

НЕЙТРОФИЛОКИНЫ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ

Абакумова Т.В.¹, Генинг Т.П.¹, Антонеева И.И.^{1,2}, Генинг С.О.¹, Гноевых В.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

² ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер г. Ульяновска», г. Ульяновск, Россия

Резюме. На сегодня не существует четкого представления о молекулярных участниках, обеспечивающих цитотоксическую и/или цитостатическую активность нейтрофилов (Нф) по отношению к опухолевым клеткам. Продуцируемые нейтрофилами цитокины необходимы для паракринного и аутокринного взаимодействия их с окружающими клетками. С целью оценки влияния регуляторных нейтрофилокинов на морфофункциональное состояние циркулирующих Нф при доброкачественных опухолях и раке яичников методом иммуноферментного анализа оценивали в нейтрофилах уровень IL-4, IL-6, IL-10, IL-8, IL-18, IFN γ , MCP-1, MMP-1, экспрессию CD11b, CD63, CD16, CD95. Определяли ригидность мембраны и способность нейтрофилов к образованию NET. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием ПО Statistica 13.0, Jamovi 1.6.5.0. Установлено, что при РЯ ригидность нейтрофилов зависит от уровня в нейтрофилах IL-10, MCP-1, IL-18, IL-8, IL-4, IFN γ , IL-6. Методом множественной регрессии выявлена зависимость способности образовывать NET от уровня IL-4 и IL-6 в Нф. Выявлена обратная корреляционная связь между ригидностью мембраны Нф и их способностью образовывать ловушки при раке яичников. При доброкачественной опухоли яичников выявлена заметная прямая корреляционная связь ригидности мембраны нейтрофилов с адгезионным маркером CD11b. При раке яичников выявлена корреляционная связь ригидности мембраны Нф с маркером дегрануляции CD63. При доброкачественной опухоли яичников корреляционных связей между количеством активированных нейтрофилов и уровнем внутриклеточных цитокинов в Нф не обнаружено. При раке яичников выявлены корреляционные связи между количеством CD11b⁺Нф и уровнем в них IL-6, IL-8; между количеством CD63, CD95 и внутриклеточным IL-8. Количество CD16⁺Нф коррелировало с уровнем MMP-1 и IL-8, а CD95⁺Нф коррелировало с уровнем IL-18 в Нф. Таким образом, изменение уровня нейтрофилокинов при доброкачественной опухоли яичников не коррелировало с изменениями способности к NETозу, экспрессии активационных маркеров, но сопровождалось увеличением ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов. При раке яичников повышение IL-8 коррелировало со снижением экспрессии CD16 и повышением CD63; снижение CD16 коррелировало с возрастанием MMP-1. Повышение ригидности

Адрес для переписки:

Абакумова Татьяна Владимировна
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»
432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Архитектора Ливчака, 2.
Тел.: 8 (8422) 32-70-71.
E-mail: taty-abakumova@yandex.ru

Address for correspondence:

Abakumova Tatyana V.
Ulyanovsk State University
432017, Russian Federation, Ulyanovsk, Arch. Livchak str., 2.
Phone: 7 (8422) 32-70-71.
E-mail: taty-abakumova@yandex.ru

Образец цитирования:

Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева, С.О. Генинг, В.В. Гноевых «Нейтрофилокины и морфофункциональное состояние циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 3. С. 355-362.
doi: 10.46235/1028-7221-985-NAT
© Абакумова Т.В. и соавт., 2021

For citation:

T.V. Abakumova, T.P. Gening, I.I. Antoneeva, S.O. Gening, V.V. Gnoevykh "Neutrophilokines and the morphofunctional state of circulating neutrophils in ovarian tumors", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 3, pp. 355-362.
doi: 10.46235/1028-7221-985-NAT
DOI: 10.46235/1028-7221-985-NAT

мембраны при раке яичников ассоциировалось с изменениями всех рассмотренных нейтрофилокинов (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, MCP-1, IFN γ). Комбинация показателей IL-4, IL-6, IL-18, числа NET и ригидности мембраны циркулирующих Нф (по результатам мультивариантного анализа) может быть использована для дифференциальной диагностики рака яичника.

