

Роль нейтрофилов в механизмах сепсиса

© А.М. КОСЫРЕВА^{1,2}, Е.А. МИРОШНИЧЕНКО^{1,2}, О.В. МАКАРОВА¹

¹НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия;

²НИИ молекулярной и клеточной медицины Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патрика Лумумбы», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Международный консенсус Сепсис-3 в 2016 г. определил сепсис как жизнеугрожающую органную дисфункцию, вызванную нарушением ответа организма хозяина на инфекцию. Одним из основных механизмов, приводящих к гибели больных с сепсисом, является дисбаланс иммунного ответа на патогены. Активация иммунных клеток, в частности нейтрофилов, играет ключевую роль в механизмах сепсиса. При сепсисе увеличивается количество незрелых нейтрофилов в крови, появляются PD-L1-нейтрофилы, обеспечивающие иммуносупрессорное действие, повышается число Neu1-подтипа нейтрофилов, характеризующихся высокой экспрессией ингибитора NF-кB, хемокина CXCL8, ольфактомедина, регулирующего продукцию цитокинов, и миелопероксидазы. При генерализации воспалительного ответа нарушаются фагоцитарная и бактерицидная функции нейтрофилов. Важную роль в механизме сепсиса играет формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек, внеклеточной ДНК, ядерного негистонового белка HMGB1, которые являются DAMP и обладают провоспалительной активностью. Разработка подходов к прогнозированию развития и течения сепсиса при травмах и инфекционно-воспалительных заболеваниях на основе оценки функциональной активности нейтрофилов и их фенотипа является перспективным направлением исследований, в частности подходов к регуляции функционирования нейтрофилов с помощью миРНК.

Ключевые слова: сепсис, SIRS, нейтрофилы, NETs, внДНК, миРНК.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Косырева А.М. — <https://orcid.org/0000-0002-6182-1799>

Мирошниченко Е.А. — <https://orcid.org/0000-0002-0020-958X>

Макарова О.В. — <https://orcid.org/0000-0001-8581-107X>

Автор, ответственный за переписку: Косырева А.М. — e-mail: kosyрева.а@list.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Косырева А.М., Мирошниченко Е.А., Макарова О.В. Роль нейтрофилов в механизмах сепсиса. *Архив патологии*.

2024;86(6):82–91. <https://doi.org/10.17116/patol20248606182>

The role of neutrophils in the mechanisms of sepsis

© А.М. KOSYREVA^{1,2}, Е.А. MIROSHNICHENKO^{1,2}, О.В. MAKAROVA¹

¹Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia

ABSTRACT

The international consensus Sepsis-3 in 2016 defined sepsis as life-threatening organ dysfunction caused by a disruption of the host response to infection. One of the main mechanisms leading to the death of patients with sepsis is an imbalance of the immune response to pathogens. Activation of immune cells, in particular neutrophils, plays a key role in the mechanisms of sepsis. During sepsis, the number of immature neutrophils in the blood increases, PD-L1 neutrophils appear, which have an immunosuppressive function, and the number of Neu1 subtype of neutrophils, characterized by high expression of the NF-кB inhibitor, the chemokine CXCL8, olfactomedine, which regulates the production of cytokines, and myeloperoxidase, increases. When the inflammatory response generalizes, the phagocytic and bactericidal functions of neutrophils are disrupted. An important role in the mechanisms of sepsis is played by the formation of neutrophil extracellular traps, extracellular DNA, and the nuclear non-histone protein HMGB1, which are DAMPs and have proinflammatory activity. The development of approaches to predicting the development and course of sepsis in injuries and infectious and inflammatory diseases based on assessing the functional activity of neutrophils and their phenotype is a promising area of research, in particular approaches to regulating the functioning of neutrophils using miRNA.

Keywords: sepsis, neutrophils, SIRS, NETs, exDNA, miRNA

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Kosyрева А.М. — <https://orcid.org/0000-0002-6182-1799>

Мирошниченко Е.А. — <https://orcid.org/0000-0002-0020-958X>

Макарова О.В. — <https://orcid.org/0000-0001-8581-107X>

Corresponding author: Косырева А.М. — e-mail: kosyрева.а@list.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Kosyreva AM, Miroshnichenko EA, Makarova OV. The role of neutrophils in the mechanisms of sepsis. *Russian Journal of Archive of Pathology*. 2024;86(6):82–91. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20248606182>

Сепсис — жизнеугрожающий комплекс клинических и биохимических проявлений, который характеризуется острой органной дисфункцией в ответ на инфекцию [1]. В отделениях интенсивной терапии сепсис является одной из ведущих причин смертности [2]. Согласно консенсусу Сепсис-3, одним из основных механизмов, приводящих к гибели от сепсиса, является дисбаланс иммунного ответа на патогены [1]. В ранние сроки развития сепсиса преобладают провоспалительные иммунные реакции, которые характеризуются гиперпродукцией цитокинов с развитием «цитокинового шторма» и называются «синдром системного воспалительного ответа» (SIRS — Systemic Inflammatory Response Syndrome) [3]. Впоследствии активируются противовоспалительные реакции (CARS — Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome), направленные на подавление SIRS [4]. Однако при дисбалансе SIRS и CARS возможны неблагоприятные исходы — развитие полиорганной недостаточности в случае доминирования SIRS над CARS, или, напротив, развитие иммунного паралича при доминировании CARS над SIRS. Иммунные реакции, наблюдаемые при SIRS, активируются через взаимодействие PRRs (Pattern Recognition Receptors; паттерн-распознающие рецепторы) с PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns; патоген-ассоциированные молекулярные паттерны) и DAMP (Damage Associated Molecular Patterns; молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением или «аларминами»). Развитие CARS сопровождается увеличением продукции противовоспалительных цитокинов — IL-4 и IL-10, которые могут подавлять производство медиаторов воспаления.

PRRs экспрессируются на поверхности многих клеток: макрофагов, тучных и дендритных, эпителиальных и эндотелиальных клеток, миоцитов и фибробластов, а также на нейтрофилах, которые являются одной из самых многочисленных популяций клеток первой линии иммунной защиты и могут определять выраженность реакций врожденного иммунитета. Одним из клинических проявлений сепсиса является лейкоцитоз, при котором увеличивается число зрелых и незрелых нейтрофилов в крови [5]. Исследования активации нейтрофилов, изменения их миграции в очаг воспаления, усиления фагоцитоза, а также выброса нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs) в кровеносных сосудах и тканях могут быть основой для разработки новых способов прогнозирования течения и исхода заболевания. Кроме того, не существует эффективной терапии сепсиса, она в основном симптоматическая и заключается в использовании антибиотиков и инфузационной терапии. Однако чувствительность патогенов к антибиотикам сильно варьирует, и широкий спектр используемых антибактериальных препаратов может повышать устойчивость патогенов к ним, что в целом приводит к негативному исходу заболевания. Поэтому необходимо проводить поиск новых подходов к прогнозированию течения и лечению сепсиса. Одним из таких подходов может быть оценка функциональной активности и фенотипа нейтрофилов — одних из важных клеток первой линии защиты организма от чужеродных патогенов.

