

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

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Е. И. Шишацкая

« 21 » июня 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Состояние респираторного взрыва нейтрофилов и моноцитов при остром
панкреонекрозе

Научный руководитель _____
подпись, дата

профессор, д.м.н А.А. Савченко

Выпускник _____
подпись, дата

А.О. Маринова

Красноярск 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1 Общая характеристика панкреонекроза	5
1.1.1 Клиническая картина: первые признаки и симптомы панкреонекроза	9
1.1.3 Современные методы лечения панкреонекроза (консервативная терапия и операция)	10
1.2 Роль моноцитов и нейтрофилов в патогенезе панкреонекроза	11
1.2.1 Общая характеристика нейтрофилов и моноцитов	12
1.3 Особенности иммунных нарушений в патогенезе панкреонекроза	17
1.4 Хемилюминисцентная реакция	23
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	27
2.1 Материалы	27
2.2 Методы исследования	27
2.3 Определение хемилюминисцентной активности моноцитов и нейтрофилов периферической крови	28
2.4 Статистические методы исследования	29
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	30
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	31
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	32

ВВЕДЕНИЕ

Панкреонекроз (ПН) или некроз поджелудочной железы (НПЖ) является наиболее тяжелым заболеванием органов брюшной полости. При ПН нарушаются механизмы защиты, поджелудочная железа (ПЖ) начинает сама себя переваривать и происходит некроз ее отдельных участков [1, 2].

Проблематике ПН уделяется все больше внимания, это обусловлено стремительным ростом заболеваемости НПЖ, высоким процентом летальных исходов, большим количеством осложнений при лечении, отсутствием единого подхода к диагностике и лечению. Хотя при диагностике и лечении ПН применяются современные методы, но вероятность летального исхода очень высока даже при проведении своевременного и адекватного лечения составляет 40-70%, при развитии тотального панкреонекроза шансы на выживание сводятся к нулю. Встречаемость ПН составляет 50-200 случаев на 1000000 человек. Некроз ПЖ в 70% случаев диагностируется у людей молодого возраста. Разрушение поджелудочной железы диагностируется одинаково часто как у женщин, так и у мужчин [3, 4].

В воспалительной реакции принимают участие нейтрофилы и моноциты. Нейтрофилы обладают выраженной фагоцитарной активностью, они раньше других попадают в ткани при развитии воспалительного ответа, обладают способностью осуществлять антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность. Моноциты могут проявлять фагоцитарную активность, преобразовываясь в макрофаги. Среди функциональных проявлений нейтрофилов и моноцитов важную роль играет респираторный взрыв, который реализуется в виде синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода (АФК) и развивается при взаимодействии клеток с объектом фагоцитоза [5, 6, 7, 8].

Нейтрофилы и моноциты участвуют в реализации реакций врожденного иммунитета (фагоцитоз, продукция АФК, выделение медиаторов), а также в регуляции и запуске реакций адаптивного иммунитета (за счет синтеза

иммунорегуляторных цитокинов и в качестве антигенпрезентирующих клеток) [7, 9].

В связи с высокой встречаемостью, большим процентом летальных исходов при заболеваемости ПН, решено изучить состояние хемилюминесцентной активности нейтрофилов и моноцитов у больных ПН и сравнить полученные данные с данными контрольной группы, что является актуальным.

Целью работы является изучение особенностей состояния респираторного взрыва нейтрофилов и моноцитов у больных острым ПН.

Задачами исследования являются:

1. Определить хемилюминесцентную активность нейтрофилов в норме и при ПН.
2. Определить хемилюминесцентную активность моноцитов в норме и при ПН.
3. Оценить различия хемилюминесцентной активности нейтрофилов и моноцитов здоровых людей и больных ПН.

Исследование проводилось на базе ФБГУ НИИ медицинских проблем Севера, в лаборатории Клеточно-молекулярной физиологии и патологии.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика панкреонекроза

Панкреонекроз является наиболее тяжелым заболеванием органов брюшной полости. НПЖ примерно в 70% случаев диагностируется у людей молодого возраста. Вероятность летального исхода при ПН высока, даже не смотря на то, что применяются современные методы диагностики и лечения. Вероятность летального исхода составляет примерно 40-70% при своевременном и адекватном лечении; при развитии тотального панкреонекроза шансы на выживание сводятся к нулю. Встречаемость ПН составляет от 50 до 200 случаев на 1 миллион человек. Разрушение поджелудочной железы диагностируется одинаково часто как у женщин, так и у мужчин. В последнее время отмечается значительное увеличение частоты развития панкреонекроза [3, 4,].

Некротизация - это совокупность биохимических процессов, приводящих к разложению тканей. В основе некроза лежит деструкция здоровых тканей с полной утратой ими способности к нормальному функционированию. Восстановление возможно только при своевременно оказанной медицинской помощи [10, 11].

Панкреонекроз - это заболевание ПЖ, при наличии которого наблюдается отмирание клеток органа вследствие развития в тканях воспалительного процесса. При наличии воспаления в ПЖ происходят деструктивные процессы и развивается полиорганная недостаточность. В связи с этим, ряд авторов считают, что некроз поджелудочной железы является стадией острого панкреатита, на этой стадии отмечается скоротечное прогрессирование болезни и тяжелое её течение; другая часть авторов придерживается того мнения, что панкреонекроз является осложнением острого панкреатита [11, 12]. Существует

несколько классификаций панкреонекроза по разным параметрам, вот представлены некоторые из них:

- 1 В зависимости от степени распространенности процесса деструкции:
 - 1.1 Ограниченный некроз;
 - 1.2 Распространенный некроз.
- 2 В зависимости от наличия или отсутствия инфекционного процесса в железе:
 - 2.1 Стерильный;
 - 2.1.1 Смешанная форма некроза поджелудочной железы (;
 - 2.1.2 Геморрагический некроз;
 - 2.1.3 Жировой.
 - 2.2 Инфицированный.
- 3 В зависимости от характера течения патологии:
 - 3.1 Прогрессирующий;
 - 3.2 Абортивный.

Причинами развития панкреонекроза являются три основных фактора:

- 1) Алиментарный. Алиментарный фактор встречается наиболее часто в развитии ПН. Развитие деструктивного процесса запускается двумя причинами, это во первых эпизодическое употребление значительных доз алкоголя, во вторых прием жирной пищи в больших объемах. Наиболее часто встречается совокупное действие этих двух причин.
- 2) Обтурационный. Обтурационный фактор характеризуется патологиями желчных протоков и желчекаменной болезнью. В такой ситуации как правило происходит закупорка протока железы, тогда повышается внутрипротоковое давление, ферменты поджелудочной железы активируются прямо в ней, что приводит к некрозу железы.
- 3) Рефлюксный. Этот фактор развивается на фоне пищевых отравлений, аномалии развития железы, расстройства сфинктера Одди, который локализуется в двенадцатиперстной кишке, эндоскопические манипуляции, тупые травмы живота, послеоперационные осложнения

после вмешательств на органах брюшной полости. Здесь отмечается заброс желчи в ПЖ из двенадцатиперстной кишки, что приводит к активизации проферментов и запускает ферментопатические реакции [4, 13, 14].

ПН может развиваться у любого человека, однако, есть группа риска для которой вероятность НПЖ повышена:

- пациенты с заболеваниями пищеварительного тракта;
- пациенты с патологией поджелудочной железы и печеночной патологией;
- пациенты, которые страдают от желчекаменной болезни;
- пациенты с регулярным употреблением алкогольных напитков;
- пациенты с хроническим вялотекущим панкреатитом;
- пациенты с патологиями эндокринной системы.

