

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Сытов А.В.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С СЕПСИСОМ В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ)

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава РФ, 115478, Москва

Исследование выполнено у 9 онкологических больных с сепсисом. Клинический анализ крови больных с сепсисом сопровождался лейкомоидной реакцией нейтрофильного типа, с появлением в дифференциальном счёте лейкоцитов молодых клеток (миелоцитов, метамиелоцитов). По литературным данным показано, что при тяжёлом сепсисе локальная инфекция сопровождается системной активацией нейтрофилов (НФ). При этом чрезмерная активация и расположение НФ в микроциркуляторном русле, особенно ее молодых форм и образования внеклеточных сетей-ловушек (NETs), может способствовать патологическим проявлениям полиорганной недостаточности и тромбозам.

Ключевые слова: онкологические больные; сепсис; нейтрофилы; фагоцитоз; адгезия; агрегация.

Для цитирования: Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Сытов А.В. Морфологические и функциональные особенности нейтрофилов периферической крови у онкологических больных с сепсисом в раннем послеоперационном периоде (литературный обзор и результаты собственных исследований). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (1): 15-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-15-21>

Blindar V.N., Zubrikhina G.N., Sytov A.V.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHILS IN ONCOLOGIC PATIENTS WITH SEPSIS IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD (REVIEW OF LITERATURE AND RESULTS OF OWNERSHIP)

FSBI «National Medical Research Center of Oncology N.N. Blokhin» Ministry of Health of Russia, 115478, Moscow

The study was performed in 9 cancer patients with sepsis. A clinical blood test of patients with sepsis was accompanied by a neutrophilic leukemoid reaction, with the appearance in the differential count of white blood cells of young cells (myelocytes, metamyelocytes). According to the literature, it is shown that in severe sepsis, a local infection is accompanied by systemic of neutrophil activation (NF). Moreover, excessive activation and location of NF in the microvasculature, especially its young forms and the formation of extracellular trap networks (NETs), can contribute to pathological manifestations of multiple organ failure and thrombosis.

Key words: cancer patients; sepsis; neutrophils; phagocytosis; adhesion; aggregation

For citation: Blindar V.N., Zubrikhina G.N., Sytov A.V. Morphological and functional features of peripheral blood neutrophils in cancer patients with sepsis in the early postoperative period (review of literature and results of our own studies). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (1): 15-21 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-15-21>

For correspondence: *Blindar Valentina Nikolaevna*, Dr. biol. sciences, leading scientific staff; e-mail: bld51@list.ru

Information about authors:

Blindar V.N., <https://orcid.org/0000-0002-4630-4988>;
Zubrikhina G.N., <https://orcid.org/0000-0002-5854-9755>;
Sytov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-6426-3200>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Received 27.03.2020
Accepted 27.05.2020

Введение. Сепсис характеризуется системной воспалительной реакцией на инфекцию с признаками полиорганной недостаточности [1,2]. Полиорганная недостаточность является серьезной угрозой выживанию пациентов с сепсисом и активным воспалением [3]. В

последнее время в качестве одного из ведущих патогенетических факторов развития сепсиса рассматриваются дисфункция клеток иммунной системы и дисбаланс цитокинов, приводящие к повреждению эндотелия и обуславливающие развитие синдрома системного вос-

Для корреспонденции: *Блиндарь Валентина Николаевна*, д-р. биол. наук, вед. науч. сотр.; e-mail: bld51@list.ru

палительного ответа. При тяжелом сепсисе локальная инфекция сопровождается системной активацией нейтрофилов (НФ) [4]. НФ крови играют важную роль в формировании противоинфекционного иммунитета. Они являются активным и многочисленным эффективным звеном врожденной иммунной системы, который защищает организм от инфицирования патогенными микроорганизмами [5].

В то же время чрезмерная активация НФ на фоне воспаления при сепсисе в микроциркуляторном русле, подавление НФ адаптивного иммунитета может способствовать развитию синдрома полиорганной недостаточности (Multiple organ dysfunction) и вызвать выраженную иммуносупрессию [6, 7].

Целью работы явилось исследование лейкоцитарной формулы, морфологических особенностей НФ периферической крови, анализ основных функций на основе собственных исследований, проведенных ранее, и данных литературы у онкологических больных в процессе развития гнойно-септических инфекций.

Материал и методы. Проведено исследование клинического анализа крови: WBC; дифференциальный счет НФ; детальный анализ морфологии НФ. Исследование выполнено у 9 онкологических больных: рак желудка – 3; рак поджелудочной железы – 3; рак почки – 1 и рак легкого – 2. Больные госпитализированы с сепсисом в отделение реанимации клиники Центра в 2019 г. повторно, после проведения экстренной операции (7-11 сутки). Диагноз соответствовал международным критериям тяжелого сепсиса. Исследование проведено в 1-3-и сутки после установления сепсиса. У больных выявлена II-, III- и IV-я стадии заболевания, в каждой группе по 3 человека. Возраст 46-75 лет (медиана 70 лет), из них 3 женщины и 6 мужчин. В качестве контрольной группы исследование аналогичных показателей крови проведено у 25 здоровых лиц. (сотрудники, доноры). Лейкоцитарную формулу и анализ морфологии НФ исследовали с помощью микроскопа фирмы LEICA (США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программных пакетов MS-EXCEL, BIOSTAT, Version 4.03. Для оценки достоверности результатов использовали *t*-критерий Стьюдента. Проведенные исследования выполнялись в соответствии с принципами Хельсинской Декларации, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией.