Нейтрофилы при сепсисе

Миграция нейтрофилов

Миграция нейтрофилов в очаг воспаления из кровеносного русла осуществляется по градиенту концентрации хемоаттрактантов — IL-8 и лейкотриена-B4, которые секретируются макрофагами, тучными и стромальными клетками после их взаимодействия с PAMP и DAMP [6]. Адгезия нейтрофилов к эндотелию кровеносных сосудов происходит за счет взаимодействия хемокинов, секретируемых его клетками, с соответствующим рецептором (GPCR) на поверхности нейтрофилов, что приводит к активации нейтрофильных $\beta 2$ -интегринов — Mac-1 (CD11b или $\alpha M\beta 2$) и LFA-1 (CD11a или $\alpha L\beta 2$) и облегчает их взаимодействие с ICAM-1 и ICAM-2 на эндотелии. Это ведет к замедлению роллинга нейтрофилов и усилиению адгезии их к эндотелию, после чего в нейтрофилах появляются ламеллоподии, и они мигрируют через эндотелий в очаг воспаления [7].

При генерализации воспалительной реакции миграция нейтрофилов в очаг воспаления, их дифференцировка и функциональная активность нарушаются. На экспериментальных моделях SIRS установлено, что в течение первых 2–4 ч его развития количество циркулирующих нейтрофилов резко снижается, после чего их число увеличивается [8, 9]. Изменения числа циркулирующих нейтрофилов при SIRS и сепсисе связаны с интенсификацией их миграции в органы-мишени из красного костного мозга за счет снижения экспрессии CD11c-рецепторов на их поверхности [10]. Показано, что у нокаутных по CD11c на нейтрофилах мышей нарушается нейтрофильный гранулоцитопоэз, повышаются пролиферация и апоптоз их предшественников, что приводит к выходу в кровоток незрелых форм. Такой же процесс наблюдается и при введении липополисахаридов (ЛПС) [10]. Кроме того, при воспалении изменяется продолжительность жизни нейтрофилов. В норме нейтрофилы удаляются из кровотока путем активации апоптоза с последующим фагоцитозом макрофагами в селезенке, печени и красном костном мозге [11]; но при активации нейтрофилов ЛПС апоптоз в них замедляется и продолжительность жизни нейтрофилов возрастает [12].

Увеличение количества нейтрофилов в кровеносном русле при сепсисе может быть связано с нарушением их трансмиграции из капилляров в ткани. Так, в норме для трансмиграции нейтрофилам, имеющим диаметр приблизительно 7–9 мкм, необходимо деформироваться, чтобы проникнуть через капилляры диаметром 5–6 мкм. При сепсисе изменение формы нейтрофилов нарушается, они не могут проникнуть через эндотелиальную выстилку капилляров и накапливаются в венулярном отделе микроциркуляторного русла, высвобождая активные формы кислорода (АФК), нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps, NETs) и протеазы, способствующие повреждению тканей [13]. Снижение способности к деформации связано с появлением под мембраной нейтрофилов кольца из F-актина в ответ на стимуляцию хемотактическим фактором нейтрофилов — fMLP (N-Formyl-

methionine-leucyl-phenylalanine, N-формилметионин-лейцил-фенилаланин) или провоспалительным цитокином TNF- α [14]. Показано, что низкая способность нейтрофилов к деформации коррелирует с тяжестью течения экспериментального SIRS и сепсиса у людей [15]. В конечном итоге снижение способности к деформации и увеличение адгезионных свойств нейтрофилов приводят к удержанию нейтрофилов в кровеносном русле [14].

Увеличение количества нейтрофилов в крови и снижение их числа в очаге воспаления могут определяться способностью нейтрофилов к обратной трансмиграции из очага воспаления в кровь. Нейтрофилы, взаимодействуя с CD11b на эндотелиальных клетках, высвобождают эластазу, которая разрушает интегральный белок JAM-1 на эндотелии, обеспечивающий адгезию нейтрофилов к эндотелию, что в конечном итоге позволяет нейтрофилам вернуться обратно в кровоток. Кроме того, нейтрофилы, которые вторично из тканей попали в кровеносное русло, экспрессируют ICAM-1 и демонстрируют высокую фагоцитарную активность [16]. Увеличение таких субпопуляций нейтрофилов ассоциировано с полиорганной недостаточностью [17].

Гетерогенность нейтрофилов при сепсисе

При сепсисе наблюдается увеличение числа незрелых форм нейтрофилов (юных и палочкоядерных), что принято называть сдвигом лейкоцитарной формулы влево. В отличие от зрелых нейтрофилов незрелые формы характеризуются большой продолжительностью жизни, устойчивостью к апоптозу, способностью к более высокой продукции провоспалительных цитокинов по отношению к противовоспалительным, сниженной миграцией, низкими продукцией АФК и фагоцитарной активностью [10].

Высокое количество незрелых нейтрофилов в крови коррелирует с тяжестью течения SIRS и сепсиса, а также с показателями смертности при неонатальном сепсисе [18]. Показано, что количество незрелых нейтрофилов может быть одним из прогностических маркеров тяжести течения сепсиса у пациентов отделений реанимации в первые 48 ч госпитализации [19].

Кроме того, у пациентов с сепсисом незрелые формы нейтрофилов гетерогенны. Так, в периферической крови у пациентов с сепсисом были выявлены 2 популяции нейтрофилов, которые не определялись у больных с SIRS: CD10-CD64+PD-L1+ и CD10-CD64+CD16low/-CD123+ незрелые нейтрофилы [20]. Ранее было установлено, что при сепсисе в крови увеличивается число незрелых CD10-CD64+ нейтрофилов [21], тогда как субпопуляции CD123+ и PDL1+ нейтрофилов при сепсисе были описаны впервые. Показано, что при сепсисе PD-L1+ нейтрофилы подавляют развитие иммунного ответа путем активации дифференцировки Т-регуляторных клеток (Tregs), тогда как снижение экспрессии PD-L1 нейтрофилами нивелирует иммunoупрессию [22]. По данным [23], терапия CLP-модели сепсиса у мышей ингибиторами PD-L1 в комбинации с пробиотиками приводила к снижению количества Tregs в селезенке через инактивацию PI3K/Akt-зависимого пути. В другом исследовании [24] подтверждена роль экспрессии PD-L1 на нейтрофилах и активации в них PI3K/Akt-сигнального пути в развитии сепсиса у людей.

В крови у больных с сепсисом обнаруживается разнобразие субпопуляций не только незрелых форм, но и зрелых

нейтрофилов. Так, с помощью секвенирования единичных клеток (single-cell seq) у пациентов с сепсисом было идентифицировано 4 субпопуляции циркулирующих в крови нейтрофилов: Neu1, Neu2, Neu3, Neu4 [25]. С тяжестью течения сепсиса и развитием септического шока коррелировало только количество Neu1-нейтрофилов. Neu1-нейтрофилы характеризуются высокой экспрессией ингибитора NF- κ B — NFKBIA, хемокина CXCL8, фероксидазы FTH1 и G0S2 (G0/G1 switch gene 2), что является их генной сигнатурой. Кроме того, Neu1 экспрессируют на высоком уровне ольфактомедин OLFM4, регулирующий продукцию цитокинов и миелопероксидазы, содержание которой по повышается у пациентов с септическим шоком [26].

Фагоцитарная активность нейтрофилов

Бактерицидная активность нейтрофилов реализуется двумя основными механизмами: O_2 -зависимым и O_2 -независимым. O_2 -зависимая бактерицидная активность нейтрофилов регулируется формированием НАДФ-оксидазы и многократным увеличением потребления нейтрофилами кислорода с образованием супероксида и в последующем перекиси водорода. Токсичность этих АФК дополняется формированием фаголизосомы, содержащей миелопероксидазу, и окисленного галогенида [27]. O_2 -независимая бактерицидная активность нейтрофилов реализуется при помощи действия катионных антимикробных белков и бактериолитических ферментов, повреждающих мембрну бактериальной клетки, и изменяя ее мембранный потенциал. К таким белкам относят дефензин HNP1—3 и кателицидин LL-37 [28].