По исследовательским данным известно, что среди лиц пожилого возраста в качестве причины панкреонекроза доминируют желчнокаменная болезнь и ее осложнения, тогда как у лиц более молодого возраста основным этиологическим фактором является прием алкоголя и его суррогатов, особенно с одновременным приемом жирной пищи. Такая тенденция, отмеченная в последние десятилетия во всех развитых странах Европы, она связана с увеличением числа больных молодого возраста, употребляющих алкогольные напитки в больших количествах и лиц пожилого возраста, страдающих желчнокаменной болезнью [1, 15].

Некроз клеток ПЖ проходит в три фазы:

1. Фаза токсемии. При воздействии этиологического фактора происходит усиление секреции ПЖ, её протоки перерастягиваются, нарушается отток панкреатических соков. На фоне повышения внутрипротокового давления происходит отек паренхиматозной ткани органа, начинают разрушаться ацинусы и наблюдается усиление действия протеолитических ферментов, что в совокупности приводит к развитию массивных некротических повреждений железы. Если активизируется секреция липазы, начинают перевариваться жировые клетки, если

активизируется эластаза, начинает некротизироваться сосудистая стенка, развиваются кровоизлияния в забрюшинной клетчатке и внутренних органах. Активизированные ферменты и продукты распада тканей железы проникают в кровяное русло и вследствие разрушения сосудистых стенок начинают токсически воздействовать на весь орган. В первую очередь, поражаются почки и печень, головной мозг и сердце, начинается развиваться полиорганная недостаточность. Если преобладает секреция липазы, то такая форма патологии называется жировым некрозом, если преобладает секреция эластазы, то некроз будет геморрагическим, в случае одинаковой степени активности эластазы и липазы наблюдается смешанная форма некроза.

2. Вторая фаза. На второй фазе в ПЖ и других внутренних органах начинается формироваться абсцесс.
3. Третья фаза. На стадии третьей фазы в забрюшинном пространстве и ПЖ начинают развиваться гнойные изменения [10, 16, 17].

В отношении прогнозирования выздоровления наиболее опасной считается жировая и смешанная форма. Активация фермента липазы в протоках и паренхиме железы быстро приводит к тому, что поражаются и соседние органы. Возникает риск асептического перитонита и быстрого наступления летального исхода. Страдают почки и печень, головной мозг и миокард [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22].

ПЖ принимает важную роль в продукции пищеварительных ферментов. Их секреция и секреция желудочного сока имеют непостоянный характер, а секретируются в ответ на поступление пищевого комка в желудок. На время продукции ферментов включается механизм внутренней защиты клеток железы от самопереваривания. Панкреатический сок из отдельных протоков попадает в Вирсунгов проток, где через сфинктер Одди попадает в 12-перстную кишку или Вирсунгов проток соединяется с холедохом (общим желчным протоком) и также выводится в 12-перстную кишку где воздействует на пищевой комок. Если на пути движения панкреатического сока встречается механическое

препятствие в выводных протоках, то может возникать первичный застой панкреатического сока. Такое течение обстоятельств является причиной острого панкреатита. В случае когда панкреатический сок длительное время находится в протоках вследствие препятствий его продвижения, то начинается некроз тканей поджелудочной железы. Выводные протоки обладают достаточной эластичностью, но при резком увеличении объемов выделяемого сока и закупоркой протоков, движение их содержимого затрудняется. Тогда увеличивается внутреннее давление и развивается воспалительный процесс [12, 23, 24].

1.1.1 Клиническая картина: первые признаки и симптомы панкреонекроза

Болезнь начинается с нарушения оттока желудочного сока и воспалительной реакции. В это время у больного может наблюдаться общее недомогание, слабость, боль в животе, жидкий стул, отсутствие аппетита и усиленная жажда. Если не начать лечение, то отмечаются более характерные симптомы НПЖ, которые проявляются сильной рвотой, опоясывающими болями, которые имеют тенденцию стихать, если больной примет сидячее положение и наклонит туловище вперед себя, отмечается повышение температуры тела до критических цифр, жидкий стул имеет пенистый характер, отмечается обезвоживание в виде сухости кожи и слизистых оболочек, западения глазниц, появляются признаки печеночной и почечной недостаточности, больные жалуются на головокружение, спутанность сознания, нарушение мозговой активности [4, 25, 26].

На этапе увеличения ферментативной активности появляются множественные каверны в ткани железы, они заполняются гнойным содержимым. В кровь начинают поступать токсины.

Терапия должна начинаться при появлении первых признаков. При запоздалом обращении к врачу, консервативная терапия уже не принесёт положительной динамики и поэтому сразу назначается хирургическая операция в экстренном порядке.

НПЖ это всегда болезненный процесс. Болевые ощущения довольно сильные, они даже ощущаются пациентами в состоянии алкогольного опьянения.

Если боль постепенно уменьшается, но при этом нарастают симптомы интоксикации, то это говорит о том, что некроз достиг фазы негативного влияния на нервные окончания. Это тяжелейший вид патологии [4, 12, 26].

1.1.3 Современные методы лечения панкреонекроза

Своевременная медицинская помощь позволяет уменьшить осложнения и вероятность летального исхода. Может применяться консервативная терапия, а при отсутствии её результативности показана хирургическая операция.

Лечебный комплекс ПН направлен на купирование болевого синдрома, снятие спазма сфинктера Одди, уменьшение секреторной активности ПЖ, инактивацию протеаз, детоксикацию.

Лечение панкреонекроза первоначально направлено на обеспечение функционального покоя и снижение ферментативной активности ПЖ. Больным назначается строгая диета, которая включает в себя полный отказ от приема пищи, но не исключает прием теплой чистой воды в небольших количествах. Следом проводится детоксикационная парентеральная терапия, включающая в себя растворы очищающие кровь и восполняющие потери жидкости (это физиологическиерастворы). Для купирования болевого синдрома назначаются спазмолитики и нестероидные противовоспалительные средства. В качестве спазмолитиков, как правило, назначается внутривенное введение «Но-шпы»

или «Дротаверин гидрохлорида», в случае, если болевой синдром не был снижен в течение 20 минут, тогда назначается также внутривенное введение «Платифиллина». В качестве нестероидных противовоспалительных препаратов обычно назначается «Баралгин», он позволяет уменьшить фактор воспаления в зоне патологии, снять отек и купировать боль. Активность ферментов ПЖ подавляется внутривенным введением «Контрикала» или «Гордокса».

В случае повышенной температуры тела назначается антибактериальная терапия, она включает в себя назначение антибиотиков широкого спектра действия, что исключает опасность развития гнойного абсцесса и перитонита.

Если в ходе консервативной терапии не отмечается положительной динамики, тогда назначается хирургическое лечение. Во время операции проводят иссечение некротических участков ПЖ с санацией поврежденных протоков.

После лечебных мероприятий больному назначается строгая диета в течении нескольких лет. Диета исключает из рациона пациентов жирные и соленые блюда, алкоголь, газированные напитки, специи, жареные и копченые блюда. Назначенная диета характеризуется преобладанием в пищевом рационе растительной клетчатки, различных каш, протертых супов, паровых котлет из нежирных и диетических сортов мяса и рыбы [3, 4, 13].