Результаты и обсуждение. Известно, что в нормальной лейкоцитарной формуле, при дифференциальном подсчете НФ периферической крови составляют 48-78%, и это самая многочисленная часть лейкоцитарной фракции. Жизненный цикл НФ начинается в костном мозге, где происходит дифференцировка и созревание НФ до зрелых форм. Перед поступлением в кровь, зрелые НФ проводят до 5 дней в синусах костного мозга, где происходит их дозревание и формирование костномозгового резерва. Клеточность которого чрезвычайно высокая и превышает количество НФ в периферической крови в 10-20 раз. Для НФ костный мозг не только орган репродукции – это и депо, где сосредоточен огромный резерв зрелых НФ, готовых по первому требованию выйти в кровеносное русло (при острых бактериальных инфекциях, токсическом, септическом, лучевом воздействиях [8, 9].

В норме в сосудистое русло выходят немногочисленные палочкоядерные формы (1-6%) и большое количество сегментоядерных НФ (48-72%). Они отличаются

друг от друга только морфологическим строением ядра. Следует отметить, что продолжительность существования НФ именно в виде их палочкоядерной разновидности невелика – они быстро превращаются в зрелые сегментоядерные элементы в сосудистом русле. В процессе созревания НФ меняется их иммунофенотипическая характеристика. На поверхности мембран появляются макромолекулы, выявляемые МКА: CD33, CD13, CD18, CD11a, CD11b, CD11c, CD16 и т.д. [10]. Более молодые клетки (бласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) в периферической крови не встречаются, они не могут пройти через костномозговой барьер. Появление в кровеносном русле единичных промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов у больных с сепсисом может свидетельствовать или о снижении запаса зрелых НФ в депо костного мозга, или об угнетении функциональной активности костного мозга на фоне бактериальной инфекции [11].

В отсутствие инфекции НФ не активны, они находятся в состоянии покоя, циркулируя в крови и формируя два пула: пристеночный и сосудистый. При этом длительность жизни циркулирующих НФ в крови составляет от нескольких часов до нескольких суток. При появлении воспалительного сигнала от бактерий и цитокинов (интерлейкины, интерфероны, факторы некроза опухолей), НФ активируются и быстро, в массовом количестве, покидают кровоток, преодолевая барьер из эндотелиальных клеток сосудов, и колонизируют очаг инфекции в тканях [9, 10, 12].

Нейтрофилез с ядерным сдвигом вправо (увеличение сегментоядерных НФ, уменьшение или исчезновение палочкоядерных НФ), как правило, говорит о хорошей, адекватной защитной реакции костномозгового кроветворения на инфекцию или воспалительный процесс и о благоприятном течении заболевания. Появление нейтропении и иммунодефицитных состояний у пациентов с тяжелыми бактериальными инфекциями является иллюстрацией и доказательством важности антимикробной функции НФ. В современной клинической практике диагностика и лечение тяжелых инфекций осложняются генерализацией течения, сопровождающейся системными реакциями и сепсисом [9, 11, 13].

В нашем исследовании клинический анализ крови больных с сепсисом сопровождался лейкомоидной реакцией нейтрофильного типа (см.таблицу). Количество WBC значительно превышало норму у большинства из них, с колебаниями в широких пределах от 2,5 до 41,9 $\times 10^9/\text{л}$, среднее значение составило $(21,2 \pm 4,3) \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,001$). В лейкоцитарной формуле отмечался как относительный, так и абсолютный нейтрофилез ($p < 0,01$). У одного больного (рак легкого; Ша стадия; метастазы в лимфоузлы средостения; 71 год) выявлена лейкопения ($\text{WBC} = 2,5 \times 10^9/\text{л}$), с абсолютной нейтропенией ($1,7 \times 10^9/\text{л}$), что свидетельствовало о снижении костномозгового резерва НФ в синусах костного мозга этого больного. Среди НФ отмечалось значительное количество молодых форм (миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных). Нейтрофилез с выраженным сдвигом формулы крови влево в сочетании с небольшим лейкоцитозом или лейкопенией, как правило, свидетельствует о тяжелом течении патологического процесса и плохой сопротивляемости организма.

При оценке диагностической и прогностической значимости нейтрофильного сдвига важно определить процентное соотношение незрелых и зрелых форм НФ.

Для этого рассчитывают ядерный индекс сдвига НФ— отношение содержания миелоцитов, метамиелоцитов и палочкоядерных к сегментоядерным НФ. В норме ядерный индекс сдвига НФ равен 0,05–0,1. У онкологических больных с сепсисом ядерный сдвиг влево был значительно выше нормы и в среднем по группе, составлял $0,53 \pm 0,08$ с колебаниями значений от 0,2 до 0,9. (см. таблицу). В современных гематологических анализаторах (типа Sysmex XE-2100) он определяется автоматически, обозначается IG (Immature Granulocytes) и в норме равен 0,1–0,4 [11].

