

ВЛИЯНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА РИГИДНОСТЬ МЕМБРАНЫ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ

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

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

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

Резюме. Праймирование и активация при участии цитокинов вызывают в нейтрофилах (Нф) транзиторные реакции полимеризации актина, расширение и размягчение клеток, изменение рецепторного статуса, способности к фагоцитозу и генерации внеклеточных ловушек (NET), что, в конечном счете, определяет про- или противоопухолевый фенотип Нф.

С целью оценки влияния провоспалительных цитокинов на ригидность мембраны и морфофункциональное состояние нейтрофилов при доброкачественных опухолях и раке яичников методом ИФА оценивали уровень циркулирующих цитокинов (IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1), экспрессию маркеров адгезии (CD11b), дегрануляции (CD63), рецепторов FcγRIIb, способствующих фагоцитозу (CD16). Определяли способность нейтрофилов к фагоцитозу и к образованию NET. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием ПО Statistica 13.0, Jamovi 1.6.5.0.

Установлено повышение ригидности мембраны при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников. При доброкачественных опухолях яичников повышена фагоцитарная активность и экспрессия CD11b. При раке яичников увеличивается количество CD11b⁺Нф и CD63⁺Нф. При этом, на начальной стадии преобладает способность образовывать NET, а фагоцитарная активность повышается при распространенном раке яичников. Уровень сывороточного MCP-1 повышен при доброкачественных опухолях яичников. IL-2 повышен на начальной стадии и при распространенном раке яичников. Уровень IL-18 и TIMP-1 в сыворотке пациентов с доброкачественными опухолями яичников в пределах коридора нормы. С помощью множественной регрессии при доброкачественных опухолях яичников выявлена зависимость ригидности мембраны нейтрофилов от уровня циркулирующих IL-2, TIMP-1, MCP-1, IL-18, и прямая корреляционная связь ригидности мембраны нейтрофилов с экспрессией CD11b. На ригидность мембраны нейтрофилов при раке яичников оказывает

Адрес для переписки:

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

Address for correspondence:

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

Образец цитирования:

Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, С.О. Генинг,
И.И. Антонеева, А.Б. Песков «Влияние
провоспалительных цитокинов на ригидность
мембраны и морфофункциональное состояние
циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников» //
Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 171-180.
doi: 10.15789/1563-0625-IOP-2333

© Абакумова Т.В. и соавт., 2022

For citation:

T.V. Abakumova, T.P. Gening, S.O. Gening, I.I. Antoneeva,
A.B. Peskov "Influence of proinflammatory cytokines on
membrane rigidity and morphofunctional state of circulating
neutrophils in ovarian tumors", 2022, Vol. 24, no. 1,
pp. 171-180.

doi: 10.15789/1563-0625-IOP-2333

DOI: 10.15789/1563-0625-IOP-2333

влияние только IL-2. При этом ригидность мембраны нейтрофилов прямо коррелирует с экспрессией CD16, CD63, с фагоцитарным индексом и обратно коррелирует с числом ловушек.

Комбинация показателей IL-2, MCP-1 и ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов (по результатам мультивариантного анализа) может быть использована для дифференциальной диагностики рака яичника.

Таким образом, при доброкачественных опухолях яичников циркулирующие провоспалительные цитокины вызывают увеличение ригидности мембраны нейтрофилов и увеличение их адгезионных способностей. При раке яичников только IL-2 влияет на ригидность циркулирующих Нф, повышение которой сопровождается усилением фагоцитарной активности и снижением способности образовывать NET.

Ключевые слова: рак яичников, доброкачественная опухоль яичников, нейтрофилы, ригидность мембраны, IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1

INFLUENCE OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES ON MEMBRANE RIGIDITY AND MORPHOFUNCTIONAL STATE OF CIRCULATING NEUTROPHILS IN OVARIAN TUMORS

Abakumova T.V.^a, Gening T.P.^a, Gening S.O.^a, Antoneeva I.I.^{a, b},
Peskov A.B.^a

^a Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

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

Abstract. Priming and activation mediated by cytokines cause transient reactions of actin polymerization in neutrophils (Nph), expansion and softening of cells, changes in receptor status, phagocytic ability, and generation of extracellular traps (NET), thus ultimately determining pro- or antitumor phenotype of Nph. To assess the effects of pro-inflammatory cytokines on membrane rigidity and morphofunctional state of neutrophils in benign tumors and ovarian cancer, the levels of circulating cytokines (IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1), expression of adhesion markers (CD11b), degranulation (CD63), as well as Fc γ RIIIb receptors promoting phagocytosis (CD16). Ability of neutrophils to phagocytosis and the formation of NET was determined. Statistical evaluation of the data obtained was carried out using Statistica 13.0, Jamovi 1.6.5.0 software. An increase in membrane rigidity was found in benign and malignant ovarian tumors. In benign ovarian tumors, phagocytic activity and expression of CD11b were enhanced. In ovarian cancer, the number of CD11b⁺Nph and CD63⁺Nph were increased. Meanwhile, at initial cancer stage, the ability to form NET predominates, and phagocytic activity increases with advancing ovarian cancer. Serum MCP-1 levels are elevated in benign tumors and at all stages of ovarian cancer. IL-2 is elevated at early stage and in advanced ovarian cancer. The level of IL-18 and TIMP-1 in the serum of patients with benign ovarian tumor did not differ significantly from the norm. Using multiple regression approach, the dependence of neutrophil membrane rigidity on the levels of circulating IL-2, TIMP-1, MCP-1, IL-18 was revealed in benign ovarian tumors, and a direct correlation was found between the neutrophil membrane rigidity and CD11b expression. Only IL-2 was associated with neutrophil membrane rigidity in ovarian cancer. At the same time, the rigidity of the neutrophil membrane directly correlated with CD16, CD63, expression like as with phagocytic index and inversely correlates with the number of traps. A combination of IL-2, MCP-1 and membrane rigidity of circulating neutrophils (based on multivariate analysis) could be used for differential diagnosis of ovarian cancer. Thus, in a benign ovarian tumor, circulating proinflammatory cytokines are associated with increased rigidity of neutrophil membrane and increase in their adhesion capacity. In ovarian cancer, only IL-2 is associated with altered rigidity of circulating neutrophils. Increase of the latter index is accompanied by elevated phagocytic activity and decreased ability to form NET.