1.2 Роль моноцитов и нейтрофилов в патогенезе панкреонекроза

При ПН запускается каскад воспалительных реакций, затрагивающий все системы, приводящий к значительным сдвигам в гомеостазе, развитию системного воспаления и к полиорганной недостаточности. В связи с этим изучение клеток врожденного иммунитета является актуальным при изучении

ПН. Такими клеточными популяциями, принимающими активное участие в воспалении, являются моноциты и нейтрофилы [1, 6, 12].

Нейтрофилы и моноциты участвуют в реализации реакций врожденного иммунитета (фагоцитоз, продукция АФК, выделение медиаторов, моноциты-дифференцировка в макрофаги), а также в регуляции и запуске реакций адаптивного иммунитета (за счет синтеза иммунорегуляторных цитокинов и в качестве антигенпрезентирующих клеток) [9, 27, 28].

Среди функциональных проявлений моноцитов и нейтрофилов, важную роль играет респираторный взрыв, который реализуется в виде синтеза первичных и вторичных АФК и развивается при взаимодействии клеток с объектом фагоцитоза [7, 29, 30].

1.2.1 Общая характеристика моноцитов

Моноцит- это крупный зрелый одноядерный лейкоцит группы агранулоцитов диаметром от 18 до 20 мкм, имеет несегментированное ядро бобовидной формы, богатое хроматином. Моноциты составляют от 2 до 10% всех клеток лейкоцитарного звена, что в абсолютных значениях составляет $0,08-0,6 \times 10^9/\text{л}$.

Моноциты образуются в костном мозге, из мультипатентной стволовой клетки, и от монобласта (родоначальника), проходят несколько стадий созревания: промиеломоноцита и промоноцита. Промоноцит- стадия развития перед моноцитом, о незрелости которого говорит более бледное рыхлое ядро и остатки нуклеол. Значительно меньшее количество моноцитов образуется в лимфатических узлах и соединительнотканых элементах органов. В кровь выходят не окончательно созревшие клетки. Моноциты находятся в периферической крови 2-3 дня, затем они перемещаются в окружающие ткани, где окончательно созревают в гистоциты или различные высокодифференцированные макрофаги [7, 31, 32].

По причине множественных стадий развития и функций моноцитов, данные представители лейкоцитарного звена объединены в одну общую мононуклеарную фагоцитарную систему (МФС), которая включает в себя:

- Моноциты периферической крови- это незрелые клетки, только вышедшие из костного мозга и пока не выполняющие основные функции фагоцитов. Эти клетки циркулируют в крови до 3 дней, а затем направляются в ткани созревать.
- Макрофаги- доминирующие клетки МФС. Макрофаги в организме человека представлены тканевыми макрофагами или гистоиоцитами.

Из отдельных, присущих только макрофагам особенностей, складываются их основные функции:

- Рецепторы, расположенные на поверхности макрофагов, отличаются высокой способностью связывать фрагменты чужеродного антигена. Захватив частицу патогена, макрофаг переносит чужеродный антиген и представляет его Т-лимфоцитам для распознавания.
- Макрофаги активно продуцируют медиаторы иммунитета (провоспалительные цитокины, которые активируются и направляются в зону воспаления).
- Макрофаги способны брать курс на «интересный» объект - этот процесс называется хемотаксисом; затем они крепятся на твердой субстанции эндотелия (этот процесс называется адгезия) и проходя сквозь эндотелий они попадают непосредственно в зону воспаления.
- Макрофаги способны к фагоцитозу. Сам фагоцитоз состоит из нескольких стадий:
 1. Прикрепление объекта фагоцитоза к мембране фагоцита через рецепторы с помощью опсонинов;
 2. Погружение объекта фагоцитоза в цитоплазму макрофага и его обволакивание двойной мембраной фагоцитирующей клетки;
 3. Дальнейшее погружение, обволакивание и образование изолированной фагосомы;

4. Активация лизосомальных ферментов, продолжительный «респираторный взрыв», образование фаголизосомы, переваривание объекта фагоцитоза фагоцитирующей клеткой;
5. Завершающая стадия фагоцитоза: фагоцитоз считается заверенным если объект фагоцитоза погиб и полностью разрушен; фагоцитоз считается незавершенным, если отмечается внутриклеточное персистирование возбудителя, не потерявшего полностью жизнеспособность.

Свое функциональное назначение моноциты начнут выполнять тогда, когда превратятся в макрофаги.

Моноциты повышены при различных патологических процессах инфекционной и неинфекционной природы. Основной причиной завышенных значений моноцитов в крови является адекватный ответ организма, пытающегося защитить себя повышением активности клеток, наделенных функциями поглощать и переваривать болезнетворные микроорганизмы.

Пониженное содержание моноцитов обычно является последствием угнетения миелоидного ростка кроветворения в костном мозге [20, 33, 34, 35, 36].

Моноциты имеют высокую бактерицидную активность, хорошо проявляющуюся в кислой среде, где нейтрофилы неактивны. В очаг воспаления моноциты устремляются вслед за нейтрофилами, принимают роль санитаров, утилизируют ненужные организму продукты - погибшие лейкоциты, микробы, поврежденные клетки, образованные в ходе воспалительной реакции [5, 7, 8, 12, 37, 38].

1.2.2 Общая характеристика нейтрофилов

Нейтрофилы являются преобладающей популяцией белых клеток крови. В крови человека содержится $2,0-7,5 \times 10^9$ /л нейтрофилов, что составляет 50-70% от общего числа лейкоцитов крови. Диаметр нейтрофилов составляет 9- 12 мкм. Нейтрофилы характеризуются сегментированным ядром, с плотно упакованным хроматином- который в таком состоянии называется гетерохроматин. Нейтрофилы способны к внешнему киллингу, так как содержат NADPH - оксидазу, катализирующую синтез супероксид радикала- главного фактора бактерицидности фагоцитов. Нейтрофилы раньше других попадают в ткани при развитии воспалительного ответа, обладают способностью осуществлять антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность[39, 40, 41, 42]. Различают 4 разновидности нейтрофильных гранул клеток:

1. Азурофильные (первичные);
2. Специфические (вторичные);
3. Желатиновые (третичные);
4. Секреторные везикулы.

Специфические гранулы содержат ферменты, проявляющие свою активность при нейтральных и слабощелочных значениях pH. Специфические гранулы содержат большое количество фермента NADPH-оксидазы, катализирующего «кислородный взрыв» и образование АФК- главных факторов бактерицидности фагоцитов.

Азурофильные гранулы содержат широкий набор гидролаз и других ферментов, активных при кислых значениях pH.

Желатиновые гранулы содержат желатиназу.

Секреторные везикулы содержат щелочную фосфатазу.

Зернистость нейтрофилов дает им возможность накапливать большое количество различных протеолитических ферментов и бактерицидных факторов (лизоцим, катионные белки, коллагеназа, миелопероксидаза, лактоферрин), которые разрушают стенки бактериальной клетки и полностью разрушают саму клетку [43, 44].

Наиболее характерные функции нейтрофилов: участие в фагоцитозе, образование очага воспаления и респираторного взрыва[5, 8].

Продолжительность жизни нейтрофилов зависит от количества микроорганизмов в очаге воспаления. При острых инфекционных заболеваниях число нейтрофилов быстро повышается. Нейтрофилы могут находиться и действовать в тканях, бедных кислородом: воспаленные ткани, ткани захваченные отеком. Они распознают, а затем фагоцитируют бактерии и продукты распада тканей и разрушают их своими ферментами. Ферменты, высвобождающиеся при распаде нейтрофилов, вызывают размягчение окружающих тканей, т.е. формирование гнойного очага – абсцесса [8, 36, 45].

Начиная с зарождения и до полного созревания, нейтрофилы проходят несколько стадий развития. Одновременно организм может иметь клетки разных стадий созревания. По степени зрелости можно назвать следующие группы: миелоциты → метамиелоциты → палочкоядерные нейтрофилы → сегментоядерные нейтрофилы [46, 47].

При наличии воспаления первыми начинают борьбу самые старшие клетки – сегментоядерные нейтрофилы. Обычно их количества достаточно для нейтрализации бактерий в очаге. При серьезном воспалении, функцию фагоцитов могут выполнять палочкоядерные нейтрофилы и даже совсем незрелые клетки [37, 44, 47, 48].

Повышенное содержание нейтрофилов в крови наблюдается при острых воспалительных процессах (пневмония, сепсис, аппендицит, перитонит, отит), при гнойных заболеваниях (абсцессы, флегмоны). Иногда к повышению нейтрофилов приводят обширные ожоги, трофические язвы, опухоли желудка, бронхов, поджелудочной железы. Понижение количества нейтрофилов в крови наблюдается при вирусных инфекциях (грипп, корь, краснуха, ветряная оспа, гепатит, СПИД). Так же причинами пониженного количества нейтрофилов в периферической крови являются прием лекарств (противосудорожные, болеутоляющие препараты), лучевая терапия [38, 45].

1.3 Особенности иммунных нарушений в патогенезе панкреонекроза

Воспаление это неспецифическая приспособительная реакция организма, направленная на уничтожение агента, вызвавшего воспалительный процесс, и восстановление поврежденной ткани [8].

Процесс воспаления состоит из трех основных стадий:

1. Альтерация—данная стадия воспалительного процесса характеризуется повреждением целостности структуры клеток и тканей;
2. Экссудация и эмиграция— это две стадии, объединенные под одну, так как их объединяет выход жидкости и клеток крови из сосудов в ткани и органы;
3. Пролиферация—это заключительная стадия воспалительного процесса и характеризуется интенсивным размножением и разрастанием поврежденной в ходе воспаления ткани, в результате чего и происходит восстановление целостности ткани.

Альтерация—на начальной стадии воспаления происходят изменения структуры и функции клеток, тканей и органов под влиянием повреждающих воздействий. Первая стадия воспаления развивается постепенно; на первых этапах её проявления обратимы, но продолжение действия повреждающих агентов может привести к гибели клеток и тканей.

Экссудация- это процесс выхода белков, клеток, жидкой части крови в тканевые материи. Основной причиной таких процессов на второй стадии развития воспаления является повышенная проницаемость стенок сосудов.

Эмиграция- это процесс выхода лейкоцитов, через стенку сосудов. Такой процесс характерен и при отсутствии воспаления, однако при воспалительном процессе эмиграция лейкоцитов через стенку сосудов более масштабна. Чрезмерный выход лейкоцитов безусловно влияет на увеличение проницаемости базальной мембраны.

Пролиферация—это заключительная стадия воспалительного процесса, характеризуется постепенным изменением с разрушительных процессов на восстановительные. Клетки размножаются, заменяя погибшие, так происходит восстановление нарушенных тканей, из организма выводятся токсины, накопившиеся за время воспаления, происходит ингибция ферментов.

При незначительных повреждениях, сопровождающихся воспалением, клетки обычно восстанавливаются в полной мере. При более значительных повреждениях, остается рубец на месте воспаления, так как при потере больших количеств клеток, соединительная ткань замещает дефект.

Важным начальным этапом воспаления является фагоцитоз, который заключается в поглощении и деструкции инородных частиц фагоцитирующими клетками. Среди лейкоцитов периферической крови способностью к фагоцитозу обладают гранулоциты, главным образом нейтрофилы, и агранулоциты- моноциты. Процесс фагоцитоза подразделяется на несколько последовательных этапов- прилипание, хемотаксис, собственно фагоцитоз и внутриклеточное разрушение патогенных субстанций- и регулируется различными хемотаксическими стимулами, такими, как анафилотоксины (C5a), иммунные комплексы, интерлейкин-8 (ИЛ-8) и другие. На мембране нейтрофилов имеются рецепторы, способные связывать компоненты комплемента CR1, CR3, CD11, CD18 и анафилотоксины, а также рецепторы для иммуноглобулинов. Иммунные комплексы и активированные компоненты комплемента, связываясь с этими рецепторами, индуцируют секрецию воспалительных медиаторов, вызывающих тканевое повреждение. CR1 и CR3 принимают участие в процессе опсонизации бактерий. Также CR3 выступает в качестве молекулы адгезии, определяющей прилипание

нейтрофилов к эндотелию и другим нейтрофилам. Адгезия активированных нейтрофилов к сосудистому эндотелию является одним из начальных этапов воспалительного процесса [5, 8,27, 49].

Опсонины – это активные белковые молекулы, они способны ускорять адгезию нейтрофилов к объектам фагоцитоза тем, что прикрепляются к объекту фагоцитоза и облегчают его распознавание для клеток-фагоцитов.

Одновременно с процессами направленного движения лейкоцитов и процессами фагоцитоза, в клетках происходит респираторный взрыв, то есть фагоцитирующие клетки резко увеличивают потребления кислорода и быстро расходуют его значительное количество для образования активных форм кислорода, к которым относятся: пероксид водорода, радикал гидроксила, супероксидный радикал и синглетный кислород. Образование АФК происходит с участием ферментов миелопероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы. Активные формы кислорода, которые освободились в очаге воспаления по отношению к патогенам, например бактериям, грибам, вирусам и другим являются высокотоксичными факторами, которые безусловно влияют на их жизнедеятельность, нарушая ее и приводя ее в критическое состояние и даже к гибели, путем нарушения активными формами кислорода структуры и функций их мембран. Увеличение образования свободных радикалов приводит не только к антимикробной активности, как это было сказано выше, но такие процессы способны вызывать повреждения паренхиматозных клеток, эндотелиальных клеток сосудов и элементов соединительной ткани в очаге воспаления, и как следствие это может приводить к дальнейшей альтерации ткани [27, 50, 51].

Ранее упоминалось о том, что нейтрофилы имеют несколько типов гранул, которые в свою очередь содержат следующие вещества: лизоцим, лактоферрин, катионные белки, щелочную и кислую фосфатазу, хемотаксические факторы и другое.

Из изложенного выше следует, что при концентрировании нейтрофилов в очаге воспаления и при освобождении ими биологически активных веществ, упомянутых немного ранее, они способствуют ограничению

жизнедеятельности патогенов и возможно к их гибели, способствуют лизису и предшествующему ему разрушению тканей, проводят очистку от ослабленных патогенных организмов и от всего омертвевшего в зоне повреждения. Нейтрофилы формируют нейтрофильный защитный барьер вокруг очага воспаления, такой нейтрофильный барьер способен ограничивать зону воспаления от здоровой ткани, он не позволяет далее распространяться токсическим повреждающим факторам в организме [40, 42, 43].

Высокоактивные медиаторы нейтрофилов участвуют в развитии вторичной альтерации, стимулируют выход биологически активных веществ из других клеток, способствуют расширению сосудов, увеличению их проницаемости, экссудации плазмы и эмиграции лейкоцитов. Поступая в системный кровоток, они вызывают проявление некоторых системных эффектов воспалительного процесса.

