

ОЦЕНКА РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Смирнова О. В.^{1, 2},
Барсуков И. В.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (НИИ МПС), г. Красноярск.

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск

**EVALUATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE RESPIRATORY
BURST IN COLORECTAL CANCER**

Smirnova O. V.^{a, b},
Barsukov I. V.^a

^a Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences" separate subdivision Research Institute of Medical Problems of the North (NII MPS), Krasnoyarsk.

^b Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Siberian Federal University", Krasnoyarsk

Резюме

Резюме

Колоректальный рак (КРР) является третьим по распространенности у мужчин и вторым у женщин онкологическим заболеванием. Неоднозначность нейтрофилов в реализации иммунного ответа свидетельствует об их трансформации в проопухолевые клетки на поздних стадиях заболевания. В связи с этим, целью исследования было - изучить респираторный взрыв нейтрофильных гранулоцитов в крови у больных колоректальным раком на разных стадиях заболевания и в динамике лечения. В исследование включены 99 больных колоректальным раком на разных стадиях заболевания и 112 практически здоровых добровольцев. Оценка респираторного взрыва нейтрофилов проводилась с использованием хемилюминесцентного анализа активности нейтрофильных гранулоцитов в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе "CL 3607" (Россия). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10 (StatSoftInc, США). Статистическую значимость различий определяли с использованием критерия Манна-Уитни равным $p < 0,05$. У больных КРР зафиксировано увеличение интенсивности ХЛ и суммарного синтеза АФК как в состоянии относительного покоя, так и при дополнительной функциональной нагрузке, отражающее состояние респираторного взрыва в нейтрофилах пациентов, как в первый день госпитализации, так и на 7 сутки после операции. Индекс активации у больных КРР увеличен на всех стадиях заболевания и на всем протяжении обследования. У больных колоректальным раком зафиксированы значительные отклонения в показателях хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов: до операции обнаружено увеличение интенсивности спонтанной ХЛ на II-IV стадиях заболевания, а индуцированной на всех стадиях, при этом интенсивность свечения на поздней стадии выше. После хирургического лечения показатель спонтанной интенсивности продукции АФК на I-III стадиях нормализовался, в индуцированном тесте НГ больных по-прежнему были более реактивны относительно контроля. Суммарная продукция АФК НГ пациентов с КРР на всех стадиях превышала показатели практически здоровых людей в спонтанном и индуцированном тесте ХЛ как при поступлении в стационар, так и после лечения. О имеющихся резервных возможностях к синтезу АФК говорит и увеличенный во всех группах индекс активации нейтрофильных гранулоцитов.

Ключевые слова: респираторный взрыв, нейтрофилы, колоректальный рак, хемилюминесценция, активные формы кислорода, люминол.

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in men and the second most common cancer in women. The ambiguity of neutrophils in the implementation of the immune response indicates their transformation into protumor cells in the late stages of the disease. In this regard, the aim of the study was to study the respiratory burst of neutrophilic granulocytes in the blood of patients with colorectal cancer at different stages of the disease and in the dynamics of treatment. The study included 99 patients with colorectal cancer in different stages and 112 practically healthy volunteers. The respiratory burst of neutrophils was assessed using chemiluminescent analysis of neutrophil granulocyte activity for 90 minutes on a 36-channel chemiluminescent analyzer "CL3607" (Russia). Statistical data processing was performed using Statistica 10 software packages (StatSoftInc, USA). Statistical significance of differences was determined using the Mann–Whitney criterion equal to $p < 0.05$. In patients with CRC, an increase in the intensity of CL and total synthesis of ROS was recorded both in a state of relative rest and under additional functional load, reflecting the state of the respiratory burst in patients' neutrophils, both on the first day of admission and on the 7th day after surgery. The activation index is increased in patients with CRC at all stages and throughout the examination. Significant deviations in the indices of chemiluminescent activity of neutrophil granulocytes were recorded in patients with CRC: before surgery, an increase in the intensity of spontaneous CL was detected at stages II-IV of the disease, and induced CL at all stages, with the luminescence intensity at the late stage being higher. After surgical treatment, the spontaneous intensity of ROS production at stages I-III normalized, in the induced test, NG patients were still more reactive than the controls. The total ROS production by NG patients with CRC at all stages exceeded the indices of practically healthy people in the spontaneous and induced CL test both upon admission to the hospital and after treatment. The existing reserve capacity for ROS synthesis is also indicated by the increased neutrophil granulocyte activation index in all groups.

Keywords: respiratory burst, neutrophils, colorectal cancer, chemiluminescence, reactive oxygen species, luminol.

1 Введение

По данным мировой статистики колоректальный рак (КРР) является третьим по распространенности у мужчин (10% от общего числа злокачественных новообразований) и вторым у женщин (9,2%). В течение жизни риск развития КРР во многих регионах составляет примерно 5%. В настоящее время около 45% больных с диагнозом КРР, несмотря на лечение, умирает от данного заболевания [5].