Keywords: ovarian cancer, benign ovarian tumor, neutrophils, membrane rigidity, IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1

Введение

Клетки обладают широким спектром нелинейно-упругих и неупругих свойств, которые определяются механическими характеристиками клеточных компонентов [11]. Биомеханические свойства мембраны нейтрофилов (Нф) важны при морфогенезе, цитокинезе и миграции, и влияют на их способность к проникновению через стенку сосуда, что определяет их роль в канцерогенезе [4]. Прайминг и активация вызывают в Нф характерные физиологические перестройки, заключающиеся в транзитной реакции полимеризации актина, расширение и размягчение клеток [3]. Показано участие ряда провоспалительных цитокинов в праймировании циркулирующих Нф [10, 18, 21]. Так установлено повышение у Нф, стимулированных ИЛ-18, способности к образованию внеклеточных ловушек (NET) и экспрессии CD11b [9]. Известна способность ИЛ-2, используемого в химиотерапии рака, рекрутировать Нф в легкие [14], влиять на пролиферацию, активацию, дифференцировку и выживание иммунных клеток [19]. Показано *in vitro* влияние MCP-1/CCL2 на рекрутирование Нф [7]. С другой стороны MCP-1 влияет на жесткость клеток эпителия сетчатки [23]. Повышение уровня циркулирующего TIMP-1 в эксперименте вызывает нейтрофилию. Цитокин реализует влияние на гомеостаз Нф через CD63 [12]. Активация нейтрофилов приводит к фагоцитозу, стимуляции продукции активных форм кислорода (АФК), дегрануляции и генерации NET [2].

Цель исследования – оценить влияние провоспалительных цитокинов на ригидность мембраны и морфофункциональное состояние циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников.

Материалы и методы

Обследовали 97 больных раком яичников (РЯ) I-IV стадии по FIGO, 30 больных с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) и контрольную группу ($n = 22$) (табл.1).

Уровень TIMP-1 (eBioscience, Австрия) и ИЛ-2, ИЛ-18, MCP-1 («Вектор-Бест-Волга», Россия) в сыворотке (пг/мл) оценивали с помощью ИФА.

Нейтрофилы выделяли из 5 мл гепаринизированной крови в двойном градиенте плотности фиколл-урографина (1.117 и 1.077 г/мл). Нативные Нф сканировали, используя микроскоп SolverPro (NT-MDT, г. Зеленоград). Использовали зонды с жесткостью 0,3 N/m, радиус закругления кончика зонда составлял 10 nm.

Для оценки жесткости мембран использовали режим спектроскопии. Ригидность мембраны

оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывали согласно теории Герца [16].

Методом флуоресцентной микроскопии (Nikon Ni-U), с использованием моноклональных антител CD11b, CD16, CD64 (ООО «Сорбент», Москва), меченных FITC, определяли количество антиген позитивных клеток (% флуоресцирующих клеток при просматривании 100 Нф).

Изучение фагоцитарной активности Нф проводили путем количественного определения поглотительной и переваривающей способности Нф при 30 мин инкубации с *Saccharomyces cerevisiae*. Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ) – процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе от общего их количества (%).

Для определения NET, нейтрофилы, выделенные из периферической крови, окрашивали с помощью 0,04% раствора акридинового оранжевого по методу Долгушина И.И. и соавт. (2010). Образование внеклеточных ловушек оценивали после инкубации Нф с выбранной нами в качестве индуктора суточной культурой *Saccharomyces cerevisiae*. Полученные результаты оценивали на флуоресцентном микроскопе, используя при этом фильтры, которые обеспечивают возбуждающий свет с длиной волны не более 490 нм и эмиссию с длинной волны 520 нм. Высчитывали число нейтрофильных ловушек (%) – количество нейтрофильных ловушек, содержащих дрожжевые клетки, из 100 подсчитанных сетеподобных структур. От всех пациенток получено информированное добровольное согласие. Статистическую обработку производили с использованием one-way ANOVA, корреляцию независимых показателей по Спирмену (Statistica 13.0 (TIBCO, США)). Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, также представленных количественными показателями, разрабатывали с помощью методов парной или множественной линейной регрессии. В качестве показателя силы связи использовали линейный коэффициент корреляции F . Для оценки качества подбора линейной функции рассчитывали квадрат линейного коэффициента корреляции R^2 . Построение прогностической модели риска исхода злокачественного новообразования выполнялось при помощи метода бинарной логистической регрессии. Статистическая значимость полученной модели определялась с помощью критерия χ^2 . Качество прогностической модели, полученной с помощью ROC-анализа, оценивалось исходя из значений площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95% доверительным интер-