Нейтрофилез с дегенеративным ядерным сдвигом влево, который проявляется увеличением незрелых форм НФ и появлением в периферической крови, как в нашем случае, у пациентов с сепсисом, дегенеративные измененных сегментоядерных НФ (токсогенная зернистость, пикноз ядер, вакуолизация цитоплазмы). Это свидетельствует об эндогенной интоксикации и указывает на угнетение функциональной активности костного мозга на фоне бактериальной инфекции у больных с сепсисом [11].

Свое название НФ получили вследствие наличия в цитоплазме гранул, компоненты которых играют основную роль в эффекторных функциях НФ. Гранулы разделяются на четыре типа: первичные (азурофильные), появляющиеся в процессе дифференцировки на стадии промиелоцита; вторичные (специфические), появляющиеся на стадии превращения в миелоциты; третичные или желатиновые гранулы и секреторные (везикулы), появляющиеся в зрелых сегментированных формах. Все типы гранул НФ различаются составом и обеспечивают антимикробную функцию НФ [8, 10].

Зрелые первичные гранулы, в основном содержат миелопероксидазу (МП). МП – специфический маркер, преобразующий перекись водорода в хлорноватистую кислоту, обладающую мощной антимикробной активностью. МП является аутокринным регулятором активации НФ. МП, по мнению многих авторов [8, 14, 15], принимает активное участие в фагоцитозе. МП оказывает непосредственное действие на микроорганизм, являясь катионным белком, она связывается с отрицательно заряженным компонентом оболочки бактерий и нарушает ее проницаемость. МП обладает сильным микробицидным свойством, кроме того МП усиливает функции других микробицидных систем, особенно при воспалительных процессах [8, 14, 15]. Как показало наше исследование, активность МП в группе больных с гнойно-септическими осложнениями оказалась достоверно ниже ($-7,1 \pm 4,2$) по сравнению с группой без осложнений ($3,6 \pm 2,8$) ($p > 0,05$) [14, 16]. Некоторые авторы считают, что по мере развития сепсиса МП может резко снижаться в НФ [14].

Механизм действия щелочной фосфатазы (ЩФ), которая выявляется в зрелых НФ, на бактерии заключается

в гидролизе нуклеиновых кислот и фосфопротеинов. О большом значении ЩФ [17, 14] в осуществлении фазы переваривания реакции фагоцитоза свидетельствуют данные о высокой корреляции между активностью фермента и завершенностью фагоцитоза. У больных с сепсисом, по данным литературы, ЩФ превышает норму в десятки раз [18, 19].

Развитие сепсиса на фоне выраженного нейтрофилаза указывает на наличие дисфункции НФ, что может способствовать увеличению восприимчивости к инфекциям. В нормальных условиях НФ – эффекторные клетки врожденной иммунной системы – циркулируют в состоянии покоя и служат первой линией защиты от вторжения патогенных микроорганизмов. При тяжелом воспалении НФ быстро активируются, однако такие показатели, как число лейкоцитов и НФ периферической крови часто не дают четкого представления о полноценном участии их в инфекционном процессе. Функциональное состояние НФ (способность к адгезии или прилипанию, микробицидная функция, межклеточное взаимодействие и фагоцитоз, внутриклеточное уничтожение, NETosis и их способность модулировать адаптивный иммунитет) во многом определяет возможность локализации возбудителя в месте его инвазии. Дефект одной из функций НФ может привести к увеличению предрасположенности к инфекции [14, 15].

Известно, что у онкологических больных ослаблен иммунитет. Все виды традиционной противоопухолевой терапии оказывают выраженное угнетающее действие на уже неполноценную иммунную систему онкологического больного [20]. При этом система кроветворения, в том числе, ее гранулоцитарный росток, является объектом интенсивных, и в ряде случаев, неблагоприятных воздействий. В их числе химиотерапия, облучение и оперативное вмешательство, которое является значительным стрессом [14, 16, 20] для ослабленного организма, что способствует росту гнойно-септических осложнений в процессе лечения [21].

Ранее нами проведено исследование адгезии НФ периферической крови к пластику у 126 первичных онкологических больных с различными локализациями опухоли (рак легкого, поджелудочной железы, молочной железы, яичников). Среди них преобладали больные с III стадией заболевания [16, 22]. Было показано, что эта функция зрелых НФ была значительно снижена у всех онкологических больных, независимо от локализации опухоли, в ряде случаев, на 30–40% по сравнению с группой контроля. В среднем по группе показатели адгезии составили $41,5 \pm 3,1\%$, в группе контроля $72,3 \pm 2,6\%$ ($p < 0,01$).

Снижение адгезии к пластику сопровождалось статистически значимым снижением экспрессии молекул адгезии CD11b, CD18. Отмечено уменьшение экс-

Дифференциальный подсчет нейтрофилов периферической крови у онкологических больных с сепсисом в раннем послеоперационном периоде ($X \pm m$)

| Группы | Показатели | | | | | |
|---------------------|----------------------|-----------------|------------------|----------------|----------------------|-------------------|
| | WBC, $10^9/\text{л}$ | МЦ+МЕТА, | П/Я, % | С/Я, % | АБС, $10^9/\text{л}$ | ЯД/ИНД |
| Контроль ($n=25$) | $6,7 \pm 0,13$ | 0 | $3,1 \pm 0,08$ | $59,2 \pm 5,8$ | $3,9 \pm 0,7$ | $0,07 \pm 0,01$ |
| Больные ($n=9$) | $21,2 \pm 4,3^*$ | $5,8 \pm 1,2^*$ | $23,9 \pm 3,7^*$ | $61,1 \pm 5,1$ | $19,4 \pm 4,2^*$ | $0,53 \pm 0,08^*$ |

Примечание. WBC – лейкоциты; МЦ + МЕТА – миелоциты + метамиелоциты; П/Я – палочкоядерные НФ; С/Я – сегментоядерные НФ; АБС – абсолютное количество НФ, содержащихся в 1 литре крови; ЯД/ИНД – ядерный индекс сдвига НФ. * – различия показателей по сравнению с группой контроля статистически значимы ($p < 0,01$).

