

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМИ ИНФЕКЦИОННО-СЕПТИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

© 2019 г. И. В. Образцов^{1,2*}, А. Ю. Рябов³, Н. С. Цуранова⁴,
Е. В. Балыкова⁴, А. И. Парамонов⁴

*E-mail: igor_obraztsov@bk.ru

¹ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г. Н. Сперанского ДЗМ, Москва, Россия;

²Компания «Онкогенотест», Москва, Россия;

³Университет Людвига-Максимилиана, Мюнхен, Германия;

⁴ФГБУ ГНЦК им. А. Н. Рыжих МЗ РФ, Москва, Россия

Поступила: 04.07.2019. Принята: 25.08.2019

Дисфункция нейтрофилов ассоциирована с разнообразными инфекционными процессами, в частности, с сепсисом и другими послеоперационными осложнениями бактериальной природы. Количественная оценка функциональной активности нейтрофилов является перспективным направлением ранней диагностики инфекционно-септических осложнений в клинической практике. Целью работы стало исследование взаимосвязи функциональных показателей нейтрофилов (экспрессия CD64 и окислительный метаболизм) и стандартных клинико-лабораторных маркеров воспаления у пациентов, перенёвших операции на толстой кишке. Обследовано 49 пациентов оперированных по поводу колоректального рака III – IV стадии; оценивали уровень лактата, С-реактивного белка, баллы шкалы sepsis-related organ failure assessment (SOFA) и выполняли бактериологическое исследование. Экспрессию CD64 определяли методом проточной цитометрии; окислительный метаболизм исследовали с помощью хемилюминесцентного (ХЛ) анализа с двустадийной активацией с последующей автоматической деконволюцией сигнала. Показано, что развитие осложнений сопровождается повышением экспрессии CD64, а также увеличением светосуммы люминол-зависимой внутриклеточной ХЛ и снижением интенсивности люцигенин-зависимой внутриклеточной ХЛ. Прогрессия полиорганной недостаточности, вызванная септическим процессом, также ассоциирована с увеличением уровня экспрессии CD64 нейтрофилами, причём выявлена сильная значимая корреляция между уровнем лактата и экспрессией CD64. Прогностический индекс люминол-зависимой ХЛ достоверно увеличивается лишь при критической органной дисфункции; в то время как CD64 характеризует в большей мере нарастание полиорганной недостаточности.

Ключевые слова: сепсис, воспалительные послеоперационные осложнения, нейтрофилы, CD64, хемилюминесценция, люминол, люцигенин, биомаркеры

DOI: 10.31857/S102872210007042-1

Адрес: Москва, Шмитовский пр., 29, ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г. Н. Сперанского ДЗМ, Образцов Игорь Владимирович. Тел. +7 (499) 199-39-01. E-mail: igor_obraztsov@bk.ru

Авторы:

Образцов И. В., к.м.н., врач аллерголог-иммунолог, ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г. Н. Сперанского ДЗМ, Москва, Россия; Компания «Онкогенотест», Москва, Россия;

Рябов А. Ю., научный сотрудник, Университет Людвига-Максимилиана, Мюнхен, Германия;

Цуранова Н. С., врач анестезиолог-реаниматолог, ФГБУ ГНЦК им. А. Н. Рыжих МЗ РФ, Москва, Россия;

Балыкова Е. В., врач анестезиолог-реаниматолог, ФГБУ ГНЦК им. А. Н. Рыжих МЗ РФ, Москва, Россия;

Парамонов А. И., врач анестезиолог-реаниматолог, ФГБУ ГНЦК им. А. Н. Рыжих МЗ РФ, Москва, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современному определению, сепсис представляет собой жизнеугрожающую органную недостаточность, вызванную дисрегуляцией иммунного ответа на инфекцию [1]. Тенденция к генерализации инфекции у больных, перенесших оперативные вмешательства на кишке, реализуется за счёт комплексного влияния на иммунную систему транслоцирующейся микрофлоры и продуктов распада. Массовое появление молекулярных паттернов, ассоциированных с патогенами или тканевым повреж-

дением (PAMP, pathogen associated molecular pattern и DAMP, danger associated molecular pattern) приводит к запуску провоспалительного ответа, сопровождающегося интенсивной секрецией активирующих факторов: цитокинов, хемокинов, обеспечивающих миграцию клеток в очаг повреждения. Формирование провоспалительного цитокинового окружения вместе с молекулами, ассоциированными с тканевым повреждением, и антигенами микроорганизмов приводит к активации систем врождённой защиты, основным клеточным эффектором которой является нейтрофил [2].

Нейтрофилы представляют собой наиболее часто встречающуюся популяцию лейкоцитов взрослого человека. В среднем в циркуляции содержится $3,2 \times 10^8$ нейтрофилов на 1 кг веса, время пребывания нейтрофила в кровотоке в норме составляет около 6 часов. Под воздействием факторов хемотаксиса нейтрофил способен покинуть сосудистое русло и мигрировать в очаг воспаления. В очаге нейтрофилы выполняют свои эффекторные функции: поглощение микроорганизмов, наработку активных форм кислорода (АФК), секреторную дегрануляцию, выделение цитокинов, а также формирование внеклеточных хроматиновых сетей [3, 4].