При сепсисе нарушается как O_2 зависимая бактерицидная активность, так и способность нейтрофилов к фагоцитозу [12]. У пациентов с сепсисом подавляется экспрессия ряда генов, ответственных за регуляцию иммунного ответа, продукцию провоспалительных факторов и генерацию АФК. Кроме того, при сепсисе наблюдается низкая активность киназ, которые отвечают за функциональную активность нейтрофилов [13].

Патогены в нейтрофилах разрушаются в фаголизосомах протеазами, активность которых зависит от pH. Продукция АФК в нейтрофилах приводит к снижению pH в фаголизосомах и нарушению фагоцитоза. На модели перитонита у мышей была выявлена корреляция между снижением уровня pH в нейтрофилах и увеличением показателя смертности животных [29]. Кроме того, сериновые протеазы, высвобождаемые нейтрофилами, могут разрушать рецепторы комплемента, в том числе C5aR, что приводит к нарушению фагоцитоза из-за снижения способности нейтрофилов связываться с опсонизированными мишнями [30]. На опсонизацию и фагоцитоз нейтрофилов также влияют полисахариды *P. aeruginosa* — Psl [6] и маркеры воспаления, например, адипокин резистин с провоспалительной активностью [30].

Гиперактивация нейтрофилов

При развитии сепсиса на фоне нарушения фагоцитарной функции отмечается увеличение продукции нейтрофилами АФК [29]. Гиперпродукция АФК и накопление их в сосудистом русле могут способствовать увели-

чению проницаемости эндотелиального барьера за счет снижения экспрессии белков плотных контактов, поддерживающих целостность эндотелиального барьера капилляров, в результате этого активируется миграция полиморфно-ядерных лейкоцитов из кровотока в ткани, что может привести к повреждению органов и в первую очередь легких [6]. Показано, что по сравнению с острым повреждением легких у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) уровень АФК был выше [32]. Кроме генерации АФК, активированные нейтрофилы при сепсисе дегранулируют, что приводит к высвобождению протеаз во внеклеточное пространство, повреждению клеток и тканей и развитию полиорганной недостаточности [13].

Супрессорное действие нейтрофилов

Кроме фагоцитарной активности, нейтрофилы характеризуются иммуномодулирующим действием. Сериновые протеазы нейтрофилов разрушают CD14 на моноцитах, что снижает способность последних элиминировать ЛПС [33]. Кроме того, нейтрофильная эластаза ингибирует экспрессию костимулирующих молекул CD40 (активатор антигенпрезентирующих клеток), CD80 и CD86 (модуляторы Т-клеточного иммунитета) на дендритных клетках и их провоспалительную дифференцировку [34].

При сепсисе продукция CD11cbright/CD62Ldim/CD11bbright/CD16bright нейтрофилами АФК и активация в них интегрина Mac-1 (CD11b/CD18) приводят к давлению пролиферации Т-лимфоцитов за счет увеличения перекиси водорода в иммунологическом синапсе между супрессорным нейтрофилом и Т-клеткой [35]. Другими авторами [36] у пациентов с септическим шоком были обнаружены нейтрофилы, экспрессирующие аргиназу-1, которая разрушает аргинин, необходимый для дифференцировки Т-лимфоцитов, что в итоге приводит к снижению пролиферации Т-клеток и экспрессии CD3 на их поверхности. Кроме того, на модели эндотоксикемии у мышей показано, что высокая продукция клетками селезенки IFN- γ приводит к увеличению экспрессии PD-L1 на нейтрофилах, что сопровождается апоптозом Т-лимфоцитов [37].

Нейтрофилы и эндотелиальная дисфункция

Одну из ключевых ролей в развитии полиорганной недостаточности при сепсисе играет нарушение целостности и увеличение проницаемости эндотелиального барьера, особенно микроциркуляторного русла легких из-за минимального диаметра капилляров [38]. При сепсисе наблюдается краевое стояние нейтрофилов в капиллярах вследствие увеличения экспрессии на эндотелиальных клетках факторов адгезии Е-селектина, ICAM-1 и V-CAM-1 [2]. Адгезия активированных нейтрофилов на сосудистой стенке и их трансмиграция в ткани приводят к дополнительной активации эндотелиальных клеток, что замыкает порочный круг [2].

Известно, что эндотелиальные клетки регулируют баланс между процессами коагуляции и фибринолиза. В норме они ингибируют коагуляцию путем связывания анти-тромбина III на поверхности эндотелия, продукции эндотелием TFPI (Tissue factor pathway inhibitor, ингибитор пути тканевого фактора), экспрессии тромбомодулина,

активации протеина С и продукции t-PA (Tissue plasminogen activator, тканевой активатор плазминогена) [39]. Однако при воспалительных заболеваниях, в том числе сепсисе и септическом шоке, наблюдается нарушение антикоагулянтной функции эндотелия по NF-Кb-зависимому механизму. В эксперименте показано, что ингибирование NF-Кb в эндотелии приводит к увеличению барьевой функции сосудистой стенки, снижению инфильтрации нейтрофилами легких, печени, почек, сердца и тонкой кишки, а также к уменьшению количества тромбин-антитромбиновых комплексов в крови [40].

Гликокаликс эндотелиальной выстилки, состоящий из гликозаминогликанов, протеогликанов и гликопротеинов, играет значительную роль в поддержании барьевой функции и при его разрушении нарушаются баланс ферментативных систем, выделение NO, происходит расширение сосудов и повышается их проницаемость [41]. На экспериментальных моделях ЛПС-индуцированной эндотоксикемии и у больных с SARS-CoV-2 показано истощение гликокаликса на поверхности эндотелия капилляров легких, что облегчает взаимодействие нейтрофилов с молекулами адгезии на нейтрофилах, их роллинг и краевое стояние [42].

Таким образом, при сепсисе нарушен баланс между активацией нейтрофилов и барьевой функцией эндотелиальных клеток сосудов, который регулируется многими факторами, включая цитокины, белки плазмы крови и активные вещества, образующиеся при системном воспалительном ответе, что приводит к развитию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания, т.е. ДВС-синдрому.

Нейтрофилы и биомаркеры сепсиса

Несмотря на совершенствование методов хирургического вмешательства, анестезиологического пособия и технологий интенсивной терапии, показатели смертности от полиорганной дисфункции инфекционно-воспалительного генеза остаются высокими и составляют около 30% [2]. В литературе [3,4] описано более 1000 биомаркеров, в частности, прокальцитонин, С-реактивный белок (СРБ), эндотоксин, пресепсин и др., изменяющихся при развитии сепсиса и септического шока и коррелирующих с исходом заболевания у пациентов отделений интенсивной терапии. К наиболее перспективным биомаркерам сепсиса относятся: маркеры эндотелиальной дисфункции, провоспалительных реакций, связанных с продукцией цитокинов; уровень экспрессии клетками крови HIF-1 α (фактор, индуцируемый гипоксией); нарушения структуры микробиома, включая маркеры, определяемые в циркуляторном русле, такие как ЛПС, ЛПС-связывающий белок, пресепсин; маркеры активации свертывающей системы, связанные с развитием ДВС-синдрома; изменения содержания микроРНК, регулирующих ответ на гипоксию и воспаление, а также реакций клеток врожденного иммунитета, в том числе нейтрофилов.