прессии и других исследуемых антигенов CD16, CD24, CD95. Отмечена тесная корреляционная связь экспрессии антигенов CD11b и CD18 с функцией адгезии НФ к пластику, коэффициенты корреляции составили 0,67 и 0,72 соответственно, не отмечено корреляции с антигенами CD16, CD24, CD95 [22,14].

Для выяснения зависимости изменения адгезии НФ от стадии заболевания, было проведено исследование этой функции у 176 больных с опухолями молочной железы. У 153 первичных больных раком молочных желез с I-IV стадиями заболевания и у 23 пациенток с доброкачественными опухолями молочной железы. Уровень снижения ее у больных раком молочной железы зависел от стадии, максимальное снижение отмечено при IV стадии заболевания. Различия оказались статистически значимыми как по отношению к группе доноров, так и больными раком молочной железы с III стадией ($p < 0,01$) [20].

У больных раком яичников с диссеминированными формами, с явлениями асцита, отмечались более низкие показатели адгезии НФ еще до лечения, при этом у больных без асцита эта функция была ближе показателям контроля. Такая же закономерность прослеживалась и на 7-е сутки после операции.

Большое значение для понимания регуляторной роли НФ, имеют немногочисленные, но весьма убедительные данные об их способности *in vitro* представлять антиген лимфоцитам, макрофагам, что характеризует НФ как антигенпрезентирующие клетки [15,19, 21]. На это также указывают сведения об экспрессии HLA-DR-антигенов (аналогов Ia-антигенов) на человеческих НФ на ранних этапах дифференцировки в костном мозге НФ, несущие Ia-рецепторы, способны обеспечить пролиферативный ответ лимфоцитов в аллогенной смешанной культуре. Необходимость Ia-антигенов для включения клеток в иммунологические реакции, заканчивающиеся продукцией антител и образованием Т-клеток-эффекторов, является общепризнанной. О значении НФ для нормального функционирования иммунокомпетентных клеток говорят многочисленные факты. Так, например, искусственная нейтропения приводит к резкому снижению накопления моноцитов в очаге воспаления [23]. Нарушение функций НФ, развитие хронической нейтропении ведет к снижению активности естественных киллеров, реакции гиперчувствительности замедленного типа, пролиферации тимоцитов, сопровождается развитием иммунодефицитного состояния и инфекционных процессов [15, 19, 21].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что НФ занимают ключевые позиции в регуляции иммунокомпетентных клеток. Она может осуществляться, как за счет прямого контакта его с иммунокомпетентными клетками, так и опосредованно, путем секреции регуляторных факторов.

НФ обладают способностью передвигаться по направлению к очагу инфекции, поглощать и переваривать бактериальные микроорганизмы. Сложный процесс фагоцитоза является многоэтапным и включает хемотаксис или движение по направлению к фагоцитируемому объекту, поглощение и переваривание микробов [15]. Реализация этих процессов происходит с помощью рецепторов адгезии на мембране клеток. Эти белки, относящиеся к семейству интегринов, формируются в третичных гранулах и выявляются МКА CD11a, CD11b и CD11c [24,14]. Миграция лейкоцитов в ткани процесс,

опосредованный взаимодействием лейкоцитов и клеток эндотелия. Связывание НФ с сосудистым эндотелием контролируется последовательной активностью двух групп молекул адгезии – селектинами и интегриннами. Селектины вызывают первичное прикрепление НФ к эндотелию, тогда как интегрины вызывают плотную адгезию [24,14].

Исследование экспрессии антигенов на НФ с помощью МКА, проведенное у 9 больных раком яичников до лечения, выявило снижение показателей почти всех исследуемых маркеров. Экспрессия CD11b антигена была снижена у 6 из 9 (66,6%), у трех пациентов она оказалась в пределах нормы. Среднее значение было достоверно ниже, чем в контроле и составило $55,2 \pm 10,7\%$. Такие же закономерности получены и при анализе показателей экспрессии антигена CD18 [14,22], средний уровень, которого был равен $71,8 \pm 3,7\%$, что достоверно ниже, чем в контроле $90,4 \pm 4,2\%$ ($p < 0,01$). Аналогичные результаты были получены другими исследователями [25]. Ряд авторов считают, что лейкоциты крови онкологических больных с сепсисом характеризуются повышенной экспрессией CD11b и CD11c в сочетании с понижением экспрессии CD95, что может рассматриваться как возможные маркеры развития синдрома системной воспалительной реакции [25, 26].

