

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ ФУРУНКУЛЕЗЕ

Новикова И.А., Гусакова Н.В., Гомоляко А.В.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

Резюме. У 52 пациентов с хроническим рецидивирующим фурункулезом тяжелого течения проведена комплексная оценка показателей функционального статуса нейтрофилов: кислород- и нитроксид-продуцирующей активности, интенсивности процессов апоптоза и NET-образующих свойств, а также поглотительная и бактерицидная способность. Выявлено снижение эффективности внутриклеточного киллинга патогенов (ФЧкил, БАН) на фоне подавления резерва как кислородпродуцирующих, так и нитроксид-продуцирующих свойств нейтрофилов. В то же время отмечалось компенсаторное повышение функционального резерва формирования NET, как одного из механизмов реализации внеклеточной бактерицидности нейтрофилов. В период обострения заболевания дополнительно обнаружено снижение интенсивности спонтанной и стимулированной апоптозной готовности нейтрофилов.

Ключевые слова: функциональная активность нейтрофилов, хронический фурункулез

Адрес для переписки:

Гусакова Наталья Викторовна
аспирант кафедры клинической лабораторной
диагностики, аллергологии и иммунологии УО
«Гомельский государственный медицинский
университет»
246013, Беларусь, г. Гомель, ул. Рябиновая, 2а/15.
Тел.: +375 (295) 31-68-56.
E-mail: gusanata@gmail.com

Авторы:

Новикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая
кафедрой клинической лабораторной диагностики,
аллергологии и иммунологии, УО «Гомельский
государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Беларусь

Гусакова Н.В. — аспирант кафедры клинической
лабораторной диагностики, аллергологии
и иммунологии, УО «Гомельский государственный
медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

Гомоляко А.В. — к.м.н., доцент кафедры
клинической лабораторной диагностики,
аллергологии и иммунологии УО «Гомельский
государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Беларусь

Поступила 07.05.2013

Отправлена на доработку 13.05.2013

Принята к печати 20.06.2013

FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN CHRONIC RECURRENT FURUNCULOSIS

Novikova I.A., Gusakova N.V., Hamaliaka A.V.

State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Abstract. Functional characteristics of neutrophils were evaluated in fifty-two patients with severe form of chronic recurrent furunculosis, i.e., intensity of oxygen- and nitric oxide production, apoptosis rates, NET-forming properties, as well as phagocytic and bactericidal capacity. We have detected reduced efficiency of intracellular pathogen killing, accompanied by a suppression of oxygen- and nitric oxide-producing reserve of neutrophils. A compensatory increase in functional reserve of NET formation activity was also revealed, thus being a potential extracellular bactericidal mechanism for neutrophils. At the time of the disease exacerbation, we have found a decreased readiness for both spontaneous and stimulated neutrophil apoptosis. (*Med. Immunol., 2014, vol. 16, N 1, pp 81-88*)

Keywords: neutrophils, functional activity, chronic furunculosis

Address for correspondence:

Gusakova Natallia V.
Postgraduate Student, Department of Clinical
Laboratory Diagnostics, Allergy and Immunology, State
Medical University
246013, Belarus, Gomel, Ryabinovaya str., 2a/15.
Phone: +375 (295) 31-68-56.
E-mail: gusanata@gmail.com

Authors:

Novikova I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief,
Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergy
and Immunology, State Medical University, Gomel,
Republic of Belarus

Gusakova N.V., Postgraduate Student, Department
of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergy
and Immunology, State Medical University, Gomel,
Republic of Belarus

Hamaliaka A.V., PhD (Medicine), Assistant Professor,
Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergy
and Immunology, State Medical University, Gomel,
Republic of Belarus

Received 07.05.2013
Revision received 13.05.2013
Accepted 20.06.2013

Введение

В настоящее время установлена ведущая роль дисфункции компонентов врожденного иммунитета, и особенно нейтрофилов (НФ), в формировании гнойно-воспалительных процессов различной локализации и их рецидивирующих форм. У пациентов с хроническим рецидивирующим фурункулезом (ХРФ) описаны нарушения миграционных свойств НФ, угнетение кислород- и нитроксид-продуцирующей функции, изменение активности лизосомальных ферментов и экспрессии поверхностных рецепторов [2, 3]. Одним из механизмов, позволяющих контролировать интенсивность течения гнойно-воспалительных реакций, является апоптоз НФ, усиление которого может привести к «ареактивности» организма, тогда как замедление способствует выраженному повреждению тканей вплоть до развития системных реакций [6]. Относительно недавно был открыт и детально изучен еще один механизм реализации функциональной активности НФ – нейтрофильные экстрацеллюлярные сети (neutrophil extracellular traps, NET), состоящие из ядерной ДНК и компонентов нейтрофильных гранул, играющие важную роль в захвате и киллинге грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и паразитов [10, 11]. Однако, несмотря на то, что только совокупная реализация функциональных свойств НФ обеспечивает полноценный иммунный ответ, до сих пор не реализован комплексный подход в изучении функционального статуса данных клеток при гнойно-воспалительных заболеваниях, что и обусловило цель нашего исследования.

Цель: комплексная оценка показателей функциональной активности НФ у пациентов с ХРФ.

Материалы и методы

В исследование включены 52 пациента (35 мужчин и 17 женщин; возраст 18-52 лет) с ХРФ тяжелого течения. Степень тяжести определялась по следующим критериям: диссеминированные, множественные, непрерывно рецидивирующие очаги со слабой местной воспалительной реакцией, с непальпируемыми или слегка пальпируемыми регионарными лимфатическими узлами, сопровождающиеся симптомами общей интоксикации [3]. На момент обследования 13 пациентов находились в стадии обострения заболевания, 39 – в стадии ремиссии. Продолжительность заболевания варьировала от 1 года до 26 лет. Из исследования были исключены пациенты с первичными иммунодефицитами, ВИЧ-инфекцией и сахарным диабетом. Лабораторные исследова-

ния проводили до назначения медикаментозной терапии. Контрольную группу составили 65 сопоставимых по возрасту и полу практически здоровых лиц.

Лейкоциты получали из гепаринизированной венозной крови (10 Ед/мл) путем отстаивания в течение 45 минут при 37 °С. Количество НФ в лейкоцитарной суспензии доводили до концентрации 5×10^6 клеток/мл путем разведения необходимым количеством фосфатно-солевого буфера (рН = 7,4). Жизнеспособность НФ в тесте исключения трипанового синего составляла не менее 95%.

Интенсивность процессов апоптоза и NET-образующих свойств НФ оценивали после инкубации клеточной взвеси в течение 150 минут при 37 °С в среде RPMI-1640 («Sigma-Aldrich», США) без стимулятора (спонтанный уровень) и в присутствии растворимых продуктов *S. aureus* (стимулированный уровень). Способ получения растворимых продуктов *S. aureus* и подбор оптимальной концентрации для стимуляции функциональных свойств НФ описан нами ранее [1]. После инкубации клеточную суспензию центрифугировали 5 минут при 250 g, осадок наносили на предметное стекло и, не высушивая, окрашивали смесью акридинового оранжевого («Sigma», США) в концентрации 100 мкг/мл с этидиумом бромидом («Sigma», США) в концентрации 100 мкг/мл в соотношении 1:1 [7]. Изучали препараты с помощью люминесцентного микроскопа Axiostar plus HBO 50/AC («ZEISS», Германия; $\lambda_{\text{возбуждения}}$ 490 нм; $\lambda_{\text{эмиссии}}$ 520 нм; увеличение $\times 1000$). Определяли долю жизнеспособных и апоптотических клеток, а также количество образовавшихся NET, подсчитывая не менее 200 нейтрофилов. Ядра живых НФ имели рыхлую, неоднородную структуру и бледно-зеленую флуоресценцию. Апоптотические НФ представляли собой клетки с конденсированным хроматином в виде ярких, плотных, однородно окрашенных сфер или полумесяцев, имеющих зеленое свечение. В качестве NET расценивали тонкие свободнолежащие ярко-зеленые нити, занимающие пространство, в 2-3 раза превосходящее диаметр неизмененного НФ [11]. Дополнительно рассчитывали индексы функционального резерва NET-образующей (ИС_{NET}) и апоптотической активности (ИС_A) НФ по следующим формулам:

$$\text{ИС}_{\text{NET}} = (\text{NET}_{\text{ст}} - \text{NET}_{\text{сп}}) / \text{NET}_{\text{ст}}$$
$$\text{и ИС}_{\text{A}} = \text{Аст} / \text{Асп.}$$

Кислород-продуцирующую активность НФ определяли в реакции восстановления нитросинего тетразолия («Лабтех», Россия) в спонтанном (НСТсп) и стимулированном *S. aureus* (НСТст)