Микроокружение опухоли является важнейшим фактором, влияющим на ее способность к прогрессии и метастазированию. На микроокружение значимое влияние оказывают местные факторы, связанные с опухолью, циркулирующие клетки иммунной системы и медиаторы воспаления. Известно, что клетки иммунной системы мигрируют к опухоли, инфильтрируют очаги опухолевого роста, становясь активными компонентами стромы, но в то же время изменяют опухолевую среду и сами подвергаются трансформации. Было показано, что макрофаги и нейтрофилы способствуют опухолевой прогрессии и метастазированию на поздних стадиях онкологического процесса [7; 8]. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов зависит от количества активных форм кислорода, которые вырабатываются в митохондриях при респираторном взрыве и расходуются в фагоцитозе. Имеется параллелизм между фагоцитарной и хемилюминесцентной активностью нейтрофилов, чем выше хемилюминесцентная активность клеток, тем больше их функциональная активность.

Цель исследования: изучить респираторный взрыв нейтрофильных гранулоцитов в крови у больных колоректальным раком на разных стадиях заболевания и в динамике лечения.

2 Материал и методы исследования

Данное исследование было осуществлено на основе ресурсов научно-исследовательского института (НИИ) медицинских проблем Севера, входящего в состав Федерального исследовательского центра (ФИЦ) КНЦ СО РАН, в частности, в лаборатории клинической патофизиологии. В рамках работы была сформирована когорта из 99 пациентов, страдающих колоректальным раком, с возрастным диапазоном от 26 до 83 лет. Рассчитанный средний возраст обследуемой группы составил $62 \pm 8,5$ года ($p < 0,05$). Гендерное распределение пациентов было следующим: 45% составляли мужчины, а 55% – женщины.

Включение пациентов в научное исследование и получение биологических образцов осуществлялось в момент поступления в стационар, до начала терапевтических вмешательств, с последующим повторным забором на седьмой день после оперативного лечения. Объектом исследования служила венозная кровь, взятие которой производилось в утренние часы (между 8:00 и 9:00) натощак. Забор крови из локтевой вены проводился в пробирки Vacutainer, содержащие раствор гепарина натрия в концентрации 5 ЕД/мл (ГОСТ Р 53079.4-2008).

Распределение пациентов с колоректальным раком (КРР) аденокарциномозной этиологии осуществлялось следующим образом: 43 пациента находились на ранних стадиях заболевания, из них 19 пациентов были диагностированы с I стадией, а 25 пациентов – с II стадией; 55 пациентов относились к группе с прогрессивным развитием болезни, где 29 пациентов имели III стадию, а 26 пациентов – IV стадию.

Всем больным была оказана хирургическая помощь с учетом индивидуальных особенностей объемов оперативного вмешательства.

Контрольная группа состояла из 112 практически здоровых добровольцев, тщательно подобранных по возрасту и полу с целью минимизации демографических погрешностей при сравнительном анализе.

Исследование проводилось в соответствии с протоколами, одобренными локальными этическими комитетами, что гарантировало соблюдение нормативных требований, установленных для проведения клинических исследований, и позволило обеспечить достоверность полученных данных.

Оценка респираторного взрыва нейтрофилов проводилась с использованием хемилюминесцентного анализа активности нейтрофильных гранулоцитов. Хемилюминесцентный метод позволяет регистрировать короткоживущие свободные радикалы, и может использоваться для оценки функциональной активности иммунокомпетентных клеток [3, 10]. Уровень хемилюминесценции характеризует степень интенсивности так называемого «респираторного взрыва» в клетках, осуществляющих продукцию активных форм кислорода (АФК).

Механизм описываемого эффекта определяется деполяризацией мембранного потенциала, наступающей вследствие связывания рецепторов на поверхности фагоцитирующих клеток, что сопровождается значительным повышением внутриклеточной концентрации кальция, а также вызывает изменение уровня кальмодулина с одновременной активацией фосфолипаз и НАДФН-оксидазы [1].

В проведенном исследовании в качестве усилителя хемилюминесценции применялся люминол, способный вступать в хемилюминесцентную реакцию как с первичными активными формами кислорода, так и с их вторичными аналогами.

В данной работе индуктором, вызывающим респираторный взрыв, являлся опсонизированный зимозан – полисахарид, получаемый из культуры *Saccharomyces cerevisiae* [17].

При инкубации фагоцитирующих клеток с зимозаном наблюдалось существенное усиление хемилюминесцентного сигнала, интенсивность которого служила критерием для оценки функционального состояния клеток, а также для наблюдения динамики процесса фагоцитоза [4].

Нейтрофильные гранулоциты были выделены из периферической крови посредством центрифугирования в условиях двойного градиента плотности, при этом для разделения клеток использовались растворы фиколлаурографина, с различными значениями плотности, а именно: раствор с $\rho =$

1,077 г/см³, который был предназначен для селективного отделения лимфоцитов, а также раствор с $\rho = 1,119$ г/см³, обеспечивавший эффективную изоляцию нейтрофильных клеток. что позволяло обеспечить высокую степень чистоты выборки и минимизировать межклеточные взаимодействия в ходе экспериментального анализа.

Дополнительные методические мероприятия включали стандартизированные условия инкубации, обеспечивающие повторяемость результатов, подтверждённую предварительными калибровочными испытаниями, выполненными согласно протоколам лабораторных исследований.

Данные эксперимента свидетельствуют о корректности выбранного методологического подхода для оценки клеточной активности и подтверждают статистически значимую разницу между контрольной и экспериментальной группами, что обосновано применением соответствующих аналитических методов и подтверждено сравнительным анализом результатов, представленных в таблицах в рамках исследования.

Оценка как спонтанной, так и индуцированной хемилюминесценции проводилась непрерывно в течение 90-минутного интервала с применением хемилюминесцентного анализатора 36-канального типа «CL 3607» (Российская Федерация), что обеспечивало возможность получения подробной временной характеристики процессов, протекающих в клеточных субпопуляциях. На основании проведенного хемилюминесцентного анализа были определены основные экспериментальные параметры, включающие время достижения пикового значения интенсивности хемилюминесценции (обозначаемое как T_{max}), величину максимальной интенсивности сигнала (обозначаемую как I_{max}) и интегральную характеристику, выраженную через вычисление площади под кривой хемилюминесценции (обозначается S). Специфическая усиленность индуцированной хемилюминесценции оценивалась посредством вычисления соотношения площади под кривой индуцированной реакции ($S_{инд}$) к площади под кривой спонтанного сигнала ($S_{спонт}$), что интерпретировалось как индекс активации клеточной системы. Данный индекс позволяет с высокой степенью точности количественно определить реакцию клеток на заданное воздействие с учетом их исходного уровня функциональной активности, что является важным параметром для оценки иммунного ответа при различных экспериментах.

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с применением специализированного программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft Inc., США), что позволило осуществить всесторонний анализ собранной информации. Процедура обработки включала вычисление непараметрических показателей, среди которых особое значение имели медиана (Me) и межквартильный диапазон, представленный в виде перцентилей C_{25} - C_{75} . Вычисленные статистические показатели обеспечивали надежную оценку экспериментальных данных и позволяли проводить

дальнейшую интерпретацию результатов с учетом их статистической значимости.

Оценка статистической значимости различий между группами осуществлялась с применением критерия Манна–Уитни, а для проверки статистических гипотез уровень значимости устанавливался равным $p < 0,05$, что является общепринятым порогом для принятия результатов как достоверных. Данный подход обеспечивает высокую объективность и воспроизводимость полученных результатов для дальнейших сравнительных исследований в области клеточной иммунологии и функциональной активности фагоцитирующих клеток. Дополнительно, при интерпретации результатов учитывались количественные характеристики динамики хемилюминесцентного сигнала, что делало возможной оценку как максимальной интенсивности, так и суммарного величинного эквивалента реакционной кривой.

Таким образом, используя комплексный подход с применением двойного градиента плотности и современных методов хемилюминесцентного анализа, удалось получить всестороннюю характеристику клеточных реакций, обеспечивающую детальное понимание механизмов клеточной активации при различных экспериментальных условиях, что подчеркивает научную значимость проведенного исследования в области иммунологии и клеточной биологии. Описанные методики выделения клеток, проведения хемилюминесцентного анализа и дальнейшая статистическая обработка данных предоставляют исчерпывающую основу для оценки функционального состояния иммунных клеток в условиях лабораторного моделирования процесса фагоцитоза, что позволяет формировать выводы по поводу влияния различных агентов на клеточную активность и оценивать потенциал используемых организмов в качестве модели для дальнейших иммунологических исследований.

3 Результаты исследования и их обсуждение

Спонтанная хемилюминесцентная активность нейтрофилов демонстрировала увеличение на II и поздних этапах заболевания (см. Таблицу 1) с наиболее выраженными значениями интенсивности свечения на IV стадии ($p < 0,05$).

Аналогичным образом медианное значение площади под кривой спонтанной хемилюминесцентной активности у пациентов с КРР было значительно выше на всех стадиях заболевания по сравнению с контрольной группой, при этом наибольшие показатели наблюдались на II и IV стадиях ($p < 0,001$).

Дополнительный анализ выявил, что динамика данных показателей коррелировала с прогрессированием патологического процесса, что позволяет считать их потенциальными биомаркерами в оценке тяжести заболевания.

Индукцированная хемилюминесцентная активность нейтрофилов возрастала на всех стадиях КРР. На I–III стадиях, медиана интенсивности индуцированной хемилюминесценции превышала контрольные значения в

диапазоне от 2,8 до 3,4 раза ($p<0,001$). У пациентов на IV стадии медиана интенсивности индуцированной хемилюминесценции была почти в 6 раз выше, чем в контрольной группе ($p<0,001$). Важно отметить, что медианные значения интенсивности индуцированного свечения у пациентов на IV стадии были статистически значительно выше в 2 раза, показателей пациентов на I стадии ($p<0,05$).