Развитие сепсиса и полиорганной недостаточности связано с нарастанием тканевого повреждения, привлечением в очаг и активацией всё большего количества нейтрофилов, интенсификацией и дальнейшим истощением гранулоцитопоза, приводящим к формированию иммунодефицита. Следует также отметить активацию противовоспалительных систем врождённого и адаптивного ответа, выражающуюся в увеличении уровня противовоспалительных цитокинов, а также в появлении супрессорных клеток, таких как Т-регуляторные клетки [5] и миелоидные клетки-супрессоры (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) [6]. Гранулоцитарные MDSC, образующиеся из предшественников нейтрофилов, а также незрелые нейтрофилы обладают пониженной функциональной активностью и выраженным иммуносупрессивным потенциалом, реализация которого вызывает иммунную дисрегуляцию, характерную для сепсиса [7]. Развитие иммунодефицита, прогрессия инфекционного процесса и накапливающееся тканевое повреждение способны запустить необратимую органную недостаточность, которая, в конце концов, может стать причиной гибели пациента с сепсисом.

Поскольку нейтрофил играет ключевую роль в запуске ответа на инфекцию и в патогенезе сепсиса, оценка функциональных характеристик нейтрофилов может стать ценным подспорьем для врача, имеющего дело с инфекционно-септическими осложнениями в ежедневной практике. На сегодняшний день основным биомаркером сепсиса, основанным на характеристике нейтрофилов, является поверхностная экспрессия Fc- γ -рецептора I типа (CD64). Повышение экспрессии CD64 нейтрофилами показано при септических состояниях самого различного генеза; однако массовое применение этого биомаркера затруднено из-за сложности стандартизации, которые в значительной мере затрудняют интерпретацию результатов исследования, а также проведение мультицентровых исследований [8–10]. В связи с этим целесообразен поиск и разработка недорогих, простых и надёжных методов оценки функциональной активности нейтрофилов, пригодных для массового использования в учреждениях здравоохранения [11]. К таким методам можно отнести хемилюминесцентный (ХЛ) анализ активности нейтрофилов, который не требует применения дорогостоящих препаратов антител, легко стандартизуется и не зависит от субъективного фактора работы оператора.

Целью предлагаемой работы стала разработка показателей ХЛ анализа с двустадийной активацией нейтрофилов для диагностики инфекционно-септических послеоперационных осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали в динамике нейтрофилы гепаринизированной периферической цельной крови, полученные от 49 пациентов, перенесших абдоминальные вмешательства по поводу колоректального рака. Критериями включения стали: возраст старше 18 лет, радикальные операции по поводу рака ниже- и среднеампулярного отделов прямой кишки, симультанные операции по поводу рецидива или первичного рака с отдалёнными метастазами (резекция трёх и более органов). Включено 49 пациентов колоректальным раком III–IV стадии в возрасте 34–83 лет, (среднее 57 ± 3 года). Клинико-лабораторная оценка выполнялась в следующих контрольных точках: день 0 (перед операцией), 1, 2, 3, 5, 7, затем трижды в неделю до выписки. Послеоперационные осложнения возникли у 17 (34,7%) из 49 пациентов: абсцесс в области ре-

зицированной печени у 5, реактивный плеврит у 1, флегмона передней брюшной стенки у 2, перитонит у 7, парез ЖКТ у 2. Диагноз сепсиса установлен в 14 наблюдениях, 7 из которых имели бактериологическое подтверждение бактериемии. У 2 пациентов из гемокультуры была изолирована *Escherichia coli*, в остальных случаях выделялись *Staphylococcus auricularis*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*. У 2 пациентов бактериемия была ассоциирована с микс-инфекцией, в одном случае изолировалась пара *K. pneumoniae* и *S. aureus*, в другом — *A. baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. Все выделенные из крови штаммы микроорганизмов характеризовались высоким уровнем резистентности к широкому спектру antimicrobных препаратов. Грамнегативные бактерии (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*) продуцировали карбапенемазы.

Оценивали и сравнивали динамику конвенциональных клиничко-лабораторных маркеров — лактат, СРБ, шкала sepsis-related organ failure assessment (SOFA), экспрессии CD64 нейтрофилами методом проточной цитометрии, а также показателей окислительного метаболизма нейтрофилов. Проточную цитометрию выполняли на приборе FC500 (Beckman Coulter, США) с использованием анти-CD64-FITC антител (BD, США). Окислительный метаболизм оценивали методом хемилюминесцентного анализа с двухстадийной активацией [12–14]. Образцы цель-

ной крови разводили средой DMEM (ПанЭко, Россия), стабилизированной 25 мМ HEPES (ПанЭко, Россия) в соотношении 1:21 и инкубировали с форбол-миристат-ацетатом (ФМА, Sigma) в конечной концентрации 50 нг/мл при 37 °С для достижения эффекта праймирования. ХЛ анализ включал регистрацию ответа нейтрофилов после процедуры прайминга на внесение 10 мкМ N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина (ФМЛФ, Sigma); в качестве ХЛ-зонда использован 45 мкМ люминол или люцигенин (Sigma), для детекции первичных и вторичных АФК, соответственно. Для тонкого анализа кинетики наработки АФК фагоцитами в среде LabView (National Instruments, США) было разработано программное обеспечение, позволяющее выполнять деконволюцию ХЛ-грамм объективным не зависящим от оператора способом. Процедура деконволюции позволяет отдельно анализировать параметры кинетических компонент результирующего ХЛ-ответа.