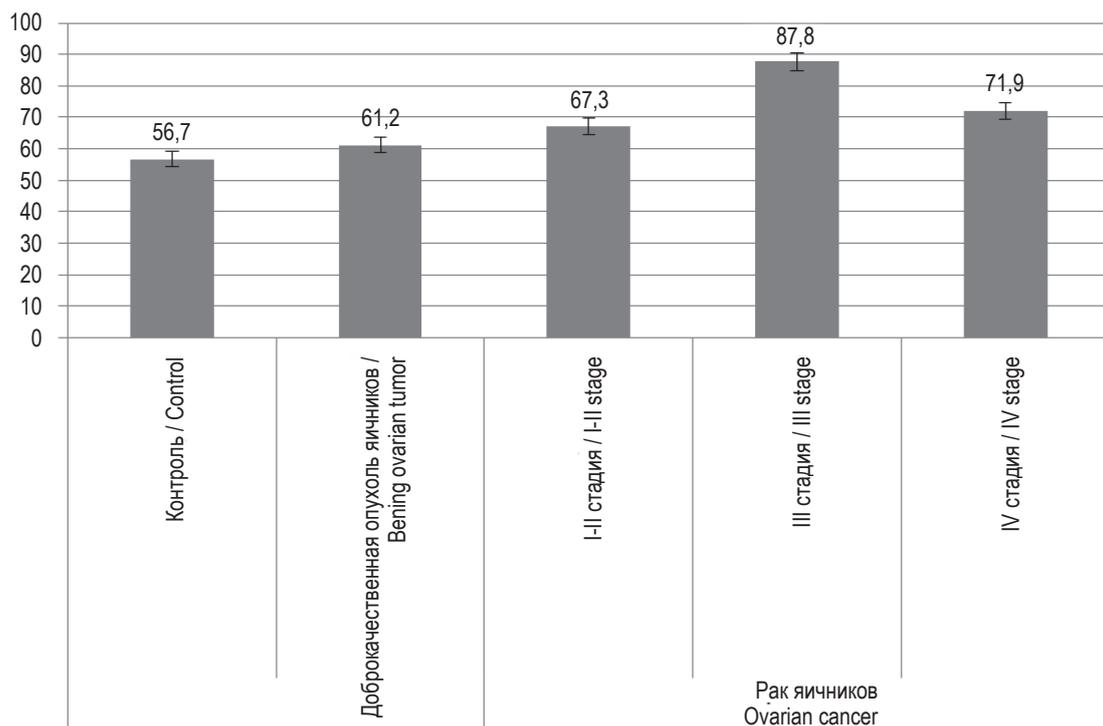


Рисунок 1. Ригидность мембраны нейтрофилов (МПа) при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников

Figure 1. Rigidity of the neutrophil membrane (MPa) in benign and malignant ovarian tumors

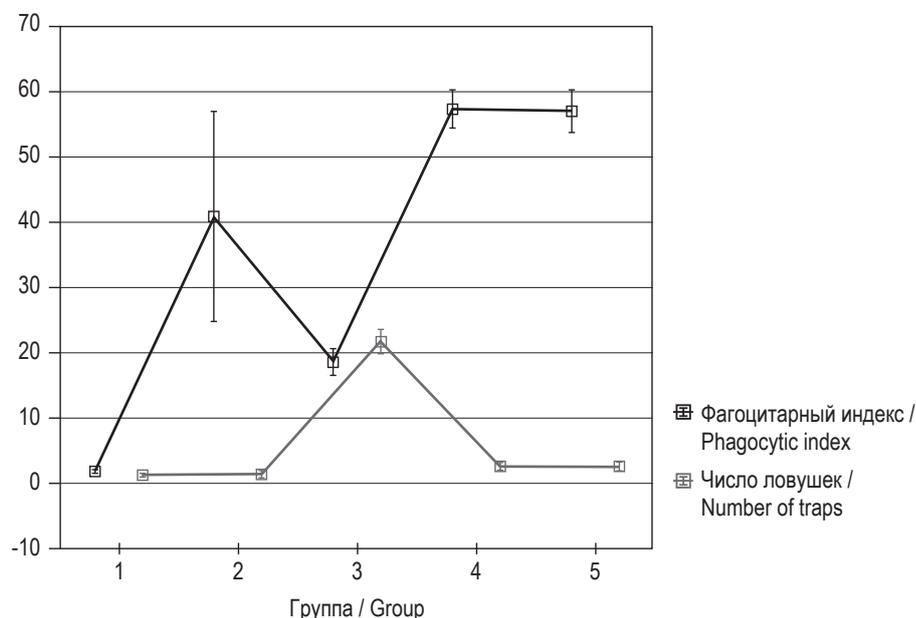


Рисунок 2. Количество нейтрофилов, способных к фагоцитозу (фагоцитарный индекс) и количество NET (число ловушек) при доброкачественных опухолях и на разных стадиях рака яичников

Примечание. 1 – контроль, 2 – доброкачественная опухоль яичников, 3 – I-II стадия рака яичников, 4 – III стадия рака яичников, 5 – IV стадия рака яичников 100 v × 100 с. Среднее; Отрезок: среднее ± 0,95 дов. интервал.

