

# ОСОБЕННОСТИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ: ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2020.12.3.11

УДК 616–001.17–092:616.94

Поступила 3.06.2019 г.



**А.В. Перешейн**, ассистент кафедры патологической физиологии;  
**С.В. Кузнецова**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии;  
**О.Н. Шевантаева**, д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии

Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1,  
Н. Новгород, 603005

Проведен анализ современных сведений о состоянии неспецифической резистентности у ожоговых пациентов. Рассматриваются проблемы оценки функций субпопуляций нейтрофилов и моноцитов/макрофагов при тяжелой ожоговой травме. Установлена роль клеток крови в последующем развитии иммунной дисфункции, восприимчивости к сепсису и синдрома полиорганной недостаточности. Показано значение вторичных осложнений в развитии заболеваемости и смертности среди госпитализированных пациентов с ожоговой травмой. Рассмотрены новые подходы к выявлению лиц с риском неблагоприятного исхода.

**Ключевые слова:** неспецифическая резистентность; ожоговая травма; сепсис при ожогах; нейтрофилы; моноциты; макрофаги.

**Как цитировать:** Pereshein A.V., Kuznetsova S.V., Shevantaeva O.N. On the nonspecific resistance in burn injury: pathophysiological aspects (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2020; 12(3): 84–94, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.3.11>

## English

### On the Nonspecific Resistance in Burn Injury: Pathophysiological Aspects (Review)

**A.V. Pereshein**, Assistant, Department of Pathological Physiology;  
**S.V. Kuznetsova**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology;  
**O.N. Shevantaeva**, MD, DSc, Professor, Department of Pathological Physiology

Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod,  
603005, Russia

An analysis of nonspecific resistance in burn patients is conducted. The role of subpopulations of neutrophils and monocytes/macrophages in severe burn injury is discussed. The significance of blood cells for the burn-induced immune dysfunction, susceptibility to sepsis and multiple organ failure is underscored. The involvement of secondary complications in the development of morbidity and mortality in patients with burn injury is shown. New approaches to identifying individuals with a risk of adverse outcome are considered.

**Key words:** nonspecific resistance; burn injury; burn sepsis; neutrophils; monocytes; macrophages.

Для контактов: Шевантаева Ольга Николаевна, e-mail: [shevantaeva@list.ru](mailto:shevantaeva@list.ru)

## Введение

Ежегодная частота тяжелых ожогов, по данным европейского исследования [1], составила от 0,2 до 2,9 случаев на 10 тыс. жителей. В России ежегодно регистрируется около 400 тыс. ожогов [2]. Ожоги являются причиной заболеваемости и смертности: на их долю в мире приходится более 300 тыс. смертей в год [3–6]. Лечение ожогов является одним из самых затратных вследствие необходимости длительной госпитализации и реабилитации [7, 8].

Основная причина летальных исходов у госпитализированных пациентов с тяжелой ожоговой травмой — сепсис [8–10], причем смертность от него в этой группе составляет до 85% [11]. Ожоговая травма изменяет целостность кожи, которая служит основным барьером против патогенов, и тем самым увеличивает риск инфекций. Кроме того, у пациентов с ожогами последующее формирование синдрома системного воспалительного ответа сопровождается множественной дисфункцией органов, а развитие иммуносупрессивной фазы способствует повышению восприимчивости их к нозокомиальной инфекции, что позднее приводит к смерти [12]. Часто синдром системного воспалительного ответа маскирует начало ожогового сепсиса, что задерживает диагностику сопутствующей септицемии [13]. Данное обстоятельство неизбежно сказывается на результатах лечения таких пациентов.

Критическое влияние инфекции на результаты лечения, а также диагностические трудности, возникающие у тяжелообожженных, требуют новых методов идентификации и характеристики угрожающих жизни осложнений. В этом контексте весьма актуально исследование биомаркеров неспецифической защиты, что позволит улучшить прогноз пациентов с тяжелой ожоговой травмой.

## Нейтрофилы

Полиморфноядерные лейкоциты, в состав которых входят полиморфноядерные нейтрофилы (PMN), являются ключевыми клетками врожденной иммунной системы, участвующими в воспалительной реакции, и первыми, которые устремляются в зараженные и/или поврежденные ткани [14]. У здоровых людей примерно 100 млрд. нейтрофилов пополняют и покидают циркулирующую кровь каждый день [15, 16]. Они составляют доминирующую популяцию лейкоцитов в кровообращении, опосредуя самые ранние врожденные иммунные ответы на инфекцию, а также захватывают и разрушают вторгающиеся микроорганизмы посредством фагоцитоза и внутриклеточной деградации, выделения гранул и образования внеклеточных ловушек [17]. До недавнего времени эти функции считались единственными для нейтрофилов. Однако текущие исследования в нескольких областях биологии клеток показывают, что PMN обладают многообразным репертуаром функциональных реак-

ций, которые выходят за рамки простого уничтожения микроорганизмов. В настоящее время признано, что нейтрофилы являются транскрипционно активными комплексными клетками [11, 17], которые продуцируют цитокины [18], модулируют деятельность соседних клеток и способствуют разрешению воспаления [19], регулируют макрофаги для долгосрочных иммунных реакций [20]. В этих условиях нейтрофилы, обладающие мощными антимикробными эффекторными функциями, являются, с одной стороны, важными защитниками хозяина, а с другой — опасным источником медиаторов воспаления, повреждающих ткани при состояниях неконтролируемого воспаления [21–23].