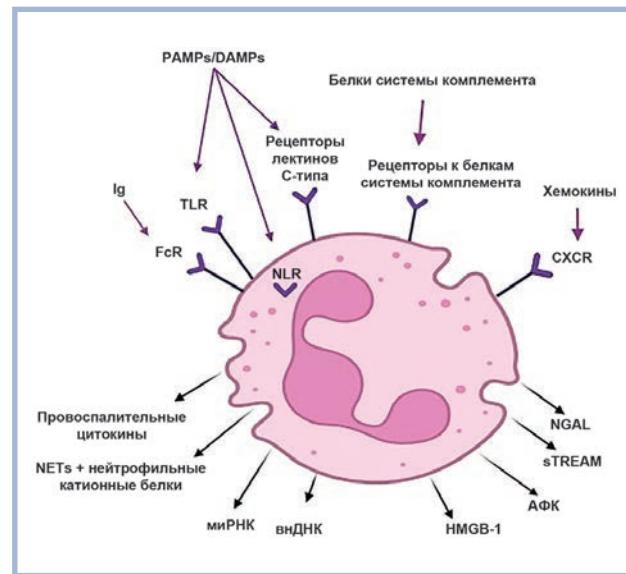
Согласно данным литературы [43–46], среди тяжелобольных пациентов с сепсисом, находящихся в отделении интенсивной терапии, выделяют 2–4 подгруппы/эндотипа, различающиеся по уровню экспрессии мРНК различных генов, ответственных за развитие врожденного и адаптивного иммунного ответа, воспаления, коагуляции, глюкокортикоид зависимых сигнальных путей и др. Как показано

Arjun Baghela и соавт. [47], пациентов с ранним сепсисом можно разделить на 5 эндотипов, отличающихся по активации различных сигнальных путей: нейтрофильно-супрессивный, воспалительный, врожденный иммунитет, интерфероновый и адаптивный, каждый из которых выделен на основании оценки уровня экспрессии 200 уникальных генов. Для нейтрофильно-супрессивного и воспалительного эндотипов было характерно более тяжелое течение заболевания и высокие показатели летальности, тогда как для адаптивного эндотипа, напротив, исходы сепсиса были благоприятными. В связи с трудностью проведения транскриптомного анализа у каждого пациента в реанимационных отделениях необходим поиск таких биомаркеров, которые можно было бы использовать в любых медицинских учреждениях. Поэтому исследования роли нейтрофилов в развитии и тяжести течения SIRS и сепсиса позволяют выявить новые биомаркеры или их комплексы, которые будут востребованы в клинике для прогнозирования течения инфекционно-воспалительных заболеваний, постоперационных осложнений и сепсиса.

Нейтрофилы способны к синтезу и секреции различных цитокинов, включая провоспалительные (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-18, MIF), противовоспалительные (IL-1Ra, TGF- β 1, TGF- β 2), иммунорегуляторные (IFN- γ , IL-12, IL-21, IL-23, IL-27), колониестимулирующие факторы (G-CSF, GM-CSF, SCF) и факторы роста сосудов и фибробластов (VEGF, FGF2, TGF- α , HGF), хемокины (CC и CXC) и члены TNF-семейства (TNF- α , FasL, TRAIL, APRIL, RANKL) [48]. Таким образом, нейтрофилы могут не только разрушать патогены, но также проявлять иммунорегуляторные и reparативные свойства. Однако механизмы, которые контролируют экспрессию цитокинов нейтрофилами человека, до конца не изучены. При этом известен ряд нейтрофильных биомаркеров сепсиса и SIRS, участвующих в активации иммунного ответа на повреждение (см. рисунок).

Цитокины

При развитии SIRS и сепсиса нейтрофилы, как и другие иммунокомпетентные клетки, продуцируют разнообразные цитокины, однако в силу большого количества нейтрофилов в периферической крови вклад продукции ими цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях не может быть переоценен. По данным M. Shethamer и соавт. [49] высокие концентрации IL-6 и IL-8 в сыворотке крови пациентов отделения интенсивной терапии с тяжелой ожоговой травмой коррелируют с негативным исходом. Показано увеличение продукции цитокина IL-18 у ожоговых больных в течение 48 ч после ожога [50]. Повышение в сыворотке крови у детей с тяжелыми ожогами IL-6 и IL-12 и снижение TNF- α рассматривается как прогностический фактор смертности в результате развития сепсиса [51]. В другом исследовании в крови у ожоговых пациентов установлен высокий (и возрастающий в первый день заболевания) уровень IL-6, IL-1RA и макроцитарного хемотактического фактора MCP-1, что коррелирует с показателями смертности [52]. Показано, что через 6–24 ч после терапии травмы у детей наблюдается снижение концентрации рецепторов sTNFRI, sTNFRII и IL-1Ra и противовоспалительного цитокина IL-10 по сравнению с их исходно высокими уровнями, наблюдаемыми до лечения. Несмотря на многочисленные клинические исследования дина-



Механизмы активации нейтрофилов при сепсисе.

PAMPs — патоген-ассоциированные молекулярные паттерны; DAMPs — молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением; Ig — иммуноглобулины; FcR — Fc рецепторы; TLR — толл-подобные рецепторы; NLR — NOD-подобные рецепторы; CXCR — рецепторы к хемокинам; NETs — нейтрофильные внеклеточные ловушки; HMGB1 — транскрипционный фактор из группы ядерных негистоновых белков, амфотерин; AFK — активные формы кислорода; sTREM — растворимая форма триггерного рецептора, экспрессируемого на миелоидных клетках; NGAL — липокалин.

Mechanisms of neutrophil activation in sepsis.

PAMPs — pathogen-associated molecular patterns; DAMPs — damage-associated molecular patterns; Ig — immunoglobulins; FcR — Fc receptors; TLR — Toll-like receptors; NLR — NOD-like receptors; CXCR — CXC chemokine receptors; NETs — neutrophil extracellular traps; HMGB1 — transcription factor High Mobility Group Box 1; sTREM — soluble form of trigger receptor expressed on myeloid cells; NGAL — neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

мики концентраций цитокинов в крови при SIRS и сепсисе, с точки зрения диагностики развития сепсиса использование только этих маркеров недостаточно из-за их низкой специфичности и чувствительности.

Нейтрофильные внеклеточные ловушки

Известно, что нейтрофилы в ответ на стимуляцию PAMPs и DAMPs образуют внеклеточные нейтрофильные ловушки (NETs), которые представляют собой нити ДНК в комплексе с внутриклеточными везикулами, содержащими нейтрофильные протеазы (эластаза), антимикробные молекулы (гистоны) и др. Основной функцией NETs является элиминация патогена. Однако в последнее время многие авторы [53] считают образование NETs ключевым механизмом в развитии сепсиса.

Показано, что формирование NETs инициируется гиперпродукцией АФК в нейтрофилах, что приводит к разрушению ядерной мембраны и выходу ДНК в клетку и может сопровождаться гибелью нейтрофила (нетоз). Однако образование NETs не всегда приводит к гибели нейтрофилов, в этом случае нити ДНК выбрасываются во внеклеточное пространство с помощью везикулярного транспорта и дегрануляции (витальные NETs) [54].

По данным литературы [55, 56], активация NETs усугубляет течение различных заболеваний, в том числе респираторных, сердечно-сосудистых, неврологических, болезней скелетной мускулатуры, почек, печени, онкологических и аутоиммунных. Поэтому NETs могут быть перспективными биомаркерами сепсиса, так как выявлена положительная корреляция между уровнем NETs в плазме крови и тяжестью повреждения легких и смертностью пациентов с сепсисом [57].

Внеклеточная ДНК

Для прогноза развития осложнений SIRS и сепсиса на фоне иммуносупрессии у пациентов с тяжелыми травмами и ожогами ведется поиск биомаркеров, среди которых большой интерес в последнее время вызывает внеклеточная ДНК (внДНК) [58].