Сразу за нейтрофилами в очаг воспаления отправляются моноциты. Моноциты, после эмиграции в ткани, превращаются в гистоциты или тканевые макрофаги. Тканевые макрофаги это те же гистоциты, только в процессе фагоцитоза. Благодаря эмиграции моноцитов из кровяного русла в ткани и мобилизации тканевых макрофагов, в зоне воспаления отмечается сконцентрированная локализация макрофагов. Макрофаги благодаря своей способности к фагоцитозу очищают зону воспаления и подготавливают ее к регенерации [5, 31, 36, 38].

Мононуклеарные фагоциты участвуют в обеспечении неспецифической защиты организма посредством фагоцитоза, секреции гуморальных факторов, таких как лизоцим, α -интерферон, фактор некроза опухолей (ФНО), компоненты комплемента. В очаге воспаления макрофаги приобретают более выраженные антимикробные свойства, благодаря фагоцитозу антимикробных компонентов, продуцируемых нейтрофилами это миелопероксидазы и катионные белки. Бактерицидная функция макрофагов осуществляется благодаря респираторному взрыву, секреции монокинов и лизосомальных ферментов. Деструкция клеток, сосудов и элементов соединительной ткани

происходит из-за накопления высокотоксичных продуктов в очаге воспаления образующихся в ходе окислительных реакций [20, 31, 37].

Моноциты и макрофаги являются антигенпрезентирующими клетками в присутствии патогена в организме и обеспечивают запуск иммунного ответа организма. В процессе представления антигена активированные макрофаги секретируют и освобождают такие цитокины, как ФНО, ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, компоненты комплемента, хемотаксические факторы. Выделение ИЛ из клеток начинается уже через 2 часа после антигенной стимуляции и продолжается в течение 24-48 часов.

Моноциты/макрофаги в зоне воспаления являются источником лизосомальных протеаз, таких как коллагеназы, эластазы; также они являются источником адгезивных веществ - фибронектина, тромбосподина, протеогликанов; факторов роста - колониестимулирующих факторов, фактора роста фибробластов [34, 35, 36].

Под действием пусковых медиаторов макрофагов в очаге воспаления происходит активация различных типов лейкоцитов, клеток соединительной ткани, эндотелия сосудов, паренхиматозных клеток, что приводит к синтезу и секреции биологически активных соединений, оказывающих повреждающие, защитные и системные эффекты.

В зоне воспаления лейкоциты подвергаются жировой дегенерации, превращаются в гнойные тельца и удаляются вместе с гноем. В очаге воспаления гибель лейкоцитов может происходить по двум направлениям:

1. Первое направление – характеризуется грубым повреждением мембраны лейкоцитов, нарушением их целостности, такое развитие возможно в очаге альтерации под влиянием повреждающего агента и различных цитотоксических медиаторов воспаления.
2. Второе направление включает в себя апоптоз – это запрограммированная гибель клетки; в случае апоптоза происходит уменьшение ядра лейкоцита, конденсация ядерного хроматина, фрагментация ДНК, подавление транскрипции, снижение синтеза белков. В связи с тем, что стареющие

нейтрофилы неспособны секретировать лизосомальные ферменты, то отсутствует дальнейшее повреждение тканей.

Макрофаги активно фагоцитируют апоптотные нейтрофилы. Поглощение апоптотных нейтрофилов обеспечивается взаимодействием тромбосподина, секретлируемого макрофагом и рецепторами нейтрофила [5, 8, 28, 29, 51].

Важную роль в патогенезе ПН играют ферменты ПЖ, попавшие в кровь и токсически воздействующие на клетки. Подобное воздействие на моноциты и нейтрофилы может привести к изменению их функциональной активности, что, соответственно, повлияет на течение воспалительной реакции и клиническое состояние больных [2, 12].

Самопереваривание ПЖ начинается с фермента липазы. Под действием этого фермента происходит разрушение триглицеридов в клетках, что приводит к образованию высших жирных кислот. В поврежденных клетках железы развивается внутриклеточный ацидоз со сдвигом рН до 3,5—4,5. Данный рН является оптимумом для протеолитических ферментов, где они становятся активными. Далее происходит инфильтрация клетками врожденного иммунитета, то есть после связывания бактерий с рецепторами макрофагов, происходит иницирование синтеза цитокинов макрофагами, а бактерии поглощаются макрофагами и перевариваются ими. Стоит отметить, что в процессе воспаления количество макрофагов в полости значительно возрастает. Тогда деятельность макрофагов, направленная на восстановление гомеостаза, будет заметно усиливаться. Так как макрофагов имеется большое количество, то часть их мигрирует в очаг формирующегося воспаления. Тогда образуется очаг воспаления в месте активной деятельности макрофагов. С течением времени в очаге воспаления наблюдается респираторный взрыв, приводящий вновь к закислению среды. Данная ситуация будет повторяться вновь, она будет приводить к последующей усиленной инфильтрации клетками врожденного иммунитета, пока не начнет развиваться ССВР (синдромом системной воспалительной реакции) [2, 5, 8, 12, 45, 52]

Увеличение активности панкреатических ферментов, таких как амилаза, трипсин, липаза при панкреонекрозе более убедительно проявляется при проведении биохимического исследования крови. Усиленное поступление ферментов поджелудочной железы в кровь обусловлено нарушением целостности паренхимы поджелудочной железы, либодлительным застоем секрета на каком-либо участке протоков поджелудочной железы[2, 12, 23].

1.4 Хемилюминесцентная реакция

Любая химическая реакция сопровождается поглощением или выделением энергии, часто в виде тепла, но в данном исследовании энергия химических связей выделялась в виде кванта света, этот процесс был зарегистрирован на хемилюминометре.

Хемилюминесценцией (ХЛ) называется свечение, сопровождающее некоторые биохимические реакции. ХЛ обусловлена реакциями экзотермического типа и протекает, как правило, в три стадии:

1) Первая стадия включает в себя во-первых восстановление одного из участников хемилюминесцентной реакции, то есть присоединение электрона; и во-вторых окисление второго участка, то есть отрыв электрона; происходящие процессы приводят к запасанию химической энергии в системе, а она немного позднее выделится в виде фотона.

2) Вторая стадия заключается в переносе электрона на один из более высоких энергетических уровней и образование продукта реакции в электронно-возбужденном состоянии.

3) На третьей стадии происходит собственно высвечивание фотона при переходе молекулы из электронно-возбужденного в основное состояние (люминесценция) [28, 53, 53, 54, 55, 56].

Чувствительным способом оценки образования АФК является ХЛ метод, с использованием активаторов. ХЛ метод позволяет регистрировать короткоживущие свободные радикалы (СР), которые можно разделить на четыре группы:

1. СР липидов;
2. СР АФК;
3. СР естественных антиоксидантов;
4. СР, осуществляющие ферментативное дыхание в митохондриях.

ХЛ лейкоцитов во время фагоцитоза впервые была обнаружена и описана Робертом Алленом в 1972 году. И вот уже более 40 лет ХЛ широко используется для исследования состояния лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов и лимфоцитов. Показано, что инкубация фагоцитирующих клеток с зимозаном, латексом или бактериями сопровождается усилением ХЛ, интенсивность, которой отражает функциональное состояние клеток и динамику процесса фагоцитоза. Зимозан является индуктором респираторного взрыва у фагоцитов. Зимозан представляет собой вещество бактериального происхождения, это полисахарид из культуры *Saccharomyces cerevisiae*[46, 57, 58, 59, 60, 61].