Генерация нейтрофилов из гемопоэтических клеткок-предшественников в костном мозге является высоко контролируемым процессом [24]. Основным регулятором гранулоцитопоэза служит гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), который способствует фиксации клеткок-предшественников миелоидной линии, уменьшению времени их созревания, стимулирует пролиферацию предшественников гранулоцитов и высвобождение зрелых клеток из костного мозга [25]. Дополнительные сигналы о производстве и высвобождении нейтрофилов могут поступать от IL-6, IL-3 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) [26].

Количество нейтрофилов в циркулирующей крови регулируется осью CXCL12/CXCR4 (хемокиновый лиганд 12/хемокиновый рецептор 4) [24, 27]. Стромальные клетки костного мозга экспрессируют CXCL12, лиганд для CXCR4, который, как полагают, экспрессируется на нейтрофилах и удерживает их в костном мозге [28]. Хотя прямых свидетельств экспрессии CXCR4 на человеческих нейтрофилах в костном мозге не хватает, но антагонист CXCR4-рецептора плериксафор вызывает мобилизацию нейтрофилов в крови [29]. Показано, что совместное введение G-CSF с антагонистом CXCR4 приводит к синергетическому высвобождению нейтрофилов [30]. Введение G-CSF снижает образование CXCL12, что коррелирует с увеличением мобилизации нейтрофилов [31]. При сепсисе липополисахарид (LPS) и воспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-17, могут регулировать уровень G-CSF [32]. Были проведены два рандомизированных клинических исследования с рекомбинантным G-CSF — препаратом, который увеличивает количество и функцию нейтрофилов у пациентов с сепсисом [33, 34]. Известно, что применение G-CSF очень эффективно для предупреждения септических осложнений у лиц с аномально низким абсолютным количеством нейтрофилов, а также, что количество нейтрофилов при сепсисе обычно повышается [22]. Исследователи предположили, что введение G-CSF может улучшить бактерицидные функции нейтрофилов. Однако, хотя число полиморфноядерных клеток у этих пациентов повысилось, увеличения общей выживаемости при этом отмечено не было. Эти два клинических исследования свидетельствуют, что

введение G-CSF, по всей вероятности, полезно только у пациентов с нейтропенией.

E. Guerin и соавт. [35] обнаружили, что развитие сепсиса связано с увеличением количества незрелых форм нейтрофилов, что имело высокую прогностическую ценность через 48 ч после госпитализации. Важно отметить, что определение количества молодых форм нейтрофилов дает возможность различать пациентов с SIRS (синдром системного воспалительного ответа) и сепсисом с чувствительностью 89,2% и специфичностью 76,4% [36]. Эти данные согласуются с результатами P. Hampson с соавт. [37], которые показали, что число циркулирующих незрелых нейтрофилов в течение 24 ч после ожоговой травмы по сравнению со значением у здоровых добровольцев было значительно выше. Их количество нормализовалось на 3-й день после травмы, а на 7-й день вновь увеличилось и оставалось повышенным в течение 28 дней. Кроме того, было отмечено изменение функциональной активности гранулоцитов на 3-и и 7-е сутки. Это выражалось в уменьшении способности к окислительному взрыву и снижению фагоцитарного индекса, что может лежать в основе повышенной восприимчивости к инфекции после термического повреждения [38].

Таким образом, подсчет количества незрелых нейтрофилов помогает точно различать септических и несептических лиц с SIRS. Это особенно важно у пациентов с ожогами, где сепсис трудно диагностировать, так как многие из диагностических критериев маскируются продолжающимся ответом SIRS, что наблюдается у подавляющего большинства пациентов с ожогом >15% общей площади поверхности тела.

В норме зрелые нейтрофилы циркулируют в крови не более 6–10 ч, а затем перемещаются в ткани [14, 23, 28]. Они быстро реагируют на воспалительные сигналы после повреждения или заражения тканей и мигрируют в воспаленную/поврежденную область [14].

Начальный период после термической травмы характеризуется развитием феномена гиперактивации нейтрофилов. Происходит высвобождение большого количества бактерицидных реакционно-способных химических веществ при катализе NADPH-оксидазы, миелопероксидазы (MPO) или оксида азота синтазы (NOS) [39].

Цитотоксичность нейтрофилов наряду с генерацией кислородных радикалов обеспечивается секрецией гранул. Первичные гранулы нейтрофилов (азурофильные) содержат MPO и спектр нейтрофильных сериновых протеаз (NSP): катепсин G (CG), нейтрофильную эластазу (NE), протеиназу 3 (PR3) и недавно обнаруженную нейтрофильную сериновую протеазу-4 (NSP4) [40]. NSP имеют решающее значение для эффективного функционирования нейтрофилов и в значительной степени способствуют иммунной защите от бактериальных инфекций [41].

В настоящее время изучены следующие функции NSP:

1. NSP могут непосредственно убивать бактери-

альные клетки. Показано, что NE убивает грамотрицательные бактерии *E. coli* путем расщепления белка A наружной мембраны, что приводит к потере ее целостности и гибели клеток. Согласованные действия NE, CG и PR3 *in vivo* могут убить *S. pneumoniae* в фагоцитарной вакуоли.

2. NSP могут расщеплять белки хозяина для получения антимикробных пептидов. Наиболее известным примером является способность PR3 расщеплять кателицидин hCAP-18 для получения антимикробного пептида LL-37. Кателицидины находятся в специфических гранулах в неактивном состоянии. При деградации азурофильных и специфических гранул PR3 отщепляет от кателицидина C-концевую часть, в результате во внеклеточном пространстве образуется катионный бактерицидный пептид LL-37, обладающий бактерицидной активностью против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

3. NSP могут ослабить бактериальную вирулентность, инактивируя факторы, необходимые для патогенеза. Подвижные белки IcsA и IpaA-C *Shigella flexneri* могут быть расщеплены NE, что предотвращает ее распространение в цитоплазме нейтрофилов. Подобно NE, CG может расщеплять адгезивный связывающий фактор A *S. aureus* и удалять его активный домен [15]. Кроме того, нейтрофильные азурофильные гранулы также содержат бактерицидный белок, повышающий проницаемость бактериальных клеток [42]. Этот белок обладает тремя типами противомикробного действия: прямой антимикробной активностью, нейтрализацией активности эндотоксина посредством прямого связывания LPS и опсонической активностью.

Специфические гранулы образуются после азурофильных гранул. Они в основном содержат широкий спектр противомикробных соединений, включая кальпротектин, лактоферрин, липокалин, связанный с нейтрофильной желатиназой (NGAL), hCAP-18 и лизоцим. Кальпротектин, также называемый S100A8/A9, является критическим фактором врожденного иммунного ответа на инфекцию и, как показано в работе [43], ингибирует рост микроорганизмов путем хелатирования питательных веществ, необходимых микробам для прогрессии *in vivo* ионов  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ , что приводит к перепрограммированию бактериального транскриптома. Лактоферрин, также называемый лактотрансферрин, представляет собой связывающий железо гликопротеин, присутствующий в большинстве биологических жидкостей человека [44, 45].

Третичные (желатиновые) гранулы являются как MPO-, так и лактоферрин-отрицательными. Они представляют собой одну из конечных популяций гранул, образующихся при созревании нейтрофилов. Желатиновые гранулы содержат несколько противомикробных соединений и служат местом хранения ряда металлопротеаз, таких как желатиназа и лейколизин.

В настоящее время антимикробные пептиды (AMP) все чаще становятся объектом внимания при

разработке новых стратегий лечения бактериальных инфекций [46, 47]. Предполагается, что AMP могут быть перспективными кандидатами для лечения так называемых патогенов ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter*), представляющих собой группу самых «непокорных» бактерий, устойчивых почти ко всем распространенным антибиотикам и являющихся ведущими причинами госпитальных инфекций, в том числе у ожоговых пациентов [48–50].

Высокорективные метаболиты кислорода и AMP имеют решающее значение для эффективного функционирования нейтрофилов и обеспечения процессов фагоцитоза. Однако описана и другая отчетливая антимикробная концепция внеклеточного убийства с использованием внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) [51, 52]. Основные компоненты NET — ДНК, гранулярные белки нейтрофилов и гистоны H1, H2A, H2B, H3 и H4 [53, 54]. Нейтрофильные ловушки образуются в ответ на множество провоспалительных стимулов, из которых IL-8, TNF- $\alpha$  и LPS являются наиболее значимыми [55]. Во время формирования NET нейтрофилы умирают, и этот процесс обычно называют NETosis.

Определение бесклеточной ДНК (cfDNA) и модифицированных гистонов, входящих в NET, предложено использовать в качестве потенциальных биомаркеров сепсиса [54, 56]. Например, P. Hampson и соавт. [37] показали, что уровни cfDNA в плазме после термического повреждения были значительно выше у тех пациентов, у которых развился сепсис. Кроме того, уровни cfDNA в плазме, измеренные в день травмы, позволяют различать септических и несептических пациентов: наибольшее значение AUROC составляло 0,935 в мультипараметрической модели — при комбинации с показателями фагоцитарного индекса и количеством незрелых гранулоцитов в крови. Важно отметить, что циркулирующая cfDNA неспецифична для NETosis и может высвобождаться из апоптотических или некротических клеток, а также бактерий [57]. Для того чтобы предоставить убедительные доказательства NETosis *in vivo*, исследователи [37] проанализировали плазму пациентов на наличие цитруллинированного гистона Cit H3. Высокие уровни Cit H3 совпали с максимальными уровнями cfDNA, демонстрируя, что NETosis происходит во время септических эпизодов и таким образом способствует увеличению в плазме cfDNA. Эти данные согласуются с работой T. Hirose с соавт. [57], в которой показано наличие циркулирующего Cit H3 только у пациентов, инфицированных на момент отбора проб.

Таким образом, включение cfDNA и Cit H3 в системы стратификации риска сепсиса может быть полезным для принятия клинических решений или при исследовании сепсиса у пациентов с термической травмой.

Нейтрофилопосредуемую цитотоксичность считают

причиной повреждения сосудов микроциркуляции [58] и полиорганных повреждений при обширных травмах, ожогах, сепсисе [30]. Во время сепсиса бактериальные продукты и провоспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , способствуют снижению экспрессии L-селектина и стимулируют экспрессию  $\beta$ -интегринов на поверхности нейтрофилов, которые взаимодействуют с молекулой межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и молекулой адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1) на сосудистом эндотелии и тем самым способствуют высокоаффинной адгезии с эндотелием [59]. В результате нейтрофилы демонстрируют снижение маргинации и роллинга с пониженной деформируемостью и секвестрирование в сосудистом отделе. При этом мембрана нейтрофилов изменяется, становится более жесткой и менее деформированной — пропорционально тяжести сепсиса [30, 60]. Секвестрация нейтрофилов в капиллярном слое приводит к окклюзии сосудов и способствует тканевой ишемии и дисфункции органов, особенно в легких и печени, которые богаты кровеносными сосудами [32, 60].