Ключевые слова: нейтрофилы, ригидность мембраны, рак яичников, доброкачественная опухоль яичников, нейтрофилокины

NEUTROPHILOKINES AND THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF CIRCULATING NEUTROPHILS IN OVARIAN TUMORS

Abakumova T.V.^a, Gening Tatyana P.^a, Antoneeva I.I.^{a, b}, Gening S.O.^a, Gnoevykh V.V.^a

^a Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

^b Regional Clinical Oncology Center of Ulyanovsk, Ulyanovsk, Russian Federation

Abstract. There is currently no clear understanding of the molecular participants providing cytotoxic and/or cytostatic activity of neutrophils (Nph) in relation to tumor cells. Cytokines produced by neutrophils are necessary for their paracrine and autocrine interactions with surrounding cells. In order to assess the effect of regulatory neutrophilokines on the morphofunctional state of circulating Nph in benign ovarian tumors and ovarian cancer, the ELISA method was used to assess the level of IL-4, IL-6, IL-10, IL-8, IL-18, IFN γ , MCP-1 and MMP-1 in neutrophils, expression of CD11b, CD63, CD16, CD95. Determined the rigidity of the membrane and the ability of neutrophils to form NET. Statistical processing of the obtained data was carried out using the software Statistica 13.0, Jamovi 1.6.5.0. It was found that in ovarian cancer the rigidity of neutrophils depends on the level of IL-10, MCP-1, IL-18, IL-8, IL-4, IFN γ , IL-6 in neutrophils. The method of multiple regression revealed the dependence of the ability to form NETs on the level of IL-4 and IL-6 in Nph. Revealed an inverse correlation between the rigidity of the membrane Nph and their ability to form traps in ovarian cancer. In benign ovarian tumors, a noticeable direct correlation was found between the rigidity of the neutrophil membrane and the adhesive marker CD11b. In ovarian cancer, a correlation was found between the rigidity of the Nph membrane and the CD63 degranulation marker. At benign ovarian tumors, no correlations were found between the number of activated neutrophils and the level of intracellular cytokines in Nph. In ovarian cancer, correlations were found between the number of CD11b⁺Nph and the level of IL-6, IL-8 in them; between the amount of CD63, CD95 and intracellular IL-8. The amount of CD16⁺Nph correlated with the level of MMP-1 and IL-8 in Nph. The amount of CD95⁺Nph correlated with the level of IL-18 in Nph. Thus, the change in the level of neutrophilokines in benign ovarian tumors did not correlate with changes in the ability to NETosis, expression of activation markers, but was accompanied by an increase in the rigidity of the membrane of circulating neutrophils. In ovarian cancer, an increase in IL-8 correlated with a decrease in CD16 expression and an increase in CD63; a decrease in CD16 correlated with an increase in MMP-1. An increase in membrane rigidity in ovarian cancer was associated with changes in all considered neutrophilokines (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, MCP-1, IFN γ). The combination of IL-4, IL-6, IL-18 indices, NET number and membrane rigidity of circulating Nph (according to the results of multivariate analysis) can be used for differential diagnosis of ovarian cancer.

Keywords: neutrophils, membrane rigidity, ovarian cancer, benign ovarian tumor, neutrophilokines

Введение

Выполнение нейтрофилами (Нф) основных функций определяется их способностью быстро менять форму. Почти сферические в кровотоке они должны деформироваться при прохождении по капиллярам, уплощаться на поверхно-

сти эндотелия перед экстравазацией. На стадии фагоцитарного захвата они образуют псевдоподии [15]. Все эти превращения требуют существенного увеличения площади поверхности клеток. Сморщенная поверхность Нф служит как бы мембранным резервуаром для увеличения

площади поверхности клеток для передвижения и фагоцитоза [2]. Оценка мембранно-цитоскелетной эластичности методом атомно-силовой микроскопии позволило установить новый процесс гибели Нф – мумификацию, который проявляется в увеличении жесткости мембраны Нф, приобретение характерной бугристой формы с выступами [14]. При образовании внеклеточных ловушек (NET) одним из предварительных событий наряду с разрывами ядерной оболочки являются разрывы плазматической мембраны [21].

Реализация эффлекторных функций и праймирование связано с изменением архитектоники мембранных рецепторов Нф. CD63 (тетраспаннин) участвует в передаче сигналов, регулирующих активацию и подвижность Нф, адгезивную активность CD11/CD18. Являясь маркером азурофильных гранул рецептор может быть индикатором активности их основного компонента – миелопероксидазы [10].