ХЛ-граммы моделировали автоматически с помощью линейной комбинации квадратично-экспоненциальных функций, каждая из которых описывала соответствующую фазу синтеза АФК в ответ на стимуляцию (рис. 1).

Сравнивали расчётные относительные кинетические показатели: интенсивности $I = P_1/P_3$ и светосуммы $S = \int f(t)dt$, а также максимальную абсолютную интенсивность ХЛ-сигнала. Относительная интенсивность характеризует темп

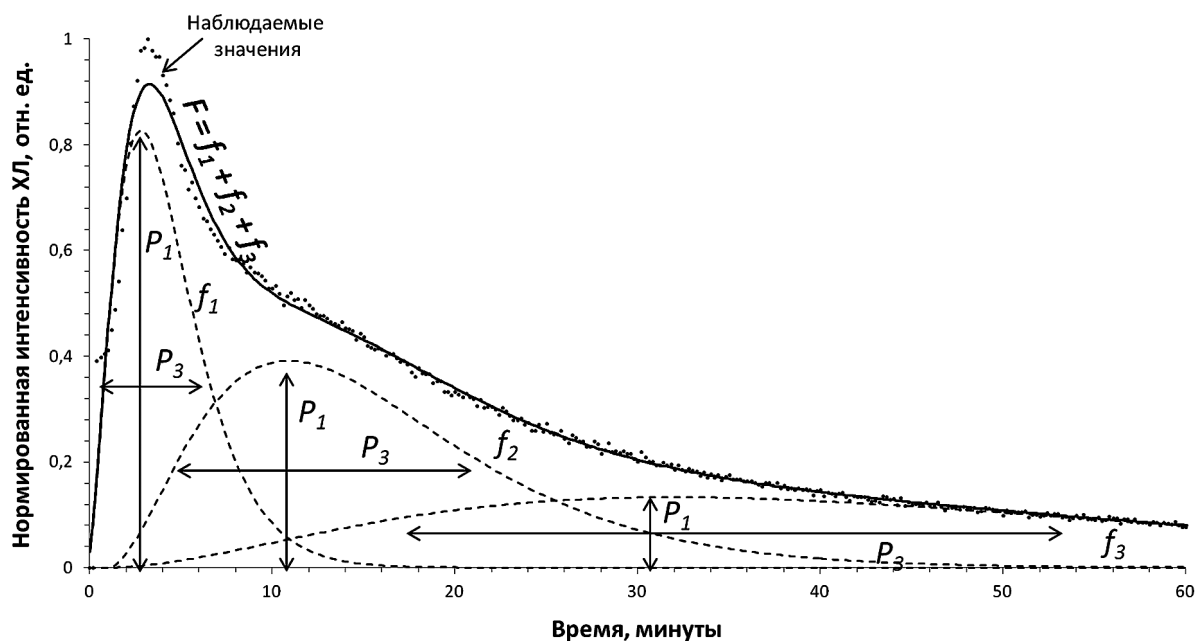
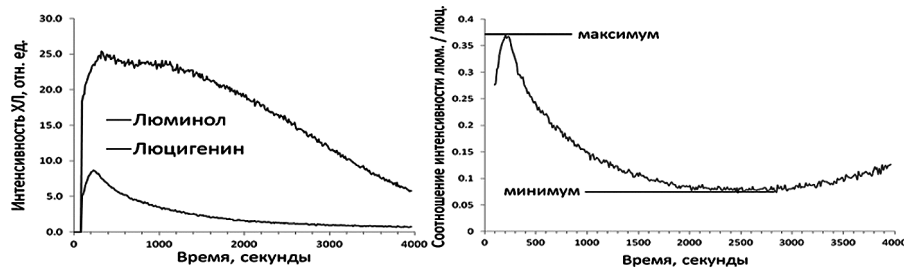
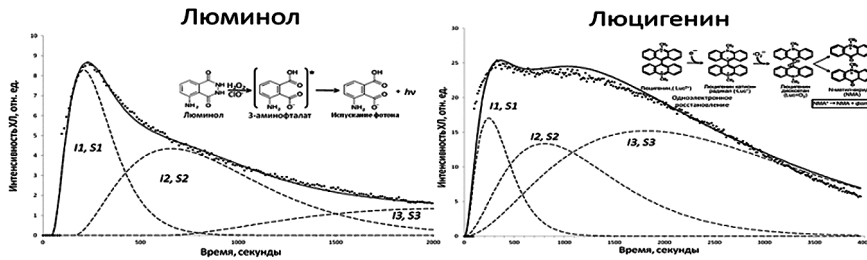


Рис. 1. Кинетический анализ ХЛ-грамм



Запись ХЛ-грамм, оценка соотношения интенсивности ХЛ



Деконволюция ХЛ-грамм, оценка расчётных показателей

Рис. 2. Схема анализа функциональной активности фагоцитов

развития данной кинетической компоненты; относительная светосумма – общее количество АФК, нарабатанных в процессе развития кинетической компоненты. Оценивали светосуммы и интенсивности кинетических компонент люминол- и люцигенин-зависимого ответа, а также определяли минимальное и максимальное значение соотношения абсолютных интенсивностей люминол- и люцигенин-зависимой ХЛ. Методология анализа представлена на рис. 2.