вариантах с микроскопической оценкой результата. Дополнительно рассчитывали индекс респираторного резерва:

$$(ИРР = (НСТст-НСТсп)/НСТст) [9].$$

Нитроксид-продуцирующую способность НФ оценивали по концентрации в плазме нитрированной аминокислоты тирозина (3-нитротирозина) по методике Crow J.P. [5] в нашей модификации. Лейкоконтрат инкубировали в течение 150 минут при 37 °С в среде RPMI-1640 (спонтанный уровень, NTсп) и в присутствии растворимых продуктов *S. aureus* (стимулированный уровень, NTст). По окончании времени инкубации клеточную суспензию центрифугировали 5 минут при 250 g и в надосадочной жидкости спектрофотометрически ($\lambda = 430$ нм) определяли содержание 3-нитротирозина по формуле $C = A/\delta \times \epsilon$, где C – концентрация 3-нитротирозина, A – показатель абсорбции, d – длина оптического пути, ϵ коэффициент молярной абсорбции $\epsilon_{430} = 4400$ (мМ/л)⁻¹. Функциональный резерв продукции оксида азота оценивали, рассчитывая индекс стимуляции (ИС_{NT}) по формуле:

$$ИС_{NT} = NTст/NTсп.$$

Поглотительную способность НФ определяли в реакции фагоцитоза с живой суточной культурой *S. aureus* (ATCC 25923) в концентрации 10⁸ КОЕ/мл). После 30-минутной инкубации клеточную суспензию наносили на предметное стекло, окрашивали АО (100 мкг/мл), учет осуществляли путем люминесцентной микроскопии, подсчитывая не менее 200 нейтрофилов [4]. Определяли процент НФ, поглотивших микробные частицы – фагоцитарный индекс (ФИ); среднее число фагоцитированных объектов на один нейтрофил – фагоцитарное число (ФЧ); число микроорганизмов, подвергнувшихся внутриклеточному киллингу (ФЧкил). Бактерицидную активность нейтрофилов (БАН) рассчитывали как отношение количества убитых микроорганизмов (оранжево-красная флуоресценция) к общему количеству поглощенных микроорганизмов (оранжево-красная и зеленая флуоресценция).

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов, результаты выражали в виде Me (25%; 75%), где Me – медиана, 25% – нижний квартиль, 75% – верхний квартиль. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Наличие связи между изучаемыми показателями проводили с использованием корреляционного анализа по методу Спирмена (r_s).

Результаты и обсуждение

Результаты комплексной оценки параметров функциональной активности НФ у пациентов

с ХРФ в стадии ремиссии представлены в таблице 1. Как видно из приведенной таблицы 1, у пациентов с ХРФ, несмотря на то, что обследование было проведено в период клинической ремиссии, повышение спонтанной кислород-продуцирующей активности НФ отмечалось у всех 39 пациентов ($p < 0,001$) при отсутствии значимых изменений уровня стимулированного НСТ-теста (снижение данного показателя выявлено лишь у 10 пациентов), что в целом приводило к снижению ИРР ($p < 0,001$). Нитроксид-продуцирующая способность НФ в спонтанном тесте имела лишь тенденцию к повышению, тогда как уровень NO-продукции в ответ на стимуляцию (NTст) оказался ниже у 25 пациентов в сравнении со значениями группы здоровых лиц ($p = 0,002$). В результате у 36 пациентов с ХРФ наблюдалось отсутствие NO-продуцирующего резерва НФ в сравнении с группой контроля ($p < 0,001$).

По параметрам поглотительной способности НФ (ФИ, ФЧ) различий между пациентами с ХРФ и здоровыми лицами не выявлялось. В то же время у 27 пациентов число активно перевариваемых НФ микроорганизмов (ФЧкил) и, следовательно, индекс бактерицидной активности (БАН) оказались значимо ниже, чем в контрольной группе ($p = 0,003$; $p = 0,047$ соответственно).

Анализ NET-образующих свойств НФ у большинства пациентов с ХРФ выявил значимое увеличение NETст ($n = 28$) и ИС_{NET} ($n = 35$) на фоне снижения NETсп ($n = 26$) по отношению к значениям контрольной группы ($p < 0,001$). Показатели апоптозной готовности НФ пациентов не отличались от аналогичных параметров здоровых лиц.