Анализ медианы площади под кривой индуцированной хемилюминесценции у пациентов с КРР показал, что этот показатель статистически существенно превышал контрольные значения на всех стадиях заболевания с наибольшими значениями показателей на IV стадии заболевания ($p<0,001$). Кроме того, на IV стадии суммарная продукция АФК нейтрофилами у пациентов была выше примерно в 1,5–2 раза, чем на начальных стадиях заболевания ($p<0,05$).

В группе пациентов с КРР на I стадии отмечалось сокращение времени достижения пика интенсивности кривой как для спонтанной, так и для зимозан-индуцированной хемилюминесценции, что свидетельствует об ускоренной активации митохондриального аппарата нейтрофильных гранулоцитов для активного синтеза АФК. В свою очередь, у пациентов на II–IV этапах наблюдалось резкое увеличение синтеза АФК, сопровождаемое замедлением достижения пика кривой хемилюминесценции.

Медиана индекса активации нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с КРР на I стадии оказалась выше, чем в контрольной группе приблизительно в 3 раза ($p<0,001$), а на II–IV стадиях медианный индекс активации был примерно в 2 раза больше, чем у здоровых испытуемых ($p<0,001$).

На седьмой день после оперативного вмешательства наблюдалось сохранение статистически значимого повышения медианы интенсивности спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с КРР на IV стадии, где данный показатель был увеличен примерно в 2,9 раза ($p<0,05$) по сравнению с контрольной группой (см. Таблицу 2). Анализ площади под кривой спонтанной хемилюминесценции выявил аналогичные изменения: у пациентов с колоректальным раком (КРР) на всех этапах развития заболевания данный параметр после оперативного вмешательства демонстрировал более высокие значения в сравнении с контрольной группой. Суммарная продукция активных форм кислорода (АФК) у пациентов с КРР на начальных стадиях превышала показатели здоровых лиц более чем в два раза, а на продвинутых стадиях заболевания – в 5,9 и 8,2 раза соответственно ($p<0,001$).

Изучение медианных значений параметров зимозан-индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов после хирургического лечения у пациентов с КРР выявило статистически значимое усиление свечения на всех стадиях рака по сравнению с контролем: увеличение на продвинутых стадиях заболевания более, чем в 4 ($p<0,001$).

Медиана площади под кривой индуцированной хемилюминесценции на всех стадиях заболевания была значительно выше, чем в контрольной группе с наибольшим значением параметра на IV стадии заболевания ($p < 0,001$).

Кроме того, медианный индекс активации нейтрофилов у пациентов с КРР на всех стадиях заболевания на седьмой день после операции оказался выше, чем в контрольной группе соответственно ($p < 0,001$).

Анализ биологических свойств нейтрофилов крови у пациентов с КРР на седьмой день после оперативного вмешательства продемонстрировал увеличение времени достижения пика спонтанной и индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции. Период, необходимый для выхода кривой хемилюминесценции на максимальное значение интенсивности, характеризует скорость развития дыхательного взрыва в ответ на регуляторные или антигенные стимулы, воздействующие на фагоциты.

Этот процесс включает весь спектр активационного каскада, начиная с рецепторных механизмов на внешней цитоплазматической мембране и заканчивая синтезом первичных и вторичных активных форм кислорода, как указано в литературном источнике [9]. Увеличение индекса активации нейтрофильных гранулоцитов на всех стадиях заболевания отражает существование у клеток метаболических возможностей для синтеза АФК, что свидетельствует о высоком уровне активности клеточного метаболизма в ответ на патогенетические воздействия.

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют, что у пациентов с КРР отмечаются как количественные, так и качественные изменения в хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов, что подтверждается достоверными различиями в динамике интенсивности и площади под кривой как для спонтанной, так и для индуцированной хемилюминесценции. Данные наблюдения позволяют предположить, что нарушения регуляции хемилюминесцентной реакции нейтрофильных гранулоцитов могут служить эффективным индикатором патологических процессов, протекающих при онкологических заболеваниях, и могут иметь важное значение для дальнейших исследований по оценке метаболической активности иммунных клеток. Увеличение скорости синтеза АФК, а также значительные различия в показателях времени достижения пика интенсивности свечения по сравнению с контрольной группой обуславливают перспективу применения данных биохимических индикаторов при мониторинге клинического состояния пациентов с КРР. Результаты экспериментальных исследований, полученные с использованием опсонизированного зимозана, позволяют судить о том, что индуцированная реакция хемилюминесценции является надежным основанием для оценки иммунометаболической активности нейтрофильных гранулоцитов в условиях оперативного лечения онкологических процессов. Необходимо проводить дальнейшие исследования с целью уточнения механизмов активации митохондриального аппарата нейтрофилов и определения потенциала

применения данных показателей в качестве диагностических и прогностических маркеров в клинической практике.