Статистическая обработка выполнена в пакете SPSS21 (IBM, США). Построены описатель-

ные статистики (средние величины, медианы, доверительные интервалы методом z-оценок, коэффициенты вариации); сравнение средних величин проведены на основании t-критерия Стьюдента после предварительной трансформации Бокса-Кокса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика показателей поверхностного фенотипа нейтрофилов у всех пациентов представлена на рис. 3. В раннем послеоперацион-

Таблица 1. Параметры функциональной активности фагоцитов при наличии или отсутствии гнойно-септических осложнений

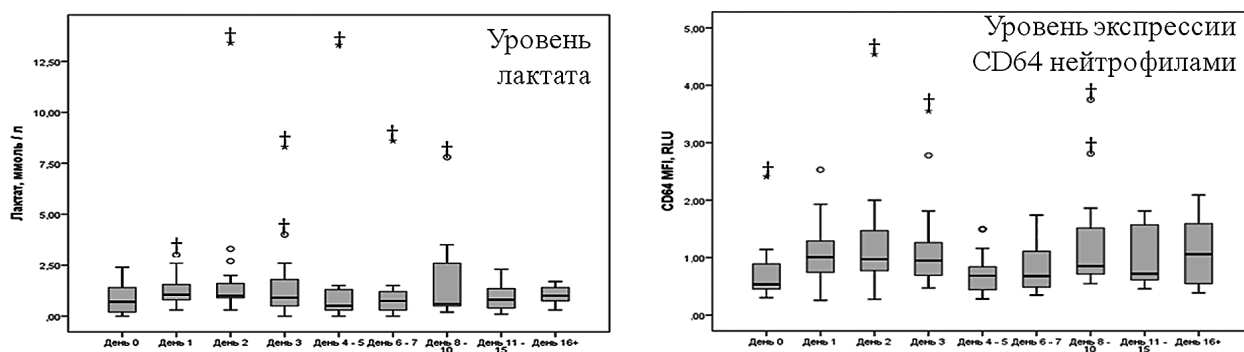
Параметр	Нет осложнений (n = 32)			Есть осложнения (n = 17)		
	Среднее	Медиана	Интерквартир. размах	Среднее	Медиана	Интерквартир. размах
Лактат, моль/л	0,67	0,6	0,7	2,88	1,6	1,8
СРБ, мг/л	68,7	54,1	66,9	129,6	135,2	97,8
CD64, ед. фл.	0,82	0,8	0,357	1,65	1,49	1,321
Светосумма внутриклет. люминол-зависимой ХЛ $S_{вн} = S_2 + S_3, В$	72,9	70,2	22,5	98,5	95,6	54,8
Интенсивность быстрой компоненты внутриклет. люцигенин-зависимой ХЛ I_2 (люц.), ед. люм. · 10 ⁻³	6,4	6,4	5,9	5,7	5,5	5,1
Минимум люм. / люц. соотношения, %	11,4	9,5	9,5	17,3	14,1	21,6

Таблица 2. Пороговые значения параметров функциональной активности фагоцитов, чувствительность и специфичность

Параметр	Значение	Чувствительность	Специфичность
CD64, ед. фл.	< 0.85	62%	52%
Светосумма внутриклет. люминол-зависимой ХЛ $S_{\text{вн}} = S_2 + S_3, \text{ В}$	< 76	70%	58%
Интенсивность быстрой компоненты внутриклет. люцигенин-зависимой ХЛ I_2 (люц.), ед. люм. · 10 ⁻³	> 5.5	70%	47%
Минимум люм. / люц. соотношения, %	< 14	55%	62%

ном периоде (1–2 сутки после вмешательства) наблюдается увеличение уровня экспрессии CD64 нейтрофилами ($p < 0,05$), до 4–5 суток наблюдается снижение уровня экспрессии CD64 нейтрофилами, затем – повторное повышение. Выделяющиеся и экстремальные значения показателей лактата и CD64 получены у 6 пациентов, умерших от полиорганной недостаточности из-за инфекционно-воспалительных осложнений в течение первых двух недель пребывания в стационаре (рис. 3). Пять из этих пациентов характеризовались подтвержденной бактериемией, вызванной *E. coli* (1 случай), *A. baumannii* (2 случая), *K. pneumoniae* в сочетании с *S. aureus* (1 случай) и *Staphylococcus hominis* (1 случай). У 5 пациентов имелись инфекционные очаги в брюшной полости, ассоциированные с моно-инфекцией (2 случая) *Morganella morganii* и *K. pneumoniae*, а также с микст-инфекцией (3 случая): *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. penerii*; *Pseudomonas oryzihabitans* и *S. hominis*; *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*. Все выделенные микроорганизмы кроме *P. oryzihabitans* и *S. hominis* были полирезистентными к антибактериальным препаратам.

