

Л.М. Куртасова¹, Е.А. Шкапова², Р.А. Зуков¹

¹ Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

² Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского, Российская Федерация

Изменения функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови у больных почечно-клеточным раком в динамике заболевания

Цель исследования: изучить фагоцитарную активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов (НФ) крови у больных почечно-клеточным раком в динамике — до операции и после хирургического лечения. **Методы:** осуществлено наблюдение за больными в возрасте 45–55 лет с местнораспространенным почечно-клеточным раком ($T_3N_0M_0$) до хирургического лечения ($n=84$) и через 10 сут после радикальной нефрэктомии ($n=54$). Группу сравнения составили 56 условно здоровых доноров крови. Изучены показатели функциональной активности, спонтанной и индуцированной люминол- и люцигенинзависимой хемилюминесценции (ХЛ) НФ периферической крови. **Результаты:** в период до операции замедлено время выхода на максимум спонтанной и стимулированной люминолзависимой ХЛ ($p < 0,004$ и $< 0,006$, соответственно); увеличены показатели площади люцигенинзависимой ХЛ НФ крови относительно показателей группы сравнения для спонтанной ($p < 0,001$) и индуцированной ($p < 0,004$) люцигенином реакции. Через 10 сут после хирургического лечения оказалось сниженным число активно фагоцитирующих НФ в тестах со *Staphylococcus epidermidis* ($p < 0,017$) и с латексом ($p < 0,036$); сохранялось увеличенным время выхода на максимум спонтанной и стимулированной люминолзависимой ХЛ ($p < 0,006$ и $< 0,008$, соответственно) относительно показателей группы сравнения. Повышалась величина индекса активации люминолзависимой ХЛ как относительно группы сравнения ($p < 0,037$), так и по сравнению с периодом до операции ($p < 0,048$). Сохранялась увеличенной площадь спонтанной люцигенинзависимой ХЛ НФ крови относительно показателей группы сравнения ($p < 0,011$), однако зарегистрировано снижение данного параметра по сравнению с величинами, установленными в период до операции ($p < 0,004$). **Заключение:** у больных почечно-клеточным раком через 10 сут после хирургического лечения НФ крови характеризуются усиленной продукцией высокоэнергетических оксидантов и сниженной фагоцитарной активностью, что свидетельствует о функционально-метаболическом дисбалансе.

Ключевые слова: рак почки, нейтрофилы, фагоцитоз, хемилюминесценция.
(Вестник РАМН. 2014; 11–12: 104–109)

104

L.M. Kurtasova¹, E.A. Shkapova², R.A. Zukov¹

¹ V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation

² A.I. Kryzhanivskiy Krasnoyarsk Regional Clinical Oncological Centre, Russian Federation

Changes in Functional Activity of Neutrophils in Peripheral Blood of Patients with Renal Cell Cancer in the Course of the Disease

Objective: Research purpose was to study phagocytic activity and a oxygen depended metabolism of blood neutrophils (NF) at patients with a renal cell carcinoma in dynamics — before operation and after surgical treatment. **Methods:** Patients with a locally invasive renal cell carcinoma ($T_3N_0M_0$) were put under observation before surgical treatment ($n=84$) and in 10 days after a radical nephrectomy ($n=54$) at the age of 45–55 years. The 56 conditionally healthy donors combine into the control group. Indicators of functional activity, the spontaneous and induced luminol- and lyutsigenindependent chemiluminescence (CHL) NF of peripheral blood was studied. **Results:** During the period before operation time of an exit to a maximum of spontaneous and stimulated lyuminol-dependent HL is slowed down ($p < 0.004$ and $p < 0.006$ respectively); indicators of the area of lyutsigenin-dependent HL NF of blood concerning indicators of control group are increased ($p < 0.001$ for spontaneous, $p < 0.004$ for the reaction induced by lyutsigenin). In 10 days after surgical treatment the quantity of active ingestion rate decreased ($p < 0.017$ in the test with *S. epidermidis*, $p < 0.036$ for test with latex); time of an exit to a maximum of spontaneous and stimulated lyuminol-dependent remained increased ($p < 0.006$ and $p < 0.008$ respectively) in comparison with indicators of healthy donors. The amount of an index of activation of lyuminol-dependent as in comparison with control ($p < 0.037$), and relative to the period before operation increased ($p < 0.048$). The area of spontaneous lyutsigenin-dependent HL NF of blood relative to indicators of control group was still increased ($p < 0.011$), decrease in this parameter in comparison with amount of group before operation was however registered ($p < 0.004$). **Conclusion:** At patients with renal cell carcinoma in 10 days after surgical treatment of NF of blood were characterized by the strengthened production of high-energy oxidizers and the reduced phagocytic activity that testifies to a functional and metabolic imbalance.

Key words: cancer of the kidney, neutrophils, phagocytosis, chemiluminescence.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 11–12: 104–109)

Обоснование

Нейтрофильные гранулоциты занимают одну из наиболее активных позиций в системе гуморально-клеточной кооперации крови и соединительной ткани. Это делает их универсальной мишенью и, соответственно, индикатором различных нарушений гомеостаза. В свою очередь, стимулированные нейтрофилы сами становятся мощными эффекторами и одним из пусковых механизмов каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления [1].

Наряду с установленной ролью нейтрофильных гранулоцитов в формировании иммунологической реакции по ограничению и подавлению микробной инфекции известна их способность к выраженному цитотоксическому действию на опухолевые клетки, что отражает один из механизмов обеспечения противоопухолевой резистентности организма. Так, показано, что отторжение некоторых перивисаемых опухолей целиком зависит от их инфильтрации нейтрофилами. Кроме того, обнаружено, что у больных с опухолевым ростом отмечается значительное увеличение различных субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови. Предполагается, что нейтрофилез при росте опухоли является следствием увеличения числа клеток-предшественников гранулоцитарно-макрофагального ряда в костном мозге [2]. Следует также отметить, что цитопатическое действие нейтрофилов связано главным образом с генерацией активных форм кислорода. При этом установлено, что нейтрофильные гранулоциты обладают наибольшей из всех клеток организма способностью генерировать активные формы кислорода [1, 3].

В то же время роль нейтрофилов в возникновении и развитии опухолей неоднозначна. В литературе имеются данные о том, что нейтрофилы способны проявлять как про-, так и противоопухолевую активность [4]. Z.C. Fridlender и соавт. обнаружили эти две различные субпопуляции нейтрофильных гранулоцитов, определяемые посредством воздействия или ингибирования трансформирующего фактора β в пределах микроокружения опухоли [5].

Исследования, проведенные В.Н. Мальцевой и соавт., в динамике продемонстрировали модификацию функциональной активности периферических нейтрофилов и ее регуляцию при росте опухоли *in vivo* [4]. И.В. Нестерова и соавт. также отмечают двойственную роль нейтрофилов в реализации противоопухолевой защиты [3].

В связи с этим изучение функциональной активности нейтрофилов (НФ) периферической крови у онкологических больных представляется актуальным и целесообразным.

Целью настоящего исследования было изучение фагоцитарной активности и кислородзависимого метаболизма НФ крови у больных почечно-клеточным раком в динамике до операции и после хирургического лечения.

Методы

План (дизайн) исследования

Открытое сравнительное клиническое исследование.

Критерии соответствия

Основные критерии включения:

- возраст пациентов 45–55 лет;
- гистологически верифицированный почечно-клеточный рак;
- 3-я стадия заболевания ($T_3N_0M_0$);
- хирургическое лечение;

- радикальная нефрэктомия.
Критерии исключения:
- наличие злокачественной опухоли другой локализации;
- наличие химио- или лучевой терапии в анамнезе;
- тяжелая сопутствующая патология.

Условия проведения

Исследование за больными местнораспространенным раком почки в динамике до оперативного вмешательства и через 10 сут после радикальной нефрэктомии проведено на базе урологического отделения Красноярского краевого клинического онкологического диспансера.

Продолжительность исследования

Исследование проводили в период с 24.05.2011 по 30.06.2012 г.

Методология исследования

Число лейкоцитов в периферической крови определяли в камере Горяева. Для учета числа нейтрофилов в периферической крови производили подсчет лейкоцитарной формулы (мазок с окраской по Романовскому–Гимзе). Выполняли тесты для определения фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ) с частицами латекса и культурой *Staphylococcus epidermidis* (1500×10^6 клеток/мл, по стандарту мутности MC Farland, BioMerieux, Франция).

Спонтанную и индуцированную люминол- и люцигенизависимую хемилюминесценцию (ХЛ) НФ крови оценивали при помощи метода De Sole и соавт. [6] на биохемилюминесцентном анализаторе CL 3606 M (Россия). Определяли следующие параметры: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение (I_{max}) и площадь кривой хемилюминесцентной кривой (S). В качестве индуктора «дыхательного взрыва» использовали опсонизированный зимозан в концентрации 2 мг/мл (Sigma, США). Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной ХЛ оценивали при помощи соотношения $S_{zim.}/S_{спонт.}$ и определяли как индекс активации.

Этическая экспертиза

От каждого пациента было получено подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом КрасГМУ (протокол № 32/2011 от 11.05. 2011).

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывали.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA v. 8.0 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения устанавливали с применением критерия Шапиро–Уилка. Оценку статистической значимости межгрупповых различий проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни. Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного [25; 75] размаха. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Участники исследования

Больные местнораспространенным раком почки ($T_3N_0M_0$) в возрасте 45–55 лет до хирургического лечения

($n=84$) и через 10 сут после радикальной нефрэктомии ($n=54$). У всех наблюдаемых больных гистологически верифицирован почечно-клеточный рак. Спонтанную и индуцированную ХЛ НФ крови исследовали до хирургического лечения у 60 больных, в период после оперативного вмешательства — у 46 пациентов. Группу сравнения составили 56 условно здоровых доноров крови.

Результаты исследования

У больных почечно-клеточным раком (ПКР) в период до хирургического вмешательства установлено увеличение числа лейкоцитов, и обнаружена тенденция к увеличению процентного содержания и абсолютного числа палочкоядерных нейтрофилов в периферической крови относительно соответствующих показателей группы сравнения. Кроме того, имела место тенденция к увеличению абсолютного числа сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови у больных ПКР по сравнению с величинами контроля (табл. 1).

Через 10 сут после хирургического лечения у больных ПКР сохранялось повышенное число лейкоцитов, увеличивалось относительное и абсолютное содержание как палочко-, так и сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с показателями группы сравнения. Необходимо отметить повышение процентного содержания и абсолютного числа сегментоядерных нейтрофилов у больных ПКР в послеоперационном периоде относительно периода до операции (см. табл. 1).

Наряду с этим установлена выраженная тенденция к уменьшению числа нейтрофилов, вступающих в реакцию фагоцитоза с культурой *S. epidermidis* и частицами латекса по сравнению с величинами контроля. Кроме того, обнаружено статистически значимое снижение поглощательной способности нейтрофилов в нагрузочных тестах

in vitro относительно показателей, зарегистрированных в период до хирургического лечения (табл. 2).

При исследовании уровня фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови в зависимости от вида объекта фагоцитоза обнаружено, что в группе сравнения и у больных ПКР как в дооперационном периоде, так и через 10 сут после хирургического лечения число активно фагоцитирующих *S. epidermidis* нейтрофилов крови статистически значимо превышает число клеток, вступающих в реакцию фагоцитоза с частицами латекса. В то же время поглощательная способность нейтрофилов крови не зависит от объекта фагоцитоза, поскольку статистически значимых различий между показателями фагоцитарного числа в сравниваемых группах не выявлено ($p = 0,807$; табл. 3). Следовательно, ни присутствие опухоли в дооперационном периоде у больных ПКР, ни перенесенное оперативное вмешательство не влияют на способность нейтрофилов периферической крови к распознаванию поглощаемых частиц.

