

The background of the cover is a dark, textured purple. It features several 3D-rendered neutrophils, which are spherical cells with a granular, multi-colored interior (red, blue, yellow) and a translucent, textured outer membrane. The cells are arranged in a loose, descending pattern from the top right towards the bottom left. The title text is overlaid on this background.

**НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ:  
ОТРАЖЕНИЕ В ЗЕРКАЛЕ СОВРЕМЕННЫХ  
ПРЕДСТАВЛЕНИЙ**

**Под редакцией  
И.В.Нестеровой и Г.А.Чудиловой**

**UK, USA, Moscow**

**2018**

**НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ:  
ОТРАЖЕНИЕ В ЗЕРКАЛЕ  
СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ**

Под редакцией  
И.В.Нестеровой и Г.А.Чудиловой



*Capricorn Publishing*

**UK, USA, Moscow 2018**

УДК 612.112.91:612.017.1

ББК 28.05

N45

**© Коллектив авторов 2018:**

И.В. Нестерова – д-мн, профессор - профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФПК МР МИ РУДН Минобрнауки РФ; гнс ЦНИЛ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

Г.А. Чудилова – к-бн, доцент, зав. отделом ЦНИЛ; доцент кафедры иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

С.В. Ковалева – к-мн, снс ЦНИЛ; ассистент кафедры иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

В.А. Тараканов-д-мн., профессор, член-корреспондент МАН ВШ, зав. кафедрой хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

Л.В. Ломтатидзе – к-бн, снс ЦНИЛ; ассистент кафедры иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

Н.В. Колесникова- д-м.н., профессор, зав. ЦНИЛ, профессор кафедры иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

Т.В. Русинова - к-бн, снс ЦНИЛ; ассистент кафедры иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

А.А.Евглевский – к-мн, доцент, снс ЦНИЛ; доцент кафедры гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ;

В.В. Малиновская – д-бн, профессор; заведующая лабораторией онтогенеза и коррекции системы интерферонов «ФГБУ «НИЦЭМ им. П.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ;

N45

**НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ: ОТРАЖЕНИЕ В ЗЕРКАЛЕ СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ**

Под редакцией И.В.Нестеровой, Г.А.Чудиловой. - Москва, 2018. - 338 с, 88 рисунок, 33 таблицы, 14 иллюстраций. Библиография: 275 источников.

В последние десятилетия во всем мире значительно возрос интерес исследователей к изучению удивительных клеток иммунной системы нейтрофильных гранулоцитов (НГ). Современные исследования убедительно свидетельствуют о том, что НГ являются не просто клетками быстрого реагирования - «профессиональными киллерами», уничтожающими посредством различных механизмов агрессивные бактерии, вирусы, грибы, но и ключевыми эффекторными и регуляторными клетками, как врожденного, так и адаптивного иммунитета, и, при этом, играют решающую роль в иммунопатогенезе широкого спектра заболеваний, как инфекционно-воспалительных, так и аутоиммунных, аллергических и онкологических. Коллектив авторов данной книги занимается изучением различных сторон функционирования НГ, как в норме, так и при различных патологических состояниях в течение более чем 40 лет. В монографии представлен современный анализ научных данных, полученных, как отечественными, так и зарубежными исследователями. Кроме того, описаны наиболее интересные, с нашей точки зрения, исследования, проведенные нашим коллективом в течение последнего десятилетия. Они посвящены детекции различных субпопуляций НГ, изменениям их фенотипа и функциональной активности при различных нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваниях, как у детей, так и у взрослых пациентов, а при онкопатологии, – колоректальных раках, у взрослых пациентов. При этом продемонстрирована, как диагностическая, так и прогностическая значимость детекции различных субпопуляций НГ и трансформации их фенотипа. Особенности фенотипа НГ и их функциональных свойств демонстрируют наличие субпопуляций НГ с различными возможностями: разной рецепторной оснащенностью, способностью реструктуризировать хроматин, экспрессировать гены цитокинов и секретировать цитокины, реализовывать содержимое гранулярного аппарата, продуцировать активные формы кислорода, осуществлять цитотоксичность, образовывать NET. Приводится современная классификация субпопуляций НГ. Дисфункции НГ: количественные или функциональные дефекты, отсутствие адекватного реагирования - блокада функций приводят к развитию вялотекущих, не отвечающих на традиционную терапию острых или хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, гиперактивация НГ имеет место при аутоиммунных заболеваниях и других иммунозависимых процессах. Ремоделирование дисфункций НГ – ключ к новым иммунотерапевтическим стратегиям. Мы полагаем, что монография будет интересна не только клиническим иммунологам и аллергологам, но и инфекционистам, педиатрам, терапевтам, отоларингологам, научным сотрудникам, преподавателям, аспирантам, студентам медицинских вузов и биологических факультетов университетов.

**Рецензенты:**

академик РАН В.А. Козлов

академик РАН, И.И. Долгушин

ISBN: 978-0-9774757-8-0

Издано и напечатано в России по лицензии американского издательства Кэприкорт Паблишинг  
Published in the United States and Great Britain by



Capricorn Publishing

©Capricorn Publishing, Inc., in 2018

## **Оглавление**

ВВЕДЕНИЕ.....	11
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	14
ГЛАВА 1. НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ: ПЕРЕОСМЫСЛЕНИЕ СТАРЫХ ДОГМ.....	15
1.1. Рецепторный репертуар нейтрофильных гранулоцитов.....	16
1.2. Гранулярный аппарат нейтрофильных гранулоцитов.....	19
1.3. Цитокинсекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов.....	22
1.4. Нейтрофильные экстрацеллюлярные сети.....	27
1.5. Гибель нейтрофильных гранулоцитов: некроз, апоптоз и NETosis.....	29
1.6. Регуляторные влияния нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии.....	31
1.7. Нейтрофильные гранулоциты при инфекционных заболеваниях.....	34
1.8. Нейтрофильные гранулоциты в противовирусной защите..	36
1.9. Фенотипический профиль и функциональные особенности нейтрофильных гранулоцитов при ифекционно-воспалительных заболеваниях.....	38
Заключение.....	46
Список литературы.....	49
ГЛАВА 2. РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА И ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ IL8 И IL1 $\beta$ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГМДП И IFN $\gamma$ .....	57
2.1. Особенности реструктуризации хроматина нейтрофильных гранулоцитов здоровых людей по данным топологического исследования.....	63
2.2. Ремоделирование структуры хроматина и изменение уровня относительной экспрессии генов IL8 и IL1 $\beta$ нейтрофильных гранулоцитов под влиянием ГМДП и IFN $\gamma$ у больных хроническим гайморитом.....	66

Список литературы.....	72
<b>ГЛАВА 3. ДЕТЕКЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА СИГМА РЕЦЕПТОРОВ НА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.....</b>	<b>74</b>
3.1. Экспрессия нейтрофилами периферической крови человека чувствительных к галоперидолу сигма-рецепторов.....	74
3.2. Эффекты агониста, антагонистов сигма - рецепторов на функции нейтрофильных гранулоцитов в экспериментах <i>in vitro</i> .....	80
3.2.1 Особенности экспрессии поверхностных дифференцировочных антигенов нейтрофильных гранулоцитов и влияние на них антагониста $\sigma$ – рецепторов галоперидола.....	80
3.2.2. Модификация антигенного репертуара поверхностной цитоплазматической мембраны нейтрофильных гранулоцитов агонистом и антагонистами сигма-рецепторов.....	84
3.3. Влияние галоперидола, N-аллилнорметазоцина, Rimcasol, Dextrophan на фагоцитарную функцию нейтрофильных гранулоцитов.....	91
3.4. Действие галоперидола, ( $\pm$ )-SKF10047, Rimcasol, Dextrophan на антимикробный потенциал фагоцитов здоровых детей.....	98
3.5. Влияние галоперидола на активность эстеразного компонента микробицидной системы.....	103
Список литературы.....	111
<b>ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ.....</b>	<b>114</b>
4.1. Определение профилей трансформации цитотоксических и микробицидных механизмов нейтрофильных гранулоцитов у новорожденных детей.....	114
4.1.1. Особенности физиологической реализации фагоцитарной функции и ассоциированной с ней активности микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов	