В норме деструктивные эффекты нейтрофилов в ткани ограничены их апоптозом. Однако этот процесс задерживается после травмы (3–5 дней вместо 7–9 ч) [61]. Отсроченный апоптоз приводит к накоплению нейтрофилов, увеличению высвобождения их цитотоксических продуктов и развитию местного повреждения тканей [62].

Важную роль в развитии полиорганной недостаточности и нарушении микроциркуляции играют взаимодействия нейтрофилов и тромбоцитов [60]. Хорошо известно, что активированные тромбоциты прилипают к нейтрофилам посредством быстрой поверхностной экспрессии гранулированного белка P-селектина, связывающегося с высокоаффинным лигандом PSGL-1, экспрессируемым на нейтрофилах [63]. Это взаимодействие вызывает дальнейшую активацию  $\beta$ 2-интегринов нейтрофилов — LFA-1 ( $\alpha$ L $\beta$ 2), Mac-1 ( $\alpha$ M $\beta$ 2), в результате чего наблюдается массивная миграция нейтрофилов и накопление их в дистальных органах [64]. Установлено, что взаимодействие тромбоцитов и нейтрофилов приводит к быстрому высвобождению NET [54, 65], способствуя адгезии тромбоцитов и эритроцитов, стимулируя образование тромбов [66]. Другой способ, с помощью которого тромбоциты взаимодействуют с нейтрофилами во время сепсиса, заключается в запуске триггерного рецептора (TREM), экспрессируемого на миелоидных клетках в присутствии LPS, что увеличивает опосредованное нейтрофилами производство активных форм кислорода (АФК) и секрецию IL-8 [67].

Многочисленные исследования показали, что сепсис у ожоговых пациентов представляет собой серьезное нарушение иммунного ответа на инфекцию, которое приводит к дисфункции нейтрофилов, сопровождающейся нарушением миграции. До недавнего времени технологии, используемые для измерения миграции нейтрофилов, были ограниченными,

занимали много времени и требовали большого объема крови. В 2010 г. K.L. Butler и соавт. [68] описали новое микрожидкостное устройство, которое просто в использовании, позволяет проводить точные и надежные измерения скорости хемотаксиса. Устройство использует только одну каплю крови, что важно для предотвращения анемии у пациентов с тяжелыми повреждениями. Эта группа исследователей показала, что термическая травма приводит к значительному снижению скорости направленной миграции в течение 24 ч, которое достигает максимума через 72–120 ч после ожогового повреждения. Позднее C.N. Jones с соавт. [69] описали новый фенотип спонтанной миграции изолированных нейтрофилов в прямых микрожидкостных каналах, что позволило предсказать сепсис у пациентов с тяжелыми ожогами с 80% чувствительностью и 77% специфичностью. Этот фенотип наблюдался за 1–2 дня до диагноза сепсиса и не был обнаружен у пациентов, у которых инфекция не развилась [69, 70].

Нейтрофильная миграция подавляется широким спектром воспалительных медиаторов, которые включают липоксины, цитокины (IL-10) и газообразные молекулы [71]. Среди газовых медиаторов важным модулятором миграции нейтрофилов является оксид азота. Показано, что фармакологическое ингибирование NOS или генетический дефицит гена NOS усиливают миграцию нейтрофилов в воспалительный участок в ответ на несколько раздражителей. В настоящее время механизмы, с помощью которых NO ослабляет миграцию нейтрофилов, изучены недостаточно. Имеются данные о том, что NO, высвобождаемый eNOS либо iNOS, модулирует взаимодействия лейкоцитов и эндотелиальных клеток. Селективные ингибиторы, как iNOS, так и eNOS, увеличивают адгезию нейтрофилов к эндотелиальным клеткам, тогда как доноры NO уменьшают как адгезию, так и трансмиграцию лейкоцитов в воспалительные участки. Кроме того, экспрессия молекул клеточной адгезии, таких как интегрины, L-селектин, P-селектин, E-селектин, ICAM-1, подавляется донорами NO и регулируется ингибиторами NOS [60].

Оксид азота и его производная iNOS подавляют миграцию нейтрофилов в основном по следующим трем аспектам:

- 1) iNOS ингибирует  $\beta$ -интегрины и селектины лейкоцитов, а также снижает экспрессию VCAM-1;
- 2) NO взаимодействует с другими молекулами, такими как АФК, образуя пероксинитрит, который может снижать хемотаксическую активность нейтрофилов и взаимодействие лейкоцита с эндотелием, ретранслирующееся на P-селектин;
- 3) NO способен индуцировать экспрессию гемоксигеназы-1, которая может ухудшить прокатку и адгезию нейтрофилов.

В экспериментальном исследовании на мышах [72], посвященном изучению белков острой фазы с противовоспалительными эффектами, было показано, что

C-реактивный белок, сывороточный амилоид А, AGP (альфа-1-кислый гликопротеин), пентаксин-3 и гемопексин подавляют миграцию/хемотаксис нейтрофилов. По мнению авторов, терапевтическое ингибирование белков острой фазы может улучшить миграцию нейтрофилов и, как следствие, увеличить процент выживаемости септических пациентов.