Исследовали спонтанную агрегацию НФ у 398 онкологических больных, которая, была разработана Д.К. Новиковым в 1978 [27]. Анализ средних показателей агрегации, на различных этапах клинического течения заболевания, не выявил существенного отличия от показателей доноров у большинства из них. Однако отмечена значительная вариабельность показателей. Усиление агрегации НФ выявлено у больных раком яичников с диссеминацией по брюшине и накоплением асцита в брюшной полости, начиная с 1-х суток послеоперационного периода, агрегационная способность НФ резко возросла к 7 суткам. Отмечено статистически значимое отличие не только по сравнению с контролем и показателями больных до лечения, но и группой больных без асцита. Это, скорее всего можно объяснить активацией НФ в ответ на воспалительную реакцию в асцитической жидкости, которая накапливается у больных и после оперативного вмешательства. Усиление агрегации НФ отмечено у онкологических больных в раннем послеоперационном периоде, у которых развились гнойно-септические осложнения. Показатели агрегации НФ у больных с осложнениями достоверно ($p < 0,01$) были выше, чем в группе без осложнений ($134,1 \pm 10,1$) и ($97,1 \pm 10,9$) усл.ед. соответственно [14, 20].

По данным А. Miles [28], замедление нейтрофильной мобилизации из сосудистого русла нарушает развитие эффективной воспалительной реакции, дает возможность бактериям бесконтрольно размножаться и развиваться инфекционному процессу. Он показал, что существует критический период (2-4 ч) после бактериальной инвазии, во время которого правильный противовоспалительный ответ может способствовать замедлению или отсутствию развития инфекционного процесса.

Как показало наше исследование, проведенное ранее, показатели фагоцитарной активности НФ до лечения у онкологических больных ($n=52$), особенно при часовой инкубации (ФИ60), значительно превышали норму ($p < 0,001$) [16]. Однако при индивидуальном анализе оказалось, что в начальной стадии фагоцитоза (ФИ5мин, ФЧ5мин) у одной трети больных (рак легкого- $n= 10$;

рак пищевода $n=5$ -и рак желудка $n=4$) эти показатели были ниже нормы (ФИ5мин менее 10%, ФЧ5мин менее 2,0), т.е. в первые минуты у части больных отмечалось значительное замедление фагоцитарной активности НФ [14, 16].

Среди больных, прослеженных в динамике ($n=19$), у 57,9% ($n=11$) возникли гнойно-септические осложнения (сепсис у 5, пневмонии у 3, перитонит у 3). Количество лейкоцитов и НФ в группах не различалось. Абсолютные показатели НФ, в группе с гнойно-септическими осложнениями до лечения, было равно $(4,7 \pm 0,5) \times 10^9$ /л, без осложнений – $(5,9 \pm 0,8) \times 10^9$ /л. Другими авторами было установлено, что такие индикаторы функциональной деятельности НФ, как фагоцитарный индекс (ФИ40) и фагоцитарное число (ФЧ40) были значительно выше у больных сепсисом, чем те же показатели для контрольной группы [29].

Как было сказано выше, НФ у больных с сепсисом при дифференциальном подсчете состояли из двух популяций. Это – незрелые формы нейтрофильного ряда (миелоциты, метамиелоциты), которые обладают высокой адгезивной способностью и слабым фагоцитозом [19]. Второй пул – палочкоядерные и сегментоядерные формы НФ, которые окончательно формируют в синусах костного мозга зрелую популяцию НФ. У онкологических больных адгезия зрелых НФ снижена, при этом фагоцитарные функции активизированы, особенно при максимальной инкубации (ФИ60 мин.) с частицами латекса, как показало наше исследование [14].

Имеются данные, что большую роль при тяжелом сепсисе играет особая популяция НФ, которая обладает значительной адгезией к капиллярам сосудов и выраженной агрессивностью, уровень активности которых может вызывать повреждение тканей и связывают с неблагоприятным прогнозом [30-32]. Так, было показано на животных моделях сепсиса, что незрелые формы НФ накапливаются в микрососудах легких, где их активация стимулирует повреждение тканей через высвобождение протеолитических ферментов. Исследование аутопсических образцов от пациентов с полиорганной недостаточностью показывает локализацию НФ, варьирующую от секвестрации и агрегации в почечных кровеносных сосудах до широкой тканевой инфильтрации легкого [33,34]. При остром респираторном дистресс-синдроме, который может сопровождать сепсис, плотность нейтрофильных инфильтратов соотносится с нарушенной функцией легких и с высокими концентрациями в бронхоальвеолярной жидкости протеолитических ферментов, источником которых являются НФ [35].

НФ участвуют и в реологических изменениях, связанных с закупоркой сосудов в результате формирования лейкоцитарных скоплений. Имеются факты, показывающие, что активность НФ может быть причиной нарушения некоторых функций почек, о чем свидетельствует повышение респираторной и почечной функции у пациентов с системным воспалением при удалении НФ из сосудов почек [36].

В настоящее время, показано, что кроме фагоцитоза и внеклеточной дегрануляции, НФ проявляют антибактериальную активность посредством образования внеклеточных сетей-ловушек (neutrophil extracellular traps – NETs). Эти образования были впервые описаны V. Brinkmann и соавт. [37]. При формировании NETs происходит выбрасывание на скопление бактерий сетчатых структур, состоящих из нитей нуклеиновых кислот,

связанных с гистонами, а также гранулярными антимикробными пептидами и ферментами. Этот процесс позднее получил название «нетоз» (NETosis) и стал рассматриваться в качестве новой формы программируемой гибели клеток [38].