Figure 2. Number of neutrophils capable of phagocytosis (phagocytic index) and the number of NET (the number of traps) in benign tumors and at different stages of ovarian cancer

Note. 1, control; 2, benign ovarian tumors; 3, stage I-II ovarian cancer; 4, stage III ovarian cancer; 5, IV stage ovarian cancer 100 v × 100 c. The average; bar – Mean±0.95 confidence interval.

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОК, ВКЛЮЧЕННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS INCLUDED IN THE STUDY

Группа Group	Клиническая характеристика Clinical characteristics	Значение significance
Доброкачественная опухоль яичников Benign ovarian tumor n = 15	Возраст – Ме ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), лет Age, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), years	54 (49-59)
	Уровень СА-125 при поступлении – Ме ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), Ед/мл CA-125 level at admission, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), U/ml	10 (6-119)
Рак яичников Ovarian cancer n = 58	Возраст – Ме ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), лет Age, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), years	60 (53-65)
	Уровень СА-125 при поступлении – Ме ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), Ед/мл CA-125 level at admission, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), U/ml	352 (142-611)
	Стадия по классификации FIGO FIGO stage	
	– I, n (%)	8 (13,8)
	– II, n (%)	8 (13,8)
	– III, n (%)	24 (41,4)
	– IV, n (%)	18 (31,0)
	Наличие асцита при поступлении Presence of ascites on admission	
	– да, n (%) – yes, n (%)	14 (24,1)
	– нет, n (%) – no, n (%)	44 (75,9)
	Гистологический подтип Histological subtype	
	– серозный high-grade, n (%) – serous high-grade, n (%)	42 (72,4)
	– муцинозный, n (%) – mucinous, n (%)	1 (1,7)
	– эндометриоидный, n (%) – endometrioid, n (%)	5 (8,6)
	– светлоклеточный, n (%) – ovarian clear cell carcinoma, n (%)	2 (3,4)
– недифференцированный, n (%) – undifferentiated, n (%)	8 (13,8)	

Примечание. Ме – медиана, ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) – интерквартильный размах.

Note. Me, median; ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), interquartile range.

валом (ДИ) и уровня статистической значимости (Jamovi 1.6.5.0).

Результаты

Нами установлено значимое повышение ригидности мембраны Нф по сравнению с контролем при ДОЯ и на разных стадиях РЯ ($p_{\text{доя}} = 0,0001$, $p_{\text{I-II}} = 0,0096$, $p_{\text{IV}} = 0,0005$) (рис. 1).

При этом у пациентов с III стадией РЯ ригидность мембраны выше, чем в контроле и при ДОЯ ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) (рис. 1).

Нф обладают мощным рецепторным аппаратом, обеспечивающим связь между собой, с клетками эндотелия, эпителия, клетками иммунной системы и различными тканями. К ним относятся рецепторы адгезии (CD11b (CR3)) [22], рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов (FcγRIII (CD16)) [8]. Праймирование и активация Нф вызывают увеличение экспрессии интегринов CD11/CD18 [6]. Фагоцитарную функцию Нф выполняют при участии ферментов цито-

плазматических гранул. Маркером азурофильных гранул является CD63, который экспрессируется после активации Нф цитокинами [7]. Повышение количества CD63⁺Нф наблюдалось на III стадии РЯ по сравнению с группой контроля ($p = 0,0328$), и тенденция к снижению на I-II стадии по сравнению с доброкачественными опухолями ($p = 0,0754$) (табл. 2).

При оценке фенотипа Нф циркулирующей крови было обнаружено увеличение количества CD11b⁺Нф, способных к повышенной адгезии при ДОЯ ($p = 0,0077$) и на всех стадиях РЯ по сравнению с контрольной группой ($p_{\text{I-II}} = 0,0069$, $p_{\text{III}} = 0,0218$, $p_{\text{IV}} = 0,0069$). При прогрессировании РЯ количество CD11b⁺Нф статистически значимо не изменялось по сравнению с аналогичным в группе с ДОЯ ($p_{\text{I-II}} = 0,4185$, $p_{\text{III}} = 0,1763$, $p_{\text{IV}} = 0,5754$). Количество CD16⁺Нф при доброкачественных опухолях яичников и на начальных стадиях РЯ находилось в пределах коридора нормы ($p = 0,9989$). А на III и IV стадиях РЯ