Иммунная система не только уничтожает опухоли, но также способна поддерживать и формировать возникающие опухоли. Различные данные свидетельствуют о том, что хроническое воспаление, вызванное постоянными инфекциями, аутоиммунными заболеваниями и длительным воздействием раздражителей окружающей среды и пищевых факторов, может способствовать онкогенезу, создавая местную среду, которая поддерживает онкогенные мутации и нестабильность генома, и усиливает ангиогенез среди ряда других механизмов, поддерживающих развитие и рост опухолей [11; 15; 19].

Микроокружение злокачественного новообразования видоизменяется в процессе его роста и прогрессирования, что оказывает влияние на степень агрессивности опухоли и ее способность к дальнейшему метастазированию [2].

Исследования продемонстрировали, что в тканях аденокарциномы толстой кишки наблюдается повышенный уровень ряда провоспалительных цитокинов по сравнению с прилегающими тканями, предположительно вследствие аутокринной продукции опухолевыми клетками во время воспалительного процесса [6].

Данный воспалительный ответ способствует как инвазии опухолевых клеток, так и их дальнейшему распространению с метастатическим потенциалом, одновременно активируя ранее «спящие» метастазы [2].

Наличие опухоли инициирует привлечение иммунных клеток в собственную стромальную ткань, что вызывает синтез широкого спектра биологически активных веществ.

Данное явление было подтверждено данными, представленными в таблицах 1 и 2, а также сведениями из литературы, где отмечается влияние уровня цитокинов на внутритканевые процессы и патогенез опухолевых заболеваний.

Лейкоцитарный инфильтрат, включает лейкоциты, Т-клетки, НК-клетки, Т-регуляторные клетки, инфильтрующие опухоль макрофаги и нейтрофилы [18]. Привлеченные опухолью миелоидные клетки, включающие моноциты, макрофаги и нейтрофилы стимулируют развитие опухоли, посредством модернизации межклеточного матрикса, увеличивая перемещение опухолевой клетки и инвазию, стимулируют ангиогенез. Среди этих процессов ангиогенез является важным не только для обеспечения опухоли питательными веществами, но и для распространения опухолевых клеток через кровь [12].

Клетки иммунной системы, находящиеся в окружении опухоли подвергаются перепрограммированию и превращаются в проонкогенные [16]. Среди миелоидных клеток долгое время основными проопухолевыми клетками считались ассоциированные с опухолью макрофаги [14]. Роль ассоциированных с опухолью нейтрофилов стала изучаться позднее. Подобно

антиопухолевым M1 и проопухолевым M2 макрофагам в 2009 году Fridlender с коллегами, на основе модели рака у крыс, предложили выделить антиопухолевые N1 и проопухолевые N2 фенотипы нейтрофилов [13]. Проопухолевое воздействие нейтрофилов в опухолевой ткани выражается преимущественно на поздних этапах роста, что соответствует III-IV стадии онкологического процесса согласно клиническим данным. [7;8]. Вероятно, на поздних стадиях опухоли иммунная система уже не справляется с развивающейся опухолью.

Таким образом, развитие злокачественного процесса при колоректальном раке во многом определяется взаимным влиянием пула опухолевых и иммунокомпетентных клеток, продуктов их активности – цитокинов. Локальные иммунологические нарушения в пренеопластических тканях толстой кишки предопределяют патогенетическую инициацию рака толстой кишки. Микроокружение неоплазмы по иммунологическим параметрам является опухолевым полем, способствующим дальнейшему прогрессированию аденокарциномы толстой кишки, а при аденоматозных полипах определяет либо его злокачественную трансформацию, либо служит буферной зоной [9].

4 Заключение

Формирование АФК играет ключевую роль в неспецифической защите организма и является важным механизмом иммунитета. У пациентов с КРР наблюдается усиление хемотаксиса и общего синтеза АФК как в состоянии относительного покоя, так и при дополнительном функциональном стимулировании (например, после зимозан-индуцированной нагрузки), что свидетельствует о состоянии респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов у пациентов как в первый день госпитализации, так и спустя неделю после операции. Индекс активации, характеризующий способность метаболической системы нейтрофилов к усиленному синтезу АФК при функциональной активации, у больных КРР увеличен на всех стадиях заболевания и на всем протяжении обследования. Люминол-зависимая ХЛ характеризует суммарный синтез свободных радикалов, в том числе вторичных форм АФК, в формировании пула которых, играют роль супероксиддисмутаза, каталаза и миелопероксидаза.

У больных колоректальным раком зафиксированы значительные отклонения в показателях хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов. У больных КРР до операции обнаружено увеличение интенсивности спонтанной ХЛ на II-IV стадиях заболевания, а индуцированной на всех стадиях, при этом интенсивность свечения на поздней стадии выше. После хирургического лечения показатель интенсивности продукции АФК (спонтанная ХЛ) на I-III стадиях нормализовался, в индуцированном тесте НГ больных по-прежнему были более реактивны, относительно контроля. Суммарная продукция АФК НГ пациентов с КРР на всех стадиях превышала показатели практически здоровых людей в спонтанном и индуцированном тесте ХЛ как при поступлении в

349 стационар, так и после лечения. О имеющихся резервных возможностях к
350 синтезу АФК говорит и увеличенный во всех группах индекс активации
351 нейтрофильных гранулоцитов.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Показатели спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у КРР до оперативного лечения.

