

ОЦЕНКА РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Смирнова О.В.^{1,2}, Барсуков И.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

² ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

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 (НГ) в крови у больных КРР на разных стадиях заболевания и в динамике лечения. В исследование включены 99 больных КРР на разных стадиях заболевания и 112 практически здоровых добровольцев. Оценка респираторного взрыва нейтрофилов проводилась с использованием хемилюминесцентного анализа активности НГ в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе CL 3607 (Россия). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Статистическую значимость различий определяли с использованием критерия Манна—Уитни равным $p < 0,05$. У больных КРР зафиксировано увеличение интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) и суммарного синтеза активных форм кислорода (АФК) как в состоянии относительного покоя, так и при дополнительной функциональной нагрузке, отражающее состояние респираторного взрыва в нейтрофилах пациентов, как в 1-й день госпитализации, так и на 7-е сутки после операции. Индекс активации у больных КРР увеличен на всех стадиях заболевания и на всем протяжении обследования. У больных КРР зафиксированы значительные отклонения в показателях хемилюминесцентной активности НГ: до операции обнаружено увеличение интенсивности спонтанной ХЛ на II-IV стадиях заболевания, 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. Об имеющихся резервных возможностях к синтезу АФК говорит и увеличенный во всех группах индекс активации НГ.

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

Адрес для переписки:

Смирнова Ольга Валентиновна
Научно-исследовательский институт
медицинских проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (913) 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Address for correspondence:

Olga V. Smirnova
Research Institute of Medical Problems of the North
3g Partizan Zheleznyak St
Krasnoyarsk
660022 Russian Federation
Phone: +7 (913) 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Образец цитирования:

О.В. Смирнова, И.В. Барсуков «Оценка респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов при колоректальном раке» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 6. С. 1407-1416.
doi: 10.15789/1563-0625-EON-3262

© Смирнова О.В., Барсуков И.В., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.V. Smirnova, I.V. Barsukov "Evaluation of neutrophil granulocyte respiratory burst in colorectal cancer", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2025, Vol. 27, no. 6, pp. 1407-1416.
doi: 10.15789/1563-0625-EON-3262

© Smirnova O.V., Barsukov I.V., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-EON-3262

EVALUATION OF NEUTROPHIL GRANULOCYTE RESPIRATORY BURST IN COLORECTAL CANCER

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

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

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 (NG) in the blood of patients with CRC at different stages of the disease and in the dynamics of treatment. The study included 99 patients with CRC 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 (StatSoft Inc, 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 chemiluminescence (CL) and total synthesis of reactive oxygen species (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 1st 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

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 [9].

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 транс-

формации. Было показано, что макрофаги и нейтрофилы способствуют опухолевой прогрессии и метастазированию на поздних стадиях онкологического процесса [8, 9]. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ) зависит от количества активных форм кислорода (АФК), 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 НГ в крови у больных КРР на разных стадиях заболевания и в динамике лечения.

Материалы и методы

Данное исследование было осуществлено на основе ресурсов Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера, входящего в состав Федерального исследовательского

центра КНЦ СО РАН, в частности в лаборатории клинической патофизиологии. В рамках работы была сформирована когорта из 99 пациентов, страдающих КРР, 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 7-й 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 КРР аденокарциномозной этиологии осуществлялось следующим образом: 43 пациента находились на ранних стадиях заболевания, из них у 19 пациентов была диагностирована I стадия, у 25 пациентов — II стадия; 55 пациентов относились к группе с прогрессирующим 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 НГ. Хемилюминесцентный метод позволяет регистрировать короткоживущие свободные радикалы, и может использоваться для оценки функциональной активности иммунокомпетентных клеток [3, 8]. Уровень хемилюминесценции (ХЛ) характеризует степень интенсивности так называемого «респираторного взрыва» в клетках, осуществляющих продукцию 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 ХЛ применялся люминол, способный вступать в хемилюминесцентную реакцию как с первичными АФК, так и с их вторичными аналогами.

В данной работе индуктором, вызывающим респираторный взрыв, являлся опсонизированный зимозан — полисахарид, получаемый из культуры *Saccharomyces cerevisiae* [16].

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].

НГ были выделены из периферической крови посредством центрифугирования в условиях двойного градиента плотности, при этом для разделения клеток использовались растворы фиколл-урографина, с различными значениями плотности, а именно: раствор с $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$, который был предназначен для селективного отделения лимфоцитов, а также раствор с $\rho = 1,119 \text{ г/см}^3$, 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, подтвержденную 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 ХЛ проводилась непрерывно в течение 90-минутного интервала с применением хемилюминесцентного анализатора 36-канального типа CL 3607 (Россия), что обеспечивало возможность получения подробной временной ха-

рактеристики процессов, протекающих в клеточных субпопуляциях. На основании проведенного хемилюминесцентного анализа были определены основные экспериментальные параметры, включающие время достижения пикового значения интенсивности ХЛ (обозначаемое как T_{max}), величину максимальной интенсивности сигнала (обозначаемую как I_{max}) и интегральную характеристику, выраженную через вычисление площади под кривой ХЛ (обозначается S). Специфическая усиленность индуцированной ХЛ 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 ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). 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 хемилюминесцент-

ного 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.

Результаты и обсуждение

Спонтанная хемилюминесцентная активность нейтрофилов демонстрировала увеличение на II и поздних этапах заболевания (табл. 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.

Индуцированная хемилюминесцентная активность нейтрофилов возрастала на всех стадиях КРР. На I–III стадиях, медиана интенсивности индуцированной ХЛ превышала контрольные значения в диапазоне от 2,8 до 3,4 раза ($p < 0,001$). У пациентов на IV стадии медиана интенсивности индуцированной ХЛ 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 ХЛ, 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

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 Stage IV n = 26	
	Me	$Q_{0,25}-Q_{0,75}$	Me	$Q_{0,25}-Q_{0,75}$	Me	$Q_{0,25}-Q_{0,75}$	Me	$Q_{0,25}-Q_{0,75}$	Me	$Q_{0,25}-Q_{0,75}$
Tmax спонтанная, с Tmax spontaneous, s	981	604-1522	699	470-1140	1145	794-1830	1239	874-1651	1163	701-1426
			$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$	
Imax спонтанная, отн.ед Imax spontaneous, rel. units	7978	3148-19815	9264	4726-17731	19688	7466-34897	14305	9358-28621	26545	10887-70490
			$p_4 < 0,05$		$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$	
S-спонтанная, $\times 10^7$ отн. ед·с S spontaneous, $\times 10^7$, rel. units·s	0,78	0,39-2,00	3,2	1,4-5,3	5,7	2,4-8,3	4,1	3,2-7,7	5,9	3,4-11
			$p_k < 0,001$ $p_4 < 0,05$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$	
Tmax индуцированная, с Tmax induced, s	534	434-710	789	627-979	1128	737-1320	959	866-1390	924	848-1248
			$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$		$p_k < 0,05$	
Imax индуцированная, отн. ед. Imax induced, rel. units	16864	6940-32097	46852	22521-93266	57020	29244-78654	49841	31207-91785	100864	43341-206296
			$p_k < 0,001$ $p_4 < 0,05$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$	
S индуцированная, $\times 10^7$ отн. ед·с S induced, $\times 10^7$, 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
			$p_k < 0,05$ $p_4 < 0,05$		$p_k < 0,001$ $p_4 < 0,05$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$	
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
			$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$		$p_k < 0,001$	

Примечание. p_k – достоверность различий относительно группы контроля; p_4 – достоверность различий относительно группы IV стадии.
Note. p_k , reliability of differences relative to the control group; p_4 , reliability of differences relative to the stage IV group.

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 ХЛ, что свидетельствует об ускоренной активации митохондриального аппарата НГ для активного синтеза АФК. В свою очередь, у пациентов на II-IV этапах наблюдалось резкое увеличение синтеза АФК, сопровождаемое замедлением достижения пика кривой ХЛ.