CD16 – рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов (FcγRIII). Показано, что субпопуляция Нф CD16^{high}CD63^{dim} характеризуется повышенной миграционной способностью, противоопухолевой активностью, повышенным образованием NET и коррелирует с увеличением выживаемости у пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи [13]. Существуют данные о роли FcγRIIIB в трогоцитозе, стадии трогоптоза, опосредованного антителами эндоцитарного поглощения Нф фрагментов мембраны раковой клетки [6]. Также показано, что экспрессия CD16 на CD16^{low}, рассматриваемых как популяция незрелых Нф, является хорошим прогностическим фактором при прогнозе эффективности капецитабина у больных колоректальным раком [12].

Гликопротеин CD11/CD18 играет хорошо описанную роль в регуляции ключевых воспалительных функций, в том числе фагоцитоз, апоптоз и высвобождение пероксида [9]. Образование конъюгата нейтрофил-раковая клетка, последующий трогоцитоз и гибель Нф также зависят от CD11/CD18 [3]. На сегодня не существует четкого представления о молекулярных участниках, обеспечивающих цитотоксическую и/или цитостатическую активность Нф по отношению к опухолевым клеткам. *In vitro* показано, что взаимодействие между Нф и клетками ряда опухолевых линий через Fas/Fas лиганд приводит к ранней остановке клеточного цикла, что позволяет реализовать противоопухолевый эффект Нф [19]. Fas/(APO-1, CD95)/-широко экспрессируемый на клеточной мембране белок, передающий апоптотический сигнал после взаимодействия с лигандом FASL. Установлено, что

высокая экспрессия FAS нейтрофилами сопровождалась повышенной чувствительностью к Fas-опосредованному апоптозу [7].

Нф способны стимулировать или подавлять рост опухоли через продукцию цитокинов [21]. При этом функции самих Нф активируются или потенцируются провоспалительными цитокинами. Так, IL-10 подавляет зависимую от активных форм кислорода генерацию NETs [17]. Нф, продуцирующие IL-10, не апоптотины, и экспрессия IL-10 индуцировалась экзогенным IL-10, что свидетельствует о наличии петли положительной обратной связи [11]. Снижение миграции Нф может быть ограничено, если подавить высвобождение IL-8 [19]. IL-6 и MCP-1, влияющие на жесткость клеток эпителия сетчатки, изменяют клеточную адгезию и активность Нф [23].

Таким образом, продуцируемые нейтрофилами цитокины необходимы для паракринного и аутокринного взаимодействия их с окружающими клетками.

Целью исследования было изучение влияния регуляторных нейтрофилокинов на морфофункциональное состояние циркулирующих Нф при опухолях яичников.

Материалы и методы

Обследовали 97 больных раком яичников (РЯ) I-IV стадии по FIGO, 30 больных с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) и контрольную группу (n = 22). Уровень MMP-1 (Abfrontier, Quantikine ELISA Kits) и IL-4, IL-6, IL-10, IL-8, IL-18, IFNγ, MCP-1 («Вектор-Бест-Волга», Россия) в сыворотке (пг/мл) оценивали с помощью ИФА.

Нейтрофилы выделяли из 5 мл гепаринизированной крови в двойном градиенте плотности фиколл-урографина (ρ = 1,117 и 1,077 г/мл). Нативные Нф сканировали, используя микроскоп SolverPro (NT-MDT, Зеленоград). Использовали зонды с жесткостью 0,3 N/m, радиус закругления кончика зонда составлял 10 nm.

Для оценки жесткости мембран использовали режим спектроскопии. Жесткость мембран оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывали согласно теории Герца [1].

От всех пациенток получено информированное добровольное согласие. Статистическую обработку производили с использованием one-way ANOVA, корреляцию по Спирмену.

Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального рас-

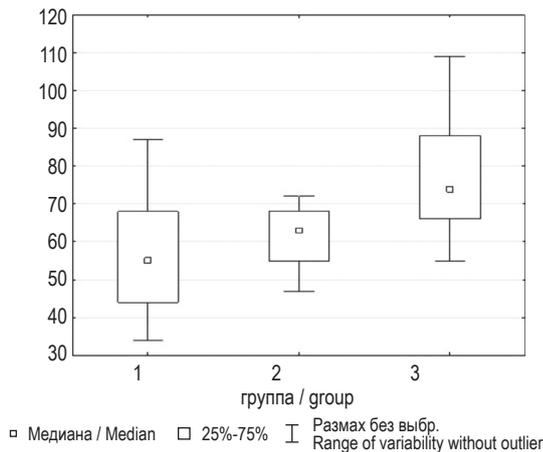


Рисунок 1. Ригидность мембраны нейтрофилов контрольной группы (1), при доброкачественных опухолях (2) и раке яичников (3)