Проведенные исследования продемонстрировали, что у пациентов с ХРФ в стадии клинической ремиссии имели место комплексные нарушения функционального статуса НФ. Способность НФ к продукции кислородных радикалов и NO в ответ на активацию снижалась, тогда как резерв формирования NET, напротив, повышался. Одновременно отмечалось угнетение бактерицидных свойств НФ по отношению к *S. aureus*. Известно, что ключевую роль в киллинге бактерий играют активные продукты кислорода, образующиеся в ходе фагоцитарных реакций [2]. Поэтому выявленное нами угнетение способности НФ пациентов к перевариванию *S. aureus* может быть обусловлено снижением резерва продукции АФК (ИРР). Нитроксидзависимые механизмы, как показали недавние исследования, также участвуют в реализации бактерицидных свойств НФ по отношению к *S. aureus* как *in vitro* [8], так и *in vivo* [12]. В частности, продемонстрировано

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРФ В СТАДИИ РЕМИССИИ В СРАВНЕНИИ СО ЗДОРОВЫМИ ЛИЦАМИ

Показатель, единицы измерения	Здоровые лица (n = 65)	ХРФ (n = 39)
НСТсп, %	7,0 (5,0; 10,0)	19,0 (16,0; 22,0)*
НСТст, %	53,0 (47,0; 57,0)	50,0 (43,0; 57,0)
ИРР	0,86 (0,83; 0,90)	0,60 (0,55; 0,68)*
НТсп, (мм/л) ⁻¹	16,6 (11,8; 22,7)	24,8 (15,2; 29,5)
НТст, (мм/л) ⁻¹	29,9 (23,2; 39,7)	19,4 (13,9; 24,8)*
ИС _{НТ}	1,81 (1,59; 2,01)	0,91 (0,74; 0,98)*
ФИ, %	70,0 (64,0; 75,0)	70,0 (65,0; 74,0)
ФЧ	7,0 (6,0; 8,0)	6,5 (5,0; 8,5)
ФЧкил	4,0 (3,0; 5,0)	2,0 (1,5; 3,5)*
БАН	0,60 (0,50; 0,71)	0,40 (0,21; 0,58)*
NETсп, %	5,0 (4,0; 6,0)	3,0 (2,0; 5,0)*
NETст, %	9,0 (8,0; 12,0)	14,0 (12,0; 17,0)*
ИС _{NET}	0,47 (0,38; 0,58)	0,76 (0,64; 0,85)*
Асп, %	10,0 (8,0; 14,5)	12,5 (10,0; 15,5)
Аст, %	31,5 (26,5; 35,5)	27,5 (23,0; 33,0)
ИС _А	0,65 (0,49; 0,76)	0,59 (0,41; 0,64)

Примечание. * – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с группой здоровых лиц.

усиление цитотоксического эффекта НФ здоровых лиц по отношению к *S. aureus* при добавлении в культуральную среду донаторов NO [8]. Установлено, что именно комбинированное действие NO и O₂ приводит к пролонгированной, но полной гибели *S. aureus*, тогда как по отдельности влияние этих продуктов кратковременно и малоэффективно [8, 12]. В наших исследованиях выявлена положительная взаимосвязь показателей НТсп и НТст с ИРР ($r_s = 0,53$, $p = 0,033$; $r_s = 0,52$, $p = 0,037$ соответственно) в контрольной группе, тогда как у пациентов с ХРФ упомянутые взаимосвязи теряли статистическую значимость. Возможно, выявленные нарушения могут быть одной из причин длительной персистенции воз-

будителя при ХРФ, приводящей к рецидивированию и недостаточной эффективности антибактериальных методов терапии данной патологии.

Что касается NET-образующих свойств НФ, их рассматривают в настоящее время как механизм реализации внеклеточной бактерицидности, эффективно обезвреживающий бактерии в условиях незавершенного фагоцитоза и действующий на более поздних этапах после контакта фагоцитов с антигеном (через 3-4 часа) [11]. Возможно, повышение стимулированного уровня NET с одновременным увеличением резерва NET-образующей активности, выявленное нами у пациентов с ХРФ в условиях клинической ремиссии заболевания, отражает компенсатор-

