

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ _____
подпись инициалы, фамилия
« _____ » _____ 2018 г

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных
гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии
заболевания

06.04.01 – Биология

06.04.01.05 – Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель _____ профессор, д.м.н. _____ О.В. Смирнова
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник _____ Я. Д. Старовойт
подпись, дата инициалы, фамилия

Рецензент _____ с.н.с., к.б.н. _____ О.Л. Москаленко
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Красноярск 2018

Аннотация

Магистерская диссертация посвящена изучению активности нейтрофильных гранулоцитов при гемобластозах. Несмотря на ряд проведенных исследований, взаимосвязь между особенностями реагирования иммунной системы и злокачественной опухолью ещё не до конца определена.

Целью данного исследования являлось изучение особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.

Исходя из поставленной цели, были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Изучить особенности спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.

2. Изучить особенности индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.

3. Изучить особенности спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от стадии и поражения почек.

Объектом исследования была венозная кровь больных множественной миеломой G-иммунохимического варианта и контрольной группы, состоящей из полностью здоровых добровольцев.

В исследовании использовался метод хемилюминесцентного анализа активности нейтрофильных гранулоцитов и статистический метод.

Результаты исследования показали, что у больных множественной миеломой на всех стадиях заболевания показатели хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов повышались, в сравнении с контрольной группой.

Автореферат

Магистерская диссертация по теме: «Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания» содержит 48 страниц текстового документа, 11 иллюстраций, 2 таблицы и 50 использованных источников.

МНОЖЕСТВЕННАЯ МИЕЛОМА, НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ, ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ЛОВУШКИ, МЕТОД ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ.

Цель диссертационной работы:изучить особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности спонтанной хемилюминесцентной активностинейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.
2. Изучить особенности индуцированной хемилюминесцентнойактивности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.
3. Изучить особенности спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от стадии и поражения почек.

Актуальность диссертационной работы в том, что, несмотря на современные способы терапии, способствующие увеличению продолжительности и повышению качества жизни больных множественной миеломой, успехи в лечении этого заболевания далеки от уровня, достигнутого в отношении других злокачественных опухолей кроветворной системы. Ранняя диагностика множественной миеломы может оказаться ключевым моментом в профилактике смертности этого опасного заболевания.

Abstract

Master's thesis: "Features of the chemiluminescence activity of neutrophils in multiple myeloma depending on the stage of the disease" contains 48 pages of a text document, 11 illustrations, 2 tables and 50 references.

MULTIPLE MYELOMA, NEUTROPHILIC GRANULOCYTES, NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS, THE METHOD OF CHEMILUMINESCENCE.

The purpose of the thesis: to study the features of the chemiluminescent activity of neutrophils in multiple myeloma depending on the stage of the disease.

Objectives of the study:

1. To study the features of spontaneous chemiluminescence activity of neutrophil granulocytes in multiple myeloma depending on the stage of the disease.
2. To study the features of induced chemiluminescent activity of neutrophil granulocytes in multiple myeloma depending on the stage of the disease.
3. To study the features of spontaneous and induced chemiluminescent activity of neutrophil granulocytes depending on the stage of kidney damage.

The relevance of the thesis is that despite the modern methods of therapy, contributing to the increase in the duration and quality of life of patients with multiple myeloma, advances in the treatment of this disease are far from the level achieved with regard to other malignant tumors of the hematopoietic system. Early diagnosis of multiple myeloma may be a key factor in preventing the mortality of this dangerous disease.

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Множественная миелома – основные клинические- эпидемиологические особенности	8
1.1.1 Определение	8
1.1.2 Эпидемиология	8
1.1.3 Этиология	9
1.1.4 Патогенез	10
1.1.5 Классификация.....	11
1.1.6 Клиника.....	12
1.1.7 Диагностика.....	13
1.1.8 Лечение	14
1.2 Роль нейтрофильных гранулоцитов в генезе онкологических заболеваний.....	17
1.2.1 Общие сведения	17
1.2.2 Про- и противоопухолевая активность нейтрофильных гранулоцитов	19
1.2.3 Внеклеточные нейтрофильные ловушки.....	21
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	24
2.1 Материалы исследования.....	24
2.1.1 Общая характеристика обследования пациентов	25
2.1.2 Хемилюминесцентный анализ нейтрофильных гранулоцитов.....	26
2.1.3 Статистические методы исследования	27
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ	28
ВЫВОДЫ.....	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	28

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома - это злокачественное лимфопролиферативное заболевание, которое сопровождается экспансией клона трансформированных плазматических клеток в костный мозг, что приводит к остеолитическому разрушению костей, гиперкальцемии, почечной недостаточности и другим типам нарушений [1]. Характеризуется множественная миелома злокачественной опухолевой пролиферацией плазматических клеток одного клона с гиперпродукцией моноклонального иммуноглобулина (IgG, IgA, IgD либо IgE) и/или свободных моноклональных легких цепей иммуноглобулинов [2].

Преобладающая локализация ММ-клеток в костном мозге является главной характеристикой этого заболевания. Перекрестные механизмы между клетками ММ и стромальными клетками костного мозга поддерживают лекарственную устойчивость, миграцию, пролиферацию и выживание клеток ММ, а также ангиогенез и остеокластогенез [3]. Множественная миелома составляет 13% от всех гемобластозов (неопластических заболеваний кроветворной и лимфатической ткани) и 1% от всех онкологических заболеваний в целом [4,5].

Нейтрофильные гранулоциты являются ключевыми клетками воспаления и представляются высокорепактивным звеном в иммунной системе. Нейтрофилы первыми направляются в очаг воспаления; эффективность противомикробной защиты организма зависит от их фагоцитарной активности [6]. В настоящее время роль нейтрофилов в динамике канцерогенеза представляется достаточно спорной. С одной стороны, накопленные данные доказывают активное проопухолевое участие нейтрофилов в патофизиологии рака и опухолевой прогрессии: это стимуляция неоангиогенеза, инвазия опухоли, подавление функций Т-клеток. С другой же стороны, нейтрофилы могут быть потенциальными противоопухолевыми эффекторными клетками. Цитотоксическое и

антимикробное содержимое гранул может применяться для уничтожения неоплазмы. Хемокины и цитокины, секретируемые нейтрофильными гранулоцитами, также могут активировать другие эффекторные противоопухолевые клетки [7].