Медиана индекса активации НГ 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 7-й день после оперативного вмешательства наблюдалось сохранение статистически значимого повышения медианы интенсивности спонтанной хемилюминесцентной активности НГ 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 (табл. 2). Анализ площади под кривой спонтанной ХЛ выявил аналогичные изменения: у пациентов с КРР на всех этапах развития заболевания данный параметр после оперативного вмешательства демонстрировал более высокие значения в сравнении с контрольной группой. Суммарная продукция 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 ХЛ 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 ХЛ 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 7-й день после операции оказался выше, чем в контрольной группе соответственно ($p < 0,001$).

Анализ биологических свойств нейтрофилов крови у пациентов с КРР на 7-й день после оперативного вмешательства продемонстрировал

увеличение времени достижения пика спонтанной и индуцированной люминол-зависимой ХЛ. Период, необходимый для выхода кривой ХЛ 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 АФК, как указано в литературном источнике [10]. Увеличение индекса активации НГ 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 НГ, что подтверждается достоверными различиями в динамике интенсивности и площади под кривой как для спонтанной, так и для индуцированной ХЛ. Данные наблюдения позволяют предположить, что нарушения регуляции хемилюминесцентной реакции НГ 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 ХЛ является надежным основанием для оценки иммунометаболической активности НГ 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

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ СПОНТАННОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ НА 7-Е 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	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
Tmax спонтанная, с Tmax spontaneous, s	621	370-1100	490	459-882	1293	643-2026	1632	911-1929	1124	648-1443
					p _k < 0,05		p _k < 0,05		p _k < 0,05	
Imax спонтанная, отн.ед Imax spontaneous, rel. units	7978	3148-19815	12997	7733-21514	8510	4106-27589	10329	5606-22491	22860	19171-30070
									p _k < 0,05	
S-спонтанная, × 10 ⁷ отн. ед·с S spontaneous, × 10 ⁷ , rel. units·s	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
			p _k < 0,05 p ₄ < 0,05		p _k < 0,001 p ₄ < 0,05		p _k < 0,05		p _k < 0,001	
Tmax индуцированная, с Tmax induced, s	534	434-710	1141	772-1242	1444	1187-1944	1141	948-1486	1105	788-1466
			p _k < 0,05		p _k < 0,05		p _k < 0,05		p _k < 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 _k < 0,05 p ₄ < 0,05		p _k < 0,05		p _k < 0,05		p _k < 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 _k < 0,001		p _k < 0,001		p _k < 0,001		p _k < 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 _k < 0,001		p _k < 0,001		p _k < 0,001		p _k < 0,001	

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

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 опухолевых клеток 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 [17]. Среди миелоидных клеток долгое время основными проопухолевыми клетками считались ассоциированные с опухолью макрофаги [14]. Роль ассоциированных с опухолью нейтрофилов стала изучаться позднее. Подобно антиопухоле-

вым M1- и проопухолевым M2-макрофагам, в 2009 году Z.G. Fridlender и соавт. 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 [8, 18]. Вероятно, на поздних стадиях опухоли иммунная система уже не справляется с развивающейся опухолью.

Таким образом, развитие злокачественного процесса при КРР 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 [10].

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 НГ у пациентов как в 1-й 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 КРР зафиксированы значительные отклонения в показателях хемилюминесцентной активности НГ. У больных КРР до операции обнаружено увеличение интенсивности спонтанной ХЛ на II-IV стадиях заболевания, индуцированной на всех стадиях, при этом интенсивность свечения на поздней стадии выше. После хирур-

гического 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 превы-

шала показатели практически здоровых людей в спонтанном и индуцированном тесте ХЛ как при поступлении в стационар, так и после лечения. Об имеющихся резервных возможностях к синтезу АФК говорит и увеличенный во всех группах индекс активации НГ.