периферической крови у здоровых новорожденных.....	115
4.1.2. Особенности фагоцитарной и микробицидной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови у новорожденных при врожденной пневмонии тяжелого течения, осложненной неонатальным сепсисом..	120
4.2. Определение особенностей трансформации фенотипа нейтрофильных гранулоцитов при различных вариантах течения гнойно-септических заболеваний у детей.....	127
4.2.1. Особенности фенотипа нейтрофильных гранулоцитов у здоровых доношенных новорожденных по сравнению со здоровыми взрослыми субъектами.....	128
4.2.2. Характер трансформации фенотипа нейтрофильных гранулоцитов одномоментно экспрессирующих CD64, CD32, CD11b с учетом плотности экспрессируемых молекул у новорожденных с системным (неонатальный сепсис) или локальным (пневмония) инфекционно-воспалительными процессами.....	130
4.2.3. Особенности трансформации экспрессии CD62L, CD63 молекул на мембране нейтрофильных гранулоцитов при врожденной пневмонии у доношенных новорожденных.....	134
4.2.4. Ремоделирование фенотипа субпопуляций CD64-CD16+CD32+CD11b+ и CD64+CD16+CD32+CD11b+ нейтрофильных гранулоцитов при врожденной пневмонии у глубоко недоношенных новорожденных.....	138
4.3. Варианты экспрессии рецепторов CD64, CD32, CD16, CD11b на поверхностной мембране нейтрофильных гранулоцитов у здоровых детей и детей с гнойным лимфаденитом и абсцессами мягких тканей.....	147
Заключение.....	152
Список литературы.....	157
<b>ГЛАВА 5. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ С ВИРУСНЫМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ КО-ИНФЕКЦИЯМИ.....</b>	<b>159</b>

5.1. Особенности фенотипа и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у иммунокомпрометированных детей с повторными ОРВИ ассоциированными с различными герпесвирусными инфекциями.....	161
5.2. Варианты фенотипа нейтрофильных гранулоцитов, ассоциированные с различными дефектами фагоцитарной функции, у детей с повторными респираторными вирусно-бактериальными и различными герпесвирусными инфекциями, сопровождающимися хронической ЛОР-патологией.....	168
5.3. Трансформации фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов при ассоциированных вирусно-вирусных и бактериальных инфекциях у иммунокомпрометированных детей.....	175
Заключение.....	185
Список литературы.....	189
<b>ГЛАВА 6. ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОСТЬ ВАРИАНТОВ СУБПОПУЛЯЦИЙ ТРАНСФОРМИРОВАННОГО ФЕНОТИПА CD16+CD11b+ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ВИРУСНОЙ И ОСТРОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИЯХ.....</b>	<b>191</b>
6.1. Дифференцированность вариантов субпопуляций трансформированного фенотипа CD16+CD11b+ нейтрофильных гранулоцитов при острой вирусной и острой бактериальной инфекциях.....	191
6.2. Оценка эффектов натриевой соли ДНК эукариот и агониста TLR9 – ODN2395 на субпопуляционный состав популяции CD16+CD11b+НГ здоровых лиц и пациентов с острой вирусной и бактериальной инфекцией.....	204
Заключение.....	210
Список литературы.....	212
<b>ГЛАВА 7. РОЛЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЗАЩИТЫ.....</b>	<b>214</b>
7.1. Неоднозначная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты.....	214

7.2. Цитокиновая регуляция фенотипа и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с колоректальным раком в системе <i>in vitro</i> .....	220
7.3. Ремоделирование структуры хроматина и изменение фенотипа нейтрофильных гранулоцитов под влиянием G-CSF у больных колоректальным раком в системе <i>in vitro</i> .....	239
7.3.1. Изменение фенотипа и ремоделирование структуры хроматина нейтрофильных гранулоцитов под влиянием ИФНа у больных колоректальным раком в системе <i>in vitro</i> .....	247
Список литературы.....	250
<b>ГЛАВА 8. ВОЗМОЖНОСТИ МОДУЛЯЦИИ ДЕФЕКТНОГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ.....</b>	<b>252</b>
8.1. Трансформация фенотипа и функциональных возможностей нейтрофильных гранулоцитов на фоне комбинированной интерфероно- и иммунотерапии у иммунокомпрометированных детей с повторными ОРВИ, ассоциированными с герпесвирусными инфекциями.....	252
8.2. Влияние интерфероно- и иммунотерапии на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов у иммунокомпрометированных детей с возвратными вирусно-бактериальными инфекциями.....	268
Заключение.....	280
8.3. Эффективность комбинированной интерфероно- и иммунотерапии при хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях генитального тракта у женщин.....	282
Список литературы.....	292
<b>ГЛАВА 9. МЕТОДЫ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ СИСТЕМЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ.....</b>	<b>295</b>
9.1. Оценка фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов.....	295
9.1.1. Реакция бактериального фагоцитоза нейтрофилов с определением степени завершенности (И. В. Нестерова, 1988).....	295