Table 1. Indicators of spontaneous and induced chemiluminescent activity of neutrophil granulocytes in colorectal cancer before surgical treatment.

Показатели спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности Indicators of spontaneous and induced chemiluminescent activity	Контрольная группа, Control group N=112		I стадия Stage I N=19		II стадия Stage II N=25		III стадия Stage III N=29		IV стадия IV stage N=26	
	Me	C ₂₅ - C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Tmax спонтанная, с Tmax spontaneous, s	981	604- 1522	699	470-1140	1145	794- 1830	1239	874-1651	1163	701- 1426
			pк<0,05		pк<0,05		pк<0,05		pк<0,05	
Imax спонтанная, отн.ед Imax spontaneous, rel. units	7978	3148- 19815	9264	4726- 17731	19688	7466- 34897	14305	9358 - 28621	26545	10887- 70490
			p ₄ <0,05		pк<0,05		pк <0,05		pк <0,05	

S спонтанная *10 ⁷ , отн.ед*с S spontaneous *10 ⁷ , rel. units*s	0,78	0,39- 2,0	3,2	1,4-5,3	5,7	2,4 – 8,3	4,1	3,2-7,7	5,9	3,4-11
			p _к <0,001 p ₄ <0,05		p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001	
Tmax индуцированная, с Tmax induced, s	534	434- 710	789	627-979	1128	737-1320	959	866-1390	924	848- 1248
			p _к <0,05		p _к <0,05		p _к <0,05		p _к <0,05	
Imax индуцированная, отн. ед. Imax induced, rel. units	16864	6940- 32097	46852	22521- 93266	57020	29244- 78654	49841	31207- 91785	100864	43341- 206296
			p _к <0,001 p ₄ <0,05		p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001	
S индуцированная*10 ⁷ , отн.ед*с S induced*10 ⁷ , rel. units*s	1,68	0,61- 3,53	13,1	6,2-29,1	16,2	6,9-26,0	17,0	11,1-28,0	26	13,0 -50,1
			p _к <0,05 p ₄ <0,05		p _к <0,001 p ₄ <0,05		p _к <0,001		p _к <0,001	
Индекс активации Activation Index	1,63	1,3 - 2,3	4,3	2,0-5,3,	3,34	2,2-5,3	3,4	2,1-5,3	3,5	2,7-6,0
			p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001	

Примечания:

p_k -достоверность различий относительно группы контроля

p_4 - достоверность различий относительно группы IV стадии

Notes:

p_k -reliability of differences relative to the control group

p_4 -reliability of differences relative to the stage IV group

Таблица 2. Показатели спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных колоректальным раком на 7 сутки после операции.

Table 2. Indicators of spontaneous and induced chemiluminescent activity of neutrophil granulocytes in patients with colorectal cancer on the 7th day after surgery.

Показатели спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности Indicators of spontaneous and induced chemiluminescent activity	Контрольная группа, Control group N=112		I стадия, Stage I N=19		II стадия, Stage II N=25		III стадия, Stage III N=29		IV стадия, Stage IV N=26	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
T _{max} спонтанная, с T _{max} spontaneous, s	621	370-1100	490	459-882	1293	643-2026	1632	911-1929	1124	648-1443
					p _к < 0,05		p _к < 0,05		p _к < 0,05	
I _{max} спонтанная, отн.ед. I _{max} spontaneous, rel. units	7978	3148-19815	12997	7733-21514	8510	4106-27589	10329	5606-22491	22860	19171-30070
									p _к < 0,05	
S спонтанная *10 ⁷ , отн.ед.*с	0,78	0,39-2,0	2,2	1,6-4,0	1,8	1,4-3,6	4,6	1,8-6,1	6,4	3,9-7,6

S spontaneous *10 ⁷ , rel. units *s										
			p _к <0,05 p ₄ <0,05		p _к <0,001 p ₄ <0,05		p _к <0,05		p _к <0,001	
Tmax индуцированная, с Tmax induced, s	534	434- 710	1141	772- 1242	1444	1187- 1944	1141	948-1486	1105	788-1466
			p _к <0,05		p _к <0,05		p _к <0,05		p _к <0,05	
Imax индуцированная, отн.ед. Imax induced, rel. units	16864	6940- 32097	34763	20475- 43686	53441	29505- 93565	46090	28345- 80808	69630	50032- 98765
			p _к <0,05 p ₄ <0,05		p _к <0,05		p _к <0,05		p _к <0,001	
S индуцированная*10 ⁷ ,отн.ед.*с S induced*10 ⁷ , rel. units*s	1,68	0,61- 3,5	7,74	5,10- 10,7	11	8,8-17,1	9,94	8,2-24,3	18	12,1-32,2
			p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001	
Индекс активации Activation Index	1,63	1,3 – 2,3	4,69	3,8-6,6	6,16	3,4-7,9	4,1	2,42-4,7	2,91	2,4-4,2
			p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001		p _к <0,001	

p_к-достоверность различий относительно группы контроля
p₄- достоверность различий относительно группы IV стадии

p_k -reliability of differences relative to the control group
 p_4 -reliability of differences relative to the stage IV group