Таким образом, целью нашего исследования явилось изучить особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.

Исходя из поставленной цели, были сформулированы следующие задачи:

- Изучить особенности спонтанной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.
- Изучить особенности индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии заболевания.
- Изучить особенности спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от стадии и поражения почек.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Множественная миелома – основные клинико-эпидемиологические особенности

1.1.1 Определение

Множественная миелома (ММ) представляет собой зрелую В-клеточную злокачественную опухоль, характеризующуюся моноклональным расширением плазматических клеток в костном мозге, что приводит к разрушению костной ткани и костного мозга [8]. Предшествует этому злокачественному многоступенчатому заболеванию прогрессирующее возрастное предраковое состояние, известное как моноклональная гаммопатия неопределённого значения [9].

Множественная миелома считается одной из наиболее распространенных лимфопролиферативных заболеваний. Повреждение органов при ММ является комплексным и включает угнетение костного мозга, деструкцию костей и почечную недостаточность, что может стать причиной нарушения физической, психической и социальной составляющей качества жизни [10].

1.1.2 Эпидемиология

Множественная миелома входит в число многократно встречающихся злокачественных заболеваний системы крови (13% от всех гемобластозов). Эта заболеваемость составляет 4-6 случаев на 100 000 населения. Смертность при множественной миеломе высока, а возраст пациентов при установлении диагноза составляет от 65 до 70 лет. Для больных, получивших лечение, выживаемость составляет от 18 до 62 месяцев, для пациентов, не получавших лечение – до 12 месяцев [11]. Ежегодно регистрируется около 86 000 новых случаев множественной миеломы, и 63 000 с летальным исходом [5].

Географически ММ широко варьирует в разных регионах мира и максимальна в индустриализованных районах Австралии, Северной Америки, Новой Зеландии и Европы. В странах Восточной Азии, особенно в Японии, этот показатель низок и не превышает 1,2 случая на 100 тыс. населения в год. Китай (1,3), Тайвань (1,8) и Южная Корея (1,4) относятся к странам с низкой заболеваемостью Множественной миеломой [12]. В США заболевание диагностируется у более 30 000 человек ежегодно, что приводит к 12 000 случаям смерти [13]. В России было зарегистрировано всего 2723 первичных случаев множественной миеломы, заболеваемость составила 1,9 на 100 тыс. населения [14]. По другим данным средняя заболеваемость ММ по России, в целом, равняется 1,2 случая на 100 тыс. населения в год [12].

Фиксируются значимые различия распространённости ММ среди людей различных рас. Заболевание чаще встречается у представителей негроидной расы (до 18,2 на 100 000 тыс. населения) [15]. Таким образом, у мужчин-афроамериканцев в США показатель заболеваемости достигает 10,8 на 100 тыс., у белых мужчин - 5,3 на 100 тыс. населения в год. У женщин этот показатель равен 7,2 и 3,3 случаев на 100 тыс. населения соответственно. Показатель заболеваемости в Японии, Китае и Сингапуре не превышает 1,5 на 100 тысяч населения, риск возникновения заболевания крайне низок [16].

1.1.3 Этиология

Этиология ММ до сих пор остаётся не установленной. К возможным этиологическим факторам относят такие критерии, как возраст (пациенты 65 лет и старше), пол (мужчины подвергаются значительно большему риску, чем женщины), раса (более восприимчивы к заболеванию представители негроидной расы), генетическая предрасположенность, ожирение/избыточный вес, а также другие заболевания плазматических клеток [17].

Ионизирующая радиация может являться наиболее допустимым фактором риска множественной миеломы, поэтому у людей, работающих в

атомной промышленности или переживших атомное бомбардирование наблюдается повышенная заболеваемость [18].

1.1.4 Патогенез

Возникает множественная миелома на уровне ранних предшественников В-лимфоцитов; моноклональный пул потомков первично трансформированной клетки сохраняет способность к дифференцированию до завершающего этапа – плазматических клеток. Клетки утрачивают цитоплазматические иммуноглобулины по мере созревания, тем не менее эти иммуноглобулины возникают на их поверхностной мембране. В результате эти клетки преобразовываются в полностью зрелые плазматические клетки, теряющие поверхностные иммуноглобулины. Между тем, они могут секретировать иммуноглобулины соответствующего класса в межклеточную среду. Процесс дифференцировки В-клеток предшественниц в зрелые клетки определяется как сериями перестроек сегментов генов иммуноглобулинов, так и обретением, и лишением поверхностных маркеров в соответствии с последовательностью этапов дифференцировки. Зрелые плазматические клетки утрачивают В-клеточные антигены и приобретают антиген CD38[19]. Следует отметить существование важного иммунологического маркера злокачественных плазматических клеток - CD138 (синдекан-1). Он способен усиливать адгезию миеломных клеток к строме костного мозга, а также стимулировать ангиогенез, который необходим для роста и метастазирования опухоли [11]. Гены, которые кодируют синтез лёгких и тяжёлых цепей иммуноглобулинов, локализованы в 14 хромосоме (для тяжёлых цепей), а также во 2 и 22 хромосоме (для лёгких цепей κ , λ) [19]. Исходя из всего этого множественная миелома считается очень опасным заболеванием.

1.1.5 Классификация

Морфологическим субстратом ММ являются плазматические клетки, продуцирующие моноклональный иммуноглобулин и/или легкие цепи иммуноглобулинов. В зависимости от класса секретируемого иммуноглобулина или лёгких цепей выделяют следующие формы миеломы [20]:

- G-миелому (в 60 – 64% случаев заболевания);
- A-миелому (12, 4 – 15%);
- миелому Бенс-Джонса (16 – 18%);
- M- D- E- миелому, несекретирующую форму миеломы (менее 3%);
- диклоновую миелому (1 – 3,8%).

ММ делится на стадии и подстадии, и до настоящего времени используется система, предложенная В. G. M. Durie и S. E. Salmon (1975). Классификация основана на представлении об опухолевой прогрессии и корреляции между массой опухоли, определяемой по продукции парапротеина, клиническими проявлениями и прогнозом у больных с множественной миеломой [18].

I стадия заболевания:

- Масса опухолевых клеток составляет <600 г/м²;
- Гемоглобин > 100 г/л;
- Уровень кальция в сыворотке $<2,88$ ммоль/л;
- Рентгенологически нормальная структура кости или только один солитарный очаг деструкции;
- Низкая степень продукции моноклонального протеина (Ig G при G-миеломе <50 г/л; Ig A при A-миеломе <30 г/л);
- Протеинурия Бенс-Джонса <4 г/24 ч.