9.1.2. Определение фагоцитарной активности НГ с использованием зимозана (Нестерова И.В. и соавт., 1996, модификация).....	298
9.1.3. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови методом проточной цитофлуориметрии (набор Phagotest®).....	299
9.1.4. Определение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови методом проточной цитофлуориметрии (Мазуров Д.В., Пинегин Б.В., 2000).....	300
9.2. Цитохимические методы диагностики.....	301
9.2.1. Определение активности щелочной фосфатазы нейтрофилов по М. Г. Шубичу (1965).....	303
9.2.2. Определение активности кислой фосфатазы лейкоцитов (Шубич М.Г., Нестерова И. В., 1980).....	304
9.2.3. Определение катионных белков.....	306
9.2.3.1. Определение катионных белков (по Пигаревскому в модификации Нестеровой И.В., 1992).....	306
9.2.3.2. Способ определения функционального потенциала нейтрофильных гранулоцитов по реализации неферментных катионных белков (И.В. Нестерова, М. А. Светличная, изобретение по заявке 4290225/28-14,1987г.).....	307
9.2.4. Определение активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов по Sato (1928).....	309
9.2.4.1. Способ определения функционального резерва нейтрофильных гранулоцитов по уровню расходования миелопероксидазы (Нестерова И.В., Фомичева Е.В., 2000). .....	311
9.2.5. Определение активности хлорацетат-AS-D-эстеразы в нейтрофильных гранулоцитах в модификации Нестеровой И.В., 1983.....	312
9.2.5.1. Способ определения функционального потенциала нейтрофилов по расходованию хлорацетат-AS-D-эстеразы (Нестерова И.В., Чудилова Г.А., патент РФ 2082972 от 26.06.1997).....	313

9.2.6. Оценка оксидазных микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов в спонтанном и стимулированном NBT – тесте (Нестерова И.В., 1980).....	315
9.2.6.1. Оценка оксидазных микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов в спонтанном и стимулированном зимозаном NBT-тесте (модификация Нестеровой И.В. и соавт., 1996).....	318
9.2.7. Методика определения активационного потенциала нейтрофильных гранулоцитов по топологическим свойствам хроматина их ядер (Евглевский А.А., 2000).....	319
9.2.7.1. Метод определения индуцированной реструктуризации ядерного хроматина (Нестерова И.В., Фомичева Е.В., 2002).....	321
9.2.8. Методика выявления и оценки нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей (NET) в гнойном отделяемом и различных экссудатах (Евглевский А.А., 2017).....	322
9.3. Иммунофенотипирование нейтрофильных гранулоцитов методом проточной цитометрии.....	324
9.3.1. Определение популяционного состава нейтрофильных гранулоцитов.....	324
9.3.1.1. Определение фенотипа нейтрофильных гранулоцитов по одному маркеру.....	325
9.3.1.2. Фенотипирование нейтрофильных гранулоцитов с помощью мультипараметрического (многоцветного) анализа поверхностных CD маркеров.....	326
9.3.1.3. Определение экспрессии TLR9 нейтрофильными гранулоцитами и моноцитами с помощью проточной цитометрии.....	329
9.4. Определение относительной экспрессии генов цитокинов IL8 и IL1 $\beta$ методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).....	331
9.4.1. Этапы проведения ПЦР-РВ.....	331
9.4.1.1. Выделение чистой взвеси нейтрофилов на градиенте плотности (Нестерова И.В. и соавт., 1996) и индукция экспрессии генов цитокинов.....	331

9.4.1.2. Выделение РНК из НГ периферической крови.....	332
9.4.1.3. Проведение реакции обратной транскрипции.....	332
9.4.1.4. Проведение ПЦР-РВ.....	332
9.4.1.5. Анализ полученных данных.....	332
9.4.1.6. Оценка полученных результатов.....	334
9.5. Определение цитокин продуцирующей способности нейтрофильных гранулоцитов на примере определения уровня IL8.....	335
9.5.1. Выделение чистой взвеси нейтрофилов.....	335
9.5.1.1. Определение жизнеспособности клеток методом экслюзии трипанового синего (Кондратьева И. А., Самуилова В.Д., 2001).....	336
9.5.2. Культивирование нейтрофилов (модификация Кондратьевой И. А., Самуиловой В.Д., 2001).....	336
9.5.3. Иммуноферментный анализ определения IL8.....	337