A. Anti-inflammatory effects of IL-27 in zymosan-induced peritonitis: inhibition of neutrophil recruitment partially explained by impaired mobilization from bone marrow and reduced chemokine levels. *PLoS One*, 2015, vol. 11, no. 10(9), e0137651. doi: 10.1371/journal.pone.0137651
20. Yang T., Peleli M., Zollbrecht C., Giulietti A., Terrando N., Lundberg J.O., Weitzberg E., Carlström M. Inorganic nitrite attenuates NADPH oxidase-derived superoxide generation in activated macrophages via a nitric oxide-dependent mechanism. *Free Radic. Biol. Med.*, 2015, vol. 83, pp. 159–166. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.016
21. Zonneveld R., Molema G., Plotz F.B. Analyzing neutrophil morphology, mechanics, and motility in sepsis: options and challenges for novel bedside technologies. *Crit. Care Med.*, 2016, vol. 44, no. 1, pp. 218–228. doi: 10.1097/CCM.0000000000001266

Авторы:

Савченко А.А., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Гвоздев И.И., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Борисов А.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Черданцев Д.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой и клиникой хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия;
Первова О.В., д.м.н., профессор кафедры и клиники хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия;
Кудрявцев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории общей иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; старший научный сотрудник кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Россия;
Мошев А.В., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Gvozdev I.I., Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Cherdancev D.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno with a Course of Endoscopy and Endosurgery, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Pervova O.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno with a Course of Endoscopy and Endosurgery, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok; Associate Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Moshev A.V., Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation.