

## **ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОСВЯЗИ ФЕНОТИПА И ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЧКИ**

**Савченко А.А.<sup>1,2</sup>, Борисов А.Г.<sup>1,2</sup>, Модестов А.А.<sup>3</sup>, Кудрявцев И.В.<sup>4,5,6</sup>, Мошев А.В.<sup>1</sup>, Гвоздев И.И.<sup>1</sup>, Тоначева О.Г.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

<sup>3</sup> КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», г. Красноярск, Россия

<sup>4</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

<sup>6</sup> ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Целью исследования явилось изучение особенностей взаимосвязи между фенотипом и активностью «респираторного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов у больных раком почки. Обследованы больные раком почки (T3N0M0, светлоклеточный тип) в возрасте 40–55 лет до хирургического лечения (n = 73). Диагноз рака почки у всех больных верифицирован гистологически. В качестве контрольной группы было обследовано 50 практически здоровых людей аналогичного возрастного диапазона. Исследование фенотипа нейтрофильных гранулоцитов крови проводили методом проточной цитометрии. Уровень «респираторного взрыва» в нейтрофильных гранулоцитах определяли с помощью спонтанной и зимозан-индуцированной люцигенин- и люминол-зависимой хемилюминесценции. У больных раком почки обнаружены изменения во взаимосвязях между показателями «респираторного взрыва» и фенотипом нейтрофилов. При раке наблюдается полная потеря взаимосвязей показателей синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода с количеством CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> нейтрофилов, но, как и у лиц контрольной группы, корреляционные связи выявляются с уровнем содержания HLA-DR<sup>+</sup> клеток. Только у больных выявляется взаимосвязь уровня синтеза супероксид-радикала нейтрофилами, находящимися в состоянии относительного покоя, и экспрессией CD62L. При антигенной индукции «респираторного взрыва» данные взаимосвязи исчезают. Взаимосвязи синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода с количеством CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> нейтрофилов, выявляемые у здоровых людей, характеризуют положительную зависимость между показателями «респираторного взрыва» и функциональной активацией клеток, которая выражается в экспрессии адгезионных и функциональных рецепторов. Можно пред-

### **Адрес для переписки:**

Кудрявцев Игорь Владимирович  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
197376, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. акад. Павлова, 12.  
Тел.: 8 (812) 234-29-29  
E-mail: igorek1981@yandex.ru

### **Address for correspondence:**

Kudryavtsev Igor' V.  
Institute of Experimental Medicine  
197376, Russian Federation, St. Petersburg,  
Acad. Pavlov str., 12.  
Phone: 7 (812) 234-29-29.  
E-mail: igorek1981@yandex.ru

### **Образец цитирования:**

А.А. Савченко, А.Г. Борисов, А.А. Модестов, И.В. Кудрявцев, А.В. Мошев, И.И. Гвоздев, О.Г. Тоначева, «Особенности взаимосвязи фенотипа и хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных раком почки» // *Медицинская иммунология*, 2016. Т. 18, № 3. С. 259-268.  
doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-259-268

© Савченко А.А. и соавт., 2016

### **For citation:**

A.A. Savchenko, A.G. Borisov, A.A. Modestov, I.V. Kudryavtsev, A.V. Moshev, I.I. Gvozdev, O.G. Tonacheva, "Phenotypic features and chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in the patients with renal cancer", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2016, Vol. 18, no. 3, pp. 259-268.  
doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-259-268

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-3-259-268>

положить, что нарушение взаимосвязи между показателями «респираторного взрыва» и фенотипом нейтрофилов у больных раком почки определяется различными факторами. Во-первых, при раке меняется фенотип нейтрофилов крови (снижается содержание CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> нейтрофилов, повышается уровень экспрессии CD16- и HLA-DR-рецепторов), что, возможно, связано с миграцией клеток в опухоль. Во-вторых, у больных наблюдается увеличение интенсивности «респираторного взрыва» в нейтрофилах за счет повышения уровней синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода, что может быть связано с действием различных опухолевых факторов (антигенов, регуляторных молекул). Выявленные особенности взаимосвязей между фенотипом и «респираторным взрывом» нейтрофилов характеризуют особенности иммунопатогенеза рака почки и могут быть использованы при разработке иммунотерапевтических методов, направленных на стимуляцию противоопухолевой активности фагоцитирующих клеток.

*Ключевые слова:* рак почки, нейтрофилы, фенотип, функциональная активность, маркеры активации, рецепторы адгезии, респираторный взрыв

## PHENOTYPIC FEATURES AND CHEMILUMINESCENT ACTIVITY OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN THE PATIENTS WITH RENAL CANCER

Savchenko A.A.<sup>a, b</sup>, Borisov A.G.<sup>a, b</sup>, Modestov A.A.<sup>c</sup>, Kudryavtsev I.V.<sup>d, e, f</sup>, Moshev A.V.<sup>a</sup>, Gvozdev I.I.<sup>a</sup>, Tonacheva O.G.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>c</sup> Krasnoyarsk Regional A.I. Kryzhanovskiy Center of Clinical Oncology, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>d</sup> Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>e</sup> Far Eastern Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

<sup>f</sup> Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The aim of our study was to investigate the relationship between phenotype and «respiratory burst» activity of neutrophilic granulocytes in patients with renal cancer. The study included 73 patients with renal cell carcinoma (T3N0M0, clear-cell type) before surgical treatment at the age of 40-55 years. The diagnosis of renal cancer was histologically verified in all the patients. Fifty healthy age-matched persons were involved as a control group. Phenotyping of blood neutrophilic granulocytes was performed by flow cytometry. The respiratory burst in blood neutrophilic granulocytes was evaluated using spontaneous and zymosan-induced luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence. Some changes in relationships between the phenotypic indicators of neutrophils and «respiratory burst» were detected in patients with renal cancer. The patients exhibited a loss of relationship between induction of primary and secondary reactive oxygen species, and numbers of CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, and CD64<sup>+</sup> neutrophils. These correlations are detected with HLA-DR<sup>+</sup> cell levels, like in control group. The patients' samples showed a correlation between the superoxide radical synthesis by resting neutrophils, and CD62L expression. These relationships disappear when assessing antigen-induced «respiratory burst» response. The correlations between primary and secondary reactive oxygen species, and the numbers of CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> and CD64<sup>+</sup> neutrophils found in healthy people characterize a positive relationship between the «respiratory burst» indexes and activation of cells as reflected by expression of adhesive and functional receptors. It may be assumed that altered relationship between the «respiratory burst» indicators and neutrophil phenotype in the patients with renal cell carcinoma is determined by various factors. Firstly, cancer-associated phenotypic changes of blood neutrophils (decreased content of CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, and HLA-DR<sup>+</sup> CD64<sup>+</sup> neutrophils, increased expression of CD16, and HLA-DR receptors) thus, possibly, being connected with intra-tumor migration of the cells. Secondly, the patients show an increase in «respiratory burst» intensity in neutrophils, due to enhanced synthesis of primary and secondary reactive oxygen species, which may be connected to the action of various tumor factors (antigens, regulatory molecules).

The relationships revealed between phenotype and «respiratory burst» of neutrophils may specifically characterize immunopathogenesis of kidney cancer and can be used in development of immunotherapeutic approaches aiming to stimulate anti-tumor activity of phagocytic cells.

**Keywords:** renal cancer, neutrophils, phenotype, functional activity, activation markers, adhesion receptors, respiratory burst

## Введение

Рак почки (РП) составляет 3% от всех злокачественных заболеваний и 97% от всех опухолей почек [1, 7, 17, 18]. Ведущая роль в лечении локализованного РП, безусловно, принадлежит хирургическому методу. Однако уже на момент постановки диагноза у значительной части больных выявляется диссеминированная форма РП, что определяет необходимость использования комбинированного лечения, включающего помимо хирургического метода, иммунотерапевтический.

Вопросам иммунопатогенеза онкологических заболеваний и РП в частности уделяется много внимания. Доказана ведущая роль различных субпопуляций Т-лимфоцитов [25, 31]. Многочисленные исследования последних лет посвящены механизмам инициации противоопухолевого иммунитета дендритными клетками [16, 22]. В последние годы значительный интерес вызывают исследования роли нейтрофильных гранулоцитов в онкогенезе [4, 5, 10, 28]. С одной стороны, это связано с тем, что нейтрофилы, являясь высокореактивными клетками, реагируют практически на любые изменения внутренней среды организма, в том числе и на опухолевый рост [4, 10]. При этом доказано цитотоксическое действие нейтрофильных гранулоцитов на раковые клетки [4, 6, 14]. С другой стороны, появляются исследования, в которых представлена неоднозначная роль нейтрофилов в онкогенезе. Обнаружено, что на ранних стадиях развития опухоли нейтрофилы реализуют противоопухолевую стратегию [6, 29]. В то же время на поздних стадиях онкогенеза выявляется проопухолевая активность нейтрофилов, которая определяется, в частности, синтезом различных факторов, стимулирующих ангиогенез в опухоли и, соответственно, метастазирование, а также ингибирующих миграцию макрофагов и цитотоксических Т-лимфоцитов [26, 29].

Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов формируется механизмами фагоцитоза и внешнего киллинга и зависит от уровня экспрессии различных рецепторов [4, 8, 29]. Так, миграция клеток из кровеносного русла в опухоль определяется экспрессией адгезионных молекул (например, CD11b) [12, 13, 21]. Экспрессия рецепторов для Fc-фрагмента иммуноглобулинов на поверхности нейтрофилов формирует пул армированных фагоцитов, участвующих в процессе антителозависимой цитотоксичности [21, 29]. Доказано, что хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов характеризует состояние «респираторного взрыва», который развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза [2, 4, 8]. Обсуждается значение синтеза ряда активных форм кислорода (например, супероксид-радикала) в механизмах внешнего

киллинга [4, 28]. Однако зависимость между фенотипическими особенностями нейтрофилов и состоянием «респираторного взрыва» при различных онкологических заболеваниях до сих пор не исследована.

Таким образом, целью исследования явилось изучение особенностей взаимосвязи между фенотипом и активностью «респираторного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов у больных РП.

## Материалы и методы

На базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского» обследованы больные РП (Т3N0M0, светлоклеточный тип) в возрасте 40–55 лет до хирургического лечения (n = 73). Диагноз рака почки у всех больных верифицирован гистологически. В качестве контрольной группы было обследовано 50 практически здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Исследование фенотипа нейтрофильных гранулоцитов крови проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7): CD11b, CD62L, CD16, CD23, CD64 и HLA-DR. По средней интенсивности флуоресценции (MFI – Mean Fluorescence Intensity) оценивались уровни экспрессии поверхностных рецепторов. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [20]. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента VersaLyse (Beckman Coulter, США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, USA) [9, 19]. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 нейтрофилов.

Нейтрофильные гранулоциты выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина:  $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$  – для отделения лимфоцитов,  $\rho = 1,119 \text{ г/см}^3$  – для выделения нейтрофилов. Реакционная смесь для хемилюминесцентной реакции состояла из 20 мкл донорской сыворотки АВ(IV)Rh(-), 50 мкл люцигенина или люминола (“Sigma”, США) в концентрации  $10^{-5} \text{ М}$ , 40 мкл опсонизированного зимозана (в случае определения индуцированной хемилюминесценции), 200 мкл взвеси нейтрофилов (2 млн/мл) и 240 мкл раствора Хэнкса («ПанЭко», Россия) для определения спонтанной хемилюминесценции или 200 мкл раствора Хэнкса – для индуцированной [3]. Выбор двух хемилюминесцентных индикаторов определяется необходимостью выделения в общем пуле ак-

тивных форм кислорода (оценивается с помощью люминола) объема синтеза супероксид-радикала (определяется с помощью люцигенина) [2, 3, 4]. Оценку спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3606» (СКТБ «Наука», г. Красноярск). Определяли следующие характеристики хемилюминесцентной кривой: время выхода на максимум ( $T_{max}$ ), характеризующее скорость развития хемилюминесцентной реакции, максимальное значение интенсивности ( $I_{max}$ ), отражающее максимальный уровень синтеза активных форм кислорода (АФК), а также площадь под кривой ( $S$ ) хемилюминесценции, характеризующую суммарный синтез АФК за 90 минут исследования [4, 8]. Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, оценивали отношением площади индуцированной хемилюминесценции к площади спонтанной и определяли как индекс активации (ИА).

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 2000 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 1 и 3 квартилей ( $Q_{0,25}$  и  $Q_{0,75}$ ). Достоверность различий между показателями независимых выборок (сравнение с показателями контрольной группы) оценивали по непараметрическому  $U$ -критерию Манна–Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену ( $r$ ). Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., 2007).

## Результаты

В результате проведения цитометрического анализа обнаружено, что у больных РП в периферической крови снижается относительное содержание нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих CD11b и CD62L (табл. 1). В 3,1 раза у больных РП снижается процентный уровень CD64<sup>+</sup> нейтрофилов. На 2,9% при раке почки понижается относительное количество HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилов. При этом относительное содержание HLA-DR<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> клеток у больных РП понижается в 1,8 раза. Средняя интенсивность флуоресценции CD16 в нейтрофилах больных РП в 1,45 раза выше, чем у лиц контрольной группы. HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилы при РП на 11,4% флуоресцируют выше контрольного уровня.

При исследовании особенностей хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных РП установлено, что время выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции снижается на фоне онкологического процесса (табл. 2). У обследованных больных повышается максимум интенсивности и площадь под кривой спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции. При индукции «дыхательного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов у больных РП также увеличивается площадь под кривой зимозан-индуцированной хемилюминесценции. Однако площадь под кривой индуцированной хемилюминесценции повышается менее выражено, чем площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции, что приводит к снижению величины индекса активации люцигенин-зависимой хемилюминесценции.

У больных РП увеличивается время выхода на максимум при повышении максимума интенсивности и площади под кривой спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции (см. табл. 2). Также у обследованных больных наблюдается пропорциональное повышение максимума интенсивности и площади под кривой зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции относительно контрольных значений, что приводит к отсутствию изменений величины индекса активации.

С помощью корреляционного анализа исследованы особенности взаимосвязи между фенотипическим состоянием нейтрофильных гранулоцитов и активностью «респираторного взрыва». Обнаружено, что у лиц контрольной группы средняя интенсивность флуоресценции CD11b ( $MFI_{CD11b}$ ) отрицательно взаимосвязана с временем выхода на максимум зимозан-индуцированной люминол-зависимой ( $r = -0,52$ ;  $p = 0,017$ ), спонтанной и индуцированной люцигенин-зависимой (соответственно,  $r = -0,72$ ;  $p < 0,001$  и  $r = -0,55$ ;  $p = 0,010$ ) хемилюминесценции. Относительное количество CD62L<sup>+</sup> нейтрофилов только положительно коррелирует с максимумом интенсивности спонтанной и индуцированной (соответственно,  $r = 0,58$ ;  $p = 0,003$  и  $r = 0,47$ ;  $p = 0,022$ ) и площадью спонтанной ( $r = 0,59$ ;  $p = 0,003$ ) люцигенин-зависимой хемилюминесценции.  $MFI_{CD62L}$  также положительно коррелирует с площадью под кривой зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции ( $r = 0,44$ ;  $p = 0,033$ ). Процентное содержание CD64<sup>+</sup> нейтрофилов в крови у здоровых людей отрицательно коррелирует с временем выхода на максимум индуцированной люцигенин-зависимой ( $r = -0,45$ ;  $p = 0,004$ ) и спонтанной и индуцированной люминол-зависимой (соответственно,  $r = -0,51$ ;  $p < 0,001$  и  $r = -0,50$ ;  $p = 0,001$ ) хемилюминесценции. В то же время со всеми остальными исследуемыми показате-

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИП НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РП, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели	Контроль (n = 50)	РП (n = 73)	p
Нейтрофилы, 10 <sup>9</sup> /л	3,22 (2,53-3,99)	3,27 (2,44-4,49)	
CD11b <sup>+</sup> , %	99,9 (99,8-100,0)	99,8 (99,7-99,9)	0,032
CD11b <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	3,00 (2,50-3,58)	3,07 (2,29-4,37)	
CD62L <sup>+</sup> , %	99,5 (98,6-99,8)	97,2 (90,4-99,4)	< 0,001
CD62L <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	2,92 (2,55-3,52)	2,85 (1,95-4,00)	
CD16 <sup>+</sup> , %	92,4 (88,4-96,7)	90,1 (85,8-95,4)	
CD16 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	2,63 (2,23-3,25)	3,12 (2,29-4,11)	
CD23 <sup>+</sup> , %	8,3 (4,4-12,4)	5,6 (4,3-11,1)	
CD23 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,27 (0,16-0,38)	0,25 (0,19-0,51)	
CD64 <sup>+</sup> , %	22,8 (12,9-33,2)	7,4 (4,1-15,5)	0,008
CD64 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,40 (0,14-1,45)	0,22 (0,11-0,62)	
HLA-DR <sup>+</sup> , %	96,2 (85,8-98,8)	89,8 (59,7-97,7)	0,020
HLA-DR <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	2,77 (2,21-3,35)	2,66 (1,42-3,85)	
HLA-DR <sup>+</sup> CD64 <sup>+</sup> , %	10,1 (6,0-22,0)	5,7 (2,8-9,6)	0,002
HLA-DR <sup>+</sup> CD64 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,20 (0,07-0,36)	0,18 (0,10-0,36)	
Средняя интенсивность флуоресценции (MFI), о.е.			
CD11b <sup>+</sup>	110,40 (59,33-214,09)	128,92 (71,96-211,46)	
CD62L <sup>+</sup>	5,78 (3,94-8,27)	5,11 (3,46-6,68)	
CD16 <sup>+</sup>	108,50 (79,80-177,00)	157,00 (93,20-230,00)	0,048
CD23 <sup>+</sup>	6,16 (4,43-7,78)	6,91 (5,06-8,33)	
CD64 <sup>+</sup>	2,10 (1,55-3,45)	2,17 (1,71-7,68)	
HLA-DR <sup>+</sup>	1,66 (1,47-1,87)	1,85 (1,63-2,76)	0,004

ТАБЛИЦА 2. ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РП, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели	Контроль (n = 50)	РП (n = 73)	p
Спонтанная люцигенин-зависимая хемилюминесценция			
Tmax, сек.	2103 (1435-2904)	1711 (1253-2141)	0,001
Imax, о.е. × 10 <sup>3</sup>	7,95 (2,87-16,63)	12,79 (3,54-24,99)	0,049
S, о.е. × сек. × 10 <sup>6</sup>	15,49 (3,99-42,12)	39,78 (11,95-89,08)	< 0,001
Зимозан-индуцированная люцигенин-зависимая хемилюминесценция			
Tmax, сек.	1738 (1389-2342)	1588 (1282-2119)	
Imax, о.е. × 10 <sup>3</sup>	14,16 (7,59-29,49)	14,71 (5,93-32,66)	
S, о.е. × сек. × 10 <sup>6</sup>	25,46 (10,7-65,54)	48,69 (21,52-102,37)	0,004
ИА	1,76 (1,17-3,05)	1,41 (0,77-2,35)	0,026
Спонтанная люминол-зависимая хемилюминесценция			
Tmax, сек.	969 (549-1559)	1518 (1172-2228)	< 0,001
Imax, о.е. × 10 <sup>3</sup>	10,83 (4,19-32,04)	21,96 (10,03-52,18)	< 0,001
S, о.е. × сек. × 10 <sup>6</sup>	15,31 (4,72-51,51)	83,24 (33,19-160,15)	< 0,001
Зимозан-индуцированная люминол-зависимая хемилюминесценция			
Tmax, сек.	1072 (787-1461)	1092 (857-1496)	
Imax, о.е. × 10 <sup>3</sup>	21,35 (7,68-64,54)	60,01 (18,03-156,32)	< 0,001
S, о.е. × сек. × 10 <sup>6</sup>	24,59 (9,21-87,06)	185,21 (48,29-449,73)	< 0,001
ИА	1,89 (1,34-2,87)	2,14 (1,21-3,24)	

лями «респираторного взрыва» относительное количество CD64<sup>+</sup> нейтрофилов взаимосвязано положительно ( $r$  в диапазоне от 0,33 до 0,50). MFI<sub>CD64</sub> также положительно коррелирует с индексом активации люцигенин-зависимой хемиллюминесценции ( $r = 0,39$ ;  $p = 0,015$ ). Относительный уровень HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилов в крови у здоровых людей положительно взаимосвязан с временем выхода на максимум зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемиллюминесценции и отрицательно со следующими параметрами «респираторного взрыва»: с максимумами спонтанной ( $r = -0,41$ ;  $p = 0,045$ ) и индуцированной ( $r = -0,49$ ;  $p = 0,014$ ) люцигенин-зависимой хемиллюминесценции, с площадью под кривой индуцированной люцигенин-зависимой хемиллюминесценции ( $r = -0,41$ ;  $p = 0,045$ ), с максимумами спонтанной ( $r = -0,51$ ;  $p = 0,010$ ) и индуцированной ( $r = -0,50$ ;  $p = 0,013$ ) люминол-зависимой хемиллюминесценции, с площадью под кривой спонтанной люминол-зависимой хемиллюминесценции ( $r = -0,41$ ;  $p = 0,046$ ).

У больных РП значительно снижается количество корреляционных связей между фенотипическими параметрами нейтрофилов и показателями «респираторного взрыва». Обнаружено, что MFI<sub>CD62L</sub> нейтрофилов крови у больных раком положительно взаимосвязан с максимумом интенсивности ( $r = 0,26$ ;  $p = 0,039$ ) и площадью под кривой ( $r = 0,28$ ;  $p = 0,027$ ) спонтанной люцигенин-зависимой хемиллюминесценции, но отрицательно с индексом активации при данном индикаторе ( $r = -0,27$ ;  $p = 0,032$ ). У больных MFI<sub>CD64</sub> положительно коррелирует с временем выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемиллюминесценции ( $r = 0,28$ ;  $p = 0,046$ ).

Так же как и у лиц контрольной группы, у больных РП выявляются корреляционные взаимосвязи относительного количества HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилов с показателями «респираторного взрыва»: с максимумом интенсивности ( $r = -0,32$ ;  $p = 0,016$ ) и площадью под кривой ( $r = -0,31$ ;  $p = 0,019$ ) индуцированной люцигенин-зависимой хемиллюминесценции, с максимумом интенсивности (соответственно,  $r = -0,31$ ;  $p = 0,019$  и  $r = -0,27$ ;  $p = 0,045$ ) и площадью (соответственно,  $r = -0,31$ ;  $p = 0,018$  и  $r = -0,28$ ;  $p = 0,039$ ) под кривой спонтанной и зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемиллюминесценции.

## Обсуждение

Анализ фенотипа нейтрофильных гранулоцитов у больных РП позволяет отметить следующее. В периферической крови при данном онкологическом заболевании снижается количество нейтрофилов, экспрессирующих адгезионные молекулы – CD11b и CD62L. CD11b является субъединицей интегрина CR3, относящегося к подсемейству  $\beta 2$ -интегринов и опосредующе-

го хемотаксис, адгезию и трансмиграцию клеток [23, 24, 29]. CD62L является мембранным гликопротеином, принадлежащим к семейству L-селектинов, который экспрессируется на широком спектре клеток иммунной системы [23]. Рецептор обеспечивает слабые межклеточные взаимодействия, благодаря которым движение клеток вдоль сосудистой стенки замедляется и происходит их миграция из сосудистого русла.

Также при РП наблюдается снижение содержания нейтрофилов с фенотипом CD64<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup>. CD64 (Fc $\gamma$ RI) является высокоаффинным рецептором к Fc-фрагментам иммуноглобулинов G. Это единственный тип Fc $\gamma$ -рецепторов, который связывает свободные антитела [21]. Фагоцитирующие клетки при экспрессии данного рецептора могут удерживать на своей поверхности большое число молекул антител одной специфичности, что обеспечивает специфическое распознавание патогена клетками. Такой механизм реализуется и по отношению к опухолевым клеткам [12, 21]. Причем генерацию армированных фагоцитов предлагается использовать как метод иммунотерапии рака [21]. HLA-DR-рецептор является продуктом главного комплекса гистосовместимости II класса, принимает участие в презентации антигенов [30].

Необходимо отметить, что у больных РП является не только изменение количества нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих адгезионные и функциональные рецепторы, но и уровня экспрессии некоторых поверхностных молекул. Так, при РП снижается уровень MFI<sub>CD16</sub> (уровень экспрессии CD16). Гликопротеин CD16 является низкоаффинным рецептором для IgG (Fc $\gamma$ RIIIb), с помощью которого также осуществляется механизм антителозависимой клеточной цитотоксичности [15]. Кроме того, при снижении количества нейтрофилов у больных РП с фенотипом HLA-DR<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> уровень экспрессии HLA-DR повышается.

Снижение количества нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих адгезионные и функциональные молекулы, может быть связано с миграцией клеток в опухоль. Так, в исследовании Cortez-Retamozo V. et al. (2012) показано, что все опухоль-ассоциированные нейтрофилы уже на ранних стадиях онкогенеза экспрессируют адгезионные рецепторы, наблюдается повышение содержания армированных фагоцитов [13]. В работе Swierczak A. et al. (2015) представлены данные, что в опухоли увеличивается количество CD11b<sup>+</sup> нейтрофилов [29]. Однако данная адгезионная молекула фагоцитов способствует метастазированию опухоли на поздних этапах канцерогенеза. Следовательно, активированные нейтрофилы, экспрессирующие адгезионные рецепторы (CD11b и CD62L) и функциональные молекулы (HLA-DR и Fc $\gamma$ RI), способны выходить из кровотока и мигрировать в ткань для реализа-

ции своей функции. В этом случае оставшиеся клетки (возможно, менее зрелые) будут в большей степени экспрессировать CD16- и HLA-DR-рецепторы. Доказано, что нейтрофилы с высоким уровнем экспрессии CD16 менее способны к фагоцитозу и киллингу [15], тогда как высокий уровень экспрессии HLA-DR-рецептора характерен для незрелых клеток [30].

Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов также реализуется механизмами фагоцитоза и киллинга [4, 5, 8, 29]. Активность «респираторного взрыва» определяется уровнями синтеза первичных и вторичных АФК и опосредует процессы фагоцитоза и киллинга [2, 4, 10]. Состояние «респираторного взрыва» в нейтрофильных гранулоцитах у больных РП мы исследовали с помощью двух хемилюминесцентных индикаторов: люцигенина и люминола. Люцигенин окисляется и люминесцирует только под влиянием супероксид-радикала, который определяется как первичная активная форма кислорода и синтезируется в системе НАДФН-оксидазы [2]. 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 РП. Обнаружено, что при РП значительно повышается уровень синтеза супероксид-радикала нейтрофилами, находящимися в состоянии относительного покоя (спонтанная люцигенин-зависимая хемилюминесценция). При этом также снижается время выхода на максимум спонтанной хемилюминесценции. Время выхода на максимум характеризует скорость развития «респираторного взрыва» в случае регуляторного или антигенного воздействия на клетку [8]. Снижение времени выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции при РП характеризует высокую чувствительность нейтрофилов к регуляторному воздействию. При дополнительной индукции «респираторного взрыва» с помощью опсонизированного зимозана выявляется только менее выраженное повышение площади под кривой индуцированной хемилюминесценции, что приводит к снижению величины индекса активации, характеризующего уровень метаболических резервов для синтеза соответствующих АФК.

Цитотоксическая активность нейтрофильных гранулоцитов определяется уровнем продукции как первичных, так и вторичных АФК (гидроксильный радикал, перекись водорода и др.). В формировании пула вторичных форм кислорода в нейтрофильных гранулоцитах принимают участие такие ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, миелопероксидаза и др. [2, 4]. Лю-

минол способен вступать в хемилюминесцентную реакцию и с первичными, и с вторичными АФК, причем как во внеклеточном пространстве, так и внутри клеток, вступая в реакцию в фаголизосомах. При РП наблюдается пропорциональное повышение уровня спонтанного и индуцированного синтеза вторичных АФК, что приводит к сохранению величины индекса активации люминол-зависимой хемилюминесценции в контрольном диапазоне. Необходимо отметить, что гипохлорная кислота, синтезируемая миелопероксидазой и являющаяся одной из вторичных АФК, принимает ведущее участие в лизисе опухолевых клеток [6, 27].

С помощью корреляционного анализа нами проанализирована зависимость интенсивности «респираторного взрыва» от фенотипа нейтрофильных гранулоцитов у здоровых лиц и больных РП. Установлено, что у лиц контрольной группы интенсивность «респираторного взрыва» нейтрофилов положительно взаимосвязана с уровнем содержания клеток, экспрессирующих адгезионные рецепторы и CD64. Так, в клетках, экспрессирующих CD11b, снижается только время выхода на максимум люцигенин- и люминол-зависимой хемилюминесценции, что характеризует повышение скорости развития «респираторного взрыва» за счет синтеза как первичных, так и вторичных АФК. Синтез первичных АФК находится в прямой зависимости от количества CD62L<sup>+</sup> нейтрофилов. Содержание CD64<sup>+</sup> клеток положительно взаимосвязано с уровнем синтеза и первичных, и вторичных АФК, что также проявляется в ускорении скорости развития «респираторного взрыва». В то же время количество HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилов у здоровых людей отрицательно взаимосвязано с уровнем интенсивности «респираторного взрыва». Причем данный комплекс взаимосвязей является единственным, совпадающим у лиц контрольной группы и больных РП. В отличие от группы здоровых людей при РП выявляются положительные взаимосвязи между уровнем экспрессии CD62L и синтезом супероксид-радикала нейтрофилами, находящимися в состоянии относительного покоя. Также у больных РП обнаружена положительная корреляционная связь между уровнем экспрессии CD64-молекулы и величиной индекса активации люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов, что отражает зависимость между экспрессией функционального маркера и активностью НАДФН-оксидазы. В немногочисленных исследованиях представлены особенности синтеза АФК нейтрофилами в зависимости от экспрессии ряда антигенов. Так, в исследовании Bayat B. et al. (2015) показано, что на фоне экспрессии CD11b повышаются адгезионные способности нейтрофилов и увеличивается уровень синтеза АФК [11]. Verschoor C.P. et al. (2015) доказал, что морфологически незрелые нейтрофилы активно

экспрессируют HLA-DR-рецептор и синтезируют внутриклеточные АФК [30]. Кроме того, в работе Swierczak A. et al. (2015) показано, что функциональные свойства (в том числе и синтеза АФК) в нейтрофилах меняются при воздействии различных регуляторных факторов, синтезируемых в опухолевых клетках [29].

Таким образом, у больных РП обнаружены изменения во взаимосвязях между показателями «респираторного взрыва» и фенотипом нейтрофилов. При РП наблюдается полная потеря взаимосвязей показателей синтеза первичных и вторичных АФК с количеством CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> нейтрофилов, но, как и у лиц контрольной группы, корреляционные связи выявляются с уровнем содержания HLA-DR<sup>+</sup> клеток. Только у больных РП выявляется взаимосвязь уровня синтеза супероксид-радикала нейтрофилами, находящимися в состоянии относительного покоя, и экспрессией CD62L. При антигенной индукции «респираторного взрыва» данные взаимосвязи исчезают. Взаимосвязи синтеза первичных и вторичных АФК с количеством CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> нейтрофилов, выявляемые у здоровых людей, характеризуют положительную зависимость между показателя-

ми «респираторного взрыва» и функциональной активацией клеток, которая выражается в экспрессии адгезионных и функциональных рецепторов. Можно предположить, что нарушение взаимосвязи между показателями «респираторного взрыва» и фенотипом нейтрофилов у больных РП определяется различными факторами. Во-первых, при РП меняется фенотип нейтрофилов крови (снижается содержание CD11b<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>CD64<sup>+</sup> нейтрофилов, повышается уровень экспрессии CD16 и HLA-DR-рецепторов), что, возможно, связано с миграцией клеток в опухоль. Во-вторых, у больных РП наблюдается увеличение интенсивности «респираторного взрыва» в нейтрофилах за счет повышения уровней синтеза первичных и вторичных АФК, что может быть связано с действием различных опухолевых факторов (антигенов, регуляторных молекул). Выявленные особенности взаимосвязей между фенотипом и «респираторным взрывом» нейтрофилов характеризуют особенности иммунопатогенеза рака почки и могут быть использованы при разработке иммунотерапевтических методов, направленных на стимуляцию противоопухолевой активности фагоцитирующих клеток.

## Список литературы / References

1. Алексеев Б.Я., Анжиганова Ю.В., Лыков А.В., Леонов О.В., Варламов С.А., Горбачев А.Л., Магер В.О., Демичева Н.Н., Мишугин С.В., Зырянов А.В., Карнаух П.А., Никитин Р.В. Особенности диагностики и лечения рака почки в России: предварительные результаты многоцентрового кооперированного исследования // Онкоурология, 2012. № 3. С. 24-31. [Alekseev B.Ya., Anzhiganova Yu.V., Lykov A.V., Leonov O.V., Varlamov S.A., Gorbachev A.L., Mager V.O., Demicheva N.N., Mishugin S.V., Zyryanov A.V., Karnauh P.A., Nikitin R.V. Features of diagnosis and treatment of kidney cancer in Russia: preliminary results of a multicenter cooperative study. *Onkourologiya = Oncourology*, 2012, no. 3, pp. 24-31. (In Russ.)]
2. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии, 2009. Т. 49. С. 341-388. [Vladimirov Yu.A., Proskurina E.V. Free radicals and cellular chemiluminescence. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances of Biological Chemistry*, 2009, Vol. 49, pp. 341-38. (In Russ.)]
3. Коленчукова О.А., Савченко А.А., Смирнова С.В. Особенности люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных хроническим риносинуситом // Медицинская иммунология, 2010. Т. 12, № 4-5. С. 437-440. [Kolenchukova O.A., Savchenko A.A., Smirnova S.V. The luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence features of neutrophils in patients with chronic rhinosinusitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2010, Vol. 12, no. 4-5, pp. 437-440. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2010-4-5-437-440>
4. Куртасова Л.М., Савченко А.А., Шкапова Е.А. Клинические аспекты функциональных нарушений нейтрофильных гранулоцитов при онкопатологии. Новосибирск: Наука, 2009. 184 с. [Kurtasova L.M., Savchenko A.A., Shkapova E.A. Clinical aspects of neutrophil granulocytes functional disorders in cancer pathology]. Novosibirsk: Nauka, 2009. 184 p.
5. Мальцева В.Н., Авхачева Н.В., Сафронова В.Г. Общие закономерности в изменениях функциональной активности нейтрофилов при росте *in vivo* опухолей разной иммуногенности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2010. Т. 150, № 11. С. 520-523. [Mal'tseva V.N., Avkhacheva N.V., Safronova V.G. Common regularities in changes of the neutrophil functional activity during *in vivo* growth of tumors of different immunogenic activity. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2010, Vol. 150, no. 11, pp. 520-523. (In Russ.)]
6. Мальцева В.И., Сафронова В.Г. Неоднозначность роли нейтрофила в генезе опухоли // Цитология, 2009. Т. 51, № 6. С. 467-474. [Mal'tseva V.N., Safronova V.G. Ambiguity role of neutrophils in oncogenesis. *Tsitologiya = Cytology*, 2009, Vol. 51, no. 6, pp. 467-474. (In Russ.)]
7. Носов Д.А., Ворошилова Е.А., Саяпина М.С. Иммуноterapia при метастатическом раке почки: ее роль на современном этапе и перспективы клинического использования // Онкоурология, 2013. № 3.

C. 37-42. [Nosov D.A., Voroshilova E.A., Sajapina M.S. Immunotherapy for metastatic kidney cancer: its role at the current stage and prospects of clinical application. *Onkourologiya = Oncourology*, 2013, no. 3, pp. 37-42. (In Russ.)]

8. Савченко А.А., Здзитовецкий А.Г., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания // Вестник РАМН. 2014. № 5-6. С. 23-28. [Savchenko A.A., Zdzitovetskiy D.E., Borisov A.G., Luzan N.A. Chemiluminescent and enzyme activity of neutrophils in patients with widespread purulent peritonitis depending on the outcome of disease. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2014, no. 5-6, pp. 23-28 (In Russ.)]

9. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology «Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers» (Draft). *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2012-3-255-268>

10. Шкапова Е.А., Куртасова Л.М., Савченко А.А. Показатели люцигенин- и люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком почки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2010. Т. 149, № 2. С. 201-203. [Shkarova E.A., Kurtasova L.M., Savchenko A.A. Lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence of blood neutrophils in patients with renal cancer. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2010, Vol. 149, no. 2, pp. 201-203 (In Russ.)]

11. Bayat B., Tjahjono Y., Berghuifer H., Werth S., Deckmyn H., De Meyer S.F., Sachs U.J., Santoso S. Choline Transporter-Like Protein-2: New von Willebrand Factor-Binding Partner Involved in Antibody-Mediated Neutrophil Activation and Transfusion-Related Acute Lung Injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2015, Vol. 35, no. 7, pp. 1616-1622.

12. Braster R., O'Toole T., van Egmond M. Myeloid cells as effector cells for monoclonal antibody therapy of cancer. *Methods*, 2014, Vol. 65, no. 1, pp. 28-37.

13. Cortez-Retamozo V., Etzrodt M., Newton A., Rauch P.J., Chudnovskiy A., Berger C., Ryan R.J., Iwamoto Y., Marinelli B., Gorbato R., Forghani R., Novobrantseva T.I., Kotliansky V., Figueiredo J.L., Chen J.W., Anderson D.G., Nahrendorf M., Swirski F.K., Weissleder R., Pittet M.J. Origins of tumor-associated macrophages and neutrophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, Vol. 109, no. 7, pp. 2491-2496.

14. Finisguerra V., Di Conza G., Di Matteo M., Serneels J., Costa S., Thompson A.A., Wauters E., Walmsley S., Prenen H., Granot Z., Casazza A., Mazzone M. MET is required for the recruitment of anti-tumoural neutrophils. *Nature*, 2015, Vol. 522, no. 7556, pp. 349-353.

15. Fossati G., Moots R.J., Bucknall R.C., Edwards S.W. Differential role of neutrophil Fcγ3 receptor IIIb (CD16) in phagocytosis, bacterial killing, and responses to immune complexes. *Arthritis Rheum.*, 2002, Vol. 46, no. 5, pp. 1351-1361.

16. Legitimo A., Consolini R., Failli A., Orsini G., Spisni R. Dendritic cell defects in the colorectal cancer. *Hum. Vaccin Immunother.*, 2014, Vol. 10, no. 11, pp. 3224-3235.

17. Li P., Znaor A., Holcatova I., Fabianova E., Mates D., Wozniak M.B., Ferlay J., Scelo G. Regional geographic variations in kidney cancer incidence rates in European countries. *Eur. Urol.*, 2015, Vol. 67, no. 6, pp. 1134-1141.

18. Lucca I., Klatte T., Fajkovic H., de Martino M., Shariat S.F. Gender differences in incidence and outcomes of urothelial and kidney cancer. *Nat. Rev. Urol.*, 2015, Vol. 12, no. 10, pp. 585-592.

19. Luider J., Cyfra M., Johnson P., Auer I. Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. *Lab. Hematol.*, 2004, Vol. 10, pp. 102-108.

20. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, Vol. 12, pp. 191-200.

21. Mancardi D.A., Albanesi M., Jönsson F., Iannascoli B., Van Rooijen N., Kang X., England P., Dalron M., Bruhns P. The high-affinity human IgG receptor FcγRI (CD64) promotes IgG-mediated inflammation, anaphylaxis, and antitumor immunotherapy. *Blood*, 2013, Vol. 121, no. 9, pp. 1563-1573.

22. Mantia-Smaldone G.M., Chu C.S. A review of dendritic cell therapy for cancer: progress and challenges. *BioDrugs*, 2013, Vol. 27, no. 5, pp. 453-468.

23. Mastej K., Adamiec R. Neutrophil surface expression of CD11b and CD62L in diabetic microangiopathy. *Acta Diabetol.*, 2008, Vol. 45, no. 3, pp. 183-190.

24. O'Hare F.M., Watson W., O'Neill A., Grant T., Onwuneme C., Donoghue V., Mooney E., Downey P., Murphy J., Twomey A., Molloy E.J. Neutrophil and monocyte toll-like receptor 4, CD11b and reactive oxygen intermediates, and neuroimaging outcomes in preterm infants. *Pediatr. Res.*, 2015, Vol. 78, no. 1, pp. 82-90.

25. Pauken K.E., Wherry E.J. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol.*, 2015, Vol. 36, no. 4, pp. 265-276.

26. Perri S.R., Martineau D., Francois M., Lejeune L., Bisson L., Durocher Y., Galipeau J. Plasminogen Kringle 5 blocks tumor progression by antiangiogenic and proinflammatory pathways. *Mol. Cancer Ther.*, 2007, Vol. 6, no. 2, pp. 441-449.

27. Rymaszewski A.L., Tate E., Yimbessalu J.P., Gelman A.E., Jarzembowski J.A., Zhang H., Pritchard K.A.Jr., Vikis H.G. The role of neutrophil myeloperoxidase in models of lung tumor development. *Cancers (Basel)*, 2014, Vol. 6, no. 2, pp. 1111-1127.

28. Sarode S.C., Sarode G.S. Neutrophil-tumor cell cannibalism in oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.*, 2014, Vol. 43, no. 6, pp. 454-458.
29. Swierczak A., Mouchemore K.A., Hamilton J.A., Anderson R.L. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.*, 2015, Vol. 34, pp. 735-751.
30. Verschoor C.P., Loukov D., Naidoo A., Puchta A., Johnstone J., Millar J., Lelic A., Novakowski K.E., Dorrington M.G., Loeb M., Bramson J.L., Bowdish D.M. Circulating TNF and mitochondrial DNA are major determinants of neutrophil phenotype in the advanced-age, frail elderly. *Mol. Immunol.*, 2015, Vol. 65, no. 1, pp. 148-156.
31. Whiteside T.L. Regulatory T cell subsets in human cancer: are they regulating for or against tumor progression? *Cancer Immunol. Immunother.*, 2014, Vol. 63, no. 1, p. 67-72.

**Авторы:**

**Савченко А.А.** — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

**Борисов А.Г.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

**Модестов А.А.** — к.м.н., главный врач КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», г. Красноярск, Россия

**Кудрявцев И.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия; ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Мошев А.В.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

**Гвоздев И.И.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

**Тоначева О.Г.** — заведующая отделением, врач-онколог КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», г. Красноярск, Россия

**Authors:**

**Savchenko A.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North; Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Borisov A.G.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North; Krasnoyarsk State V.F. Voino-Yasenetsky Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Modestov A.A.**, PhD (Medicine), Chief Physician, Krasnoyarsk Regional A.I. Kryzhanovskiy Center of Clinical Oncology, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Kudryavtsev I.V.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; Far Eastern Federal University, Vladivostok; Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Moshev A.V.**, Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Gvozdev I.I.**, Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Tonacheva O.G.**, Head of Department, Clinical Oncologist, Krasnoyarsk Regional A.I. Kryzhanovskiy Center of Clinical Oncology, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 21.11.2015  
Принята к печати 11.12.2015

Received 21.11.2015  
Accepted 11.12.2015