Сопоставили значение лабораторных параметров в группах наблюдений, полученных во всех контрольных точках у пациентов с наличием ($n = 17$) или отсутствием ($n = 32$) гнойно-септических осложнений. Показано достоверное увеличение уровня лактата, СРБ и светосуммы внутриклеточной люминол-зависимой ХЛ $S = S_2 + S_3$ ($p < 0,001$), а также уровня экспрессии CD64 нейтрофилами ($p = 0,001$). Кроме того, у пациентов с осложнениями наблюдается снижение интенсивности быстрой ($p = 0,001$) и медленной ($p = 0,023$) компонент внутриклеточного люцигенин-зависимого ответа (I_2 и I_3). Определено увеличение минимального значения соотношения абсолютных интенсивностей люминол- и люцигенин-зависимого ХЛ-ответа у больных с осложнениями. Описательные статистики распределений показателей представлены в табл. 1. На основании полученных данных построены пороговые значения показателей функциональной активности фагоцитов, нарушение которых позволяет предположить риск развития гнойно-септических осложнений; проведена оценка чувствительности и специфичности предлагаемых параметров (табл. 2, рис. 4).

**Рис. 3.** Динамика показателей у всех обследованных пациентов. Отмечены наблюдения, полученные от пациентов с летальным исходом. Обозначения: горизонтальная линия – медиана, ящик – 1-й и 3-й квартили, усы – 95% доверительный интервал ($p = 0,05$), круги – экстремальные значения, звёздочки – выбросы

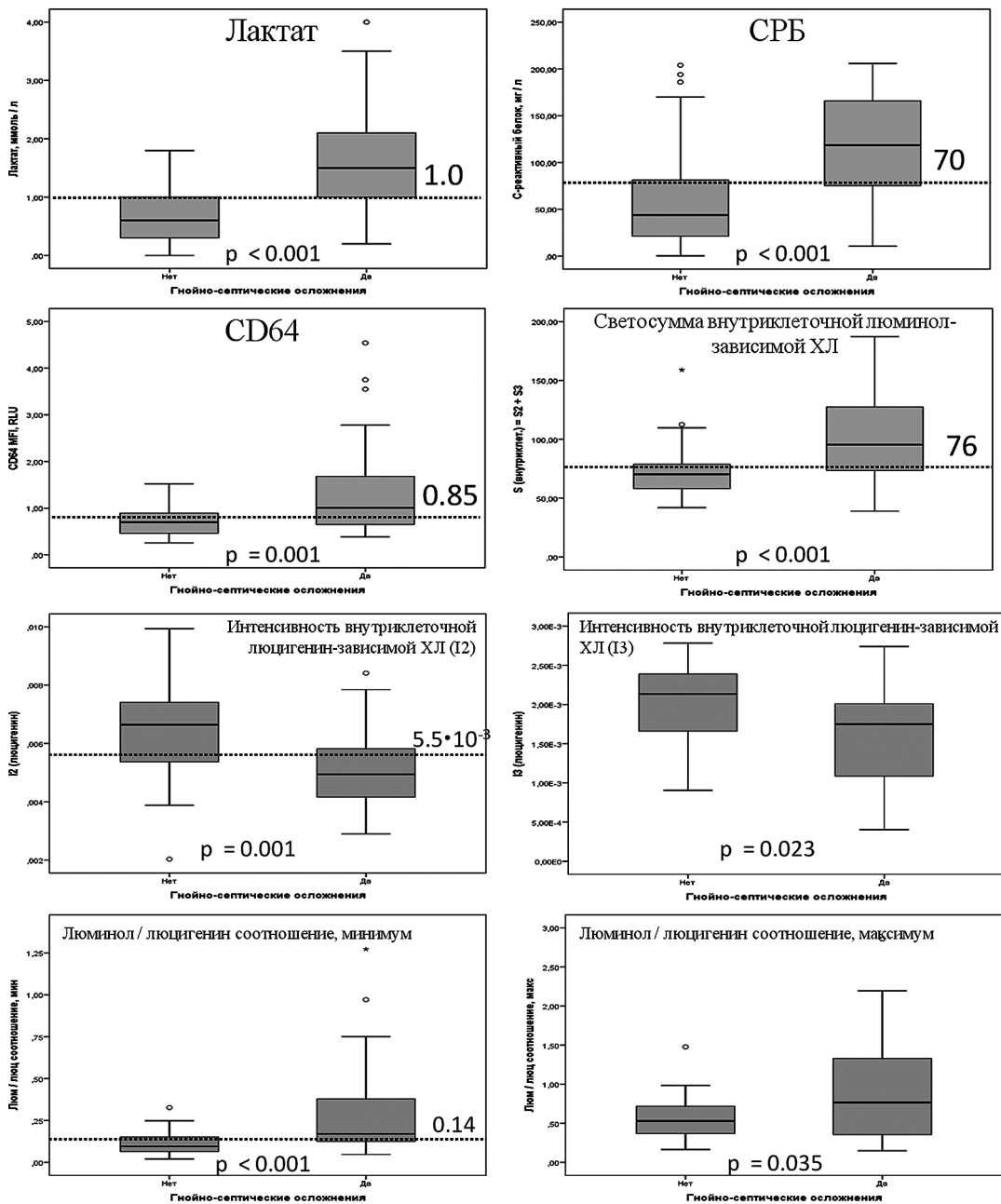


Рис. 4. Показатели функциональной активности фагоцитов при наличии или отсутствии гнойно-септических осложнений