Увеличение внДНК в сыворотке крови обнаруживается как при патологических процессах, в том числе SIRS и сепсис, при травмах и ожогах [59], так и при физиологических процессах, таких как беременность и физические упражнения [60]. При SIRS и обширных травмах внДНК, являясь DAMP, играет важную роль в развитии системных проявлений воспаления, что часто сопровождается осложнениями [61]. Предполагают, что внДНК высвобождается из клеток в результате таких процессов, как апоптоз, некроз, суицидальный и витальный нетоз с образованием NETs, однако этот вопрос до конца не изучен и требует дальнейших исследований. I. Trulson и соавт. [61] установили повышение содержания внДНК в сыворотке и плазме крови у пациентов с политравмой, что коррелирует с тяжестью повреждений и негативным прогнозом.

HMGB-1

Одним из прогностических маркеров сепсиса является HMGB-1 (high mobility group box-1) или амфотерин — белок из группы ядерных негистоновых белков, который так же, как и внДНК, относится к DAMP, и повышение его содержания коррелирует с тяжестью SIRS и его исходом [3].

Высвобождение HMGB1 из клеток происходит двумя зависимыми способами: TLR-зависимой активной секрецией и пассивным высвобождением в результате гибели клетки, однако точный механизм выхода HMGB-1 из клетки до конца не изучен [3]. Попав во внеклеточную среду, HMGB-1 оказывает провоспалительное действие, связывая иммуностимулирующие молекулы, такие как РНК, гистон, ЛПС и IL-1 α [62]. Взаимодействие таких комплексов с TLRs активирует выработку АФК, которые способствуют повреждению эндотелия, нарушению функционирования митохондрий с последующим развитием клеточной дисфункции и органной недостаточности.

По данным литературы повышение уровня HMGB-1 наблюдается у детей и взрослых с сепсисом, сопровождающимся полиорганной недостаточностью. Однако между группами выживших и умерших от полиорганной недостаточности взрослых пациентов различий в концентрации HMGB-1 не обнаружено [63]. В клинических исследованиях HMGB-1 рассматривается как важный медиатор сепсиса и потенциальная терапевтическая мишень при полиорганной недостаточности.

TREMs — триггерные рецепторы, экспрессируемые на миелоидных клетках

TREMs представляют собой группу рецепторов, экспрессируемых на моноцитах, макрофагах, нейтрофилах и др. После активации фагоциты высвобождают растворимую форму этого рецептора (sTREM), которая участвует в регуляции воспаления и играет важную роль в реализации врожденного и адаптивного иммунного ответа. По данным литературы [64], в сыворотке крови пациентов с сепсисом содержание sTREM-1 повышено, и некоторые авторы считают этот маркер более надежным для диагностики сепсиса, чем прокальцитонин или СРБ. Кроме того, показано, что сочетанное повышение таких маркеров, как sTREM-1, IL-1, и эндотоксина в плазме крови у пациентов, перенесших кардиохирургическую операцию, позволит прогнозировать развитие осложнений в виде SIRS [65].

NGAL или липокалин-2

Липокалин-2 (LCN-2) — это гликопротеин, также известный в литературе под названием «сидерокалин», или «липокалин», связанный с нейтрофильной желатиназой (NGAL), который секретируется активированными нейтрофилами. NGAL прочно связывается с железосодержащими сидерофорами и участвует в реализации реакций врожденного иммунитета [66]. Поэтому NGAL может быть одним из перспективных прогностических биомаркеров развития воспалительных процессов при заболеваниях почек и печени, опухолях и воспалительных заболеваниях толстой кишки [67].

По данным W. Chang и соавт. [68], оценка в плазме крови NGAL на 2-й и 7-й день развития тяжелого сепсиса у пациентов является надежным биомаркером прогноза смертности на 28-е сутки. В экспериментальных исследованиях установлено, что у животных (свиней) с острым повреждением почек и сепсисом уровень NGAL в сыворотке крови значительно выше, чем в группе сравнения (острое повреждение почек без сепсиса). Авторы [69] считают, что для прогнозирования развития сепсиса и его тяжести необходимо проводить мониторинг таких биомаркеров, как TNF- α , NGAL и IL-6. Кроме того, в клинических исследованиях установлено, что при повышении NGAL в сыворотке крови в острую фазу лихорадки более 570 нг/мл вероятность развития тяжелого SIRS увеличивается, что может использоваться как прогностический маркер развития сепсиса [70].

МикроРНК

МикроРНК (миРНК) — малые некодирующие молекулы РНК длиной 18—25 нуклеотидов (в среднем 22), принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путем РНК-интерференции. Помимо внутриклеточной, обнаружена внеклеточная (циркулирующая) микроРНК. В последнее время появилось большое число работ, продемонстрировавших изменение транскрипционной экспрессии этих малых некодирующих РНК при развитии сепсиса. Так, показано, что у пациентов с сепсисом miR-122 имеет более высокую чувствительность и специфичность, чем СРБ и количество лейкоцитов [71]. В другом исследовании было установлено, что содержание miR-495 в крови у пациентов с сепсисом было ниже, чем в группе лиц, у которых сепсис не развивался. Кроме того, при развитии септическо-

го шока показатели miR-495 в крови были минимальны [72]. С другой стороны, была выявлена положительная корреляция содержания miR-328 в сыворотке крови с развитием сепсиса [73]. В. Zhang и соавт. [74] показано увеличение концентрации miR-29c-3p в сыворотке крови у пациентов с сепсисом. Y. Han и соавт. [75] установили прогностическую значимость miR-155 для оценки тяжести течения и исхода при сепсис-ассоциированном ОРДС. По сравнению со здоровыми людьми в крови у пациентов с сепсисом концентрации miR-21-5p, miR-146a, miR-143, miR-147a и особенно miRNA 182-5p ниже [76]. Кроме того, нейтрофилы сами способны секретировать миРНК, заключенные в экзосомы, регулируя функционирование других иммунокомпетентных клеток. Так, в экспериментальном исследовании на мышах показано, что миРНК miR-30d-5p, выделенная из стимулированных TNF- α нейтрофилов, поляризует макрофаги по M1-проводоспалительному фенотипу и активирует в них пироптоз, что, по мнению авторов [77], определяет тяжесть острого повреждения легких. Таким образом, открываются перспективы исследования миРНК в качестве диагностических или прогностических маркеров тяжести течения и исходов SIRS и сепсиса.

Несмотря на возрастающее число исследований миРНК при сепсисе, их роль в регуляции функционирования нейтрофилов изучена недостаточно, а дальнейшие исследования роли миРНК в активации нейтрофилов при сепсисе могут стать основой для разработки подходов к лечению сепсиса с использованием миРНК. В последние годы появляются исследования, которые могут внести вклад в решение этой проблемы. Так, Chen и соавт. [78] на экспериментальной модели CLP сепсиса показали, что miR-let-7b регулирует развитие иммуносупрессорных реакций через активацию пути TLR4/NF- κ B в нейтрофилах.

В другом исследовании [76] показано, что миРНК miR-182-5p, погруженная в экзосомы, полученные из корня женьшеня и заключенные в мембранные нейтрофилы с целью направленного хемотаксиса в очаг воспаления, облегчает течение ЛПС-индуцированного SIRS за счет ингибирования Nox4/Drp-1/NLR3-сигнального пути и NLRP3 инфламмосомы. Показано *in vitro*, что NOX4 — НАДФН-оксидаза 4, участвующая в восстановлении кислорода до супероксидных анионов свободных радикалов, и Drp-1 — белок, регулирующий функционирование митохондрий, могут эндогенно связываться в белковые комплексы. Инкубирование клеток с miR-182-5p приводило к снижению фосфорилирования Drp-1 с последующим ингибированием NOX4, в результате повышался потенциал на митохондриальных мембранах и активировалось клеточное дыхание. Подобные исследования выявляют новые механизмы активации нейтрофилов с помощью миРНК, и они могут послужить фундаментальной основой для разработки новых подходов к терапии острых ин-

фекционно-воспалительных заболеваний, включая сепсис и COVID-19.