Оценка параметров люминолзависимой ХЛ нейтрофилов периферической крови у больных ПКР в период до хирургического лечения показала статистически значимое увеличение времени выхода на максимум свечения и тенденцию к увеличению площади спонтанной ХЛ-кривой по сравнению с показателями группы сравнения (табл. 4). При индукции ХЛ-реакции опсонизированным зимозаном удлинялся промежуток времени реагирования на стимул, отмечалась выраженная тенденция к повышению максимального уровня «дыхательной вспышки» и тенденция к увеличению площади индуцированной ХЛ-кривой относительно параметров группы сравнения (см. табл. 4).

Через 10 сут после хирургического лечения у больных ПКР сохранялось увеличение промежутка времени

106

Таблица 1. Содержание лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови у больных почечно-клеточным раком, Ме [25; 75]

Показатель	Здоровые доноры ($n=56$)	Больные ПКР до операции ($n=84$)	Больные ПКР после операции ($n=54$)
Лейкоциты, $\times 10^9$ кл/л	5,00 [4,00–6,30]	7,10 [6,00–9,50] $p_1 < 0,001$	7,10 [5,25–9,80] $p_1 < 0,001$
Нейтрофилы палочкоядерные, %	4,00 [2,00–4,00]	5,00 [2,00–8,00] $0,1 < p_1 < 0,05$	5,00 [3,00–8,00] $p_1 < 0,001$
Нейтрофилы палочкоядерные, $\times 10^9$ кл/л	0,14 [0,10–0,14]	0,50 [0,15–1,60] $0,1 < p_1 < 0,05$	0,46 [0,29–0,77] $p_1 < 0,001$
Нейтрофилы сегментоядерные, %	57,00 [52,00–65,00]	61,00 [53,00–68,00]	69,00 [61,00–74,00] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Нейтрофилы сегментоядерные, $\times 10^9$ кл/л	3,11 [2,86–3,78]	4,84 [4,42–5,71] $0,1 < p_1 < 0,05$	6,12 [4,40–6,44] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примечание (здесь и в табл. 2). ПКР — почечно-клеточный рак. p_1 — статистически значимые различия по сравнению с показателями здоровых доноров, p_2 — статистически значимые различия по сравнению с показателями больных ПКР до операции.

Таблица 2. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови у больных почечно-клеточным раком, Ме [25; 75]

Показатель	Здоровые доноры ($n=56$)	Больные		
		До операции ($n=84$)	После операции ($n=54$)	
ФИ	<i>S. epidermidis</i> , %	60,00 [30,00–75,00]	44,50 [22,00–79,00]	41,00 [30,00–48,00] $0,1 < p_1 < 0,05$
	Частицы латекса, %	35,00 [22,00–44,00]	29,00 [15,00–50,00]	23,00 [18,50–39,50] $0,1 < p_1 < 0,05$
ФЧ	<i>S. epidermidis</i> , о.е.	5,75 [2,75–9,50]	5,00 [2,50–8,80]	3,20 [2,00–9,25] $p_2 < 0,001$
	Частицы латекса, о.е.	5,50 [2,00–10,50]	6,4 [3,29–9,50]	3,90 [2,60–4,60] $p_2 < 0,001$

Примечание. ФИ — фагоцитарный индекс, ФЧ — фагоцитарное число.

Таблица 3. Сравнение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови в зависимости от объекта фагоцитоза, Ме [25; 75]

Фагоцитарный показатель	<i>S. epidermidis</i>	Частицы латекса
Условно здоровые доноры (n=56)		
Индекс, %	60,00 [30,00–75,00]	35,00 [22,00–44,00] <i>p</i> < 0,001
Число, о.е.	5,75 [2,75–9,50]	5,50 [2,00–10,50]
Больные ПКР до операции (n=84)		
Индекс, %	44,50 [22,00–79,00]	29,00 [15,00–50,00] <i>p</i> < 0,001
Число, о.е.	5,00 [2,50–8,800]	6,4 [3,20–9,50]
Больные ПКР после операции (n=54)		
Индекс, %	41,00 [30,00–48,00]	23,00 [18,50–39,50] <i>p</i> < 0,01
Число, о.е.	3,20 [2,00–9,25]	3,90 [2,60–4,60]

Примечание. *p* — статистически значимые различия по сравнению с показателями в тесте числа *S. epidermidis*.

Таблица 4. Показатели хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком почки, Ме [25; 75]

Показатель	Условно здоровые доноры (n=56)		Больные до операции (n=60)		Больные после операции (n=46)	
	Люминол-зависимая реакция 1	Люцигенин-зависимая реакция 2	Люминол-зависимая реакция 3	Люцигенин-зависимая реакция 4	Люминол-зависимая реакция 5	Люцигенин-зависимая реакция 6
<i>Спонтанная хемилюминесценция</i>						
<i>T</i> _{max} , с	505,50 [208,50–1502,50]	1989,00 [1624,00–2440,00]	1517,00 [634,00–2172,00] <i>p</i> ₁ < 0,01	2033,00 [1334,00–2362,00]	1642,00 [1109,00–2240,00] <i>p</i> ₁ < 0,01	1442,00 [1033,00–2177,00] 0,1 > <i>p</i> ₂ > 0,05
<i>I</i> _{max} , о.е.×10 ³	6,67 [3,04–18,70]	1,22 [0,79–8,99]	8,62 [3,07–20,43]	7,51 [4,08–23,72]	8,05 [5,46–17,25]	5,43 [1,38–17,41]
<i>S</i> ₁ , о.е.×10 ⁵	2,06 [1,23–4,60]	0,57 [0,36–1,93]	2,81 [0,99–9,54] 0,1 > <i>p</i> ₁ > 0,05	2,88 [0,70–8,33] <i>p</i> ₂ < 0,001	2,61 [1,22–9,31]	1,56 [0,31–3,21] <i>p</i> ₂ < 0,01 <i>p</i> ₄ < 0,05
<i>Индукцированная зимозаном хемилюминесценция</i>						
<i>T</i> _{max} , с	1270,00 [862,00–1779,00]	1799,00 [719,00–2525,00]	1624,00 [1177,00–2121,00] <i>p</i> ₁ < 0,01	941,00 [215,00–1693,00] <i>p</i> ₂ < 0,05	1845,00 [1570,00–2258,00] <i>p</i> ₁ < 0,01	1445,00 [531,00–1913,00] 0,1 > <i>p</i> ₄ > 0,05
<i>I</i> _{max} , о.е.×10 ³	10,54 [4,98–41,70]	1,94 [1,10–6,53]	17,55 [5,84–48,63] 0,1 > <i>p</i> ₁ > 0,05	7,11 [4,30–21,89] <i>p</i> ₂ < 0,05	13,16 [6,18–32,11]	6,94 [1,87–37,52] <i>p</i> ₂ < 0,01
<i>S</i> ₂ , о.е.×10 ⁵	3,78 [1,53–9,40]	0,78 [0,53–3,21]	4,48 [1,92–20,20] 0,1 > <i>p</i> ₁ > 0,05	3,30 [1,12–11,9] <i>p</i> ₂ < 0,01	5,01 [1,95–17,80] <i>p</i> ₁ < 0,01	1,87 [0,34–11,4] 0,1 > <i>p</i> ₂ > 0,05
<i>S</i> ₂ / <i>S</i> ₁	1,87 [1,52–3,00]	1,65 [1,05–1,75]	1,83 [0,98–2,90]	1,25 [0,96–1,53] 0,1 > <i>p</i> ₂ > 0,05	2,6 [1,59–2,64] <i>p</i> ₁ < 0,05 <i>p</i> ₃ < 0,05	1,35 [1,21–1,76] 0,1 > <i>p</i> ₂ > 0,05

Примечание. ХЛ — хемилюминесценция, ПКР — почечно-клеточный рак. *p*₁ — статистически значимые различия по сравнению с показателями люминолзависимой ХЛ здоровых доноров, *p*₂ — статистически значимые различия по сравнению с показателями люцигенинзависимой ХЛ здоровых доноров, *p*₃ — статистически значимые различия по сравнению с показателями люминолзависимой ХЛ больных ПКР до операции, *p*₄ — статистически значимые различия по сравнению с показателями люцигенинзависимой ХЛ больных ПКР до операции.