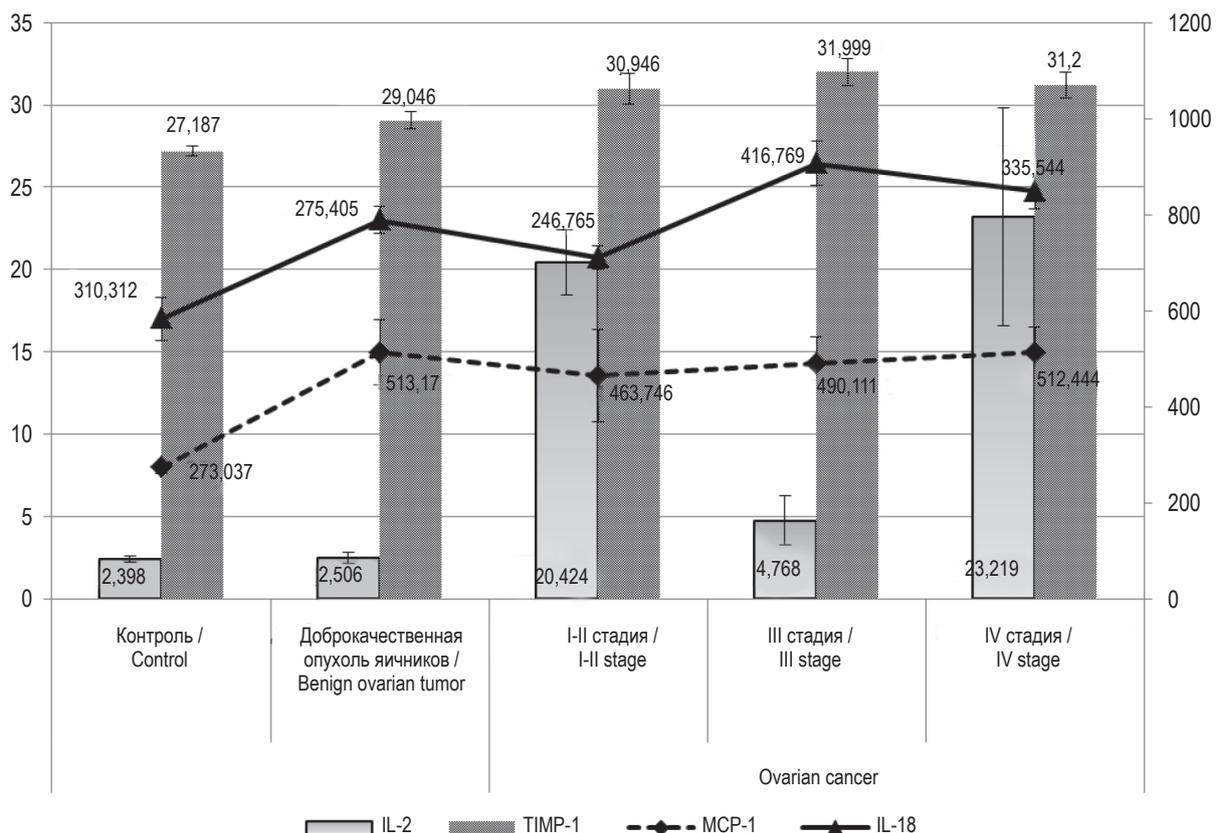


Рисунок 3. Уровень сывороточных цитокинов (пг/мл), влияющих на ригидность мембраны нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников

Figure 3. Level of serum cytokines (pg/ml) affecting the rigidity of the neutrophil membrane in benign ovarian tumor and ovarian cancer

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО НЕЙТРОФИЛОВ С РАЗЛИЧНЫМ ФЕНОТИПОМ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ И НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ РАКА ЯИЧНИКОВ

TABLE 2. NUMBER OF NEUTROPHILS WITH DIFFERENT PHENOTYPES IN BENIGN OVARIAN TUMORS AND AT DIFFERENT STAGES OF OVARIAN CANCER

Группа Group	Контроль Control n = 22	Доброкачественная опухоль яичников Benign ovarian tumor n = 15	I-II стадия РЯ I-II stage OC n = 17	III стадия РЯ III stage OC n = 26	IV стадия РЯ IV stage OC n = 20
Показатели Indicators					
CD11b ⁺ , %	60,40±7,76	95,60±3,92*	98,80±0,53*	92,00±3,49*	93,00±1,00*
CD16 ⁺ , %	98,90±0,74	99,60±0,40	99,00±0,44	94,80±1,76*	94,00±6,00 [#]
CD63 ⁺ , %	34,90±7,38	52,00±12,66	40,44±1,26	60,22±11,26*	52,80±4,88

Примечание. * – данные статистически значимо отличаются от аналогичных в группе контроля; # – данные статистически значимо отличаются от аналогичных в группе с доброкачественными опухолями яичников.

Note. *, the data are statistically significantly different from those in the control group; #, the data are statistically significantly different from those in the group with benign ovarian tumors.

значимо снижалось по сравнению с контролем ($p_1 = 0,0279$ и $p_2 = 0,0284$).

В результате проведенного исследования при ДОЯ не выявлено значимых изменений показателей фагоцитоза и NET по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

На начальной стадии РЯ наблюдалось статистически значимое снижение фагоцитарной активности ($p = 0,0281$) и повышение числа NET по сравнению с ДОЯ ($p = 0,0001$). На III и IV стадиях РЯ заметно повышалась фагоцитарная активность ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) и ЧЛ ($p_1 = 0,0021$ и $p_2 = 0,0012$) по сравнению с аналогичными показателями на I-II стадии РЯ (рис. 2). Но при этом снижалась способность нейтрофилов образовывать NET ($p_1 = 0,0035$ и $p_2 = 0,0512$).