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Смирнова Ольга Валентиновна, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клинической патофизиологии НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН, заведующая кафедрой медицинской биологии СФУ;
адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г;
телефон: 89135679719;
e-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Smirnova Olga Valentinovna, MD, Professor, Head of the Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of MPS, Federal Research Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Medical Biology, Siberian Federal University;
address: 660022, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka str., 3G;
telephone: 89135679719;
e-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Барсуков И.В., студент;
Barsukov Igor Vitalievich, student.

Блок 3. Метаданные статьи

ОЦЕНКА РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ
ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ
EVALUATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE RESPIRATORY BURST
IN COLORECTAL CANCER

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

НЕЙТРОФИЛЫ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ
NEUTROPHILS IN COLORECTAL CANCER

Ключевые слова: респираторный взрыв, нейтрофилы, колоректальный рак, хемилюминесценция, активные формы кислорода, люминол.

Keywords: respiratory burst, neutrophils, colorectal cancer, chemiluminescence, reactive oxygen species, luminol.

Краткие сообщения.

Количество страниц текста – 9,

Количество таблиц – 2,

Количество рисунков – 0.

11.07.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Винник Ю.С., Савченко А.А., Перьянова О.В., Теплякова О.В., ЯКИМОВ С.В., Теплякова Е.Ю., Мешкова О.С. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа // Сибирское медицинское обозрение. – 2006. – №3. – С.3-6.	Vinnik Yu.S., Savchenko A.A., Peryanova O.V., Teplyakova O.V., YAKIMOV S.V., Teplyakova E.Yu., Meshkova O.S. Clinical aspects of the use of chemiluminescent analysis // Siberian Medical Review. - 2006. - №3. - P.3-6.	https://elibrary.ru/item.asp?id=11674410
2	Гарманова Т.Н., Бредихин М.И., Тулина И.А., Царьков П.В. Роль воспаления в течении и лечении	Garmanova T.N., Bredikhin M.I., Tulina I.A., Tsarkov P.V. The role of inflammation in the course and treatment of colorectal cancer //	DOI: 10.17709/2409-2231-2018-5-4-4

	колоректального рака // Research'n Practical Medicine Journal, 2018. –№4. –С 36-45.	Research'n Practical Medicine Journal, 2018. – №4. –P 36-45.	
3	Гительзон И.И., Сандалова Т.П. Перспективы применения биолуминесцентных методов в медицине // Врачебное дело. – 1990. – № 9. – С. 31- 345.	Gitelzon I.I., Sandalova T.P. Prospects for the application of bioluminescent methods in medicine // Medical business. - 1990. - No. 9. - P. 31-345.	https://bik2.sfu-kras.ru/nb/uchenyie-doktora-nauk/gitelzon-iosif-isaevich?tab=ukazatel-nauchnykh-trudov
4	Дорохина Н.А., Савченко А.А., Чесноков А.Б., Полонская Ж.Г., Ольховский И.А., Шакина Н.А. Использование специфических антигенных препаратов в качестве индукторов дыхательного взрыва лейкоцитов крови при	Dorokhina N.A., Savchenko A.A., Chesnokov A.B., Polonskaya Zh.G., Olkhovsky I.A., Shakina N.A. Use of specific antigen preparations as inducers of respiratory burst of blood leukocytes in chemiluminescent analysis // Klin. lab. diagnostics. - 2001. - No. 1. - P. 39-43.	https://elibrary.ru/sbbier

	хемилюминесцентном анализе // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 1. – С. 39-43.		
5	Жолмурзаева Р.С. Организационные основы скрининга колоректального рака в мировой медицинской практике. Обзор литературы // Наука и здравоохранение, 2019. – №2. – С.13-24.	Zholmurzaeva R.S. Organizational foundations of colorectal cancer screening in global medical practice. Literature review // Science and Healthcare, 2019. – №2. – P.13-24.	https://cyberleninka.ru/article/n/organizatsionnye-osnovy-skrininga-kolorektalnogo-raka-v-mirovoy-meditsinskoy-praktike-obzor-literatury
6	Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Закора Г.И., Геворкян Ю.А., Аверкин М.А., Шуликов П.Б. Тканевой уровень цитокинов при колоректальном раке // Тюменский	Kit O.I., Shaposhnikov A.V., Zlatnik E.Yu., Nikipelova E.A., Zakora G.I., Gevorkyan Yu.A., Averkin M.A., Shulikov P.B. Tissue level of cytokines in colorectal cancer // Tyumen Medical Journal, 2011. – №3-4. – P.21-22.	https://elibrary.ru/item.asp?id=20382149