Figure 1. Rigidity of the neutrophil membrane of the control group (1), with benign tumors (2) and ovarian cancer (3)

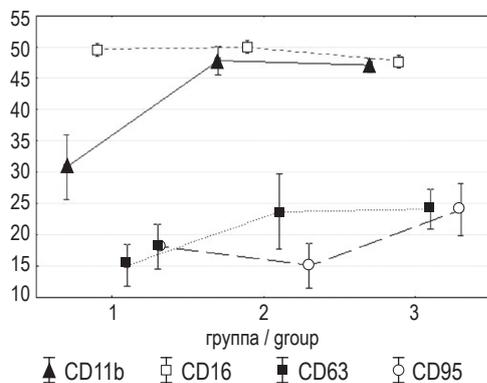


Рисунок 2. Количество CD11b⁺, CD16⁺, CD63⁺, CD95⁺ нейтрофилов в контрольной группе (1), при доброкачественных опухолях (2) и раке яичников (3)

Figure 2. Number of CD11b⁺, CD16⁺, CD63⁺, CD95⁺ neutrophils in the control group (1), with benign tumors (2) and ovarian cancer (3)

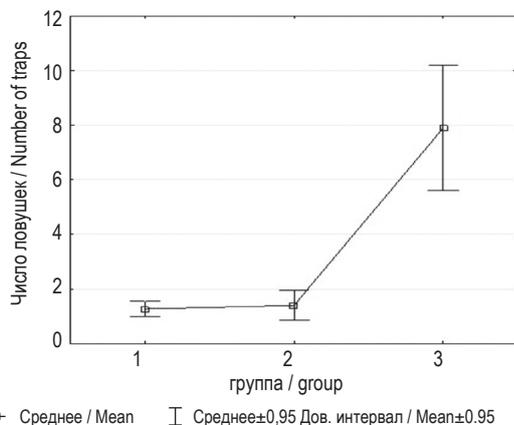


Рисунок 3. Количество NET в контрольной группе (1), при доброкачественных опухолях (2) и раке яичников (3)

Figure 3. Number of NET in the control group (1), with benign tumors (2) and ovarian cancer (3)

пределения данных использовался U-критерий Манна–Уитни (Statistica 13.0 (ТІВСО, США)).

Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, также представленных количественными показателями, разрабатывалась с помощью метода парной или множественной линейной регрессии. В качестве показателя тесноты связи использовался линейный коэффициент корреляции F. Для оценки качества подбора линейной функции рассчитывался квадрат линейного коэффициента корреляции R², называемый коэффициентом детерминации. Построение прогностической модели риска исхода злокачественного новообразования выполнялось при помощи метода бинарной логистической регрессии. Статистическая значимость полученной модели определялась с помощью критерия χ².

Качество прогностической модели, полученной с помощью ROC-анализа, оценивалось исходя из значений площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95%-ным доверительным интервалом (ДИ) и уровня статистической значимости (Jamovi 1.6.5.0).

Результаты

При анализе результатов атомно-силовой спектроскопии выявлено увеличение жесткости мембран нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ [10]. По результатам исследований Плесковой С.Н. и соавт. (2020), жесткость мембраны и сила адгезии нейтрофилов снижается под влиянием *Staphylococcus aureus* [15], а увеличение жесткости мембраны проявляется при муфификации нейтрофилов [14]. Нами было установлено значимое увеличение ригидности мембраны Нф по сравнению с контролем при ДОЯ (p = 0,0001) и при РЯ (p = 0,0005) (рис. 1).

При ДОЯ и РЯ увеличивается количество CD11b⁺ (p_{1,2} = 0,0001) и CD63⁺Нф (p₁ = 0,0256, p₂ = 0,0016) относительно контроля (рис. 2). Количество CD16⁺ при РЯ значимо снижается по сравнению с контролем (p = 0,0009) и ДОЯ (p = 0,0017) (рис. 2). Количество CD95⁺ при ДОЯ (p = 0,1717) и РЯ (p = 0,5730) значимо не отличается от контроля (рис. 2).