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРФ В ДИНАМИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Показатель, единицы измерения	Здоровые лица (n = 65)	ХРФ (n = 13)	
		ремиссия	обострение
НСТсп, %	7,0 (5,0; 10,0)	20,0 (18,0; 22,0)*	18,0 (15,0; 20,0)*
НСТст, %	53,0 (47,0; 57,0)	51,0 (41,0; 58,0)	48,0 (44,0; 53,0)
ИРР	0,86 (0,83; 0,90)	0,56 (0,54; 0,64)*	0,63 (0,57; 0,67)*
НТсп, (мм/л) ⁻¹	16,6 (11,8; 22,7)	22,1 (16,7; 28,4)	18,4 (12,1; 24,1)
НТст, (мм/л) ⁻¹	29,9 (23,1; 39,7)	16,5 (13,4; 24,1)*	18,1 (12,3; 22,2)*
ИС _{НТ}	1,81 (1,59; 2,01)	0,98 (0,68; 1,08)*	0,99 (0,79; 1,27)*
ФИ, %	70,0 (64,0; 75,0)	73,0 (66,0; 76,0)	69,0 (61,0; 72,0)
ФЧ	7,0 (6,0; 8,0)	7,0 (4,0; 9,0)	6,0 (4,0; 7,0)
ФЧкил	4,0 (3,0; 5,0)	2,0 (1,0; 3,0)*	3,0 (3,0; 4,0)
БАН	0,60 (0,50; 0,71)	0,40 (0,25; 0,44)*	0,55 (0,43; 0,80)**
НЕТсп, %	5,0 (4,0; 6,0)	3,0 (1,0; 3,0)*	3,0 (1,0; 4,0)*
НЕТст, %	9,0 (8,0; 12,0)	14,0 (11,0; 17,0)*	16,0 (15,0; 20,0)*/**
ИС _{НЕТ}	0,47 (0,38; 0,58)	0,80 (0,75; 0,89)*	0,86 (0,75; 0,94)*
Асп	10,0 (8,0; 14,5)	13,0 (10,0; 14,0)	7,0 (6,0; 9,0)*/**
Аст	31,5 (26,5; 35,5)	28,0 (17,0; 36,0)	18,0 (15,0; 24,0)*
ИС _А	0,65 (0,49; 0,76)	0,56 (0,44; 0,62)	0,56 (0,44; 0,75)

Примечание. * – различия значимы (p < 0,05) в сравнении с группой здоровых лиц; ** – различия значимы в сравнении с аналогичным показателем пациентов в ремиссии.

но-адаптационную реакцию организма на недостаточность внутриклеточных факторов бактерицидности. С другой стороны, такие изменения могут быть вызваны и нарушением регуляторных механизмов формирования (избыточная активность NADPH-оксидазы и процесса аутофагии) и удаления NET (нарушение выработки эндогенных ДНКаз) [10].

Оценка параметров функциональной активности НФ в динамике заболевания (ремиссия → обострение) проведена нами у 13 пациентов с ХРФ (табл. 2). Обследование проводилось в стадии полной клинической ремиссии, а затем у этих же пациентов в период обострения (на ста-

дии инфильтрации и формирования некротического стержня).

Как видно из таблицы 2, при обострении заболевания дефекты кислород- и нитроксид-продуцирующих свойств НФ сохранялись. В то же время показатели бактерицидной активности НФ (ФЧкил, БАН), сниженные, относительно здоровых лиц, в ремиссии заболевания (p = 0,003 и p = 0,047 соответственно), повышались до контрольных значений у 10 из 13 пациентов при обострении процесса. Кроме того, в период рецидива заболевания возрастала степень стимулированной NET-образующей способности НФ у всех обследованных лиц относительно группы

контроля ($p < 0,001$) и у 6 пациентов в сравнении с их же данными в стадии ремиссии ($p = 0,005$). Одновременно в группе пациентов с обострением заболевания снижались показатели спонтанного и стимулированного апоптоза НФ. Так, относительно здоровых лиц, снижался уровень как Асп ($p = 0,009$), что было выявлено у 7 пациентов, так и Аст ($p < 0,001$) — у 11 обследованных. В сравнении с показателями в период ремиссии, при обострении ХРФ уровень спонтанного апоптоза НФ также снижался ($p = 0,046$), что было характерно для 7 из 13 обследованных пациентов.