При ДОЯ уровень МСР-1 в сыворотке пациентов с ДОЯ и на различных стадиях РЯ значимо повышен по сравнению с контролем ($p_{\text{ДОЯ}} = 0,0002$, $p_{\text{I-II}} = 0,0310$, $p_{\text{III}} = 0,0012$, $p_{\text{IV}} = 0,0005$) (рис. 3).

Уровень сывороточного ИЛ-2 при ДОЯ значимо не отличается ($p = 0,7631$) от контроля. На начальных стадиях РЯ ($p_{1,2} = 0,0001$) и при распространенном РЯ ($p_1 = 0,0020$ и $p_2 = 0,0108$) уровень ИЛ-2 выше такового в контроле и при ДОЯ (рис. 3). Значимых изменений ИЛ-18 при ДОЯ ($p = 0,5578$) и РЯ ($p_{\text{I-II}} = 0,2578$, $p_{\text{III}} = 0,1045$, $p_{\text{IV}} = 0,6668$) по сравнению с контролем не наблюдается, однако на III стадии РЯ уровень ИЛ-18 в сыворотке повышается относительно такового при ДОЯ ($p = 0,0283$) и начальной стадии РЯ ($p = 0,0057$) (рис. 3). Уровень циркулирующего

ТИМР-1 при ДОЯ и РЯ находится в пределах коридора нормы (рис. 3).

Обсуждение

Согласно немногочисленным данным литературы, повышение жесткости мембраны Нф имело место при ряде патологических состояний. Так, при анализе результатов атомно-силовой спектроскопии выявлено увеличение жесткости мембран нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ [1]. По результатам исследований Плесковой С.Н. и соавт. (2020), жесткость мембраны и сила адгезии нейтрофилов снижается под влиянием *Staphylococcus aureus* [17], а увеличение жесткости мембраны проявляется при мумификации нейтрофилов [16]. Под действием ИЛ-2 наблюдается увеличение жесткости и снижение функциональной активности НК-клеток [13]. Опосредованное повышение ригидности мембраны Нф и их готовность к хемотаксису при сепсисе может привести к секвестрации этих клеток в капиллярах и последующему нарушению микрососудистой перфузии [6]. Повышенная ригидность Нф наблюдается у ВИЧ-инфицированных с тяжелой иммуносупрессией [8].

В нашем исследовании при ДОЯ методом множественного регрессионного анализа выявлено влияние циркулирующих ИЛ-2, ТИМР-1, МСР-1, ИЛ-18 на увеличение ригидности мембраны Нф ($F(4,10) = 9,6878$, $p = 0,0018$, $R^2 = 0,7128$).

При ДОЯ прямая заметная корреляционная связь между ригидностью мембраны нейтрофилов и экспрессией CD11b ($r = 0,5254$, $p = 0,0442$),

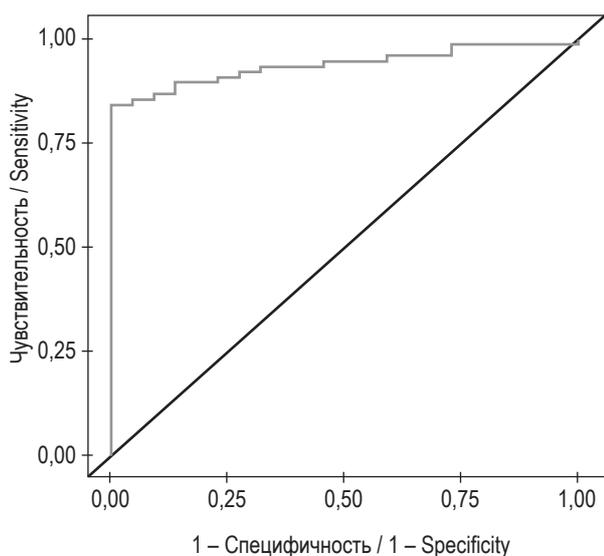


Рисунок 4. ROC-кривая для регрессионной модели дифференциальной диагностики рака яичников с учетом показателей в сыворотке IL-2 и MCP-1 и ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов

Figure 4. ROC-curve for the regression model of differential diagnosis of ovarian cancer taking into account the parameters in serum IL-2 and MCP-1, and the rigidity of the membrane of circulating neutrophils

что подтверждает взаимосвязь повышенной адгезивной способности нейтрофилов с повышенной ригидностью.