Виды хемилюминесценции:

1. Спонтанная - свечение, возникающее без вмешательства извне.
2. Индуцированная ХЛ возникает при воздействии различных факторов, и подразделяется на:
 - Хемилюминесценцию. Она протекает при ходе химических реакций. Хемилюминесценция называется биолюминесценцией, если она протекает в живых организмах, например в светлячках.
 - Фотолюминесценцию. Протекает при возбуждении лучами света.
 - Рентгенолюминесценцию, она протекает при возбуждении рентгеновскими лучами.
 - Радиолюминесценцию. Она протекает при воздействии α , β , γ - излучения.
 - А также другие виды люминесценции.

ХЛ ответ при фагоцитозе характеризуется бимодальным распределением. Первый быстрый пик имеет небольшую амплитуду и имеет короткую продолжительность в четыре-пять секунд. Второй пикне такой быстрый, характеризуется более медленным возрастанием, имеет высокую амплитуду и как правило достигает плато в течении 120-240 секунд. Двойственность пиковХЛ ответа фагоцитирующих клетокобъясняет первый пик выделением клетками люминолоксиляющих факторов, попадающих в реакционную среду при контактном взаимодействии активирующего агента с мембраной клетки. А второй пик обусловлен реакцией люминола с молекулами перекиси, хлорноватистой кислоты и других кислородсодержащих продуктов, проходящих через систему фагоцита[29, 55, 57, 62].

Нейтрофилы и мононуклеары, для того, чтобы уничтожать чужеродные организму объекты, выделяют так называемые АФК, к которым относятся супероксидный радикал, пероксид водорода, радикал гидроксила, синглетный кислород. При этом наблюдается очень слабая хемилюминесценция, которая усиливается в тысячи раз в присутствии активаторов ХЛ, например люминола. Стимулированная ХЛ клеток в присутствии люминола - ценный показатель функционального состояния фагоцитов крови и тканей, их способности производить при необходимости АФК, то есть выполнять свою защитную функцию. Эта способность обычно усиливается при возникновении в организме очагов воспаления. Наоборот, при длительном недостатке кислорода, связанном с общим ослаблением организма, активность фагоцитов и хемилюминесцентные ответы снижаются [56, 59, 60, 61, 63].

По механизму действия активаторы ХЛ распадаются на две четко различающиеся группы - химические и физические активаторы. Так, в данном исследовании применялись для регистрации ХЛхимические активаторы, а именно люминол. Хемилюминесцентная активность (ХЛА) характеризует состояние «респираторного взрыва», которое развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза. Исследование особенностей ХЛА моноцитов и нейтрофилов у больных панкреонекрозом позволяет охарактеризовать

механизмы воспалительного процесса, его регуляцию и в дальнейшем разработать методы прогноза характера течения и исхода заболевания [8, 48, 57, 62, 64].

Химические активаторы ХЛ- это соединения, вступающие в химические реакции с АФК или СР, в ходе которых образуются молекулы продуктов в возбужденном электронном состоянии. Наблюдаемое при этом свечение связано с переходом молекул в основное состояние, что приводит к высвечиванию фотонов. Представителями химических активаторов являются люминол (3-аминофталеый гидразид) и люцигенин (N-метилакридиний). Под действием окислителя (в данном случае радикала гидроксила) происходит образование радикала люминола, который затем вступает в реакцию с супероксидным радикалом, образуя внутреннюю перекись (диоксид). Ее разложение приводит к образованию возбужденной молекулы 3-аминофталаата. Переход этой молекулы в основное состояние сопровождается испусканием кванта света [48, 62, 65].

Химические активаторы направляют реакции СР в новое русло, так как реагируют с радикалами с образованием возбужденных молекул продуктов этой реакции. Свечение при этом имеет высокую интенсивность.

Активированная ХЛ используется в биохимических анализах для обнаружения катализаторов, разлагающих пероксид водорода с образованием СР. Пероксид водорода постоянно образуется в организме человека, хотя и в небольших количествах. Сам по себе пероксид водорода - это относительно безобидное соединение, но в присутствии ионов металлов переменной валентности, например железа, меди, марганца или хрома или геминных соединений, из пероксида водорода образуется разрушительный гидроксильный радикал, способный вызывать мутации, инактивировать ферменты и повреждать биологические мембраны. В присутствии люминола гидроксильный радикал вступает с ним в химическую реакцию, что приводит к яркому хемилюминесцентному свечению, связанному с реакциями люминола [53, 56, 58, 63].

При затяжных хронических заболеваниях свечение клеток снижалось, тогда как при возникновении или обострении воспалительного процесса у больных происходило резкое увеличение активности клеток-фагоцитов. Так организм встречает инфекционную опасность - усиливается способность фагоцитов выделять активные формы кислорода для борьбы с чужеродными микроорганизмами [60, 61].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

На базе отделения реанимации и интенсивной терапии МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи имени Н.С. Карповича» г. Красноярска обследовано 38 пациентов с панкреонекрозом в возрасте 30 – 65 лет. Контрольная группа состояла из 50 практически здоровых добровольцев аналогичного возрастного диапазона.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

2.2 Методы исследования

Забор крови для иммунологического исследования проводили утром натощак с 8 до 9 часов. Выделение фракции моноцитов и нейтрофилов осуществляли по общепринятому методу в градиенте плотности фиколл-

урографина с последующей очисткой от прилипающих клеток. Количество моноцитов и нейтрофилов подсчитывали в камере Горяева. При контроле морфологического состава лейкоцитарных взвесей определялась чистота выхода моноцитов и нейтрофилов, которая составляла не менее 97%, жизнеспособность клеток соответствовала 98-100%. В дальнейшем 1 млн. выделенных клеток использовали для определения хемилюминесцентной активности моноцитов и нейтрофилов.

2.3 Определение хемилюминесцентной активности моноцитов и нейтрофилов периферической крови

Реакционная смесь для хемилюминесцентной реакции состояла из 20 мкл донорской сыворотки АВ(IV)Rh(-), 50 мкл люминола (“Sigma”, США) в концентрации 10^{-5} М, 40 мкл опсонизированного зимозана (в случае определения индуцированной хемилюминесценции), 200 мкл взвеси моноцитов или нейтрофилов (2 млн/мл) и 240 мкл раствора Хэнкса (“ПанЭко”, Россия) для определения спонтанной хемилюминесценции или 200 мкл раствора Хэнкса – для индуцированной.

Оценку спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществляли в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3606M» (СКТБ “Наука”, Красноярск).

Результаты ХЛ анализа характеризовали по следующим параметрам: время выхода на максимум интенсивности ХЛ (T_{max}), значение максимума интенсивности ХЛ (I_{max}), площадь под кривой ХЛ (S). Определили индекс активации хемилюминесценции (ИА) - отношением площади кривой хемилюминесценции индуцированной зимозаном к спонтанной хемилюминесценции ($S_{инд.} / S_{спонт.}$). Индекс активации (ИА) определяли по формуле:

$$ИА = S_{индуцированная} / S_{спонтанной},$$

$S_{\text{индуцированная}}$ - величина площади под кривой хемилюминесценции индуцированной зимозаном (относительных единиц);

$S_{\text{спонтанная}}$ - величина площади под кривой хемилюминесценции не индуцированная (относительных единиц).