В результате проведенного исследования при ДОЯ не выявлено значимого изменения количества NET по сравнению с контрольной группой (рис. 3). При РЯ заметно повышалось ЧЛ (p₁ = 0,0011 и p₂ = 0,0002) по сравнению с аналогичными показателями в контроле и при ДОЯ (рис. 3).

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА РИГИДНОСТЬ ИХ МЕМБРАНЫ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ И РАКЕ ЯИЧНИКОВ, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. LEVEL OF CYTOKINES IN CIRCULATING NEUTROPHILS, AFFECTING THE RIGIDITY OF THEIR MEMBRANE IN BENIGN TUMOR AND OVARIAN CANCER, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатель (пг/мл) Indicator (pg/ml)	Группа Group	Контроль Control n = 22	Доброкачественная опухоль яичников Benign ovarian tumor n = 15	Рак яичников Ovarian cancer n = 61
IL-4		1,457 (0,591-2,069)	4,935 (2,537-6,052)*	4,032 (1,698-6,358)*
IL-10		63,961 (48,981-88,843)	8,576 (4,995-13,568)*	6,171 (2,669-28,251)*
IFN γ		2,517 (1,661-3,664)	6,625 (4,525-8,702)*	2,587 (1,098-4,039)#
IL-18		37,345 (18,492-55,863)	5,293 (3,354-7,258)*	8,697 (6,395-22,399)*
IL-6		1,329 (0,992-1,993)	12,613 (10,136-14,193)*	1,311 (0,963-10,558)#
IL-8		158,826 (140,048-186,034)	40,274 (36,543-51,067)*	109,369 (27,912-214,754)#
МСП-1		17,217 (14,029-19,561)	29,280 (24,984-34,405)*	25,741 (21,037-31,829)*
ММР-1		0,527 (0,397-0,608)	0,671 (0,523-0,886)*	1,233 (1,070-1,410)**

Примечание. * – данные значимо отличаются от аналогичных в группе контроля; # – данные значимо отличаются от аналогичных в группе с доброкачественной опухолью яичников

Note. *, data significantly differ from those in the control group; #, data significantly differ from those in the group with benign ovarian tumor.

В циркулирующих Нф при ДОЯ и РЯ уровень МСП-1 ($p_1 = 0,00013$ и $p_2 = 0,00004$) и IL-4 ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) увеличивается по сравнению с контролем (табл. 1). Уровень IL-18 ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) и IL-10 ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) в Нф при ДОЯ и РЯ значимо снижались по сравнению с контролем (табл. 1). При РЯ уровень IL-8 значимо возрастает по сравнению с ДОЯ ($p = 0,0043$) и не отличается относительно контроля ($p = 0,3326$) (табл. 1). ММР-1 в Нф при РЯ значимо выше такового в контроле и при ДОЯ ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0011$) (табл. 1). Уровень IFN γ и IL-6 в Нф при РЯ значимо ниже, чем при ДОЯ ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0009$) и не отличается от такового в контроле ($p_1 = 0,2594$ и $p_2 = 0,4954$) (табл. 1).

Обсуждение

При ДОЯ 26% от общей дисперсии объясняются моделью ($F(1,13) = 6,0667$, $p = 0,0285$, $R^2 = 0,2657$) зависимости ригидности мембраны от уровня ММР-1 в Нф. При РЯ ригидность

нейтрофилов прямо зависит от уровня в нейтрофилах IL-10 в 47% случаев от общей дисперсии ($F(1,15) = 15,453$, $p = 0,0013$, $R^2 = 0,4746$), от МСП-1 в 35% ($F(1,22) = 13,387$, $p = 0,0014$, $R^2 = 0,3500$), и от IL-18 в 22% ($F(1,15) = 5,4514$, $p = 0,0339$, $R^2 = 0,2176$). Также при РЯ только в 20% от общей дисперсии объясняются моделью прямой зависимости показателей ригидности мембраны Нф от уровней внутриклеточных IL-8 и IL-4 ($F(2,58) = 8,5441$, $p = 0,0006$, $R^2 = 0,2009$). Методом множественной регрессии также выявлена обратная зависимость ригидности мембраны Нф при РЯ от уровней IFN γ и IL-6 в 22% случаев от общей дисперсии ($F(2,58) = 9,4679$, $p = 0,0003$, $R^2 = 0,2201$). Также выявлена зависимость способности образовывать NET от уровня IL-4 и IL-6 в 67 % случаев от общей дисперсии ($F(2,58) = 63,553$, $p = 0,0001$, $R^2 = 0,6758$). Выявлена обратная корреляционная связь между ригидностью мембраны Нф и способностью образовывать NET ($r = -0,2999$, $p = 0,0188$) при РЯ.