Заключение

Проблема поиска биомаркеров для оценки тяжести течения SIRS и сепсиса, а также их исходов чрезвычайно актуальна для клинической медицины. В литературе описано более 1000 биомаркеров, коррелирующих с исходом заболевания у пациентов отделений интенсивной терапии. Однако на ранних этапах развития SIRS до появления его клинических симптомов большинство из этих маркеров не позволяют предсказать риск развития воспалительных осложнений и критических состояний. Кроме того, в связи с индивидуальными особенностями пациентов, сопутствующими заболеваниями, полом и возрастом, терапией эти биомаркеры даже при оценке их динамики недостаточно информативны, а их специфичность и чувствительность достаточно низкие. Последние достижения в области генетического тестирования и омиксных технологий в исследовании механизмов поддержания гомеостаза стали основой для разработки подходов прецизионной медицины, которую также называют «точной медицины». Среди пациентов, у которых наблюдаются сходные признаки или симптомы болезни, можно выделить подгруппы (эндотипы), у которых есть различные специфические молекулярные дефекты, характеризующиеся определенным набором клинических, лабораторных и молекулярно-биологических параметров. Такие пациенты могут иметь различную степень риска развития инфекционно-воспалительных осложнений при хирургических травмах и требуют индивидуального подхода в лечении. Перспективным направлением прецизионной медицины является разработка предиктивных биомаркеров SIRS и сепсиса, так как они позволяют выявить индивидуальные особенности организма, которые определяют эндофенотипы сепсиса. Одним из таких подходов может быть выявление биомаркеров тяжести течения SIRS и сепсиса особенно при хирургическом вмешательстве на основе исследования функционального состояния клеток, реализующих реакции врожденного иммунитета — нейтрофилов.

Обзор написан в рамках исполнения государственного задания НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Абцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» НИОКР №123030700027-5 «Поиск новых биомаркеров для прогнозирования индивидуального риска полиорганной дисфункции у пациентов кардиохирургического профиля».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-810. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>
2. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P, Allegranzi B, Reinhart K. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2020;46(8):1552-1562. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06151-x>
3. van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis. *Immunity*. 2021;54(11):2450-2464. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.10.012>

4. Torres LK, Pickkers P, van der Poll T. Sepsis-induced immunosuppression. *Annu Rev Physiol.* 2022;84:157-181.
<https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-061121-040214>
5. Manz MG, Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol.* 2014;14(5):302-314.
<https://doi.org/10.1038/nri3660>
6. Nauseef WM, Borregaard N. Neutrophils at work. *Nat Immunol.* 2014;15(7):602-611.
<https://doi.org/10.1038/ni.2921>
7. Herter J, Zarbock A. Integrin regulation during leukocyte recruitment. *J Immunol.* 2013;190(9):4451-4457.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203179>
8. Lilliehöök I, Tvedten HW, Bröjer J, Edner A, Nostell K. Time-related changes in equine neutrophils after experimental endotoxemia: myeloperoxidase staining, size, and numbers. *Vet Clin Pathol.* 2016;45(1):66-72.
<https://doi.org/10.1111/vcp.12334>
9. Vinther AM, Heegaard PM, Skovgaard K, Buhl R, Andreassen SM, Andersen PH. Characterization and differentiation of equine experimental local and early systemic inflammation by expression responses of inflammation-related genes in peripheral blood leukocytes. *BMC Vet Res.* 2016;12:83.
<https://doi.org/10.1186/s12917-016-0706-8>
10. Hou L, Voit RA, Shibamura-Fujiogi M, Koutsogiannaki S, Li Y, Chen Y, Luo H, Sankaran VG, Yuki K. CD11c regulates neutrophil maturation. *Blood Adv.* 2023;7(7):1312-1325.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2022007719>
11. Hofman P. Molecular regulation of neutrophil apoptosis and potential targets for therapeutic strategy against the inflammatory process. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2004;3(1):1-9.
<https://doi.org/10.2174/1568010043483935>
12. Colotta F, Re F, Polentarutti N, Sozzani S, Mantovani A. Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products. *Blood.* 1992;80(8):2012-2020.
<https://doi.org/10.1182/blood.V80.8.2012.2012>
13. Hinshaw LB. Sepsis/septic shock: participation of the microcirculation: an abbreviated review. *Crit Care Med.* 1996;24(6):1072-1078.
<https://doi.org/10.1097/00003246-199606000-00031>
14. Saito H, Lai J, Rogers R, Doerschuk CM. Mechanical properties of rat bone marrow and circulating neutrophils and their responses to inflammatory mediators. *Blood.* 2002;99(6):2207-2213.
<https://doi.org/10.1182/blood.v99.6.2207>
15. Skoutelis AT, Kaleridis V, Athanassiou GM, Kokkinis KI, Missirlis YF, Bassaris HP. Neutrophil deformability in patients with sepsis, septic shock, and adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2000;28(7):2355-2359.
<https://doi.org/10.1097/00003246-200007000-00029>
16. Silvestre-Roig C, Hidalgo A, Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood.* 2016;127(18):2173-2181.
<https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-688887>
17. Woodfin A, Beyrau M, Voisin MB, Ma B, Whiteford JR, Hordijk PL, Hogg N, Nourshargh S. ICAM-1-expressing neutrophils exhibit enhanced effector functions in murine models of endotoxemia. *Blood.* 2016;127(7):898-907.
<https://doi.org/10.1182/blood-2015-08-664995>
18. Nigro KG, O' Riordan M, Molloy EJ, Walsh MC, Sandhaus LM. Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. *Am J Clin Pathol.* 2005;123(4):618-624.
<https://doi.org/10.1309/73H7-K7UB-W816-PBJ>
19. Nierhaus A, Klatte S, Linssen J, Eismann NM, Wichmann D, Hedeke J, Braune SA, Kluge S. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis — a prospective, observational study. *BMC Immunol.* 2013;14:8.
<https://doi.org/10.1186/1471-2172-14-8>
20. Meghraoui-Kheddar A, Chousterman BG, Guillou N, Barone SM, Grangeaud S, Vallet H, Corneau A, Guessous K, de Roquetaillade C, Boissonnas A, et al. Two new neutrophil subsets define a discriminating sepsis signature. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022;205(1):46-59.
<https://doi.org/10.1164/rccm.202104-1027OC>
21. Daix T, Guerin E, Tavernier E, Mercier E, Gissot V, Héault O, Mira JP, Dumas F, Chapuis N, Guitton C, et al. Multicentric standardized flow cytometry routine assessment of patients with sepsis to predict clinical worsening. *Chest.* 2018;154(3):617-627.
<https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.03.058>
22. Qi X, Yu Y, Sun R, Huang J, Liu L, Yang Y, Rui T, Sun B. Identification and characterization of neutrophil heterogeneity in sepsis. *Crit Care.* 2021;25(1):50.
<https://doi.org/10.1186/s13054-021-03481-0>
23. Sun L, Fang K, Yang Z. Combination therapy with probiotics and anti-PD-L1 antibody synergistically ameliorates sepsis in mouse model. *Heliyon.* 2024;10(11):e31747.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31747>
24. Wang JF, Wang YP, Xie J, Zhao ZZ, Gupta S, Guo Y, Jia SH, Parodo J, Marshall JC, Deng XM. Upregulated PD-L1 delays human neutrophil apoptosis and promotes lung injury in an experimental mouse model of sepsis. *Blood.* 2021;138(9):806-810.
<https://doi.org/10.1182/blood.2020009417>
25. Hong Y, Chen L, Sun J, Xing L, Yang Y, Jin X, Cai H, Dong L, Zhou L, Zhang Z. Single-cell transcriptome profiling reveals heterogeneous neutrophils with prognostic values in sepsis. *iScience.* 2022;25(11):105301.
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105301>
26. Kangelaris KN, Clemens R, Fang X, Jauregui A, Liu T, Vessel K, Deiss T, Sinha P, Leligdowicz A, Liu KD, et al. A neutrophil subset defined by intracellular olfactomedin 4 is associated with mortality in sepsis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2021;320(5):L892-L902.
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00090.2020>
27. Elsbach P, Weiss J. Oxygen-dependent and oxygen-independent mechanisms of microbicidal activity of neutrophils. *Immunol Lett.* 1985;11(3-4):159-163.
[https://doi.org/10.1016/0165-2478\(85\)90163-4](https://doi.org/10.1016/0165-2478(85)90163-4)
28. Drab E, Sugihara K. Cooperative function of LL-37 and HNP1 protects mammalian cell membranes from lysis. *Biophys J.* 2020;119(12):2440-2450.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.10.031>
29. Chiswick EL, Mella JR, Bernardo J, Remick DG. Acute-phase deaths from murine polymicrobial sepsis are characterized by innate immune suppression rather than exhaustion. *J Immunol.* 2015;195(8):3793-3802.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500874>
30. Conway Morris A, Kefala K, Wilkinson TS, Dhaliwal K, Farrell L, Walsh T, Mackenzie SJ, Reid H, Davidson DJ, Haslett C, et al. C5a mediates peripheral blood neutrophil dysfunction in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180(1):19-28.
<https://doi.org/10.1164/rccm.200812-1928OC>
31. Miller L, Singbartl K, Chroneos ZC, Ruiz-Velasco V, Lang CH, Bonavia A. Resistin directly inhibits bacterial killing in neutrophils. *Intensive Care Med Exp.* 2019;7(1):30.
<https://doi.org/10.1186/s40635-019-0257-y>
32. Kellner M, Noonepalle S, Lu Q, Srivastava A, Zemskov E, Black SM. ROS signaling in the pathogenesis of Acute Lung Injury (ALI) and Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *Adv Exp Med Biol.* 2017;967:105-137.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-63245-2_8
33. Le-Barillec K, Si-Tahar M, Balloy V, Chignard M. Proteolysis of monocyte CD14 by human leukocyte elastase inhibits lipopolysaccharide-mediated cell activation. *J Clin Invest.* 1999;103(7):1039-1046.
<https://doi.org/10.1172/JCI5779>
34. Roghanian A, Drost EM, MacNee W, Howie SE, Sallenave JM. Inflammatory lung secretions inhibit dendritic cell maturation