Хотя нейтрофилы активируются во время SIRS, их чувствительность к хемотаксическому стимулу fMLP уменьшается. Это иллюстрируется уменьшением экспрессии активного Fc $\gamma$ RII (Fc-гамма-рецептор 2) и CD32 на нейтрофилах. Низкая функциональность этого рецептора Fc $\gamma$  на нейтрофилах может быть связана с продукцией незрелых нейтрофилов [73]. Показано [38], что незрелые нейтрофилы демонстрируют более низкую экспрессию антибактериальных рецепторов, таких как CD14 и MD-2 (миелоидный фактор дифференцировки 2), и обладают сниженной способностью к трансмиграции.

Кроме того, сериновые протеазы нейтрофилов, высвобождаемые при дегрануляции, могут опосредовать протеолитическое расщепление рецепторов на иммунных клетках [74]. Нейтрофильные протеазы также могут быть нацелены на рецепторы компонента. Сообщалось [75] о снижении уровня CR1/CD35 и C5aR/CD88 во время воспаления, что может приводить к отказу от взаимодействия нейтрофилов с микроорганизмами.

Таким образом, механизмы, управляющие хемотаксической функцией нейтрофилов при сепсисе, сложны. Совокупность приведенных данных позволяет предположить, что перепроизводство цитокинов, хемокинов и NO является критическим событием, которое может способствовать нарушению миграции нейтрофилов в инфицированный участок, наблюдаемый при летальном сепсисе, который вызван микробными инфекциями.

Имеются доказательства, что кроме непосредственной антимикробной функции нейтрофилы при тяжелом воспалении участвуют в последующей модуляции адаптивных иммунных реакций [76, 77]. Показано, что острое воспаление, включая ожоговую травму и сепсис, сопровождается появлением в кровотоке набора нейтрофилов с различными фенотипами, которых нет в норме [78, 79].

В 2012 г. J. Pillay и соавт. [80], используя метод проточной цитометрии, наблюдали появление разных подтипов нейтрофилов в периферической крови во время экспериментального острого системного воспаления, вызванного системным введением LPS в дозе 2 нг/кг массы тела здоровым добровольцам. Это исследование было основано на определении уровня экспрессии CD16 (Fc $\gamma$ RIII) и CD62L (L-селектин). В ходе него авторами было дифференцировано три разновидности «воспалительных» нейтрофилов: нейтрофилы с обычным сегментированным ядром (CD16bright/CD62Lbright), нейтрофилы с ленточным ядром (CD16dim/CD62Lbright) и нейтрофилы с гипер-

сегментированным ядром (CD16bright/CD62Ldim). Однако о происхождении клеток CD62Ldim известно очень мало. Принято считать, что увеличение сегментации ядер происходит с увеличением клеточного возраста, что не подтверждается экспериментальными данными [78]. В исследованиях, использующих протеомное профилирование и кинетику нейтрофилов *in vivo* после заражения LPS, показано, что гиперсегментированные нейтрофилы имеют такой же возраст, как и нормальные сегментированные клетки, а также одинаковое время для достижения зрелости и поэтому не могут считаться старческими клетками [78, 80]. Таким образом, исследователи пришли к выводу, что гиперсегментированные клетки CD62Ldim не происходят из зрелых нейтрофилов, а могут быть получены отдельным путем [80]. Эти клетки попадают в кровоток только во время воспаления как отдельное подмножество нейтрофилов. Было установлено, что нейтрофилы CD62Ldim имеют иммуносупрессивные свойства и способны ингибировать пролиферацию Т-клеток с помощью механизма, который опирается на продукцию АФК в иммунологическом синапсе [80, 81].

Другим механизмом, с помощью которого гиперсегментированные нейтрофилы могут ингибировать Т-клеточные ответы, служит экспрессия поверхностного белка PD-L1 (лиганд программируемой смерти 1) [82]. INF- $\gamma$  индуцирует экспрессию PD-L1 нейтрофилами, что позволяет им подавлять пролиферацию и индуцировать апоптоз лимфоцитов [34]. Считается, что ось PD-1/PD-L1 является важным механизмом иммунного подавления у септических пациентов. Показано, что блокирование этой оси после индукции сепсиса путем введения PD-1-блокирующего антитела улучшает выживаемость у мышей [83]. На основании этих исследований сделан вывод, что путь PD-1/PD-L1 имеет большой потенциал в качестве новой мишени для лечения сепсиса, но для подтверждения этой гипотезы необходимы еще обширные клинические испытания. Такой супрессивный механизм может быть защитным в тканях с тяжелыми воспалительными инфильтрациями. С другой стороны, этот процесс может быть нежелательным, когда нейтрофилы мигрируют в лимфатические узлы и взаимодействуют с клетками адаптивного иммунитета, как показано в экспериментах на мышцах [84, 85].

Кроме CD62Ldim иммуносупрессивной активностью обладают миелоидные супрессорные клетки (MDSC), которые идентифицированы при разных патологиях, таких как тяжелая ожоговая травма, сепсис или опухоль [24, 86]. Эта популяция MDSC состоит из моноцитарной и гранулоцитарной субпопуляции. Механизм, посредством которого MDSC могут подавлять Т-клетки, включает в себя экспрессию и секрецию аргиназы-1 (она уменьшает концентрацию аргинина в микро среде). Дефицит L-аргинина приводит к остановке клеточного цикла Т-клеток в фазе G0–G1 [87].