При ряде воспалительных заболеваний бактериальной этиологии, в том числе при сепсисе, септическом шоке может происходить чрезмерное образование «ловушек», что может привести к эпителиальной дисфункции и тромбозам [39]. Эти структуры, называемые нейтрофильными внеклеточными ловушками (NET), захватывают и поглощают бактерии и циркулирующие клетки крови в своей паутине. NET таким образом участвует в иммунной защите организма. Они также образуют большую прокоагулянтную поверхность, активируя контактную фазу коагуляции [4, 40-42].

Наконец, цитокины и провоспалительные медиаторы, секретируемые НФ, изменяют мембранный профиль сосудистых клеток, в частности эндотелиальных, тем самым способствуя клеточной дисфункции и септической коагулопатии. Таким образом, через явление NETosis НФ могут играть фундаментальную роль во взаимодействиях между иммунитетом и тромбозом. Термин «иммунотромбоз» был введен для описания этого взаимодействия. «Имунотромбоз» относится к врожденному внутрисосудистому иммунному ответу, ответственному за образование тромбина и образование тромбов, особенно в микрососудах. Он представляет собой независимый защитный механизм, который позволяет распознавать, сдерживать и впоследствии уничтожать патогенные микроорганизмы посредством активации коагуляции и рекрутирования иммунных клеток. Хотя «иммунотромбоз» участвует в распознавании бактерий и защите организма, не контролируемая активация во время септического шока может быть вредной для организма. В результате происходит чрезмерное образование тромбина и фибрина в микроциркуляции, вызывая кровотечение, тромбоз и потребление факторов свертывания, что приводит к диссеминированной внутрисосудистой коагуляции (ДВС-синдром) [4]. Таким образом, лучшее понимание механизмов дисфункции НФ и их взаимодействия с другими сосудистыми клетками вовремя ДВС-синдрома и септического шока может открыть новые терапевтические возможности [4].

Заключение. Таким образом, злокачественная опухоль приводит к перестройке в системе иммунитета, особенно у пациентов с распространенным опухолевым процессом. Все виды традиционной противоопухолевой терапии оказывают выраженное угнетающее действие на уже неполноценную иммунную систему онкологического больного. Как свидетельствуют литературные данные и наше исследование, иммунная система борется с микробными инфекциями, но при тяжелом сепсисе, ее чрезмерная активация и расположение НФ в микроциркуляторном русле, особенно незрелых форм НФ, может способствовать патологическим проявлениям полиорганной недостаточности и тромбозам. Коррекция функций НФ при их взаимодействии со стенками кровеносных сосудов может быть полезной терапевтической стратегией для сепсиса.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2, 4, 6, 9, 12, 13, 19, 21, 23, 24, 26, 28, 30-34, 36, 37, 40, 41 см. REFERENCES)

1. Сепсис: избранные вопросы диагностики и лечения. Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Громова Е.Г., ред. М.: ИД «АБВ-пресс»; 2018.
3. Устьянцева И.М., Хохлова О.И. Роль нейтрофилов в развитии полиорганной недостаточности при сепсисе. *Политравма*. 2008; 2: 71-4.
5. Маянский Д.Н. Хронические воспаления. М.: Медицина; 1991.
7. Киселевский М.В., Ситдикова С.М., Абдуллаев А.Г., Шляпников С.А., Чикилева И.О. Сепсис-индуцированная иммуносупрессия. *Вестник хирургии*. 2018; 177 (5): 105-7.
8. Пигаревский В.Е. Полиморфоядерный лейкоцит и макрофаг в реакции воспаления и гиперчувствительности. *Архив патологической анатомии*. 1983; 11: 14-22.
10. Френкель М.А. Костномозговое кроветворение. В кн: Клиническая онкогематология. Волкова М.А., ред. М.: Медицина; 2007.
11. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Кушлинский Н.Е. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови. Руководство для врачей. 2-е издание. М.: МИА; 2020.
14. Блиндарь В.Н. Функциональные особенности нейтрофилов крови онкологических больных. Дисс. докт. биол. наук. М.; 2003.
15. Хаитов Р.В., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина; 2000.
16. Зубрихина Г.Н., Блиндарь В.Н., Юдичева Т.В., Нехаев И.В., Буйденко Ю.В., Свиридова С.П. Функциональная характеристика нейтрофилов периферической крови при хирургическом лечении онкологических больных. *Вестник РОНЦ им Н.Н. Блохина РАМН*. 2002; 3: 3-10.
17. Шубич М.Г., Нагоев Б.С. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии. М.: Медицина; 1980.
18. Хейхоу Ф.Г., Квagliно Д. Гематологическая цитохимия. М.: Медицина; 1983.
20. Блиндарь В.Н., Юдичева Т.В., Зубрихина Г.Н., Крохина О.В., Летягин В.П. Функциональное состояние нейтрофилов периферической крови у больных со злокачественными и доброкачественными заболеваниями молочной железы. Сборник научных трудов «Новое в онкологии». Поддубная И.В., ред. Воронеж: Воронежский медицинский институт; 2001; 5: 217-24.
22. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Зарядьева Е.А., Заботина Т.Н., Лазарева Н.И., Михайлова И.Н., Барышников А.Ю. Адгезивная способность нейтрофилов периферической крови и экспрессия дифференцировочных антигенов у доноров и больных раком яичника. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1998; 12: 3-4.
25. Анисимова Н.Ю., Плужникова Н.А., Громова Е.Г., Кузнецова Л.С., Цветков Д.С., Киселевский М.В. Рецептор апоптоза и молекулы адгезии лейкоцитов – перспективные маркеры сепсиса у онкологических больных. *Российский иммунологический журнал*. 2011; 5(14): 3-4: 262-5.
27. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. Витебск: Витебский медицинский институт; 1996.
29. Анисимова Н.Ю., Громова Е.Г., Кузнецова Л.С., Титов К.С., Антонов А.К., Киселевский М.В. Фагоцитарная активность нейтрофилов у онкологических больных с сепсисом. *Вестник службы крови России*. 2011; 1: 31-3.
35. Магруппов Б.А., Вервекина Т.А., Убайдуллаева В.У., Юлдашев Ф.А. Морфологические аспекты респираторного дистресс-синдрома взрослых. *Вестник экстренной медицины*. 2014; 4: 96-9.
38. Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. М.: Изд-во РАМН; 2009.
39. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции. *Иммунология, аллергология, инфектология*. 2012; (4): 23-32.
42. Матосова Е.В., Андриков Б.Г. Морфофункциональная характеристика защитных сил нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(4): 223-9.