II стадия заболевания (показатели не укладывающиеся ни в I, ни в III стадию заболевания):

- Средняя скорость продукции М-компонента, масса опухолевых клеток соответствует 600-1200 г/м²;

III стадия заболевания:

- Миеломноклеточная масса превышает 1200 г/м²;
- Гемоглобин <85 г/л;
- Уровень кальция в сыворотке >2,88 ммоль/л;
- Множественные очаги деструкции в костях скелета;
- Высокая степень продукции моноклонального протеина (Ig G при G-миеломе >70 г/л; Ig A при A-миеломе >50 г/л);
- Протеинурия Бенс-Джонса >12 г/24 ч.

Значение функции почек разделяется на подгруппы А и Б в зависимости от уровня креатинина сыворотки крови:

- А – нормальная функция почек (уровень креатинина в сыворотке крови <180 ммоль/л);
- В – функция почек нарушена (уровень креатинина в сыворотке >180 ммоль/л).

1.1.6 Клиника

Определяется симптоматика Множественной миеломы инфильтрацией костного мозга клональными плазматическими клетками и органными повреждениями, охватывающими костную болезнь, нарушения иммунной системы и дисфункцию почек. Заболевание в 10-20% случаев носит бессимптомный характер и проявляется случайно при плановых обследованиях, когда в моче обнаруживается высокая СОЭ или белок.

Типичными клиническими признаками ММ считаются [19]:

- Гиперкальциемия (полиурия, полидипсия, тошнота, рвота);
- Амилоидоз (периферическая нейропатия, отеки, органомегалия);

- Костная болезнь (боль в костях, переломы костей скелета, радикулярная боль);
- Снижение уровня нормальных иммуноглобулинов (частые инфекции, пневмонии);
- Синдром гипервязкости (одышка, транзиторные ишемические атаки, тромбоз глубоких вен, кровоизлияние в сетчатку глаз, носовые кровотечения);
- Инфильтрация миеломными клетками костного мозга (анемия, геморрагический синдром);
- Почечная недостаточность (тошнота, рвота, недомогание, слабость);
- Криоглобулинемия (Синдром Рейно, акроцианоз).

Перечень локализаций распространения ММ широк; в него входят поражения кожи, молочных желез, ретикуло-эндотелиальной системы, центральной нервной системы, орбитальных структур, легких, плевры, лимфатических узлов, а также органов брюшной полости и забрюшинного пространства. Внекостная плазмоцитарная инфильтрация, в большинстве случаев, принадлежит к поражениям верхних дыхательных путей [15].

Одним из наиболее часто встречающихся и тяжёлых усугублений ММ является почечное повреждение. Встречаемость хронической болезни почек при множественной миеломе варьируется от 20 до 50% [21].

1.1.7 Диагностика

Рекомендации по обследованию пациентов с подозрениями на ММ включают: клинические обследования (сбор анамнеза, физический осмотр и т.д.), лабораторные методы исследования (развёрнутый клинический анализ крови, общий анализ мочи, определение уровня иммуноглобулинов и др.) методы лучевой диагностики (рентгенография костей, компьютерная

томография костей). Дополнительно могут выполняться цитогенетические исследования и магнитно-резонансная томография [11].

Необходимость диагностики пациентов с неспецифическими проявлениями не должна быть занижена, потому что около 10-20% пациентов с множественной миеломой не имеют литических повреждений при рентгенографии. В конечном итоге МРТ и ПЭТ / КТ являются важными обследованиями при диагностике ММ [22].

В последние два десятилетия в отношении диагностики, стадийности, терапии и визуализации множественной миеломы были достигнуты успехи. В настоящее время при диагностике, в качестве эффективного отображения для ММ, рекомендуется магнитно-резонансная томография (МРТ). Однако для первоначальной постановки и терапевтического мониторинга в этой патологии по-прежнему используется позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) в сочетании с компьютерной томографией с использованием Фтордезоксиглюкозы (18F-FDG) [23].

1.1.8 Лечение

Основополагающее место в лечении больных множественной миеломой принадлежит лекарственным средствам, подавляющим пролиферацию и оказывающим воздействие на апоптоз опухолевых клеток, тем самым необратимо повреждая их и блокируя ангиогенез. Длительное время для лечения ММ применялись различные цитостатические препараты в виде монотерапии или комбинированной химиотерапии, охватывающей несколько противоопухолевых агентов [24].

К препаратам монотерапии относят: талидомид, леналидомид, бортезомиб, помалидомид (ПОМ), карфилзомиб, маризомиб, MLN9708. Кроме того, к числу новых препаратов относятся: перифосин, ромидепсин, вориностат, росилиностат, танеспимицин и другие. Из программ комбинированной

химиотерапии хорошо зарекомендовали себя следующие: ARA-COP (цитарабин; циклофосфамид; винкристин; преднизолон), M-2 (VMPC) (мелфалан; циклофосфамид; ломустин (CCNU); винкристин; преднизолон), COP + M (циклофосфамид; винкристин; мелфалан; преднизолон). Широкое распространение у пожилых пациентов получила программа MP (мелфалан; преднизолон) [24,25].

Стоит также отметить, что разработка и внедрение новых лекарственных средств, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и широкое использование высокодозной терапии в клиническую практику основательно улучшили результаты лечения больных множественной миеломой [25].

Ведущими целями лечения множественной миеломы являются подавление роста опухоли, увеличение продолжительности жизни больных и максимальное улучшение качества жизни. Цели достигаемы путём проведения современных программ химиотерапии, которые включают в себя использование лекарственных препаратов (леналидомид, бортезомиб, талидомид) [24,26].

За последнее десятилетие существенные успехи в лечении заболевания связаны с применением высокодозной химиотерапии (ВДХТ), аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) и внедрением новых лекарственных препаратов в клиническую практику для лечения рецидивов [27]. Преимущественно распространенным методом лечения миеломы является аутологичная трансплантация стволовых клеток. В Великобритании проводится более 1400 операций в год; выполняются процедуры на пожилых пациентах, имеющих сопутствующие патологии и хрупкость [28].

Показаниями к началу лечения при ММ служат [24]:

- появление клинических симптомов;
- нарастание уровня парапротеина;
- снижение показателей красной крови;

- повышение пролиферативного индекса опухолевых клеток;
- наличие литических очагов в костях скелета с развитием болевого синдрома;
- увеличение содержания опухолевых клеток в миелограмме на 10% и более.

Лечение множественной миеломы необходимо начинать на ранней стадии заболевания. В это время клетки более чувствительны к лекарственным препаратам, длительные ремиссии чаще, также наблюдается снижение развития серьезных побочных эффектов. Индукционная терапия действует как классический эволюционный ограничитель роста опухоли, таким образом уменьшая опухолевую массу. В итоге при последующей терапии наблюдается экспансия более индолентных клонов, приводящая к увеличению выживаемости больных ММ [25].

1.2 Роль нейтрофильных гранулоцитов в генезе онкологических заболеваний

1.2.1 Общие сведения

Традиционно нейтрофильные гранулоциты относят к фагоцитирующим клеткам. Вследствие их высокой подвижности, наличию мощных бактерицидных и цитотоксических продуктов, а также способности легко передвигаться в тканях, они рассматриваются как «высокопрофессиональные убийцы», входящие в состав своеобразного «отряда быстрого реагирования» в системе противoinфекционной защиты организма [29]. Нейтрофилы являются самыми многочисленными, но, в то же время, и самыми короткоживущими фагоцитами. Ежеминутно в кровь из костного мозга поступает около 7 млн этих клеток, продолжительность жизни которых не превышает 2-3 дней. Основной пул циркулирующих лейкоцитов в крови составляют именно нейтрофилы [30].

Нейтрофилы в большом количестве генерируются из гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге [31]. Дифференцируются эти клетки в мультипотентные клетки-предшественники (multipotent progenitor - MPP), не способные к самообновлению. Впоследствии MPP становятся мультипотентными предшественниками с лимфоидными пучками (lymphoid-primed multipotent progenitors – LMPPs), которые позже дифференцируются в предшественники гранулоцитов-моноцитов (granulocyte–monocyte progenitors GMPs). Под контролем гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (granulocyte colony-stimulating factor – G-CSF), GMP совершают генерацию нейтроцитов путём превращения в миелобласты. В итоге эти клетки следуют процессу созревания, включающему в себя стадии промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных гранулоцитов и, наконец, зрелого нейтрофила [32].

Нейтрофильные гранулоциты принимают участие в адаптивном иммунитете в реакциях антителозависимой цитотоксичности. Благодаря

своим медиаторам они способны влиять на разные этапы иммуногенеза. Во время ранней фазы они исполняют роль хелперов для макрофагов, а в позднюю – оказывают влияние на пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, тем самым усиливая в целом гуморальный иммунный ответ.

Нейтрофилы являются тканевыми клетками, участвующими в воспалительных антимикробных реакциях в тканях [29]. Тем не менее значительное число нейтрофильных гранулоцитов мигрирует в секрет на поверхность слизистых оболочек кишечника, бронхоальвеолярного дерева, гениталий. Попадая в слизистый биослой, они активируются под действием резидентной флоры и секретируют биоцидные продукты, участвующие как в антимикробной защите, так и в регуляции микробиоценозов, населяющих соответствующие биотопы. Миграция на поверхность слизистых оболочек для нейтрофилов является терминальной стадией, но их гибель имеет биологический смысл. Взаимодействие непатогенных нормальной микрофлорой слизистых оболочек с нейтрофилами вызывает дегрануляцию и высвобождение таких бактерицидных цитотоксических продуктов, как цитокины, метаболиты, ферменты, пептиды, O₂ и N₂, обладающих селективной бактерицидностью. Подавляя рост патогенной и условно-патогенной флоры, они не влияют на лакто- и бифидофлору. В результате, нейтрофилы участвуют в регуляции микробиоценозов слизистых оболочек [33].

Долгое время нейтрофильные гранулоциты было принято считать полностью дифференцированными эффекторными клетками воспалительного ответа. Фундаментальная роль нейтрофилов состояла во внеклеточном фагоцитозе с участием катионных белков и ферментов, а также активных форм кислорода. Они принимают участие в активации и регуляции эффекторных функций в других клетках неспецифического ответа и в клетках с определенным иммунитетом. Было доказано, что нейтрофилы играют ведущую роль в патогенезе многочисленных нарушений, от вне- и внутриклеточных инфекций [34,35].

Выделяют две основные группы нейтрофилов исходя из разнообразия их функций. К первой группе относятся нейтрофильные гранулоциты, обладающие регуляторными эффектами, к числу которых относят провоспалительные. Эти эффекты способны инициировать воспалительную реакцию, обладают позитивным микробицидным потенциалом и проявляют «агрессию» к негативному цитотоксическому материалу. Вторая группа обладает супрессорными функциями; противовоспалительные нейтрофилы, регулирующие регрессию воспаления; про- и противоопухолевые [36].

1.2.2 Про- и противоопухолевая активность нейтрофильных гранулоцитов

Представление о двойственной роли нейтрофилов в воспалении складывалось ещё в 80-х годах XX века. Было известно существование активированного состояния нейтрофилов, способного в конкретных условиях приводить к дополнительным повреждениям тканей организма-хозяина, осложняя течение заболевания [37]. Выделяя протеиназы ткани, активированные нейтрофилы вызывают повреждение окружающих тканей. Вместе с тем, они способны продуцировать многие цитокины и хемокины, влияющие на воспалительный ответ, а также на иммунный ответ [38].

Нейтрофильные гранулоциты могут оказывать противоречивое воздействие на опухолевый рост: с одной стороны, они инициируют опухолевую прогрессию, с другой стороны, приводят к её регрессии. Эта двойственность, в настоящее время, объясняется существованием двух фенотипов этих клеток – N1 и N2. Первые характеризуются противоопухолевой активностью, а вторые проопухолевыми свойствами [38,39].

Являясь важным компонентом воспаления, нейтрофильные гранулоциты способны сыграть ключевую роль в опухолегенезе, вызванном воспалением. Показано, что в первичной опухолевой области нейтрофилы

содержат широкий спектр разнородных функций, способствующих опухоли. Экспрессируя высокие уровни металлопротеиназ, нейтрофильные гранулоциты могут модифицировать внеклеточную матрицу, которая будет способствовать распространению опухолевых клеток, таким образом это способствует распространению опухоли. Незрелые нейтрофилы, известные также как гранулоцитарные миелоидные супрессорные клетки (*granulocytic myeloid derived suppressor cells – G-MDSC*), сопричастны к созданию микроокружения иммуносупрессивной опухоли, ограничивая таким образом противоопухолевый иммунитет. Тем не менее было показано, что обладающие противоопухолевыми свойствами нейтрофилы способны приводить к гибели опухолевые клетки либо путем прямой цитотоксичности, либо при помощи антителозависимой клеточной цитотоксичности [40].