Таким образом, тяжелое воспаление и сепсис вызывают многочисленные перекрывающиеся механиз-

мы иммуносупрессии, включающие как врожденный, так и адаптивный иммунитет. Данные, полученные при изучении гетерогенности нейтрофилов, подчеркивают важность определения характеристики фенотипа полиморфноядерных лейкоцитов и его корреляции с термическим повреждением и клиническим исходом.

## Моноциты/макрофаги

Система мононуклеарных фагоцитов является критическим компонентом врожденного иммунного ответа и участвует не только в распознавании и элиминации различных микроорганизмов, но и в модуляции врожденных иммунных реакций посредством выработки про- и противовоспалительных цитокинов [88, 89].

Имеющиеся данные свидетельствуют, что разнообразная биологическая активность макрофагов опосредуется фенотипически различными субпопуляциями клеток, развивающимися в ответ на медиаторы воспаления, с которыми они сталкиваются в своей микро среде [90]. Охарактеризованы две основные популяции: классически активированные макрофаги M1 и альтернативно активированные макрофаги M2 [91, 92]. Макрофаги M1 активируются: 1) цитокинами, такими как INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ ; 2) патоген-ассоциированными молекулярными структурами (PAMPs) после их распознавания; 3) эндогенными сигналами «опасности» (например, белками теплового шока и белком высокой подвижности группы 1 — HMGB1). Эти клетки проявляют мощную антимикробную активность и высвобождают интерлейкины IL-12 и IL-23, стимулируя сильные провоспалительные иммунные ответы Th1. Кроме того, они обладают антипролиферативной и цитотоксической активностью, которая является результатом высвобождения активных форм кислорода, активных форм азота и провоспалительных цитокинов (например, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6). Считается, что популяция M1 способствует макрофагальному повреждению тканей [92, 93].

Активность макрофагов M1 уравнивается макрофагами M2, которые в основном участвуют в подавлении воспаления и иницировании заживления ран [94]. Это достигается путем высвобождения противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4, IL-10 и IL-13. Макрофаги M2 также способствуют разрешению воспаления путем фагоцитирования апоптотических нейтрофилов и синтеза медиаторов, важных для ремоделирования ткани и ангиогенеза, включая трансформирующий фактор роста (TGF- $\beta$ ), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и эпидермальный фактор роста (EGF). Макрофаги M2 поддерживают Th2-ассоциированные эффекторные функции и играют ключевую роль в регуляции функционирования Т-клеток. Из-за их разнообразного функционирования альтернативно активированные макрофаги M2 дополнительно подразделены на субпопуляции, называемые M2a (активированные IL-4 и IL-13), M2b (активируются иммунными комплексами в комбинации с IL-1 $\beta$

или LPS) и M2c (активируются IL-10, TGF- $\beta$  или глюкокортикоидами) [95–98].

Следует отметить, что разделение макрофагов на два поляризованных состояния упрощает сложную функциональную активность этих клеток [99]. Активация макрофагов на самом деле является динамическим процессом: одни и те же клетки могут первоначально участвовать в провоспалительных и цитотоксических реакциях, а затем — в разрешении воспаления и заживлении ран. Это иллюстрирует пластичность макрофагов и их способность модулировать свои реакции вследствие изменения микросреды [100, 101].

Показано, что после термического повреждения отмечается гиперактивность макрофагов с повышенной продукцией медиаторов, таких как TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1. Однако во время противовоспалительной фазы или сепсиса дисфункция макрофагов является ключевым элементом глобальной иммуносупрессии после ожогов [95].

М. Kobayashi с соавт. [102], используя метод иммуноферментного анализа (ELISA), провели исследование периферической крови у тяжелообожженных пациентов для определения продукции цитокинов макрофагами различных фенотипов. Образцы периферической крови получены в течение двух дней после поступления в больницу, что соответствует 1–4-му дням после ожоговой травмы. Культуральные жидкости авторы проанализировали на наличие IL-10, IL-12, CCL1 (биомаркер моноцитов M2b), CCL17 (биомаркер моноцитов M2a), CXCL13 (биомаркер моноцитов M2c) и CCL2 (биомаркер нейтрофилов).

На первом этапе этого исследования были изучены свойства моноцитов, выделенных из периферической крови сильнообожженных пациентов. После стимуляции стафилококковым антигеном или без него моноциты периферической крови не продуцировали IL-12, а IL-10 обнаружен во всех культурах ожоговых моноцитов пациентов. Напротив, IL-10 не выявлен в культурах здоровых донорских моноцитов. После стимуляции стафилококковым антигеном IL-12 продуцировался всеми моноцитами, выделенными от здоровых доноров. Это, по мнению авторов, указывает на то, что сильно обожженные пациенты являются носителями M2-моноцитов. Кроме того, установлено, что лизаты моноцитов пациентов с ожогами, в отличие от лизатов клеток здоровых донорских моноцитов, содержали аргиназу. Однако уже хорошо известно, что моноциты M2 продуцируют аргиназу [103].