	медицинский журнал, 2011. –№3-4. –С.21-22.		
7	Мальцева В.Н., Сафронова В.Г. Неоднозначность роли нейтрофила в генезе опухоли // Цитология, 2009. –Т51,№6. –С. 467-474.	Maltseva V.N., Safronova V.G. Ambiguity of the role of neutrophil in tumor genesis // Tsitology, 2009. – T51, No. 6. – P. 467-474.	https://elibrary.ru/item.asp?id=17066926
8	Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л. В., Евглевский А. А. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты // Иммунология, 2012. – № 5. –С.281-285.	Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Chudilova G.A., Lomtadze L.V., Evglevsky A.A. Dual role of neutrophilic granulocytes in the implementation of antitumor protection // Immunology, 2012. –№ 5. –P.281-285.	https://cyberleninka.ru/article/n/dvoystvennaya-rol-neytrofilnyh-granulotsitov-v-realizatsii-protivoopuholevoy-zaschity
9	Никипелова Е.А., Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю.,	Nikipelova E.A., Kit O.I., Shaposhnikov A.V., Zlatnik E.Yu., Novikova I.A.	https://cyberleninka.ru/article/n/kolokantserogenez-onkoimmunologiya-lokalnyh-izmeneniy

	Новикова И.А. Колоканцерогенез: онкоиммунология локальных изменений // Злокачественные опухоли, 2016. – Спецвыпуск 1. –С.81- 86.	Colocarcinogenesis: oncoimmunology of local changes // Malignant tumors, 2016. - Special issue 1. - P.81- 86.	
10	Ефременко Е.Н., Угарова Н.Н., Ломакина Г.Ю., Сенько О.В., Степанов Н.А., Маслова О.В., Асланлы А.Г., Лягин И.В. Биолуминесцентная АТФ-метрия: практические аспекты // Москва, издательский дом «Научная библиотека».- 2022.- 376с.	Efremenko E.N., Ugarova N.N., Lomakina G.Yu., Senko O.V., Stepanov N.A., Maslova O.V., Aslanly A.G., Lyagin I.V. Bioluminescent ATP-metry: practical aspects // Moscow, Publishing House "Scientific Library".- 2022.- 376 p.	https://elibrary.ru/item.asp?id=49537656
11	Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: back to		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11229684/

	Virchow? // Lancet, 2001. –Vol.357. –P. 539–545.		
12	Bekes E. M., Schweighofer B., Kupriyanova T.A., Zajac, E., Ardi V. C., Quigley J. P., Deryugina E. I. Tumor-Recruited Neutrophils and Neutrophil TIMP-free MMP-9 Regulate Coordinately the Levels of Tumor Angiogenesis and Efficiency of Malignant cell Intravasation / // The American Journal of Pathology, 2011. – Vol.179, №3. –P. 1455-1470.		doi: 10.1016/j.ajpath.2011.05.031.
13	Fridlender Z.G., Sun J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G S., Albelda S. M. Polarization of		DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.017

	Tumor-Associated Neutrophil (TAN) Penotype by TGF- β : «N1» versus «N2» TAN // Cancer cell, 2009. – Vol.16. –No.3. –P. 183-194.		
14	Galdiero M.R., Garlanda C., Jaillon S., Marone G., Mantovani A. Tumor associated macrophages neutrophils in tumor progression // J Cell Physiol, 2013. – Vol.228. -No7. – P. 1404–1412.		DOI: 10.1002/jcp.24260
15	Khazaie K., Blatner N.R., Khan M.W., Gounari F., Gounaris E., Dennis K., Bonertz A., Tsai Fu-N., Strouch M. J., Cheon E., Phillips J.D., Beckhove P., Bentrem D. J. The significant role of mast cells in cancer // Cancer		DOI: 10.1007/s10555-011-9286-z

	metastasis reviews, 2011. –Vol.30. –P.45– 60.		
16	Ouakrim D.A., Pizot C., Boniol M., Malvezzi M., Boniol M., Negri E., Bota M., Jenkins M. A., Bleiberg H., Autier P. Trends in colorectal cancer mortality in Europe: retrospective analysis of the WHO mortality database. // BMJ, 2015, –Vol.351: h4970.		DOI: 10.1136/bmj.h4970
17	Knaapen A. M., Güngör N., Schins R. P F, Borm P. J A, Schooten F. J V. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review // Mutagenesis. –2006. – Vol. 21. –P. 225-236.		DOI: 10.1093/mutage/gel032

18	Shen M., Hu P., Donskov F., Wang G., Liu Q., Du J. Tumor-Associated Neutrophils as a New Prognostic Factor in Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis // Plos one , 2014. –Vol.9. – Issue 6. –e98259.		DOI: 10.1371/journal.pone.0098259
19	Terzic J., Grivennikov S., Karin E., Karin M. Inflammation and colon cancer // Gastroenterology, 2010. –Vol.138. –P.2101–2114.		DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.058