- and function via neutrophil elastase. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(11):1189-1198.
<https://doi.org/10.1164/rccm.200605-632OC>
35. Pillay J, Kamp VM, van Hoffen E, Visser T, Tak T, Lammers JW, Ulfman LH, Leenen LP, Pickkers P, Koenderman L. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1. *J Clin Invest.* 2012;122(1):327-336.
<https://doi.org/10.1172/JCI57990>
36. Darcy CJ, Minigo G, Piera KA, Davis JS, McNeil YR, Chen Y, Volkheimer AD, Weinberg JB, Anstey NM, Woodberry T. Neutrophils with myeloid derived suppressor function deplete arginine and constrain T cell function in septic shock patients. *Crit Care.* 2014;18(4):R163.
<https://doi.org/10.1186/cc14003>
37. Langereis JD, Pickkers P, de Kleijn S, Gerretsen J, de Jonge MI, Kox M. Spleen-derived IFN- γ induces generation of PD-L1+suppressive neutrophils during endotoxemia. *J Leukoc Biol.* 2017;102(6):1401-1409.
<https://doi.org/10.1189/jlb.3A0217-051RR>
38. Martín-Fernández M, Tamayo-Velasco Á, Aller R, Gonzalo-Benito H, Martínez-Paz P, Tamayo E. Endothelial dysfunction and neutrophil degranulation as central events in sepsis physiopathology. *Int J Mol Sci.* 2021;22(12):6272.
<https://doi.org/10.3390/ijms22126272>
39. Yau JW, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord.* 2015;15:130.
<https://doi.org/10.1186/s12872-015-0124-z>
40. Ye X, Ding J, Zhou X, Chen G, Liu SF. Divergent roles of endothelial NF-kappaB in multiple organ injury and bacterial clearance in mouse models of sepsis. *J Exp Med.* 2008;205(6):1303-1315.
<https://doi.org/10.1084/jem.20071393>
41. Broekhuizen LN, Mooij HL, Kastelein JJ, Stroes ES, Vink H, Nieuwoudt M. Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2009;20(1):57-62.
<https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e328321b587>
42. Suzuki K, Okada H, Takemura G, Takada C, Kuroda A, Yano H, Zaikokuji R, Morishita K, Tomita H, Oda K, et al. Neutrophil elastase damages the pulmonary endothelial glycocalyx in lipopolysaccharide-induced experimental endotoxemia. *Am J Pathol.* 2019;189(8):1526-1535.
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2019.05.002>
43. Stanski NL, Wong HR. Prognostic and predictive enrichment in sepsis. *Nat Rev Nephrol.* 2020;16(1):20-31.
<https://doi.org/10.1038/s41581-019-0199-3>
44. Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, Humburg P, Hutton P, Mills TC, Rautanen A, Gordon AC, Garrard C, Hill AV, et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med.* 2016;4(4):259-271.
[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00046-1)
45. Scicluna BP, van Vugt LA, Zwinderman AH, Wiewel MA, Davenport EE, Burnham KL, Nürnberg P, Schultz MJ, Horn J, Cremer OL, et al.; MARS consortium. Classification of patients with sepsis according to blood genomic endotype: a prospective cohort study. *Lancet Respir Med.* 2017;5(10):816-826.
[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(17\)30294-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(17)30294-1)
46. Maslove DM, Tang BM, McLean AS. Identification of sepsis subtypes in critically ill adults using gene expression profiling. *Crit Care.* 2012;16(5):R183.
<https://doi.org/10.1186/cc11667>
47. Baghela A, Pena OM, Lee AH, Baquir B, Falsafi R, An A, Farmer SW, Hurlburt A, Mondragon-Cardona A, Rivera JD, et al. Predicting sepsis severity at first clinical presentation: the role of endotypes and mechanistic signatures. *EBioMedicine.* 2022;75:103776.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103776>
48. Loh W, Vermeren S. Anti-inflammatory neutrophil functions in the resolution of inflammation and tissue repair. *Cells.* 2022;11(24):4076.
<https://doi.org/10.3390/cells11244076>
49. Shelhamer MC, Rowan MP, Cancio LC, Aden JK, Rhie RY, Merrill GA, Wolf SE, Renz EM, Chung KK. Elevations in inflammatory cytokines are associated with poor outcomes in mechanically ventilated burn patients. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015;79(3):431-436.
<https://doi.org/10.1097/TA.0000000000000786>
50. Coban YK, Aral M. Serum IL-18 is increased at early postburn period in moderately burned patients. *Mediators Inflamm.* 2006;2006(2):16492.
<https://doi.org/10.1155/MI/2006/16492>
51. Finnerty CC, Herndon DN, Chinkes DL, Jeschke MG. Serum cytokine differences in severely burned children with and without sepsis. *Shock.* 2007;27(1):4-9.
<https://doi.org/10.1097/01.shk.0000235138.20775.36>
52. Hur J, Yang HT, Chun W, Kim JH, Shin SH, Kang HJ, Kim HS. Inflammatory cytokines and their prognostic ability in cases of major burn injury. *Ann Lab Med.* 2015;35(1):105-110.
<https://doi.org/10.3343/alm.2015.35.1.105>
53. Mulet M, Osuna-Gómez R, Zamora C, Artesero I, Arús M, Verra-Artazcoz P, Cerdón A, Vilalta N, San-José P, Abril A, et al. Dysregulated neutrophil extracellular traps formation in sepsis. *Immunology.* 2023;170(3):374-387.
<https://doi.org/10.1111/imm.13676>
54. Pilsczek FH, Salina D, Poon KK, Fahey C, Yipp BG, Sibley CD, Robbins SM, Green FH, Surette MG, Sugai M, et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol.* 2010;185(12):7413-7425.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000675>
55. Cahilog Z, Zhao H, Wu L, Alam A, Eguchi S, Weng H, Ma D. The role of neutrophil NETosis in organ injury: novel inflammatory cell death mechanisms. *Inflammation.* 2020;43(6):2021-2032.
<https://doi.org/10.1007/s10753-020-01294-x>
56. Sollberger G, Tilley DO, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: the biology of chromatin externalization. *Dev Cell.* 2018;44(5):542-553.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.01.019>
57. Lefrançais E, Mallavia B, Zhuo H, Calfee CS, Looney MR. Maladaptive role of neutrophil extracellular traps in pathogen-induced lung injury. *JCI Insight.* 2018;3(3):e98178.
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.98178>
58. Sikora JP, Karawani J, Sobczak J. Neutrophils and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Int J Mol Sci.* 2023;24(17):13469.
<https://doi.org/10.3390/ijms241713469>
59. Yan HP, Li M, Lu XL, Zhu YM, Ou-Yang WX, Xiao ZH, Qiu J, Li SJ. Use of plasma mitochondrial DNA levels for determining disease severity and prognosis in pediatric sepsis: a case control study. *BMC Pediatr.* 2018;18(1):267.
<https://doi.org/10.1186/s12887-018-1239-z>
60. Liew PX, Kubes P. The neutrophil's role during health and disease. *Physiol Rev.* 2019;99(2):1223-1248.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2018>
61. Trulson I, Stahl J, Margraf S, Scholz M, Hoecherl E, Wolf K, Durner J, Klawonn F, Holdenrieder S. Cell-free DNA in plasma and serum indicates disease severity and prognosis in blunt trauma patients. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(6):1150.
<https://doi.org/10.3390/diagnostics13061150>
62. Sha Y, Zmijewski J, Xu Z, Abraham E. HMGB1 develops enhanced proinflammatory activity by binding to cytokines. *J Immunol.* 2008;180(4):2531-2537.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.4.2531>

