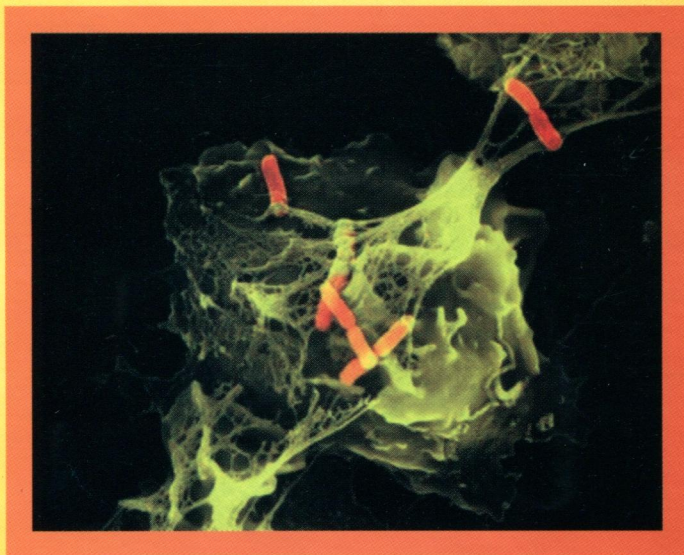


**Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю.**

# **НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ЛОВУШКИ И МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА НЕЙТРОФИЛОВ**



**Москва, 2009**



**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

**И.И.Долгушин, Ю.С.Андреева,  
А.Ю.Савочкина**

**НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ  
ЛОВУШКИ И МЕТОДЫ ОЦЕНКИ  
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА  
НЕЙТРОФИЛОВ**

*Издание одобрено и рекомендовано к печати  
редакционно-издательским советом Президиума  
Российской академии медицинских наук*

Москва  
Издательство РАМН  
2009

УДК 612.112.91  
ББК 52.54  
53.4

Д64

**Рецензенты:**

**О.В.Бухарин**, *член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор;*

**В.В.Зверев**, *академик РАМН,  
доктор медицинских наук, профессор*

Д64 **Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов.** М.: Издательство РАМН. 2009. 208 с. ISBN 978-5-7901-0052-9

В монографии рассматриваются гистогенез, морфология, кинетика, рецепторный аппарат, антимикробные функции нейтрофильных гранулоцитов. Отдельная глава посвящена нейтрофильным внеклеточным ловушкам, их образованию, факторам, стимулирующим выброс ДНК нейтрофилов во внеклеточную среду, роли в защитных реакциях. В книге представлены разработанные авторами оригинальные экспресс-методы оценки содержания и антимикробной активности экстрацеллюлярных ловушек, образованных нейтрофилами, в периферической крови и мукозальных секретах, примеры использования данных методик для оценки эффективности иммунотропных препаратов и мукозальных вакцин. Представлены методы оценки функционального статуса нейтрофилов, нормативные показатели состояния нейтрофильного звена периферической крови и мукозальных секретов.

Монография адресована врачам-иммунологам, врачам клинической лабораторной диагностики, врачам разных специальностей, занимающимся оценкой иммунной системы, а также интернам, аспирантам, студентам старших курсов высших медицинских учреждений.

УДК 612.112.91  
ББК 52.54  
53.4

ISBN 978-5-7901-0052-9

©Издательство РАМН, 2009

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений .....	9
Введение .....	11
<b>ЧАСТЬ I. Нейтрофильные внеклеточные ловушки .....</b>	<b>14</b>
Глава 1. Созревание и кинетика нейтрофилов .....	14
Глава 2. Трансэндотелиальная миграция нейтрофилов .....	22
2.1. Молекулы клеточной адгезии .....	22
2.2. Миграция и хемотаксис нейтрофилов .....	30
Глава 3. Распознавание «чужого» .....	37
3.1. Патогенассоциированные молекулярные паттерны .....	38
3.2. Паттернраспознающие рецепторы .....	40
3.3. Опсонинопосредованные рецепторы .....	52
Глава 4. Факторы внутриклеточной и внеклеточной бактерицидности .....	56
4.1. Гранулы кислороднезависимой бактерицидности .....	60
4.2. Кислородзависимая бактерицидность .....	76
Глава 5. Гибель нейтрофилов .....	85
Глава 6. Нейтрофильные внеклеточные ловушки .....	98
6.1. Механизм образования нейтрофильных внеклеточных ловушек .....	98
6.2. Технологии определения нейтрофильных внеклеточных ловушек .....	103
6.3. Влияние циклоферона на образование нейтрофильных внеклеточных ловушек .....	112
6.4. Влияние вакцины «Солкотриховак» на образование нейтрофильных внеклеточных ловушек .....	114