Торможение апоптозной готовности НФ, возможно, носит компенсаторный характер и направлено на сохранение пула активных клеток, способных к фагоцитозу, что объясняет увеличение значений параметров внутриклеточного киллинга НФ пациентов с ХРФ в период обострения заболевания. С другой стороны, имеется достаточное количество убедительных фактов, свидетельствующих о том, что замедленная элиминация эффекторных клеток приводит к нарушению их функций, повреждению окружающих тканей

и способствует пролонгации воспалительного ответа [6]. Кроме того, снижение апоптозной активности НФ может быть связано с интенсификацией NET-образующих свойств (NETст), на что указывает ряд экспериментальных работ [10, 11]. Не исключено, что выявленные нами особенности в реализации программы клеточной гибели НФ связаны с их функциональной неоднородностью. При этом часть клеток реализует свой бактерицидный потенциал путем фагоцитоза и внутриклеточного киллинга микроорганизмов, а другая часть — за счет нетоза. Однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

В целом проведенные исследования свидетельствуют, что у пациентов с ХРФ тяжелого течения имеет место подавление внутриклеточных (угнетение кислород- и нитроксид-продуцирующих свойств), но активация внеклеточных (NET-образующей способности) механизмов бактерицидности НФ крови. В период рецидива заболевания дополнительно снижается спонтанная и стимулированная апоптозная готовность НФ.

Список литературы

1. Гусакова Н.В., Новикова И.А. Образование экстрацеллюлярных сетей нейтрофилами периферической крови // Проблемы здоровья и экологии. — 2011. — № 3. — С. 27-31.
2. Калинина Н.М. Нарушения иммунитета при рецидивирующем фурункулезе // Цитокины и воспаление. — 2003. — № 1. — С. 41-44.
3. Сетдикова Н.Х., Манько К.С., Латышева Т.В. Принципы диагностики и лечения хронического рецидивирующего фурункулеза // Лечащий врач. — 2005. — № 6. — С. 44-47.

Ссылки 4-12 см. в References (стр. 87-88). See References for numbers 4-12 at pp. 87-88

References

1. Gusakova N.V., Novikova I.A. Obrazovanie ekstratsellyulyarnykh setey neytrofilami perifericheskoy krovi [Formation of neutrophil extracellular traps in peripheral blood]. *Problemy zdorov'ya i ekologii — Problems of Health and Ecology*, 2011, no. 3, pp. 27-31.
2. Kalinina N.M. Narusheniya immuniteta pri retsidiviruyushchem furunkuleze [Impairment of immunity in recurrent furunculosis]. *Tsitokiny i vospalenie — Cytokines and Inflammation*, 2003, no. 1, pp. 41-44.
3. Setdikova N.H., Man'ko K.S., Latysheva T.V. Printsipy diagnostiki i lecheniya khronicheskogo retsidiviruyushchego furunkuleza [Principles of diagnosis and treatment of chronic recurrent furunculosis]. *Lechashchiy vrach — The Practitioner*, 2005, no. 6, pp. 44-47.
4. Cohen G., Haag-Meber M., Mai B., Deicher K Effect of immunoglobulin light chains from hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients on polymorphonuclear leucocyte functions. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1995, no. 6, pp. 1592-1599.
5. Crow J.P. Manganese and iron porphyrins catalyze peroxy-nitrite decomposition and simultaneously increase nitration and oxidant yield: implications for their use as peroxy-nitrite scavengers *in vivo*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1999, no. 371, pp. 41-52.
6. Fialkow L., Filho L.F., Bozzetti M.C. Neutrophil apoptosis: a marker of disease severity in sepsis and sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. *Crit. Care.*, 2006, no. 6, pp. 1-14.
7. Gendroglo M., Jaber B.L. Neutrophil apoptosis and dysfunction in uremia. *The J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999, no. 10, pp. 93-100.

8. Klink M., Cedzynski M., Sulowska Z. Involvement of nitric oxide donor compounds in the bactericidal activity of human neutrophils *in vitro*. *Journal of Medical Microbiology*, 2003, no. 52, pp. 303-308.
9. Park B.H., Seoul National M.D., Fikrig S.M., Istanbul M.D. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. *The Lancet*, 1968, no. 292, pp. 532-534.
10. Remijsen Q., Wirawan E., Willems J. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation. *Cell Res.*, 2011, vol. 21, no. 2, pp. 290-304.
11. Remijsen Q., Kuijpers T.W., Wirawan E., Dying for a cause: NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality. *Cell Death and Differentiation*, 2011, no. 18, pp. 581-588.
12. Zamora R., Vodovotz V., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Molec. Med.*, 2000, vol. 6, no. 5, pp. 347-373.