Нейтрофилы способны содействовать прогрессированию опухоли через продуцирование таких проангиогенных факторов как матриксная металлопротеиназа 9 (*matrix metalloproteinase 9 – MMP-9*) и Vv8 (*Bombina variegata peptide 8*). Нейтрофильные гранулоциты могут высвобождать апоптоз-индуцирующий лиганд семейства TNF (*TNF-related apoptosis-inducing ligand – TRAIL*), миелопероксидазу (МПО) и нейтрофильную эластазу (НЭ), которые не только подавляют ангиогенез и вызывают нарушение сосудов, но также ингибируют пролиферацию опухолевых клеток и индуцируют апоптоз. Таким образом снижение экспрессии или высвобождения TRAIL, МПО и НЭ, как и увеличение экспрессии Vv8 и MMP-9, может иметь ключевое значение для функции протубератора нейтрофилов. Напротив, модулирование высвобождения и/или экспрессии этих факторов может иметь важное значение для преобразования нейтрофильной функции от опухолеобразующей способности к подавлению опухоли [41].

Важными компонентами микроокружения опухоли могут быть как зрелые нейтрофилы, так и незрелые гранулоцитарные клетки. Они способны воздействовать на баланс между контролем опухоли и её избеганием.

Нейтрофильная активация и рекрутация могут иметь широкие последствия для опухолевых клеток и микроокружения, включающие прямое повреждение клеток от высвобождения окислителей и гранулированных компонентов, ремоделирование внеклеточного матрикса, высвобождение проангиогенных продуктов и перекрестную сигнализацию других воспалительных клеток и стромальных компонентов опухоли [42].

1.2.3 Внеклеточные нейтрофильные ловушки

Способность к образованию ДНК-содержащих сетевидных структур у нейтрофильных гранулоцитов была обнаружена немецким учёным из Института инфекционной биологии имени Макса Планка около 10 лет назад. Эти образования были названы нейтрофильными внеклеточными ловушками (НВЛ) (Neutrophil Extracellular Traps – NET's) [43]. Нейтрофильные внеклеточные ловушки представлены как внеклеточные сетки, которые состоят из деконденсированного хроматина и характерных гранулированных белков, таких как гистоны, миелопероксидаза и нейтрофильная эластаза [44,45]. Формирование НВЛ является активным процессом, состоящим из цепи морфологических изменений, протекающих в нейтрофиле. Клетка после изменений, происходящих в цитоплазме и ядре, начинает сокращаться до тех пор, пока не лопнет мембрана. Затем клетка быстро выбрасывает наружу высокоактивную смесь, что приводит к гибели нейтрофила [46]. Нейтрофильные внеклеточные ловушки, известные также как нетоз, наравне с некрозом и апоптозом, считаются третьим основным типом клеточной смерти [47]. К основным этапам формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек относят: производство реакционноспособных видов кислорода, деконденсацию ядерного хроматина, модулированного ферментом пептидиларгинин-деиминазы 4, смешивание ДНК с белками гранул и, в заключение, активную экструзию НВЛ через наружную клеточную мембрану [48].

Процесс образования нейтрофильных внеклеточных ловушек совместно с деконденсированием хроматина (гистонов и ДНК) характеризуется высвобождением протеазы и антимикробных пептидов, которые содержатся в гранулах нейтрофилов. Белки в ловушки выводятся из всех трех типов гранул нейтрофилов. Катепсин G, эластаза и миелопероксидаза поступают в НВЛ из азурофильных первичных гранул. Вторичные гранулы (специфические) являются источником лактоферрина, а третичные гранулы – желатиназы. В сетях также находятся многочисленные белки, вовлекающие в активацию клеточное микроокружение ловушек [46].

Как было показано на различных моделях рака мыши, опухолевые клетки способны увеличивать продукцию нейтрофильных ловушек с помощью нейтрофилов, связанных с опухолью (tumor-associated neutrophils – TAN's), а также потенциально циркулирующих нейтрофилов. Очевидно, что НВЛ характеризуются проопухолевым эффектом как посредством увеличения пролиферации раковых клеток, так и с помощью ингибирования апоптоза. Тем не менее точный механизм, благодаря которому нейтрофильные внеклеточные ловушки усиливают прогрессирование опухоли, остаётся неопределённым. Вероятным механизмом может являться связь между высвобождением НВЛ и высвобождением проопухолевых факторов, в числе которых MMP9, НЭ и катепсин G [49]. Способность сетей захватывать и обездвиживать различные патогены, впоследствии противостоит распространению инфекций и способствует уничтожению патогенов [50]. Ввиду того, что нейтрофильные ловушки традиционно участвуют в захвате патогенов, есть предположение, что способны усиливать адгезию и метастазы бегущих циркулирующих опухолевых клеток. Однако недавнее исследование хронического воспаления у мышей предполагает, что образование НВЛ с помощью нейтрофилов высокой плотности может разрушать хемокины и провоспалительные цитокины, облегчая воспаление. Несмотря на то, что эта роль в контексте рака ещё не решена, она

подчёркивает, что нейтрофильные гранулоциты играют двойную роль в воспалении и раке [49].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Работа проводилась в гематологическом отделении Красноярской Краевой клинической больницы №1 (главный врач Корчагин Е.Е.) и лаборатории клинической патофизиологии НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН (зав. лабораторией д.м.н. Смирнова О.В.). Контрольная группа, состоящая из 125 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с группой обследованных больных, была отобрана при профилактических осмотрах в ЛПУ города Красноярска. Обследование больных и практически здоровых людей проводилось с разрешения этического ФГБНУ НИИ «Медицинских проблем Севера», при этом каждый участник подписывал форму информированного согласия на обследование.

Объектом исследования явился больной ММ G- иммунохимического варианта в возрасте от 40 до 76 лет. Отбор больных проводился методом случайной выборки по мере поступления в гематологическое отделение Краевой клинической больницы №1 г. Красноярска. При поступлении врачами гематологами у больных собирался анамнез и анализировались данные объективного осмотра, отражающие их общее состояние.