Оценка исследуемых диагностических показателей при различной степени органной дисфункции выявила, что увеличение значения шкалы SOFA ассоциировано с нарастанием лактата, СРБ, экспрессии CD64 и прогностического индекса люминол-зависимой ХЛ $S = I_2/I_3$. Выявлена сильная корреляция между содержанием лактата и уровнем экспрессии CD64 (коэффициент корреляции Пирсона $\eta = 0,708$, $p = 0,002$).

Содержание СРБ достоверно ($p = 0,006$) увеличено только в группе критической органной дисфункции ($SOFA > 8$) по сравнению с группой без дисфункции ($SOFA = 0$), в то время как прогностический индекс люминол-зависимой ХЛ не различается в группах с отсутствием, слабо выраженной и тяжёлой полиорганной недостаточностью, но достоверно ($p = 0,025$) возрастает при критической дисфункции (**рис. 5**).

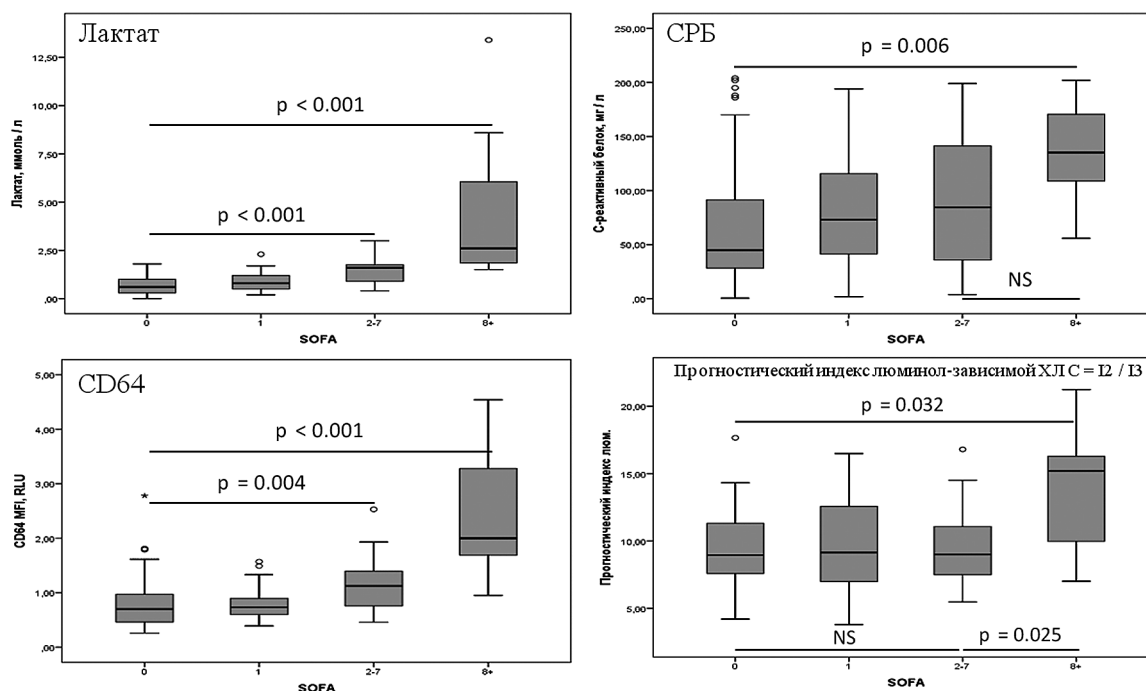


Рис. 5. Показатели функциональной активности фагоцитов при различной выраженности полиорганной недостаточности

ОБСУЖДЕНИЕ

У всех пациентов, перенесших вмешательство по поводу первичного или метастатического колоректального рака, наблюдается повышение показателей лактата и экспрессии CD64 в первые двое суток после операции. Это повышение представляет собой ответ на операционную травму, который при благоприятном течении послеоперационного периода разрешается к 4–5 дню после вмешательства. Дальнейшее повышение показателей в динамике происходит лишь у пациентов с развившимися инфекционно-септическими осложнениями. При этом подъём уровня лактата выше 2 ммоль/л и уровня экспрессии CD64 нейтрофилами выше 2 единиц флуоресценции следует отнести к крайне неблагоприятным признакам, поскольку выделяющиеся наблюдения, характеризующиеся такими значениями, были получены от пациентов с летальным исходом. Таким образом, указанное увеличение содержания и уровня экспрессии CD64 нейтрофилами свидетельствует о высоком риске развития бактериемии, ассоциированной с полирезистентными штаммами бактерий.