В результате исследования Nano R. и соавт. (1997) было выявлено, что под влиянием высоких доз рекомбинантного IL-2 наблюдалось повышение интенсивного фагоцитоза нейтрофилов и появлением плотной сети клеточных мембран [15]. При РЯ методом линейной регрессии влияние сывороточного IL-2 на ригидность мембраны Нф объясняется обратной зависимостью в модели только в 6% от общей дисперсии ($F(1.59) = 4,892$, $p = 0,0308$, $R^2 = 0,0609$). По данным Vorselen D. и соавт. (2020), механические свойства клеток оказывают влияние на процесс фагоцитарного поглощения [22]. Выявлена прямая умеренная корреляционная связь между ригидностью мембраны нейтрофилов и ФИ ($r = 0,3546$, $p = 0,0050$), и обратная слабая корреляционная связь ригидности с ЧЛ ($r = -0,2999$, $p = 0,0188$). Возможно, что полученные связи подтверждают влияние ри-

гидности мембраны на повышение способности нейтрофилов к фагоцитозу и снижение способности образовывать NET. Это также подтверждается прямой заметной корреляционной связью между ригидностью мембраны и экспрессией CD16 ($r = 0,5628$, $p = 0,0042$) на III стадии РЯ.

Гибель активированных Нф может быть отсрочена для поддержки таких эффекторных функций, как фагоцитоз, высвобождение цитокинов и разрушение патогена путем дегрануляции [5]. По данным Sprenkeleg E.G.G. и соавт. (2020), при неизменном фагоцитозе дегрануляция усиливалась при неоптимальной активации нейтрофилов при мегакариобластном лейкозе [20]. При РЯ повышение способности к дегрануляции прямо корреляционно связано с повышением ригидности мембраны Нф ($r = 0,2588$, $p = 0,0439$).

На модели бинарной логистической регрессии продемонстрировали возможность использования показателей сывороточных уровней IL-2, MCP-1 и ригидности мембраны циркулирующих Нф для дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей яичников ($\chi^2 = 51,0$, $p = 0,010$). Достоверную значимость при их комбинации оценивали методом анализа ROC-кривой (IL-2, ОШ 1,29; 95% ДИ 1,02-1,62, $p = 0,031$; MCP-1, ОШ 1,01; 95% ДИ 1,00-1,02, $p = 0,004$; и ригидность мембраны циркулирующих Нф, ОШ 1,07 95% ДИ 0,02-1,12, $p = 0,005$). Площадь под кривой такой модели составила 0,911, и РЯ мог быть диагностирован с 93,4% вероятностью (рис. 4).

Значения выбранных показателей позволяют классифицировать пациентов по степени риска РЯ в сочетании с чувствительностью (0,934) и специфичностью (0,636).

Заключение

Таким образом, при ДОЯ циркулирующие провоспалительные цитокины вызывают увеличение ригидности мембраны Нф и увеличение их адгезионных способностей. При РЯ только IL-2 влияет на ригидность циркулирующих Нф, повышение которой сопровождается усилением фагоцитарной активности и снижением способности образовывать NET.

Список литературы / References

1. Гайнитдинова В.В., Шарафутдинова Л.А., Камалтдинов И.М., Авдеев С.Н. Сила адгезии, жесткость мембраны нейтрофилов и биомаркеры системного воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких с легочной гипертензией // Пульмонология, 2014. № 6. С. 33-39. [Gaynitdinova V.V., Sharafutdinova L.A., Kamaltdinov I.M., Avdeev S.N. Adhesion force, neutrophil membrane stiffness and systemic inflammation biomarkers in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension. *Pulmonologiya = Pulmonology*, 2014, no. 6, pp. 33-39. (In Russ.)]