Диагноз верифицировался по результатам клинического и лабораторного исследования. Идентификацию G-варианта ММ проводили методом иммунофиксации и электрофореза (г. Новосибирск). Диагноз подтверждался сочетанием диагностических критериев. Степень поражения костей подтверждалась рентгенологическими исследованиями и МРТ. В рамках исследования также были изучены 101 история болезни больных ММ G-иммунохимического варианта. Объектом исследования была венозная кровь, которая бралась у пациентов при поступлении в стационар утром с 8 до 9 часов натощак из локтевой вены в пробирки с гепарином до назначения

патогенетической терапии. Динамическое наблюдение за больными осуществлялось на протяжении всего периода пребывания их в стационаре.

2.1.1 Общая характеристика обследования пациентов

В клинико-лабораторное исследование включались больные диффузно-очаговой ММ G-иммунохимического варианта в возрасте до 76 лет, поступившие в отделение впервые. Все больные, согласно классификации Durie, Salmon (1975 г.), были разделены на стадии. Больные МБ на II стадии при поступлении в стационар характеризовались уровнем гемоглобина (Hb) 85-100 г/л, IgG – 50-70 г/л., с измененной массой миеломных клеток от 0,6 кг/м³, уровнем кальция в сыворотке менее 12 мг/100 м, у них наблюдался остеолитический или солитарный костный очаг. Для больных на III стадии с максимально высокой опухолевой массой (1,2 кг/м³) гемоглобин ниже 85 г/л, уровень кальция в сыворотке более 12 мг/100 мл, выраженный остеодеструктивный процесс, высокий уровень М-компонента (IgG менее 70 г/л, IgA менее 50 г/л, ВJ в моче менее 12 г/сут). На каждой стадии было выделено дополнительно две подгруппы: А – без поражения почек, В – с поражением почек. Деление на А или В варианты, в зависимости от функции почек, проводилось в зависимости от содержания креатинина в сыворотке крови. Так, если функции почек снижены, то больных относили к В стадии. IA, ПА, ША – содержание креатинина в сыворотке крови <177 ммоль/л. IB, ПВ, ШВ – содержание креатинина в сыворотке крови >177 ммоль/л.

Средний возраст больных ММ составил $60,53 \pm 6,78$ лет. Среди 101 обследованного больного ММ – мужчин 39%, женщин – 62%. Средний возраст мужчин составлял – 60 лет $\pm 2,3$ года (от 47 до 73 лет), женщин – 61 год $\pm 3,7$ года (от 43 до 76 лет). При поступлении у 16 (16,16%) выявлялись поражения почек: на II стадии – 8 больных, на III – также 8 больных. У 93 человек (93,93%) имелись очаги деструкции в костях. За период

клинического наблюдения в гематологическом отделении у 46% пациентов развились инфекционные осложнения.

Соотношение мужчин и женщин по стадиям составило: ПА стадия – 58 больных (из них 42 женщины и 16 мужчин), на ША стадии – 27 больных (из них 14 женщин и 13 мужчин). С поражениями почек на ПВ стадии – 8 больных (4 женщины и 4 мужчины), на ПШВ стадии – 8 больных (2 женщины и 6 мужчин).

Больные в возрасте 40-50 лет составили 10 человек, 51-60 лет – 37 человек, 61-70 лет – 41 человек, 71-76 лет – 13 человек. Распределение больных по возрасту показало, что на II стадии заболевания находились 65,65% исследуемых больных, а на III стадии 35,35%.

2.1.2 Хемилюминесцентный анализ нейтрофильных гранулоцитов

В качестве метода изучения активности нейтрофильных гранулоцитов использовался хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции АФК НГ больных ММ в зависимости от стадии заболевания (De sole p.et al.; 1983). Оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе “CL 3606” (Россия). Регистрация результатов и управление анализатором осуществлялись через персональный компьютер. Определялись следующие характеристики: время выхода кривой на максимум интенсивности хемилюминесценции (T_{max}), максимальное значение интенсивности хемилюминесценции (I_{max}), площадь кривой хемилюминесценции (S). В качестве усилителя хемилюминесценции использовали люминол. Индуктором респираторного взрыва служил опсонизированный зимозан. Усиление хемилюминесценции, индуцированной опсонизированным зимозаном, оценивали по соотношению площади индуцированной ($S_{инд}$) к площади спонтанной ($S_{спонт}$)

хемилюминесценции и обозначали индексом активации. По результатам проведенных исследований была сформирована база данных.

2.1.3 Статистические методы исследования

По результатам исследования на персональном компьютере в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США, 2008) и Microsoft Excel, 2007 (Microsoft, США) Для всех данных определяли медиану (Me) и персинтили (C25-C75). Оценку достоверности различий средних осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Обработка полученных данных включала подсчет непараметрических данных: качественные переменные были описаны абсолютными значениями и в виде процентных долей. Статистическую значимость различий определяли с использованием рангового критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным $p < 0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Из текста магистерской диссертации изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Пазина, Т.Ю. Влияние антимикробных пептидов нейтрофилов на функциональную активность естественных киллерных клеток больных Множественной миеломой / Пазина Т.Ю., Кэмпбэлл К., Шамова О.В. // Российский иммунологический журнал – Том 8. – №3(17). – 2014г. – с. 364-366.
2. Поспелова, Т.И. Множественная миелома: 7 лет таргетной терапии и её результаты в Новосибирске / Поспелова Т.И., Скворцова Н.В., Нечунаева И.Н. // Клиническая онкогематология. Фундаментальныеисследованияиклиническаяпрактика – Том 8. – №3. – 2015г. – с. 267-273.
3. Xu S. Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutical tool or target? / Xu S, De Veirman K, De Becker A, Vanderkerken K, Van Riet I. // Leukemia. – 2018.
4. Шушанов, С.С. Влияние инсулиноподобного фактора роста 1 типа (IGF-1) на выживаемость клеток Множественной миеломы человека / Шушанов С.С., Кравцова Т.А., Черных Ю.Б. // Российский биотерапевтический журнал – Том 12. – №3. – 2013г. – с. 29-38.
5. Blade J. Defining a set of standardised outcome measures for newly diagnosed patients with multiple myeloma using the Delphi consensus method: the IMPORTA project / Blade J, Calleja MÁ, Lahuerta JJ, Poveda JL, de Paz HD, Lizán L. // BMJ Open. – 8(2). – 2018.
6. Краснова, Л.В., Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов в динамике лечения больных с постинфарктным кардиосклерозом / Краснова Л.В., Беленюк В.Д., Гвоздев И.И. // Вестник Хакасского Государственного университета им. Н.Ф. Катанова – №12. – 2015г. – с. 62-63.
7. Абакумова, Т.В. Фенотип нейтрофилов периферической крови на начальной стадии рака тела матки / Абакумова Т.В., Антонеева И.И.,