Развитие осложнений ассоциировано с подъёмом содержания лактата и СРБ, что согласо-

ется с литературными данными по сывороточным биомаркерам инфекционно-септических осложнений. Нейтрофилы при этом характеризуются повышением экспрессии CD64, а также увеличением светосуммы люминол-зависимой внутриклеточной ХЛ и снижением интенсивности люцигенин-зависимой внутриклеточной ХЛ. Поскольку люцигенин способен детектировать супероксид-радикал, а люминол – его метаболиты (перекись водорода и гипохлорит-анион), полученные данные свидетельствуют о повышении общей внутриклеточной продукции вторичных АФК. Снижение интенсивности внутриклеточного люцигенин-зависимого ответа может свидетельствовать, как о снижении внутриклеточной продукции супероксид-радикала, так и об интенсификации его превращения во вторичные цитотоксические кислородные метаболиты. При этом показанное в работе увеличение минимального значения соотношения абсолютных интенсивностей люминол- и люцигенин-зависимого ХЛ-ответа свидетельствует в пользу второй гипотезы. Показатели интенсивности внутриклеточной люцигенин-зависимой ХЛ и светосуммы внутриклеточной люминол-зависимой ХЛ в нашем исследовании характеризуются большей чувствительностью, а ми-

нимальное значение соотношения абсолютных интенсивностей люминол- и люцигенин-зависимого ХЛ-ответа – большей специфичностью по сравнению с конвенциональным маркером CD64. Одновременное использование трёх предлагаемых показателей ХЛ анализа может стать альтернативой цитометрической оценки функциональной активности нейтрофилов для ранней диагностики сепсиса и гнойно-инфекционных осложнений.

Прогрессия полиорганной недостаточности, вызванная септическим процессом, ассоциирована с подъёмом содержания лактата и СРБ, а также увеличением уровня экспрессии CD64 нейтрофилами. При этом уровень СРБ, так же, как и прогностический индекс люминол-зависимой ХЛ, достоверно увеличивается лишь при критической органной дисфункции; в то время как возрастание уровня лактата и уровня экспрессии CD64 происходит на более ранних этапах полиорганной недостаточности. Сильная корреляция между уровнем лактата и экспрессией CD64 нейтрофилами говорит о возможной взаимозаменяемости указанных биомаркеров, однако этот вопрос подлежит дальнейшему изучению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Singer M., Deutschman C. S., Seymour C. W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G. R., Chiche J. D., Coopersmith C. M., Hotchkiss R. S., Levy M. M., Marshall J. C., Martin G. S., Opal S. M., Rubenfeld G. D., van der Poll T., Vincent J. L., Angus D. C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016, 23, 315(8), 801–10.
2. Wiersinga W. J., Leopold S. J., Cranendonk D. R., van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence* 2014, 1, 5(1), 36–44.
3. Scapini P., Cassatella M. A. Social networking of human neutrophils within the immune system. *Blood* 2014, 31, 124(5), 710–9. doi: 10.1182/blood-2014-03-453217. Epub 2014 Jun 12.
4. Tecchio C., Cassatella M. A. Neutrophil-derived chemokines on the road to immunity. *Semin Immunol.* 2016, 28(2), 119–28.
5. Chen L., Lu Y., Zhao L., Hu L., Qiu Q., Zhang Z., Li M., Hong G., Wu B., Zhao G., Lu Z. Curcumin attenuates sepsis-induced acute organ dysfunction by preventing inflammation and enhancing the suppressive function of Tregs. *Int Immunopharmacol.* 2018, 17, 61, 1–7.
6. Janols H., Bergenfelz C., Allaoui R., Larsson A. M., Rydén L., Björnsson S., Janciauskiene S., Wullt M., Bredberg A., Leandersson K. A high frequency of MDSCs in sepsis patients, with the granulocytic subtype dominating in gram-positive cases. *J Leukoc Biol.* 2014, 96(5), 685–93. doi: 10.1189/jlb.5HI0214-074R. Epub 2014 Jun 13.
7. Zhou J., Nefedova Y., Lei A., Gabrilovich D. Neutrophils and PMN-MDSC: Their biological role and interaction with stromal cells. *Semin Immunol.* 2018, 35, 19–28.
8. Tang Z., Qin D., Tao M., Lv K., Chen S., Zhu X., Li X., Chen T., Zhang M., Zhong M., Yang H., Xu Y., Mao S. Examining the utility of the CD64 index compared with other conventional indices for early diagnosis of neonatal infection. *Sci Rep.* 2018, 3, 8(1), 9994.
9. DalPonte S. T., Alegretti A. P., Pilger D. A., Rezende G. P., Andrioli G., Ludwig H. C., Diogo L., Goldani L. Z., Loreto M., Machado P. S., Seligman R. Diagnostic Accuracy of CD64 for Sepsis in Emergency Department. *J Glob Infect Dis.* 2018, 10(2), 42–46.
10. Dimitrov E., Enchev E., Halacheva K., Minkov G., Yovichev Y. Neutrophil CD64 – A potential biomarker in patients with complicated intra-abdominal infections? – A literature review. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2018, 23, 1–10.
11. Ачкасов С.И., Суroveгин Е.С., Сушков О.И., Лукашевич И.В., Савушкин А.В. Результаты внедрения программы ускоренного выздоровления в колопроктологии. *Колопроктология* 2018, 64, 2, 32–38. [Achkasov S. I., Surovegina E. S., Sushkov O. I., Lukashovich I. V., Savushkin A. V. Results of the implementation of the accelerated recovery program in coloproctology. *Coloproctology* 2018, 64(2), 32–38.]
12. Проскурнина Е.В., Дудина Г.А., Созарукова М.М., Орлова Л.Р., Филиппова Ю.А., Шестакова М.А., Пивник А.В. Радикал-продуцирующая функция нейтрофилов при миелодиспластическом синдроме: оценка методом кинетической хемилюминесценции с двухстадийной стимуляцией и клиническое значение. *Технологии живых систем* 2018, 15, 2, 16–21. [Proskurnina E. V., Dudina G. A., Sozarukova M. M., Orlova L. R., Philippova Yu. A., Shestakova M. A., Pivnik A. V. Radical-producing function of neutrophils in myelodysplastic syndrome: evaluation by kinetic chemiluminescence with two-stage stimulation and clinical significance. *Technologies of living systems* 2018, 15(2), 16–21.]
13. Покаленьева М.Ш., Нестерова А.М., Соснова Е.А., Бoleвич С.Б., Проскурнина Е.В. Радикал-продуцирующая функция нейтрофилов при привычном невынашивании беременности: применение метода активированной хемилюминесценции с двойной стимуляцией. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии* 2017, 16, 5, 82–88. [Pokalenieva M. Sh., Nesterova A. M., Sosnova E. A., Bolevich S. B., Proskurnina E. V. Radical-producing function of neutrophils in habitual miscarriage: application of the activated chemiluminescence with two-stage stimulation method. *Questions of gynecology, obstetrics and perinatology* 2017, 16(5), 82–88].
14. Шеримова А.Е., Созарукова М.М., Краснова Т.Н., Проскурнина Е.В., Новиков П.И., Мухин Н.А. Радикал-продуцирующая функция нейтрофилов у пациентов с анца-ассоциированными васкули-