2.4 Статистические методы исследования

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MSExcel 2010 была сформирована база данных, на основе которой с помощью пакета прикладных программ и Statistica 7,0 производился статистический анализ. Выборку описывали с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями контрольной и опытных групп оценивали по непараметрическому критерию Mann-Whitney.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК- активные формы кислорода

ДНК- дезоксирибонуклеиновая кислота

ИА- индекс активации

ИЛ- интерлейкин

ИХЛ- индуцированная хемилюминесценция

МФС-моноклеарная фагоцитарная система

НПЖ- некроз поджелудочной железы

ПЖ- поджелудочная железа

ПН- панкреонекроз

РНК-рибонуклеиновая кислота

СР- свободные радикалы

ССВР- синдром системной воспалительной реакции

СХЛ- спонтанная хемилюминесценция

ФНО- фактор некроза опухолей

ХЛ- хемилюминесценция

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Филин, В. И. Энциклопедия боли : учеб. пособие / В. И. Филин, А. Д. Толстой. - Санкт-Петербург : Фламинго, 1996. 481 с.
2. Егоров, В. И. Заболевания поджелудочной железы : книга для пациентов / В. И. Егоров, Ю. А. Кучерявый. – Москва: Тримедиа Контент, 2014. - 46 с.
3. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы и Клеточная хемилюминесценция / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурнина // Журнал: успехи биологической химии / Российская академия наук, Биохимическое общество, Институт биохимии им. А. Н. Баха. – Москва, 2009. Т. 49, С. 341-388.
4. Ярилин, А. А. Иммунология : учебник для студентов вузов / А. А. Ярилин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 752 с.
5. Дранник, Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология : учеб. пособие для студентов / Г. Н. Дранник. – Москва :АстроПринт, 1999. – 603 с.
6. Смирнов, К. В. Пищеварение и гипокинезия : монография / К. В. Смирнов. –Москва : Медицина, 1990. – 224 с.
7. Вильгельми, И. А. Аспекты терапии и хирургии острого панкреатита / И. А. Вильгельми, К. Г. Ершов // Вестник биологии и клинической медицины. – Новосибирск : Новосибирский государственный университет, 2009. – Т. 7, № 3. – 10 с.
8. Савельев, В. С. Панкреонекроз. Состояние и перспектива / В. С. Савельев, В. А. Кубышкин // Тихоокеанский медицинский журнал. – Москва, 2009. № 2. С. 48-52.
9. Яицкий, Н. А. Острый панкреатит : монография / Н. А. Яицкий. – Москва :МЕДпресс-информ, 2003. – 752 с.
- 10.Савченко, А. А. Фенотипический состав и функциональная активность моноцитов у больных острым панкреатитом / А.А. Савченко, А.Г. Борисов, Д.Э. Здзитовецкий,И.В. Кудрявцев, А.Ю. Медведев, А.В. Мошев, И.И. Гвоздев// Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, № 1. - С. 45-54.

- 11.Багненко, С. Ф. Классификация острого панкреатита: современное состояние проблемы / С. Ф. Багненко, В. Р. Гольцов, В. Е. Савелло, Р. В. Вашетко // Вестник хирургии: - Москва. - 2015. -Т. 174, № 5. С. 86-92. [Bagnenko S.F., Gol'tsov, V. R. Classification of acute pancreatitis / V. R. Gol'tsov, V. E. Savello, R. V. Vashetko // Vestnikkhirurgii : - Grekov - 2015, №. 5, P. 86-92.]
- 12.Singh, P.R. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: Current understanding / Singh P. R., Garg P.K. // VestnikGastroenterol : - 2016, - Vol. 35, № 3, P. 153-166.
- 13.Кузнецов, С. Л. Гистология, цитология и эмбриология: Учебник для медицинских вузов. С.Л. Кузнецов, Н.Н. Мушкамбаров – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 600 с.
- 14.Дроздова, М.В. Заболевания крови учебник для студентов вузов / М.В. Дроздова– Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 634 с
- 15.Савельев, В. С. Панкреонекроз. Состояние и перспектива / В. С. Савельев, В. А. Кубышкин // Тихоокеанский медицинский журнал. – Москва, 2009. № 2. С. 22-28.
- 16.Селезнев, Г.И. Тактика хирурга при остром панкреатите: методические рекомендации / Г.И. Селезнев / Под ред. С. И. Филиппова. – Омск :ОмГМА, 2006. -31 с.
- 17.Северин, Е. С. Биохимия: учебник для студентов вузов / Е. С. Северин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 768 с.
- 18.Владимиров, Ю. А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях / Ю. А. Владимиров // Соревский образовательный журнал. – Москва, 2001. –Т. 7, № 1. С. 16-23.
- 19.Оценка особенностей хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов крови практически здоровых людей [Электронный ресурс] :Фонд президентских грантов. – Режим доступа: <https://openrepository.ru/article?id=33820>

- 20.Грачева, Т. А. Совершенствование хемилюминесцентного метода исследования функциональной активности фагоцитирующих клеток: клиническая лабораторная диагностика / Т. А. Грачева. –Томск : НМБ СибГМУ, 2008. С. 54-55.
- 21.Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы [Электронный ресурс] :СанктПетербургское региональное отделение Российской АссоциацииАллергологов и Клинических Иммунологов. – Режим доступа: http://www.spbraaci.ru/component/option,com_xmap/Itemid,41/
- 22.Борисов, А. Г. К вопросу о классификации нарушений функционального состояния иммунной системы / А. Г. Борисов, А. А. Савченко, С. В. Смирнова // Сибирский медицинский журнал. – Томск, 2008. - Т. 23, № 3. С. 1318.
- 23.Земсков, А. М. Дополнительные методы оценки иммунного статуса : клиническая и лабораторная диагностика / А. М. Земсков, В. М. Земсков. Москва, 1994. № 3. - С. 34-35.
- 24.Козлов, В. А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений : руководство для врачей / В. А. Козлов, А. Г. Борисов, С. В. Смирнова, А. А. Савченко. –Новосибирск: Наука, 2009. - 274 с.
- 25.Островский, В. К. Оценка тяжести и прогноз гнойно-деструктивных заболеваний органов брюшной полости / В. К. Островский, А. В. Машенко, С. В. Макаров // Вестник хирургии: - Москва. - 2007. № 1.С. 33-37.
- 26.Babior, B. M. The neutrophil NADPH oxidase / B. M. Babior, J. D. Lambeth, W. Nauseef // Arch. Biochem. Biophys. - 2002. - V. 397, № 2. - P. 342-344.
- 27.Kebir, D. Role of neutrophil apoptosis in the resolution of inflammation / D. Kebir, J. G. Filep // Scientific World Journal. - 2010. - V. 10. - P. 1731-1748.
- 28.Hager, M. Neutrophil granules in health and disease / M. Hanger, J. B. Cowland, N. Borregaard// Journal Intern. Med.-2010. -V. 268, № 1.-P. 25-34.
- 29.Phillipson, M. The neutrophil in vascular inflammation / M. Phillipson, P. Kubes// Journal Nat. Med. - 2011. - V. 17, № 11. - P. 1381-1390.