выхода на максимум спонтанной люминолзависимой ХЛ-кривой по сравнению с контрольными величинами, при этом показатели максимальной интенсивности хемилюминесценции и площади ХЛ-кривой не имели статистически значимых различий с параметрами контроля (*p* = 0,464 и 0,684, соответственно; см. табл. 4). После индукции опсонизированным зимозаном сохранялось увеличение времени реагирования на стимул и наблюдалось статистически значимое увеличение площади индуцированной ХЛ-кривой относительно показателей контрольной группы. Кроме того, повышалась величина индекса активации по сравнению с контролем и средних значений, зарегистрированных у больных ПКР в период до оперативного вмешательства (см. табл. 4).

Изучение показателей люцигенинзависимой ХЛ нейтрофилов периферической крови у больных ПКР в период до хирургического лечения показало увеличение площади спонтанной ХЛ-кривой относительно

контрольных параметров. Индукция ХЛ-ответа нейтрофилов крови опсонизированным зимозаном сокращала время реагирования на стимул, увеличивала интенсивность дыхательной вспышки и площадь индуцированной ХЛ-кривой по сравнению с показателями группы сравнения. Следует отметить, что в данный период наблюдения у больных ПКР отмечалась выраженная тенденция к снижению индекса активации относительно контроля (см. табл. 4).

Кроме того, анализ показателей люцигенинзависимой ХЛ нейтрофилов крови у больных ПКР через 10 сут после оперативного вмешательства выявил тенденцию к ускорению времени выхода на пик спонтанной ХЛ-кривой по сравнению с контрольными параметрами, а также увеличение площади спонтанной ХЛ-кривой относительно показателей группы сравнения и уменьшение по сравнению со значениями, зарегистрированными в период до хирургического лечения.

После индукции опсонизированным зимозаном была отмечена тенденция к увеличению времени реагирования на стимул по сравнению с показателями, зарегистрированными в дооперационном периоде. В то же время наблюдали статистически значимое повышение ($p = 0,006$) максимального уровня «дыхательной вспышки» и тенденцию к увеличению площади индуцированной ХЛ-кривой относительно параметров группы сравнения. Следует также отметить сохранение тенденции к снижению индекса активации в сравнении с контрольными величинами (см. табл. 4).

Обсуждение

Как уже было отмечено ранее, нейтрофильные гранулоциты представляют собой высокорезактивное звено внутренней среды организма, а традиционное общепринятое определение числа лейкоцитов и формулы крови отражает лишь малую часть тех изменений, которые происходят в гранулоцитарной системе при различных патологических состояниях, и не несет информации о функциональном потенциале защитных барьеров организма. Эта информация заключается в количественной оценке реактивности нейтрофильных гранулоцитов, и может быть получена с помощью хемилюминесцентного анализа.

В настоящее время не вызывает сомнений, что кислородзависимый метаболизм не является системой жизнеобеспечения нейтрофила, который хорошо переносит гипоксию и способен выполнять свои функции в условиях анаэробнозависимости [7]. «Респираторный взрыв» относится к серии метаболических процессов, имеющих место при стимуляции НФ: увеличение потребления кислорода, усиление окисления глюкозы в пентозофосфатном цикле и как результат этого — продукция активных форм кислорода, обладающих бактерицидным действием и обеспечивающих цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток [8, 9]. Катализирует «респираторный взрыв» мембраноассоциированная пиридиннуклеотидоксидаза за счет реакции окисления НАДФН, образующегося при окислении глюкозы и восстановлении молекулы кислорода до супероксидного аниона. Первичными метаболитами активированного кислорода являются супероксидный анион-радикал, с которого берет начало весь каскад активных форм кислорода. Как первичные, так и вторичные оксиданты обладают мощным энергетическим потенциалом, а их взаимопревращения создают динамический спектр молекул, которые обеспечивают антителиозависимую цитотоксичность нейтрофильных гранулоцитов [10, 11]. Кроме того, повышенный интерес к «респираторному взрыву» связан с тем, что образующиеся радикалы кислорода могут в силу своей высокой химической активности повреждать внутриклеточные структуры и быть индукторами и медиаторами апоптоза [12]. Также отмечают значимость высокоэнергетических оксидантов для процессов опухолевой инвазии и метастазирования [13, 14].