REFERENCES

1. Sepsis: selected issues of diagnosis and treatment. Dmitrieva N.V., Petuhova I.N., Gromova E.G., eds. Moscow: ID «ABV-press»; 2018. (in Russian)
2. Brown K.A., Brain S.D., Pearson J.D., Edgeworth J.D., Lewis S.M., Treacher D.F. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *Lancet*. 2006; 368: 157-69.
3. Ust'yantseva I.M., Hokhlova O.I. The role of neutrophils in the development of multiple organ failure in sepsis. *Politravma*. 2008; 2: 71-4. (in Russian)
4. Steil L., Meziani F., Helms J. Neutrophil activation during septic shock. *Shock*. 2018; 49(4): 371-84.
5. Mayanskiy D.N. Chronic inflammation. Moscow: Meditsina; 1991. (in Russian)
6. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13: 862-74.
7. Kiselevskiy M.V., Sitdikova S.M., Abdullaev A.G., Shlyapnikov S.A., Chikileva I.O. Sepsis-induced immunosuppression. *Vestnik khirurgii*. 2018; 177 (5): 105-7. (in Russian)
8. Pigarevskiy V.E. Polymorphonuclear leukocyte and macrophage in the reaction of inflammation and hypersensitivity. *Arkhiv Patologii*. 1983; 11: 14-22. (in Russian)
9. Summers C., Rankin S.M., Condliffe A.M., Singh N., Peters M., Chilvers E.R. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends in Immunology*. 2010; 31: 318-24.
10. Frenkel' M.A. Bone marrow hematopoiesis. V kn: *Klinicheskaya onkogematologiya*. Volkova M.A., ed. Moscow: Meditsina; 2007 (in Russian)
11. Blindar' V.N., Zubrikhina G.N., Kushlinskii N.E. Hematological research methods. The clinical significance of blood counts [Rukovodstvo dlya vrachey]. 2nd ed. Moscow: MIA; 2020. (in Russian)
12. Fernandez-Borja M., van Baal J.D., Hordijk P.L. The regulation of leukocyte transendothelial migration by endothelial signalling events. *Cardiovasc. Res*. 2010; 86: 202-10.
13. Brown K.A., Brain S.D., Pirson J. D., Ajwort J. D., J. D. Levis J. D., Traicher D.F. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation. *Critical. Care*. 2016; 20(1): 1250-4.
14. Blindar' V.N. Functional features of blood neutrophils in cancer patients. Dis. Moscow; 2003. (in Russian)
15. Khaitov R.V., Ignat'eva G.A., Sidorovich I.G. Immunology. Moscow: Meditsina; 2000. (in Russian)
16. Zubrikhina G.N., Blindar' V.N., Yudicheva T.V., Nekhaev I.V., Bujdenok Yu.V., Sviridova S.P. Functional characteristics of peripheral blood neutrophils in the surgical treatment of cancer patients. *Vestnik RONC im N.N. Blokhina RAMN*. 2002; 3: 3-10. (in Russian)
17. Shubich M.G., Nagoev B.S. Alkaline leucocyte phosphatase is normal and pathological. Moscow: Meditsina; 1980. (in Russian)
18. Hejhou F.G., Kvaglino D. Hematological cytochemistry. Moscow: Meditsina; 1983. (in Russian)
19. Taneja R., Sharma A.P., Hallet M.B., Findlay G.P., Morris M.R. Immature circulating neutrophils in sepsis have impaired phagocytosis and calcium signaling. *Shock*. 2008; 30: 618-22.
20. Blindar' V.N., Yudicheva T.V., Zubrikhina G.N., Krokhina O.V., Letyagin V.P. The functional state of peripheral blood neutrophils in patients with malignant and benign diseases of the mammary gland [Sbornik nauchnykh trudov Novoe v onkologii]. Poddubnaya I.V., ed. Voronezh: Voronezhskiy meditsinskiy Institut; 2001; 5: 217-24. (in Russian)
21. Galdiero M.R., Bonavita E., Barajon I., Garlanda C., Mantovani A. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology*. 2013; 218: 1402-10.
22. Blindar' V.N., Zubrikhina G.N., Zaryad'eva E.A., Zabolina T.N., Lazareva N.I., Mikhaylova I.N., Baryshnikov A.Yu. Adhesive ability of peripheral blood neutrophils and expression of differentiation antigens in donors and patients with ovarian cancer. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 1998; 12: 3-4. (in Russian)