<b>Часть II. Методы изучения функционального статуса нейтрофилов .....</b>	<b>120</b>
<b>Глава 7.</b> Получение материала для исследования .....	<b>120</b>
<b>Глава 8.</b> Методы оценки количества и жизнеспособности нейтрофилов в биологических жидкостях. Методы обнаружения нейтрофильных ловушек .....	<b>126</b>
<b>8.1.</b> Методы оценки количества и жизнеспособности нейтрофилов .....	<b>126</b>
<b>8.2.</b> Методы обнаружения нейтрофильных ловушек .....	<b>131</b>
<b>Глава 9.</b> Изучение функциональной активности нейтрофилов .....	<b>135</b>
<b>9.1.</b> Определение фагоцитарной функции нейтрофилов .....	<b>135</b>
<b>9.2.</b> Определение лизосомальной активности нейтрофилов .....	<b>138</b>
<b>9.3.</b> Оценка внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов .....	<b>140</b>
<b>Глава 10.</b> Оценка антимикробной и локомоторной функции нейтрофилов .....	<b>145</b>
<b>10.1.</b> Определение антимикробных функций нейтрофилов и их бактерицидных субстанций .....	<b>145</b>
<b>10.1.1.</b> Оценка бактерицидной функции фагоцитов периферической крови методом проточной цитофлюориметрии .....	<b>145</b>
<b>10.1.2.</b> Определение индекса завершенности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови .....	<b>146</b>
<b>10.1.3.</b> Упрощенный фотонепелометрический метод определения бактерицидной активности секреторных продуктов нейтрофилов .....	<b>148</b>
<b>10.1.4.</b> Классический метод определения	

	бактерицидной активности секреторных продуктов активированных и неактивированных нейтрофилов .....	149
<b>10.1.5.</b>	Оценка бактерицидной активности мукозальных секретов человека с помощью лазерной проточной цитофлюориметрии ....	149
<b>10.1.6.</b>	Определение влияния супернатантов неактивированных и активированных нейтрофилов на адгезию <i>Candida albicans</i> на вагинальном и буккальном эпителии .....	150
<b>10.1.7.</b>	Определение оксида азота в супернатантах нейтрофилов и мукозальных секретах .....	151
<b>10.1.8.</b>	Определение активности пероксидазы в мукозальных секретах и в супернатантах интактных и активированных нейтрофилов .....	153
<b>10.1.9.</b>	Определение лизоцима в супернатантах интактных и активированных нейтрофилов и в мукозальных секретах .....	154
<b>10.1.10.</b>	Определение дефенсинов в цервикальной и вагинальной слизи, супернатантах интактных и активированных нейтрофилов .....	155
<b>10.1.11.</b>	Определение внутриклеточных дефенсинов в нейтрофилах человека методом лазерной проточной цитометрии .....	157
<b>10.1.12.</b>	Определение бактерицидного/индуцирующего протеина в мукозальных секретах, супернатантах интактных и активированных нейтрофилов .....	158
<b>10.1.13.</b>	Определение лактоферрина в мукозальных секретах, супернатантах интактных и активированных нейтрофилов .....	159
<b>10.2.</b>	Оценка локомоторной функции нейтрофилов .....	162
<b>Глава 11.</b>	Определение провоспалительных цитокинов .....	165

11.1.	Определение уровня интерлейкина-1 .....	165
11.2.	Определение уровня интерлейкина-6 .....	171
11.3.	Определение уровня интерлейкина-8 .....	174
11.4.	Определение уровня фактора некроза опухоли- $\alpha$ .....	175
Глава 12.	CD-типирование нейтрофилов .....	178
Заключение .....		181
Приложение 1. ....		184
Приложение 2. ....		187
Литература .....		190