Так, анализ параметров спонтанного ХЛ-ответа НФ крови у больных ПКР в период до хирургического лечения показал повышенный базовый уровень продукции первичных активных форм кислорода. Помимо этого, отмечено снижение способности НФ крови к усилению выработки первичных активных форм кислорода в ответ на стимуляцию *in vitro*, о чем свидетельствует выраженная тенденция к уменьшению величины индекса активации клеток в ХЛ-тесте с люцигенином. Следует также отме-

тить, что общее число продуцированных супероксидных радикалов в ответ на стимуляцию *in vitro* увеличивается всего лишь на 15% по сравнению с 59% повышением, зарегистрированным в клетках условно здоровых доноров крови. Соотношение первичных и вторичных активных форм кислорода в стимулированных *in vitro* НФ крови у больных ПКР до хирургического лечения приближалось к пропорции 1:1, в то время как у условно здоровых доноров крови данное соотношение составляло 1:4.

Изучение ХЛ НФ периферической крови через 10 сут после хирургического лечения у больных ПКР не продемонстрировало восстановления компенсаторных возможностей ферментных систем, ответственных за продукцию первичных активных форм кислорода, поскольку сохранялась выраженная тенденция к снижению величины индекса активации НФ при люцигенинзависимой ХЛ. Соотношение общего числа первичных и вторичных активных форм кислорода в стимулированных *in vitro* НФ крови у больных ПКР в послеоперационном периоде приближалось к соотношению 1:2, что не соответствует пропорции группы сравнения. Следовательно, 10 сут после операции — недостаточный срок для восстановления внутриклеточных механизмов, ответственных за оптимальное соотношение продукции высокоэнергетических оксидантов нейтрофилами крови.

Описанные выше изменения кислородзависимого метаболизма НФ фактически дают представление о нарушении способности нейтрофильных гранулоцитов осуществлять кислородзависимую цитотоксичность. Кроме того, в условиях продолжительной интенсификации образования высокоэнергетических оксидантов НФ, о чем свидетельствуют показатели люцигенин- и люминолзависимой хемилюминесценции как в период до операции, так и после хирургического лечения, возможно развитие не только функционально-метаболического дисбаланса клеток, но и недостаточности антиоксидантной системы организма.

По результатам ряда исследований отмечено, что злокачественные опухоли синтезируют специфические низкомолекулярные факторы, которые непосредственно действуют на рецепторный аппарат иммунокомпетентных клеток [15]. Следовательно, одной из причин изменения окислительного метаболизма и фагоцитарной активности НФ крови у больных ПКР может быть нарушение рецепторного аппарата.

Заключение

Результаты исследования продемонстрировали изменение числа НФ в периферической крови у больных местнораспространенным ПКР в период до операции и через 10 сут после радикальной нефрэктомии. Установлена зависимость функциональной активности НФ крови от периода заболевания.

В послеоперационном периоде содержание активно фагоцитирующих НФ крови имеет тенденцию к снижению относительно группы сравнения, а их поглотительная способность — ниже параметров, зарегистрированных в период до операции. В то же время сравнение показателей фагоцитарной активности НФ крови у больных местнораспространенным ПКР в зависимости от объекта фагоцитоза показало однонаправленные с условно здоровыми донорами крови изменения. Так, наблюдали изменение числа клеток, вступивших в реакцию фагоцитоза с *S. epidermidis* относительно числа клеток, активно фагоцитирующих частицы латекса. При этом поглотительная

способность нейтрофилов крови не зависела от вида объекта фагоцитоза. Вероятно, такие особенности фагоцитарной активности связаны с наличием рецепторов для взаимодействия с *S. epidermidis* на клеточной мембране.