- Генинг Т.П., Долгова Д.Р., Генинг С.О. // Цитология – Том 58. – №1. – 2016г. – с. 23-29.
8. Einsele H. Treatment of multiple myeloma with the immunostimulatory SLAMF7 antibody elotuzumab / Einsele H, Schreder M. // Ther Adv Hematol. – 7(5). – 2016. – с. 288-301.
9. Canovas Nunes S. The small GTPase RhoU lays downstream of JAK/STAT signaling and mediates cell migration in multiple myeloma / Canovas Nunes S, Manzoni M, Pizzi M, Mandato E, Carrino M, Quotti Tubi L, Zambello R, Adami F, Visentin A, Barilà G, Trentin L, Manni S, Neri A, Semenzato G, Piazza F. // Blood Cancer J. – 8(20). – 2018.
10. Колесник, Ю.М. Качество жизни у пациентов после регрессии Множественной миеломы / Колесник Ю.М., Самура Б.Б. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – №3(16). – 2014г. – с. 77-83.
11. Марченко, Я.М. Множественная миелома / Марченко Я.М. // Вестник молодого учёного – Том 14. – №3. – 2016г. – с. 25-30.
12. Лучинин, А.С. Эпидемиология Множественной миеломы по данным анализа популяционного регистра Кировской области / Лучинин А.С., Семочкин С.В., Минаева Н.В., Позднеев Н.М., Парамонов И.В. // Онкогематология – Том 12. – №3. – 2017г. – с. 50-56.
13. Bartee E. Potential of oncolytic viruses in the treatment of multiple myeloma / Bartee E. // Oncolytic Virother. – Том 7. – №1-12. – 2018.
14. Гуськова, Н.К. Оценка значимости исследования уровня и типа секретируемого парапротеина в мониторинге больных Множественной миеломой / Гуськова Н.К., Лысенко И.Б., Ноздричева А.С. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований – №10-2. – 2015г. – с. 229-232.
15. Беляев, Г.Ю. Множественная миелома с внеклеточными осложнениями: случаи из практики / Беляев Г.Ю., Порядова О.В., Олина О.А. //

- Российский электронный журнал лучевой диагностики – Том 1. – №1. – 2016г. – с. 115-121.
16. Гаврилина, Н.С. Описание случаев Множественной миеломы у больных многопрофильного стационара / Гаврилина Н.С., Ильченко Л.Ю., Осканова Р.С., Фёдоров И.Г., Сторожаков Г.И. // Архивъ внутренней медицины – №1(21). – 2015г. – с. 12-18.
17. Chen WC. Emerging combination therapies for the management of multiple myeloma: the role of elotuzumab / Chen WC, Kanate AS, Craig M, Petros WP, Hazlehurst LA. // Cancer Manag Res. – №9. – 2017. – с. 307-314.
18. Абдулкадыров, К. М. Множественная миелома / Абдулкадыров К. М., Бессмельцев С. С. – Гематология: Новейший справочник: справочник для мед. учеб. заведений – Москва: Изд-во Эксмо; СПб.: Изд-во Сова, 2004. – Гл. 22. – с. 593-655.
19. Бессмельцев, С.С. Множественная миелома (патогенез, клиника, диагностика, дифференциальный диагноз) Часть I / Бессмельцев С.С. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика – Том 6. – №3. – 2013г. – с. 237-257.
20. Морданов, Д.В. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга больных Множественной миеломой / Морданов Д.В., Башта С.А. // Достижения вузовской науки: от теории к практике – статья в сборнике трудов конференции – 2017г. – с. 62-65.
21. Захарова, М.Н. Эффективность терапии патологии почек у пациентов с Множественной миеломой / Захарова М.Н., Коробкин А.В., Киселева М.О., Маркова Ю.А., Любченко М.А., Коробицына О.В., Ударцева А.А., Григорьев Т.А. // Вестник Челябинской областной клинической больницы – №3(37). – 2017г. – с. 47-50.
22. Ames J. Extraosseous Multiple Myeloma: Case Report of Presentation in the Lower Extremity Soft Tissues with Literature Review / Ames J, Al-Samaraee A, Takahashi T. // Case Rep Radiol. – 2017.

23. Baily C. Comparison of Immuno-PET of CD138 and PET imaging with $^{64}\text{CuCl}_2$ and $^{18}\text{F-FDG}$ in a preclinical syngeneic model of multiple myeloma / Baily C, Gouard S, Lacombe M, Remaud-Le Saëc P, Chalopin B, Bourgeois M, Chouin N, Tripier R, Halime Z, Haddad F, Faivre-Chauvet A, Kraeber-Bodéré F, Chérel M, Bodet-Milin C. // *Oncotarget*. – 9(10). – 2018. – с. 9061-9072.
24. Бессмельцев, С.С. Множественная миелома (лечение первичных больных): обзор литературы и собственные данные. Часть II / Бессмельцев С.С. // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* – Том 6. – №4. – 2013г. – с. 379-414.
25. Бессмельцев, С.С. Клиника, диагностика и лечение лимфоидных опухолей Множественной миеломы (лечение рецидивов и рефрактерных форм): обзор литературы и собранные данные. Часть III / Бессмельцев С.С. // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* – Том 7. – №2. – 2014г. – с. 137-174.
26. Скворцова, Н.В. Частота и структура коморбидных состояний у пациентов с Множественной миеломой по данным городского гематологического центра г. Новосибирска / Скворцова Н.В., Поспелова Т.И., Ковынев И.Б., Нечунаева И.Н. // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук* – Том 34. – №6. – 2014г. – с. 47-53.
27. Вотякова, О.М. Новые возможности лечения рецидивов и рефрактерной Множественной миеломы (обзор литературы) / Вотянова О.М. // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* – Том 10. – №4. – 2017г. – с. 425-434.
28. Keen C. Is it feasible to conduct a randomised controlled trial of pretransplant exercise (prehabilitation) for patients with multiple myeloma awaiting autologous haematopoietic stem cell transplantation? Protocol for the PReeMPT study / Keen C, Skilbeck J, Ross H, Smith L, Collins K, Dixey J,