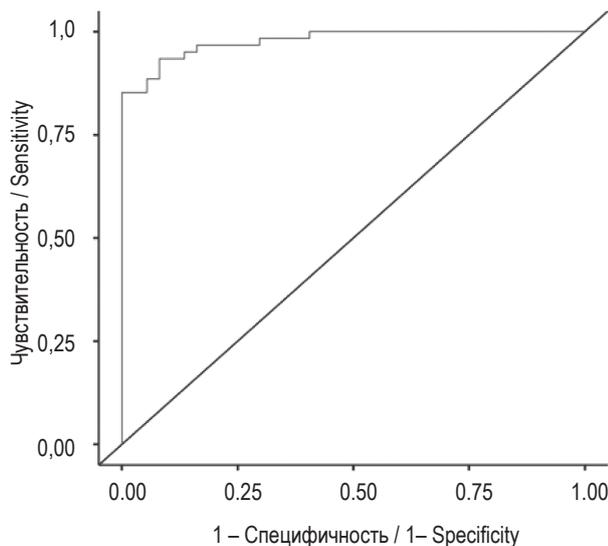


Рисунок 4. ROC-кривая для регрессионной модели дифференциальной диагностики рака яичников с учетом показателей в нейтрофилах IL-4, IL-6, IL-18, числа NET и ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов

Figure 4. ROC-curve for a regression model of differential diagnosis of ovarian cancer taking into account parameters in neutrophils IL-4, IL-6, IL-18, NET number and membrane rigidity of circulating neutrophils

При ДОЯ корреляционных связей между количеством активированных нейтрофилов и уровнем внутриклеточных цитокинов в Нф не обнаружено. Однако выявлена заметная прямая корреляционная связь между ригидностью мембраны нейтрофилов и адгезионным маркером CD11b ($r = 0,5254$, $p = 0,0442$).

По данным Jensen K.N. (2020), в провоспалительных условиях *in vitro* повышенная экспрессии CD11b на нейтрофилах сопровождалась повышенной секрецией IL-8 нейтрофилами, повышенной их фагоцитарной способностью и апоптозу [8]. При В-клеточным хроническим лимфолейкозом обнаруживаются CD16⁺Нф со сниженной продукцией IL-17A, IL-17E и IL-17F [4]. При РЯ выявлена прямая умеренная корреляционная связь между количеством CD11b⁺Нф и уровнем в них IL-6 ($r = 0,3224$, $p = 0,0113$). IL-8 в Нф имеет обратную корреляционную связь с маркерами CD11b ($r = -0,3951$, $p = 0,0016$) и CD16 ($r = -0,2580$, $p = 0,0447$), а также прямую связь с CD63 ($r = 0,2593$, $p = 0,0436$) и CD95 ($r = 0,3504$, $p = 0,0056$). Снижение количе-

ства CD16 обратно коррелирует с возрастающим уровнем MMP-1 в Нф ($r = -0,2739$, $p = 0,0326$).

В исследования Rumalla V. (2001), повышение апоптоза Нф сопровождалось снижением секреции IL-6 и увеличением IL-10 [17]. Повышение апоптотической способности Нф сопровождается снижением продукции IL-18 при системном воспалении у мышей [5]. При РЯ изменение уровня IL-18 в Нф прямо умеренно коррелирует с количеством CD95⁺Нф ($r = 0,3767$, $p = 0,0027$). Также выявлена прямая слабая корреляционная связь ригидности мембраны Нф с маркером дегрануляции CD63 ($r = 0,2588$, $p = 0,0439$).

На модели бинарной логистической регрессии продемонстрировали возможность использования внутриклеточных показателей IL-4, IL-6, IL-18, числа NET и ригидности мембраны циркулирующих Нф для дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей яичников ($\chi^2 = 93,2$, $p = 0,010$). Достоверную значимость при их комбинации оценивали методом анализа ROC-кривой (IL-4, ОШ 1,960 95% ДИ 1,047-3,6680, $p = 0,035$; IL-6, ОШ 0,616 95% ДИ 0,456-0,833, $p = 0,002$; IL-18, ОШ 0,957 95% ДИ 0,915-0,999, $p = 0,048$; количество NET, ОШ 1,975 95% ДИ 1,267-3,078, $p = 0,003$; ригидность мембраны циркулирующих Нф, ОШ 1,132 95% ДИ 1,047-1,224, $p = 0,002$). Площадь под кривой (AUC) такой модели составила 0,978, и РЯ мог быть диагностирован с 93,4%-ной вероятностью (рис. 4).