тами Клиническая фармакология и терапия 2017, 26, 5, 37–40. [Sherimova A. E., Sozarukova M. M., Krasnova T. N., Proskurnina E. V., Novikov P. I., Mukh-

in N. A. Radical-producing function of neutrophils in patients with ANCA-associated vasculitis. Clinical pharmacology and therapy 2017, 26(5), 37–40].

NEUTROPHIL FUNCTION IN PATIENTS WITH POSTSURGERY INFECTIOUS SEPTIC COMPLICATIONS

© 2019 I. V. Obraztsov^{1,2*}, A. Yu. Ryabov³, N. S. Tsuranova⁴,
E. V. Balykova⁴, A. I. Paramonov⁴

*E-mail: igor_obraztsov@bk.ru

¹G. N. Speranskiy City Children Hospital, Moscow, Russia;

²Oncogenotest company, Moscow, Russia;

³Ludwig-Maximilian University, Munich, Germany;

⁴A. N. Ryzhikh State Scientific Centre for Coloproctology, Moscow, Russia

Received: 04.07.2019. Accepted: 25.08.2019

Dysfunction of the neutrophils is associated with various infectious processes, particularly, with sepsis and other postsurgical bacterial complications. Quantitative evaluation of the neutrophil function is a promising approach for early diagnosis of infectious and septic complications in clinical practice. The aim of this study was to assess the relationship between functional parameters of neutrophils (CD64 expression and oxidative metabolism) and standard clinical and laboratory markers of inflammation in patients who underwent large intestine resections. We assessed 49 patients with III – IV stage colorectal cancers; we evaluated lactate and C-reactive protein levels, assessed sepsis-related organ failure assessment (SOFA) score and performed bacteriological investigation. CD64 expression was determined by means of flow cytometry; oxidative metabolism was studied by means of chemiluminescent (CL) analysis with double-step activation followed by automatic signal deconvolution. We revealed association between complications and the increase of CD64 expression, as well as increase of luminol-dependent intracellular CL light sum and decrease of the lucigenin-dependent intracellular CL intensity. The progression of sepsis-associated multiple organ failure is also associated with increase of CD64 expression; strong significant correlation between the lactate level and CD64 expression has been shown. The prognostic index of luminol-dependent CL significantly increases only in critical organ dysfunction, while CD64 is more sensitive to multi-organ failure progression.

Key words: sepsis, inflammatory post-surgery complications, neutrophils, CD64, chemiluminescence, luminol, lucigenin, biomarkers

Authors:

Obraztsov I. V., ✉ PhD, allergy and immunity physician, G. N. Speranskiy City Children Hospital, Moscow, Russia; Oncogenotest company, Moscow, Russia. **E-mail:** igor_obraztsov@bk.ru;

Ryabov A. Yu., researcher, Ludwig-Maximilian University, Munich, Germany;

Tsuranova N. S., a physician anesthesiologist-resuscitator, A. N. Ryzhikh State Scientific Centre for Coloproctology, Moscow, Russia;

Balykova E. V., a physician anesthesiologist-resuscitator, A. N. Ryzhikh State Scientific Centre for Coloproctology, Moscow, Russia;

Paramonov A. I., a physician anesthesiologist-resuscitator, A. N. Ryzhikh State Scientific Centre for Coloproctology, Moscow, Russia.