На следующем этапе исследования обнаружено, что большинство моноцитов популяции M2 являются моноцитами M2b. Авторы предположили, что CCL2, постоянно присутствующий в сыворотке пациентов с ожогами и, возможно, продуцируемый ассоциированными с ожогами нейтрофилами, является причиной того, что моноциты M2b преобладают у пациентов с тяжелыми ожогами благодаря его способности стиму-

лировать превращение резидентных моноцитов в моноциты M2b.

Известно, что макрофаги M2b обладают плохой пластичностью и наблюдаются у сильно обгоревших пациентов в течение длительного времени. При этом, пока они присутствуют, антибактериальная защита пациента существенно подавлена. Следовательно, лица, являющиеся носителями макрофагов M2b, в значительной степени подвержены различным оппортунистическим инфекциям [104], что было подтверждено на экспериментальной модели у мышей с ожогами 25% общей площади поверхности тела [105].

Таким образом, макрофаги M2b могут служить эффективной терапевтической мишенью для контроля оппортунистических инфекций у пациентов с ожоговой травмой, но для доказательства требуются дальнейшие исследования.

## Заключение

Сепсис и септический шок представляют собой неотложные состояния, которые часто возникают при лечении ожоговых пациентов. Диагноз сепсиса после тяжелой ожоговой травмы сложен из-за совпадения его признаков и клинических проявлений системного воспалительного ответа. В этих условиях важно клинически идентифицировать пациентов с общей инфекцией, чтобы начать своевременную антибиотикотерапию.

В настоящее время на основе анализа параметров неспецифической резистентности проводится большое количество исследований по поиску эффективных диагностических критериев наличия и/или развития осложнений, угрожающих жизни ожоговых пациентов. Это направление в современной клинической комбустиологии является перспективным и динамично развивается.

**Вклад авторов.** Все авторы принимали равное участие в написании статьи.

**Финансирование исследования.** Работа не финансировалась какими-либо источниками.

**Конфликт интересов** отсутствует.

## Литература/References

1. Ruiz-Castilla M., Roca O., Masclans J.R., Barret J.P. Recent advances in biomarkers in severe burns. *Shock* 2016; 45(2): 117–125, <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000497>.
2. Карякин Н.Н., Клеменова И.А. Технологии лечения ожогов в условиях влажной среды. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2015; 9(3): 495–499.
3. Karyakin N.N., Klemenova I.A. Burn wound treatment in moist environment. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy* 2015; 9(3): 495–499.
4. Abdullahi A., Chen P., Stanojic M., Sadri A.R., Coburn N., Jeschke M.G. IL-6 signal from the bone marrow is required for the browning of white adipose tissue post