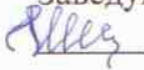
30. Wright, H.L. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases / H. L. Wright, R. J. Moots, R. C. Bucknall, S. W. Edwards // *Journal Rheumatology*. - 2010. - V. 49, № 9. - P. 1618-1631.
31. Дмитриева, Н. Ю. Вычислительное моделирование динамики хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов / Н.Ю. Дмитриева, А.А. Савченко // *Journal of Siberian Federal University*. - 2008. С. 435-442.
32. Земсков, А.М. Клиническая иммунология: учебное пособие для студентов медицинских вузов / А. М. Земсков. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2005. С. 20.
33. Елисеев, В.Г. Гистология : учебное пособие для студентов / В.Г. Елисеев, Ю.И. Афанасьев, Н.А. Юрина. - Москва : Медицина, 1983. - 146 с.
34. Маянский, А. Н. Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский. - Новосибирск: Наука, 1983. - 283 с.
35. Пинегин, Б.В. Нейтрофилы: структура и функции / Б. В. Пинегин, А. Н. Маянский // *Журнал по иммунологии*. - 2007, №6. С.374-381.
36. Ткаченко, Б. И. Основы физиологии человека : учебник для высших учебных заведений / Б. И. Ткаченко. - Москва, 1994. Т.1, - 567 с.
37. Разработка хемилюминесцентного метода, подбора иммуноактивных препаратов для персонифицированного лечения пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями [Электронный ресурс] : Startbase. Режим доступа: <http://www.startbase.ru/knowledge/articles/152/>
38. Винник, Ю.С. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа / Ю.С. Винник, А.А. Савченко // *Журнал Сибирское медицинское обозрение*. - 2006, №3. С. 42-44.
39. Березов, Т. Т. Биологическая химия: Учебник для вузов / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – Москва : Медицина, 2002. - 704 с.
40. Новиков, Д.А. Биофизика : конспект лекций / Д. А. Новиков, М. М. Филимонов. – Минск, 2012. – 133 с.

- 41.Чеснокова, Н.П. Патогенез острого воспаления : учебно-методическое пособие / Н. П. Чеснокова, Т. А. Невважай, А. В. Михайлов. Саратов: СГМУ, 2004. - 74 с.
- 42.Kasama, T. Neutrophil-derived cytokines:potential therapeutic targets in inflammation / T. Kasama, Y. Miwa, T. Isozaki //Curr. Drug.Targets Inflamm. Allergy. – 2005. V. 4, № 3. P. 273-279.
- 43.Khan, P. Luminolbasedchemiluminescent signals: clinical and non-clinicalapplication and future uses / P. Khan, D. Idrees, M. A. Moxley, J. A. Corbett, F. Ahmad, G. Figura, M. I. Hassan / Appl. Biochem. Biotechnol. -2014. V. 173, № 2. P. 333-355.
- 44.Babior, B.M. Phagocytes and oxidative stress / B. M. Babior / Am. JournalMed. – 2000. V. 109. P. 33-44.
- 45.Грачева, Т. А. Способ диагностики специфической сенсбилизации организма человека к бактериальным агентам по показателям хемилюминесцентного свечения нейтрофилов / Т. А. Грачева, В. П. Бондарев, И. В. Дармов, Г. Н. Нестеров // Журнал по иммунологии. – 2007. № 5. С. 297-299.
- 46.Грачева, Т. А. Совершенствование хемилюминесцентного метода исследования функциональной активности фагоцитирующих клеток / Т. А. Грачева // Пособие по клинической лабораторной диагностике. -2008. № 2. С. 54-55.
- 47.Савченко, А. А. Основы клинической иммунометаболомики / А. А. Савченко, А. Г. Борисов. – Новосибирск : Наука, 2012. 263 с.
- 48.Агапов, М. А. Возможности коррекции синдрома системной воспалительной реакции при остром деструктивном панкреатите / М. А. Агапов, М. В. Харева, В. А. Горский // Журнал гастроэнтерология. – 2011. № 7.
- 49.Веселовский, В. А. Хемилюминесцентный метод анализа в биологии. – Л. : Наука, 1987. С. 34-37.

50. Pauksen, K. Chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes and whole blood during acute bacterial infections / K. Pauksmen, J. Sjolín, P. Venge // Scand. J. Infect. Dis. – 1989. - V. 21. P. 277-284.
51. Vladimirov, Yu. A. Biophysical chemiluminescent analysis. Physicochemical Aspect of Medicine Reviews // Harwood Academic Publishers GmbH. – 1991. – V. 2. P. 1-44.
52. Огороков, А. Н. Диагностика болезней системы крови и внутренних органов: практическое руководство для врачей / А. Н. Огороков. – Москва: МЕДпресс-информ, 2001. Т. 4.-512 с.
53. Кубышкин, В. А. Острый панкреатит: монография / В. А. Кубышкин // Тихоокеанский медицинский журнал. – Москва, 2009. № 2. С. 48-52.
54. Дроздов, А. А. Заболевания крови. Полный справочник / А. А. Дроздов, М. В. Дроздова. – Москва: Эксмо, 2008.- 93 с.
55. Norton, I. D. Optimising outcomes in acute pancreatitis / I. D. Norton, J. E. Clain // Journal Drugs. - 2001. С. 1581-1591.
56. Яицкий, Н. А. Острый панкреатит : монография / Н. А. Яицкий – Москва : МЕДпресс-информ, 2003. – 752 с.
57. Савченко, А. А. Фенотипический состав и функциональная активность моноцитов у больных острым панкреатитом / А.А. Савченко, А.Г. Борисов, Д.Э. Здзитовецкий, И.В. Кудрявцев, А.Ю. Медведев, А.В. Мошев, И.И. Гвоздев // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, № 1. С. 45-54.
58. Багненко, С. Ф. Классификация острого панкреатита: современное состояние проблемы / С. Ф. Багненко, В. Р. Гольцов, В. Е. Савелло, Р. В. Вашетко // Вестник хирургии. - Москва. - 2015. -Т. 174, № 5. С. 86-92.
59. Абдульянов, А. В. Диагностика и хирургическое лечение больных деструктивным панкреатитом / А. В. Абдульянов, А. З. Фаррахов, М. А. БОРОДИН // Сборник Казанский государственный медицинский университет. – Казань, 2010. - 8 с.
60. Кузин, М. И. Хирургические болезни : Учебная литература / М. И. Кузин, О. С. Шкроб, Н. М. Кузин и др. – Москва : Медицина, 2002. - 784 с.

- 61.Владимиров, Ю.А. Свечение, сопровождающее биохимические реакции / Ю. А. Владимиров // Соросовский Образовательный Журнал. - 1999. Т. 6. С. 25-32.
- 62.Боженков, Ю.Г. Практическая панкреатология / Ю.Г. Боженков, А.Н. Щербюк, С.А. Шалин. – Москва: МЕДпресс-информ, 2003. -210 с.
- 63.Сахно, В. Д. Панкреонекроз. Диагностика и обоснование дифференцированного выбора методов лечения : диссертация / В. Д. Сахно. – Москва, 2007. – 215 с.
- 64.Подолужный, В. И. Острый панкреатит : монография / В. И. Подолужный, И. Х. Аминов, И. А. Радионов. - Кемерово, 2017.- 131 с.
- 65.Blazheevskly, M. Ye. Chemiluminescence-based kinetic determination of drug / M. Ye. Blazheevskly, N. Yu. Bondarenco. – 2011. V. 6, №3. P. 124-142.
- 66.Галкин, А. А. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа / А. А. Галкин, В. С. Демидова // Журнал Имени Профессора Б. М. Костюченка. – 2015. Т. 2. С. 25-31.

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

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
 Е. И. Шишацкая

« 21 » июня 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология


Состояние респираторного взрыва нейтрофилов и моноцитов при остром
панкреонекрозе

Научный руководитель



профессор, д.м.н А.А. Савченко

Выпускник



А.О. Маринова

Красноярск 2018