2. Галкин А.А., Демидова В.С. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченка, 2015. Т. 2, № 2. С. 25-31. [Galkin A.A., Demidova V.S. Neutrophils and systemic inflammatory response syndrome. Rany i ranevyye infektsii. Zhurnal imeni prof. B.M. Kostyuchonka = Wounds and Wound Infections. Prof. B. Kostyuchenok Journal, 2015, Vol. 2, no. 2, pp. 25-31. (In Russ.)]
3. Галкин А.А., Демидова В.С. Роль адгезии в активации нейтрофилов и цитотоксическом взаимодействии нейтрофилов с эндотелием // Успехи современной биологии, 2011. Т. 131, № 1. С. 62-78. [Galkin A.A., Demidova V.S. The role of adhesion in activation in activation of neutrophils and their cytotoxic interaction with endothelium. Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews, 2011, Vol. 131, no. 1, pp. 62-78. (In Russ.)]
4. Bashant K.R., Vassallo A., Herold Ch., Berner R., Menschner L., Subburayalu J., Kaplan M.J., Summers Ch., Guck J., Chilvers E.R., Toepfner N. Real-time deformability cytometry reveals sequential contraction and expansion during neutrophil priming. *J. Leukoc. Biol.*, 2019, Vol. 105, no. 6, pp. 1143-1153.
5. Brostjan C., Oehler R. The role of neutrophil death in chronic inflammation and cancer. *Cell Death Discov.*, 2020, no. 6, 26. doi: 10.1038/s41420-020-0255-6.
6. Drost E.M., Kassabian G., Meiselman H.J., Gelmont D., Fisher T.C. Increased rigidity and priming of polymorphonuclear leukocytes in sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999, Vol. 159, no. 6, pp. 1696-1702.
7. Espinoza-Sánchez N.A., Chimal-Ramírez G.K., Mantilla A., Fuentes-Pananá E.M. IL-1β, IL-8, and Matrix Metalloproteinases-1, -2, and -10 Are Enriched upon Monocyte-Breast Cancer Cell Cocultivation in a Matrigel-Based Three-Dimensional System. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 205. doi: 10.3389/fimmu.2017.00205.
8. Goldenberg D.T., Holland G.N., Cumberland W.G., Fisher T.C., Folz I.C., Wang R.C., Terry B.G., Moe A.A., Kramer F., Lim J.I., Rao N.A., Meiselman H.J. An assessment of polymorphonuclear leukocyte rigidity in HIV-infected individuals after immune recovery. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2002, Vol. 43, no. 6, pp. 1857-1861.
9. Huang W., Jiao J., Liu J., Huang M., Hu Y., Ran W., Yan L., Xiong Y., Li M., Quan Z., Rao Y., Chen J., Huang Y., Zhang D. MFG-E8 accelerates wound healing in diabetes by regulating “NLRP3 inflammasome-neutrophil extracellular traps” axis. *Cell Death Discov.*, 2020, no. 6, 84. doi: 10.1038/s41420-020-00318-7.
10. Jiang W.G., Puntis M.C., Hallett M.B. Neutrophil priming by cytokines in patients with obstructive jaundice. *HPB Surg.*, 1994, Vol. 7, no. 4, pp. 281-289.
11. Jung W., Li J., Chaudhuri O., Kim T. Nonlinear Elastic and Inelastic Properties of Cells. *J. Biomech. Eng.*, 2020, Vol. 142, no. 10, 100806. doi: 10.1115/1.4046863.
12. Kobuch J., Cui H., Grünwald B., Saftig P., Knolle P.A., Krüger A. TIMP-1 signaling via CD63 triggers granulopoiesis and neutrophilia in mice. *Haematologica*, 2015, Vol. 100, no. 8, pp. 1005-1013.
13. Melder R.J., Jain R.K. Kinetics of interleukin-2 induced changes in rigidity of human natural killer cells. *Cell Biophys.*, 1992, Vol. 20, no. 2-3, pp. 161-176.
14. Ménoret A., Buturla J.A., Xu M.M., Svedova J., Kumar S., Rathinam VAK, Vella A.T. T cell-directed IL-17 production by lung granular gamma delta T cells is coordinated by a novel IL-2 and IL-1beta circuit. *Mucosal Immunol.*, 2018, Vol. 11, no. 5, pp. 1398-1407.
15. Nano R., Capelli E., Barni S., Gerzeli G. Ultrastructural changes of neutrophils following IL-2 treatment in vivo. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1997, Vol. 832, pp. 194-199.
16. Pleskova S.N., Gorshkova E.N., Novikov V.V., Solioz M. Treatment by serum up-conversion nanoparticles in the fluoride matrix changes the mechanism of cell death and the elasticity of the membrane. *Micron*, 2016, Vol. 90, pp. 23-32.
17. Pleskova S.N., Kriukov R.N., Bobyk S.Z., Boryakov A.V., Gorelkin P.V., Erofeev A.S. Conditioning adhesive contacts between the neutrophils and the endotheliocytes by *Staphylococcus aureus*. *J. Mol. Recognit.*, 2020, Vol. 33, no. 9, e2846. doi: 10.1002/jmr.2846.
18. Prikhodko A.S., Vitushkina M.V., Zinovkina L.A., Popova E.N., Zinovkin R.A. Priming of Human Neutrophils Is Necessary for Their Activation by Extracellular DNA. *Biochemistry (Mosc.)*, 2016, Vol. 81, no. 6, pp. 609-614.
19. Sim G.C., Radvanyi L. The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2014, Vol. 25, no. 4, pp. 377-390.
20. Sprenkeler E.G.G., Henriët S.S.V., Tool A.T.J., Kreft I.C., van der Bijl I., Aarts C.E.M., van Houdt M., Verkuijlen PJJH, van Aerde K., Jaspers G., van Heijst A., Koole W., Gardeitchik T., Geissler J., de Boer M., Tol S., Bruggeman C.W., van Alphen F.P.J., Verhagen HJMP, van den Akker E., Janssen H., van Bruggen R., van den Berg T.K., Liem K.D., Kuijpers T.W. MKL1 deficiency results in a severe neutrophil motility defect due to impaired actin polymerization. *Blood*, 2020, Vol. 135, no. 24, pp. 2171-2181.
21. Sun R., Luo J., Li D., Shu Yu, Luo C., Wang S.S., Qin J., Zhang G.M., Feng Z.H. Neutrophils with protumor potential could efficiently suppress tumor growth after cytokine priming and in presence of normal NK cells. *Oncotarget*, 2014, Vol. 5, no. 24, pp. 12621-12634.

22. Vorselen D., Labitigan R.L.D., Theriot J.A. A mechanical perspective on phagocytic cup formation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2020, Vol. 66, pp. 112-122.
23. White C., DiStefano T., Olabisi R. The influence of substrate modulus on retinal pigment epithelial cells. *J. Biomed. Mater. Res. A.*, 2017, Vol. 105, no. 5, pp. 1260-1266.

Авторы:

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

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

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

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

Песков А.Б. — д.м.н., профессор, декан факультета последипломного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Authors:

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

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

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

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

Peskov A.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Dean, Faculty of Postgraduate Medical and Pharmaceutical Education, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

Поступила 07.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 07.04.2021
Accepted 07.11.2021