Список литературы / References

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. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye = Siberian Medical Review*, 2006, no. 3, pp. 3-6. (In Russ.)]
2. Гарманова Т.Н., Бредихин М.И., Тулина И.А., Царьков П.В. Роль воспаления в течении и лечении колоректального рака // *Research'n Practical Medicine Journal*, 2018. Т. 5, № 4. С. 36-45. [Garmanova T.N., Bredikhin M.I., Tulina I.A., Tsarkov P.V. The role of inflammation in the course and treatment of colorectal cancer. *Research'n Practical Medicine Journal = Research'n Practical Medicine Journal*, 2018, Vol. 5, no. 4, pp. 36-45. (In Russ.)]
3. Гительзон И.И., Сандалова Т.П. Перспективы применения биолюминесцентных методов в медицине // Врачебное дело, 1990. № 9. С. 31. [Gitelzon I.I., Sandalova T.P. Prospects for the application of bioluminescent methods in medicine. *Vrachebnoye delo = Medical Practice*, 1990, no. 9, p. 31. (In Russ.)]
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 хемилюминесцентном анализе // Клиническая лабораторная диагностика, 2001. № 1. С. 39-43. [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. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2001, no. 1, pp. 39-43. (In Russ.)]
5. Ефременко Е.Н., Угарова Н.Н., Ломакина Г.Ю., Сенько О.В., Степанов Н.А., Маслова О.В., Асланлы А.Г., Лягин И.В. Биолюминесцентная АТФ-метрия: практические аспекты. М.: Научная библиотека, 2022. 376 с. [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: Nauchnaya biblioteka, 2022. 376 p.
6. 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. *Nauka i zdavookhraneniye = Science and Healthcare*, 2019, no. 2, pp. 13-24. (In Russ.)]
7. Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Загора Г.И., Геворкян Ю.А., Аверкин М.А., Шуликов П.Б. Тканевой уровень цитокинов при колоректальном раке // Тюменский медицинский журнал, 2011. № 3-4. С. 21-22. [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. *Tyumenskiy meditsinskiy zhurnal = Tyumen Medical Journal*, 2011, no. 3-4, pp. 21-22. (In Russ.)]
8. Мальцева В.Н., Сафронова В.Г. Неоднозначность роли нейтрофила в генезе опухоли // Цитология, 2009. Т. 51, № 6. С. 467-474. [Maltseva V.N., Safronova V.G. Ambiguity of the role of neutrophil in tumor genesis. *Tsitologiya = Tsitologiya*, 2009, Vol. 51, no. 6, pp. 467-474. (In Russ.)]
9. 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., Lomtadidze L.V., Evglevsky A.A. Dual role of neutrophilic granulocytes in the implementation of antitumor protection. *Immunologiya = Immunologiya*, 2012, no. 5, pp. 281-285. (In Russ.)]
10. Никипелова Е.А., Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю., Новикова И.А. Колоканцерогенез: онкоиммунология локальных изменений // Злокачественные опухоли, 2016. № 4S1. С. 81-86. [Nikipelova E.A., Kit O.I., Shaposhnikov A.V., Zlatnik E.Yu., Novikova I.A. Colocarcinogenesis: oncoimmunology of local changes. *Zlokachestvennyye opukholi = Malignant Tumors*, 2016, no. 4S1, pp. 81-86. (In Russ.)]
11. Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*, 2001, Vol. 357, no. 9255, pp. 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 Neutropil TIMP-free MMP-9 Regulate Coordinately the Levels of Tumor Angiogenesis and Efficiency of Malignant cell Intravasation. *Am. J. Pathol.*, 2011, Vol. 179, no. 3, pp. 1455-1470.
13. Fridlender Z.G., Sun J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G.S., Albelda S.M. Polarization of Tumor-Associated Neutrophil Phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*, 2009, Vol. 16, no. 3, pp. 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, no. 7, pp. 1404-1412.
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 Metastasis Rev.*, 2011, Vol. 30, no. 1, pp. 45-60.
16. Knaapen A.M., Güngör N., Schins R.P., Borm P.J., Van Schooten F.J. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*, 2006, Vol. 21, no. 4, pp. 225-236.
17. 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
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, no. 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, no. 6, pp. 2101-2114.e5.

Авторы:

Смирнова О.В. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; заведующая кафедрой медицинской биологии ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

Барсуков И.В. — студент ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

Authors:

Smirnova O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Medical Biology, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Barsukov I.V., Student, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 11.07.2025

Отправлена на доработку 05.08.2025

Принята к печати 11.08.2025

Received 11.07.2025

Revision received 05.08.2025

Accepted 11.08.2025