63. Karlsson S, Pettilä V, Tenhunen J, Laru-Sompa R, Hynnen M, Ruokonen E. HMGB1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med.* 2008;34(6):1046-1053.
<https://doi.org/10.1007/s00134-008-1032-9>
64. Zhang J, She D, Feng D, Jia Y, Xie L. Dynamic changes of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) reflect sepsis severity and can predict prognosis: a prospective study. *BMC Infect Dis.* 2011;11:53.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-11-53>
65. Stoppelkamp S, Veseli K, Stang K, Schlensak C, Wendel HP, Walker T. Identification of predictive early biomarkers for sterile-SIRS after cardiovascular surgery. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135527.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135527>
66. Huang Y, Zhang N, Xie C, You Y, Guo L, Ye F, Xie X, Wang J. Lipocalin-2 in neutrophils induces ferroptosis in septic cardiac dysfunction via increasing labile iron pool of cardiomyocytes. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:922534.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.922534>
67. Jaber SA, Cohen A, D'Souza C, Abdulrazzaq YM, Ojha S, Bastaki S, Adeghate EA. Lipocalin-2: structure, function, distribution and role in metabolic disorders. *Biomed Pharmacother.* 2021;142:112002.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112002>
68. Chang W, Zhu S, Pan C, Xie JF, Liu SQ, Qiu HB, Yang Y. Predictive utilities of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in severe sepsis. *Clin Chim Acta.* 2018;481:200-206.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.03.020>
69. Wang H, Zhang M, Mao H, Cheng Z, Zhang Q, Jiang C, Sun C, Sun L. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin and proinflammatory cytokines in pigs with septic versus non-septic acute kidney injury. *Int Urol Nephrol.* 2015;47(2):413-420.
<https://doi.org/10.1007/s11255-014-0878-8>
70. Paul A, Newbigging NS, Lenin A, Gowri M, Varghese JS, Nell AJ, Abhilash KPP, Binu AJ, Chandiraseharan VK, Iyyadurai R, et al. Role of neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin (NGAL) and other clinical parameters as predictors of bacterial sepsis in patients presenting to the emergency department with fever. *Indian J Crit Care Med.* 2023;27(3):176-182.
<https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-24419>
71. Abou El-Khier NT, Zaki ME, Alkasaby NM. Study of MicroRNA-122 as a diagnostic biomarker of sepsis. *Egypt J Immunol.* 2019;26(2):105-116.
72. Guo H, Tang L, Xu J, Lin C, Ling X, Lu C, Liu Z. MicroRNA-495 serves as a diagnostic biomarker in patients with sepsis and regulates sepsis-induced inflammation and cardiac dysfunction. *Eur J Med Res.* 2019;24(1):37.
<https://doi.org/10.1186/s40001-019-0396-3>
73. Sun B, Luan C, Guo L, Zhang B, Liu Y. Low expression of microRNA-328 can predict sepsis and alleviate sepsis-induced cardiac dysfunction and inflammatory response. *Braz J Med Biol Res.* 2020;53(8):e9501.
<https://doi.org/10.1590/1414-431X20209501>
74. Zhang B, Yu L, Sheng Y. Clinical value and role of microRNA-29c-3p in sepsis-induced inflammation and cardiac dysfunction. *Eur J Med Res.* 2021;26(1):90.
<https://doi.org/10.1186/s40001-021-00566-y>
75. Han Y, Li Y, Jiang Y. The prognostic value of plasma microRNA-155 and microRNA-146a level in severe sepsis and sepsis-induced acute lung injury patients. *Clin Lab.* 2016;62(12):2355-2360.
<https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2016.160511>
76. Ma C, Liu K, Wang F, Fei X, Niu C, Li T, Liu L. Neutrophil membrane-engineered Panax ginseng root-derived exosomes loaded miRNA 182-5p targets NOX4/Drp-1/NLRP3 signal pathway to alleviate acute lung injury in sepsis: experimental studies. *Int J Surg.* 2024;110(1):72-86.
<https://doi.org/10.1097/JJS.0000000000000789>
77. Jiao Y, Zhang T, Zhang C, Ji H, Tong X, Xia R, Wang W, Ma Z, Shi X. Exosomal miR-30d-5p of neutrophils induces M1 macrophage polarization and primes macrophage pyroptosis in sepsis-related acute lung injury. *Crit Care.* 2021;25(1):356.
<https://doi.org/10.1186/s13054-021-03775-3>
78. Chen B, Han J, Chen S, Xie R, Yang J, Zhou T, Zhang Q, Xia R. MicroLet-7b regulates neutrophil function and dampens neutrophilic inflammation by suppressing the Canonical TLR4/NF- κ B pathway. *Front Immunol.* 2021;12:653344.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.653344>

Поступила 25.07.2024

Received 25.07.2024

Принята в печать 09.09.2024

Accepted 09.09.2024