- Walters S, Greenfield DM, Snowden JA, Mawson S. // *BMJ Open*. – 8(3). – 2018.
29. Долгушин, И.И. Секретные функции нейтрофилов / Долгушин И.И., Савочкина А.Ю. // *Аллергология и иммунология* – Том 16. – №2. – 2015г. – с. 209-212.
30. Фархутдинова, Л.М. Биология клеток иммунной системы. Неизвестные известные нейтрофилы / Фархутдинова Л.М. // *Вестник академии наук республики Башкортостан* – Том 18. – №1. – 2013г. – с. 80-82.
31. Görgens A. Revision of the human hematopoietic tree: granulocyte subtypes derive from distinct hematopoietic lineages / Görgens A, Radtke S, Möllmann M, Cross M, Dürig J, Horn PA, Giebel B. // *Cell Rep*. – 3(5). – 2013. – с. 1539-1552.
32. Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? / Rosales C // *Front Physiol* – 2018.
33. Парахонский, А.П. Секретные функции нейтрофилов / Парахонский А.П. // *Наука в современном мире* – статья в сборнике трудов конференции – 2017г. – с. 42-45.
34. Garley M. Heterogeneity Among Neutrophils / Garley M, Jabłońska E. // *Arch Immunol Ther Exp*. – 66(1). – 2018. – с. 21-30.
35. Боякова, Н.В. Динамика показателей люминол – и люцигенин- зависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком желудка после хирургического лечения / Боякова Н.В., Винник Ю.С., Филькин Г.Н., Селин С.М., Петрова Е.О. // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)* – Том 132 – №1 – 2015г. – с. 49-52.
36. Москалёв, А.В. Нейтрофилы, их современная характеристика в иммуновоспалительном процессе / Москалёв А.В. // *V Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика* – статья в сборнике трудов конференции – 2017г. – с. 164-167.

37. Галкин, А.А. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа / Галкин А.А., Демидова В.С. // Раны и раневые инфекции – Том 2. – №2 – 2015г. – с. 25-31.
38. Uribe-Querol E. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin / Uribe-Querol E, Rosales C. // J Immunol Res. – 2015.
39. Любимов, Г.Ю. Влияние обработанных зимозаном нейтрофилов на рост меланомы В16 в печени и селезенке мышей / Любимов Г.Ю., Любимов А.Г., Козлов В.А. // Российский иммунологический журнал – Том 10. – №1(19). – 2016г. – с. 81-87.
40. Granot Z. Distinct Functions of Neutrophil in Cancer and Its Regulation / Granot Z, Jablonska J. // Mediators Inflamm. – 2015.
41. Sun R. Neutrophils with protumor potential could efficiently suppress tumor growth after cytokine priming and in presence of normal NK cells / Sun R, Luo J, Li D, Shu Y, Luo C, Wang SS, Qin J, Zhang GM, Feng ZH. // Oncotarget. – 5(24). – 2014.
42. Singel KL. Neutrophils in the tumor microenvironment: trying to heal the wound that cannot heal / Singel KL, Segal BH. // Immunol Rev. – 273(1). – 2016. – с. 329-343.
43. Долгушин, И.И. Участие внеклеточных ДНК-ловушек в защитных и патологических реакциях организма / Долгушин И.И., Савочкина А.Ю., Курносенко И.В., Долгушина В.Д., Савельева А.А., Самусева И.В., Маякова В.Б. // Российский иммунологический журнал – Том 9. – №2(18). – 2015г. – с. 164-170.
44. Савочкина, А.Ю. Участие плазменных факторов свертывания в процессе формирования экстрацеллюлярных сетей нейтрофилами / Савочкина А.Ю., Абрамовских О.С., Мякишева Э.Н., Тупиков В.А. // Российский иммунологический журнал – Том 11. – №2(20). – 2017г. – с. 215-217.
45. Zou Y. Neutrophil extracellular traps promote lipopolysaccharide-induced airway inflammation and mucus hypersecretion in mice / Zou Y, Chen X,

- Xiao J, Bo Zhou D, Xiao Lu X, Li W, Xie B, Kuang X, Chen Q. // *Oncotarget*. – 9(17). – 2018. – с. 13276-13286.
46. Жерулик, С.В. Роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в онкогенезе / Жерулик С.В. // *Аспирантские чтения - 2015* – статья в сборнике трудов конференции – 2015г. – с. 14-16.
47. Москалёв, А.В. Роль нейтрофильных гранулоцитов в иммуновоспалительном процессе / Москалёв А.В., Рудой А.С., Апчел А.В., Шангин А.Б. // *Вестник Российской военно-медицинской академии* – №4(56) – 2016г. – с. 191-195.
48. Chicca IJ. Development and Application of High-Content Biological Screening for Modulators of NET Production / Chicca IJ, Milward MR, Chapple ILC, Griffiths G, Benson R, Dietrich T, Cooper PR. // *Front Immunol*. – №9 – 2018.
49. Powell DR. Neutrophils in the Tumor Microenvironment / Powell DR, Huttenlocher A. // *Trends Immunol*. – 37(1). – с. 41-52.
50. Lefrançais E. Maladaptive role of neutrophil extracellular traps in pathogen-induced lung injury / Lefrançais E, Mallavia B, Zhuo H, Calfee CS, Looney MR. // *JCI Insight*. – 3(3) – 2018.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
Я.И. Мамонтов
подпись инициалы, фамилия
« 18 » июль 2018 г

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных
гранулоцитов при множественной миеломе в зависимости от стадии
заболевания

06.04.01 – Биология

06.04.01.05 – Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель

О.В. Смирнова
подпись, дата

профессор, д.м.н.
должность, ученая степень

О.В. Смирнова
инициалы, фамилия

Выпускник

Я.Д. Старовойт
подпись, дата

Я.Д. Старовойт
инициалы, фамилия

Рецензент

О.Л. Москаленко
подпись, дата

с.н.с., к.б.н.
должность, ученая степень

О.Л. Москаленко
инициалы, фамилия

Красноярск 2018