Анализ полученных данных показал, что у больных ПКР в период до хирургического лечения в нейтрофилах периферической крови наблюдается активация продукции первичных активных форм кислорода с уменьшением компенсаторных возможностей NADPH-оксидантной системы и нарушение проницаемости клеточных мембран в нагрузочных тестах с зимозаном. Через 10 сут после

операции зарегистрирована тенденция к положительной динамике продукции супероксидных анионов, однако восстановления адекватной реакции при дополнительной нагрузке в тестах *in vitro* не установлено.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пинегин Б.В., Маянский А.Н. Нейтрофилы: структура и функции. *Иммунология*. 2007; 28 (6): 374–382.
2. Shen L., Smith J.M., Shen Z. Differential regulation of neutrophil chemotaxis to IL-8 and fMLP by GM-CSF: lack of direct effect of oestradiol. *Immunology*. 2006; 117: 205–212.
3. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Евлевский А.А. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты. *Иммунология*. 2012; 33 (5): 281–287.
4. Мальцева В.Н., Сафронова В.Г. Неоднозначность роли нейтрофилов в генезе опухоли. *Цитология*. 2009; 51 (6): 467–474.
5. Fridlender Z.C., Sum J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G. S., Albelda S.M. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by T6F-b: «N1» versus «N2» TAN. *Cancer Cell*. 2009; 16 (3): 183–194.
6. De Sole P., Lippa S., Lixhagu G. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to access oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.* 1983; 3: 391–400.
7. Буравкова Л.Б., Ударцева О.О., Андреева Е.Р., Рылова Ю.В. Влияние фотодинамически индуцированной генерации АФК на состояние митохондрий и лизосом культивируемых мезенхимальных стромальных клеток человека. *Гены и клетки*. 2010; 5 (4): 38–42.
8. Белоусов В.В., Ениколопов Г.Н., Мишина Н.М. Компартиментализация передачи сигналов, опосредованных активными формами кислорода. *Биоорганическая химия*. 2013; 39 (4): 383.
9. Dhabhar F.S. Effects of stress on immune function: the good, the bad and the beautiful. *Immunol. Res.* 2014; 58 (2–3): 193–210.
10. Надеев А.Д., Зинченко В.П., Авдонин П.В., Гончаров Н.В. Токсические и сигнальные свойства активных форм кислорода. *Токсикологический вестник*. 2014; 2: 22–27.
11. Milkovic L., Siems W., Siems R., Zarkovic N. Oxidative stress and antioxidants in cancerogenesis and integrative therapy of cancer. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 20 (42): 6529–6542.
12. Hussain S.P., Amstad P., He P., Robles A., Lupold S., Kaneko I., Ichimiya M., Sengupta S., Mechanic L., Okamura S., Hofseth L.J., Moake M., Nagashima M., Forrester K.S., Harris C.C. P53-induced up-regulation of MnSOD and GPx but not catalase increases oxidative stress and apoptosis. *Cancer Res.* 2004; 64: 2350–2356.
13. Мусин Ш.И., Фархутдинов Р.Р. Активные формы кислорода как маркеры метастатического поражения. *Медицинский альманах*. 2013; 27 (3): 118–119.
14. Yang W, Zou L, Huang C, Lei Y. Redox regulation of cancer metastasis: molecular signaling and therapeutic opportunities. *Drug Dev. Res.* 2014; 75 (5): 331–341.
15. Ayala A., Chung C.S., Lomas J.L., Song G.Y., Doughty L.A., Gregory S.H., Cioffi W.G., LeBlanc B.W., Reichner J., Simms H.H., Grutkoski P.S. Shock-induced neutrophil mediated priming for acute lung injury in mice: divergent effects of TLR-4 and TLR-4/FasL deficiency. *Am. J. Pathol.* 2002; 161 (6): 2283–2294.

109

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Куртасова Людмила Михайловна, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической иммунологии КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 222-06-28, e-mail: sibmed-obozrenie@yandex.ru

Шкапова Екатерина Алексеевна, кандидат биологических наук, биолог клинико-диагностической лаборатории КККОД им. А.И. Крыжановского

Адрес: 660133, Красноярск, ул. Смоленская, д. 16, тел.: +7 (391) 267-17-15, e-mail: k_shkapova@mail.ru

Зуков Руслан Александрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии и лучевой диагностики с курсом ПО КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, тел.: +7 (391) 251-93-16, e-mail: zukov.ra@krasgmu.ru