Значения выбранных показателей позволяют классифицировать пациентов по степени риска РЯ в сочетании с чувствительностью (0,934) и специфичностью (0,865).

Заключение

Таким образом, изменение уровня нейтрофилокинов при ДОЯ не коррелировало с изменениями способности к NETозу, экспрессии активационных маркеров, но сопровождалось увеличением ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов.

При РЯ повышение IL-8 коррелирует со снижением экспрессии CD16 и повышением CD63; снижение CD16 коррелирует с возрастанием MMP-1.

Повышение ригидности мембраны при РЯ ассоциируется с изменениями всех рассмотренных нейтрофилокинов (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, MCP-1, IFN γ).

Список литературы / References

1. Плескова С.Н. Наноматериалы и их гематотоксические свойства. Нижний Новгород, 2018. 170 с. [Pleskova S.N. Nanomaterials and their hematotoxic properties]. N. Novgorod, 2018. 170 p.
2. Al-Jumaa M., Hallett M.B., Dewitt S. Cell surface topography controls phagocytosis and cell spreading: The membrane reservoir in neutrophils. *Biochim. Biophys. Acta*, 2020, Vol. 1867, no. 12, 118832. doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118832.
3. Bouti P., Zhao X.W., Verkuijlen P.J.J.H., Tool A.T.J., van Houdt M., Köker N., Köker M.Y., Keskin O., Akbayram S., van Bruggen R., Kuijpers T.W., Matlung H.L., van den Berg T.K. Kindlin3-dependent CD11b/CD18-integrin activation is required for potentiation of neutrophil cytotoxicity by CD47-SIRPalpha checkpoint disruption. *Cancer Immunol. Res.*, 2021, Vol. 9, no. 2, pp.147-155.
4. Garley M., Jabłońska E., Sawicka-Powierza J., Ratajczak-Wrona W., Kłoczko J., Piszcz J. Expression of subtypes of interleukin-17 ligands and receptors in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin. Lab.*, 2014, Vol. 60, no. 10, pp. 1677-1683.
5. Giudice E.D., Ciaramella A., Balestro N., Neumann D., Romano P.G., Cesaroni M.P., Maurizi G., Ruggiero P., Boraschi D., Bossù P. Neutrophil apoptosis in autoimmune Fas-defective MRL lpr/lpr mice. *Eur. Cytokine Netw.*, 2001, Vol. 12, no. 3, pp. 510-517.
6. Golay J., Valgardsdottir R., Musaraj G., Giupponi D., Spinelli O., Inrona M. Human neutrophils express low levels of FcγRIIIA, which plays a role in PMN activation. *Blood*, 2019, Vol. 133, no.13, pp.1395-1405.
7. Jaber B.L., Perianayagam M.C., Balakrishnan V.S., King A.J., Pereira B.J. Mechanisms of neutrophil apoptosis in uremia and relevance of the Fas (APO-1, CD95)/Fas ligand system. *J. Leukoc. Biol.*, 2001, Vol. 69, no. 6, pp.1006-1012.
8. Jensen K.N., Omarsdottir S.Y., Reinhardsdottir M.S., Hardardottir I., Freysdottir J. Docosahexaenoic Acid Modulates NK Cell Effects on Neutrophils and Their Crosstalk. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 570380. doi: 10.3389/fimmu.2020.570380.
9. Kelm M., Lehoux S., Azcutia V., Cummings R.D., Nusrat A., Parkos C.A., Brazil J.C. Regulation of neutrophil function by selective targeting of glycan epitopes expressed on the integrin CD11b/CD18. *FASEB J.*, 2020, Vol. 34, no. 2, pp. 2326-2343.
10. Lau D., Mollnau H., Eiserich J.P., Freeman B.A., Daiber A., Gehling U.M., Brümmer J., Rudolph V., Münzel T., Heitzer T., Meinertz T., Baldus S. Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b/CD18 integrins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2005, Vol. 102, no. 2, pp. 431-436.
11. Lewkowicz N., Mycko M.P., Przygodzka P., Ćwiklińska H., Cichalewska M., Matysiak M., Selmaj K., Lewkowicz P. Induction of human IL-10-producing neutrophils by LPS-stimulated Treg cells and IL-10. *Mucosal Immunol.*, 2016, Vol. 9, no. 2, pp. 364-378.
12. Lu Y., Huang Y., Huang L., Xu Y., Wang Z., Li H., Zhang T., Zhong M., Gao W.Q., Zhang Y. CD16 expression on neutrophils predicts treatment efficacy of capecitabine in colorectal cancer patients. *BMC Immunol.*, 2020, Vol. 21, no. 1, 46. doi: 10.1186/s12865-020-00375-8.
13. Millrud C.R., Kågedal Å., Kumlien Georén S., Winqvist O., Uddman R., Razavi R., Munck-Wikland E., Cardell L.O. NET-producing CD16^{high} CD62L^{dim} neutrophils migrate to tumor sites and predict improved survival in patients with HNSCC. *Int. J. Cancer*, 2017, Vol. 140, no. 11, pp. 2557-2567.
14. Pleskova S.N., Gorshkova E.N., Novikov V.V., Solioz M. Treatment by serum up-conversion nanoparticles in the fluoride matrix changes the mechanism of cell death and the elasticity of the membrane. *Micron*, 2016, Vol. 90, pp. 23-32.
15. Pleskova S.N., Kriukov R.N., Bobyk S.Z., Boryakov A.V., Gorelkin P.V., Erofeev A.S. Conditioning adhesive contacts between the neutrophils and the endotheliocytes by Staphylococcus aureus. *J. Mol. Recognit.*, 2020, Vol. 33, no. 9, e2846. doi: 10.1002/jmr.2846.
16. Roberts R.E., Hallett M.B. Neutrophil cell shape change: mechanism and signalling during cell spreading and phagocytosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 6, 1383. doi: 10.3390/ijms20061383.
17. Rumalla V., Calvano S.E., Spotnitz A.J., Krause T.J., Lin E., Lowry S.F. The effects of glucocorticoid therapy on inflammatory responses to coronary artery bypass graft surgery. *Arch. Surg.*, 2001, Vol. 136, no. 9, pp. 1039-1044.
18. Saitoh T., Komano J., Saitoh Y., Misawa T., Takahama M., Kozaki T., Uehata T., Iwasaki H., Omori H., Yamaoka S., Yamamoto N., Akira S. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe*, 2012, Vol. 12, no. 1, pp. 109-116.
19. Song J., Wu C., Zhang X., Sorokin L.M. *In vivo* processing of CXCL5 (LIX) by matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 promotes early neutrophil recruitment in IL-1β-induced peritonitis. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 1, pp. 401-410.
20. Sun B., Qin W., Song M., Liu L., Yu Y., Qi X., Sun H. Neutrophil suppresses tumor cell proliferation via fas /fas ligand pathway mediated cell cycle arrested. *Int. J. Biol. Sci.*, 2018, Vol. 14, no. 14, pp. 2103-2113.