23. Hietbrink F., Koenderman L., Althuisen M., Pillay J., Kamp V., Leenen L.P.H. Kinetics of the innate immune response after trauma: implications for the development of late onset sepsis. *Shock*. 2013; 40: 21-7.
24. Lobb R.R., Chi-Rosso G., Leone D.R. Expression and functional characterization of a soluble form of endothelial leucocyte adhesion molecule. *J. Immunol.* 1991; 147: 124-9.
25. Anisimova N.Yu., Pluzhnikova N.A., Gromova E.G., Kuznecova L.S., Tsvetkov D.S., Kiselevskiy M.V. Apoptosis receptor and leukocyte adhesion molecules – promising markers of sepsis in cancer patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2011; 5(14): 3-4: 262-5. (in Russian)
26. Galdiero M.R., Bonavita E., Barajon I., Garlanda C., Mantovani A. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology*. 2013; 218: 1402-10.
27. Novikov D.K., Novikova V.I. Immune Status Assessment. Vitebsk: Vitebskiy meditsinskiy institut; 1996. (in Russian)
28. Miles A.A., Miles E.M., Burke J. The value and duration of defence reactions of the skin to the primary lodgement of bacteria. *Br.J. Exp. Pathol.* 1957; 38: 79-96.
29. Anisimova N.Yu., Gromova E.G., Kuznetsova L.S., Titov K.S., Antonov A.K., Kiselevskiy M.V. Phagocytic activity of neutrophils in cancer patients with sepsis. *Vestnik sluzhby krovi Rossii*. 2011; 1: 31-3. (in Russian)
30. Summers C, Rankin S.M, Condliffe A. M, Singh N, Peters M, Chilvers E.R. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.* 2010; 31: 318-24.
31. Nordenfelt P., Tapper H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* 2011; 90: 271-84.
32. Mare T.A, Treacher D.F, Shankar-Hari M, Beale R, Lewis S.M, Chambers D. J, et al. The diagnostic and prognostic significance of monitoring blood levels of immature neutrophils in patients with systemic inflammation. *Crit. Care*. 2015; 19: 1-11.
33. Zhang J., Chu X.Y., Liu Y., Wang Y.X. Treatment of 336 cases of chest trauma. *Chin. J. Traumatol.* 2012; 15 (3): 182-6.
34. Hinson Jr J.M., Hutchison A.A., Ogletree M.L., Brigham K.L., Snapper J.R. Effect of granulocyte depletion on altered lung mechanics after endotoxemia in sheep. *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exerc. Physiol.* 1983; 55 (1): 92-9.
35. Magrupov B.A., Vervekina T.A., Ubaydullaeva V.U., Yuldashev F.A. Morphological aspects of adult respiratory distress syndrome. *Vestnik ekstrennoy meditsiny*. 2014; 4: 96-9. (in Russian)
36. Peter H. C. Lelieveld, Catherine M. Wessels, Luke P. H. Lienen, Leo Koenderman. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation. *Critical. Care*. 2016; 20: 235-44.
37. Brinkmann V., Goosmann C., Kühn L.I., Zychlinsky A. Automatic quantification of in vitro NET formation. *Front. Immunol.* 2013; 3: 413.
38. Dolgushin I.I. Andreeva Yu.S., Savochkina A.Yu. Neutrophilic extracellular traps and methods for assessing the functional status of neutrophils. Moscow: Izd-vo RAMN; 2009. (in Russian)
39. Korotina O.L., Generalov I.I. Neutrophil Extracellular Traps: mechanisms of formation, function. *Immunologiya, allergologiya, infektologiya*. 2012; 4: 23-32. (in Russian)
40. Barnado A., Crofford L.J., Oates J.C. At the Bedside: Neutrophil extracellular traps (NETs) as targets for biomarkers and therapies in autoimmune diseases. *J. Leucoc. Biol.* 2016; 99(2): 265-78. doi: 10.1189/jlb.5BT0615-234R.
41. Kumar S., Gupta E., Kaushik S., Srivastava V. K. Saxena J., Mehta S., Gyor A. Quantification of NETs Formation in Neutrophil and Its Correlation with the Severity of Sepsis and Organ Dysfunction. *Clin. Chem. Acta*. Aug. 2019; 495: 606-10.
42. Matosova E.V., Andryukov B.G. Morphofunctional characteristic of the protective forces of neutrophils in bacterial infections and their contribution to the pathogenesis of pro-inflammatory reactions. *Hematologiya i transfusiologiya*. 2017; 62(4): 223-229. (in Russian)

Поступила 27.03.20
Принята к печати 27.05.20