21. Tecchio C., Scapini P., Pizzolo G., Cassatella M.A. On the cytokines produced by human neutrophils in tumors. *Semin. Cancer Biol.*, 2013, Vol. 23, no. 3, pp. 159-170.
22. Thiam H.R., Wong S.L., Wagner D.D., Waterman C.M. Cellular Mechanisms of NETosis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2020, Vol. 36, pp. 191-218.
23. White C., DiStefano T., Olabisi R. The influence of substrate modulus on retinal pigment epithelial cells. *J. Biomed Mater. Res. A.*, 2017, Vol. 105, no. 5, pp. 1260-1266.

Авторы:

Абакумова Т.В. — к.б.н., доцент, доцент кафедры физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Генинг Т.П. — д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Антонеева И.И. — д.м.н., доцент, профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»; заведующая отделением онкогинекологии ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер г. Ульяновска», г. Ульяновск, Россия

Генинг С.О. — ассистент кафедры физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Гноевых В.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики и внутренних болезней ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Authors:

Abakumova T.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

Gening T.P., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

Antoneeva I.I., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Oncology and Radiology, Ulyanovsk State University; Head, Department of Oncogynecology, Regional Clinical Oncology Center of Ulyanovsk, Ulyanovsk, Russian Federation

Gening S.O., Assistant Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

Gnoevykh V.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Propedeutics and Internal Medicine, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

Поступила 14.05.2021
Принята к печати 20.07.2021

Received 14.05.2021
Accepted 20.07.2021