- burn injury. *Shock* 2017; 47(1): 33–39, <https://doi.org/10.1097/shk.0000000000000749>.
4. Auger C., Samadi O., Jeschke M.G. The biochemical alterations underlying post-burn hypermetabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2017; 1863(10 Pt B): 2633–2644, <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.02.019>.
5. Wang T., Nie C., Zhang H., Zeng X.Q., Yu H.T., Shi S.P., Wei Z.R., Shi X.Q. Epidemiological characteristics and disease burden of burns in children in Northern Guizhou, China. *Chin Med J (Engl)* 2018; 131(17): 2125–2127, <https://doi.org/10.4103/0366-6999.239312>.
6. Моррисон В.В., Божедомов А.Ю., Симонян М.А., Моррисон А.В. Системный воспалительный ответ и цитокиновый профиль в динамике развития ожоговой болезни. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2017; 13(2): 229–232.
- Morrison V.V., Bozhedomov A.Yu., Simonyan M.A., Morrison A.V. Systemic inflammatory response and cytokine profile at burn injury in dynamics. *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal* 2017; 13(2): 229–232.
7. Muñoz B., Suárez-Sánchez R., Hernández-Hernández O., Franco-Cendejas R., Cortés H., Magaña J.J. From traditional biochemical signals to molecular markers for detection of sepsis after burn injuries. *Burns* 2019; 45(1): 16–31, <https://doi.org/10.1016/j.burns.2018.04.016>.
8. Жилинский Е.В. Прогнозирование сепсиса при ожоговой болезни. *Политравма* 2017; 2: 50–56.
- Zhylynski Y.V. Prognosis of sepsis in severe burn patients. *Polytrauma* 2017; 2: 50–56.
9. Greenhalgh D.G. Sepsis in the burn patient: a different problem than sepsis in the general population. *Burns Trauma* 2017; 5: 23, <https://doi.org/10.1186/s41038-017-0089-5>.
10. Nunez Lopez O., Cambiaso-Daniel J., Branski L.K., Norbury W.B., Herndon D.N. Predicting and managing sepsis in burn patients: current perspectives. *Ther Clin Risk Manag* 2017; 13: 1107–1117, <https://doi.org/10.2147/TCRM.S119938>.
11. Fuss J., Voloboyeva A., Poliovyj V. Prognostic value of using neutrophil-lymphocyte ratio in patients with burn injury for the diagnosis of sepsis and bacteraemia. *Pol Przegl Chir* 2018; 90(5): 13–16, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.0971>.
12. Faix J.D. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013; 50(1): 23–36, <https://doi.org/10.3109/10408363.2013.764490>.
13. Freystätter C., Radtke C., Ihra G., Thalhammer F., Fochtmann-Frana A. Sepsis caused by multidrug-resistant klebsiella pneumoniae infection in a 23-year-old burn patient: case report and literature review. *Ann Burns Fire Disasters* 2018; 31(2): 113–117.
14. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* 2014; 9: 181–218, <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-020712-164023>.
15. Teng T.S., Ji A.L., Ji X.Y., Li Y.Z. Neutrophils and immunity: from bactericidal action to being conquered. *J Immunol Res* 2017; 9671604, <https://doi.org/10.1155/2017/9671604>.
16. Voisin M.B., Nourshargh S. Neutrophil transmigration: emergence of an adhesive cascade within venular walls. *J Innate Immun* 2013; 5(4): 336–347, <https://doi.org/10.1159/000346659>.
17. Fiedler K., Brunner C. The role of transcription factors in the guidance of granulopoiesis. *Am J Blood Res* 2012; 2(1): 57–65.
18. Tecchio C., Cassatella M.A. Neutrophil-derived chemokines on the road to immunity. *Semin Immunol* 2016; 28(2): 119–128, <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.04.003>.
19. Greenlee-Wacker M.C. Clearance of apoptotic neutrophils and resolution of inflammation. *Immunol Rev* 2016; 273(1): 357–370, <https://doi.org/10.1111/imr.12453>.
20. Chen F., Wu W., Millman A., Craft J.F., Chen E., Patel N., Boucher J.L., Urban J.F. Jr., Kim C.C., Gause W.C. Neutrophils prime a long-lived effector macrophage phenotype that mediates accelerated helminth expulsion. *Nat Immunol* 2014; 15(10): 938–946, <https://doi.org/10.1038/ni.2984>.
21. Ericson J.A., Duffau P., Yasuda K., Ortiz-Lopez A., Rothamel K., Rifkin I.R., Monach P.A.; ImmGen Consortium. Gene expression during the generation and activation of mouse neutrophils: implication of novel functional and regulatory pathways. *PLoS One* 2014; 9(10): e108553, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108553>.
22. Manz M.G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(5): 302–314, <https://doi.org/10.1038/nri3660>.
23. Белобородова Н.В., Мороз В.В., Бедова А.Ю., Осипов А.А., Саршор Ю.Н., Черневская Е.А. Участие ароматических микробных метаболитов в развитии тяжелой инфекции и сепсиса. *Анестезиология и реаниматология* 2016; 61(3): 202–208.
- Beloborodova N.V., Moroz V.V., Bedova A.Yu., Osipov A.A., Sarshor Yu.N., Chernevskaya E.A. Participation of aromatic microbial metabolites in the development of severe infection and sepsis. *Anesteziologiya i reanimatologiya* 2016; 61(3): 202–208.
24. 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>.
25. Kim M.H., Yang D., Kim M., Kim S.Y., Kim D., Kang S.J. A late-lineage murine neutrophil precursor population exhibits dynamic changes during demand-adapted granulopoiesis. *Sci Rep* 2017; 7: 39804, <https://doi.org/10.1038/srep39804>.
26. Dinsdale R.J. *Production and impaired regulation of neutrophil extracellular traps following severe thermal injury, implications for sepsis and multiple organ failure*. University of Birmingham Research Archive; 2017. URL: <http://etheses.bham.ac.uk/7958/1/Dinsdale17PhD.pdf>.
27. Strydom N., Rankin S.M. Regulation of circulating neutrophil numbers under homeostasis and in disease. *J Innate Immun* 2013; 5(4): 304–314, <https://doi.org/10.1159/000350282>.
28. Rosales C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front Physiol* 2018; 9: 113, <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>.
29. McDermott D.H., Liu Q., Ulrick J., Kwatemaa N., Anaya-O'Brien S., Penzak S.R., Filho J.O., Priel D.A., Kelly C., Garofalo M., Littel P., Marquesen M.M., Hilligoss D., Decastro R., Fleisher T.A., Kuhns D.B., Malech H.L., Murphy P.M. The CXCR4 antagonist plerixafor corrects panleukopenia in patients with WHIM syndrome. *Blood* 2011; 118(18): 4957–4962, <https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-368084>.
30. Lerman Y.V., Kim M. Neutrophil migration under normal and sepsis conditions. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2015; 15(1): 19–28, <https://doi.org/10.2174/1871529x15666150108113236>.
31. Bohannon J.K., Luan L., Hernandez A., Afzal A., Guo Y., Patil N.K., Fensterheim B., Sherwood E.R. Role of G-CSF in monophosphoryl lipid A-mediated augmentation of neutrophil



functions after burn injury. *J Leukoc Biol* 2015; 99(4): 629–640, <https://doi.org/10.1189/jlb.4A0815-362R>.

32. Shen X.F., Cao K., Jiang J.P., Guan W.X., Du J.F. Neutrophil dysregulation during sepsis: an overview and update. *J Cell Mol Med* 2017; 21(9): 1687–1697, <https://doi.org/10.1111/jcmm.13112>.

33. Delano M.J., Ward P.A. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality? *J Clin Invest* 2016; 126(1): 23–31, <https://doi.org/10.1172/JCI82224>.

34. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(12): 862–874, <https://doi.org/10.1038/nri3552>.

35. Guerin E., Orabona M., Raquil M.A., Giraudeau B., Bellier R., Gibot S., Béné M.C., Lacombe F., Droin N., Solary E., Vignon P., Feuillard J., François B. Circulating immature granulocytes with T-cell killing functions predict sepsis deterioration. *Crit Care Med* 2014; 42(9): 2007–2018, <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000000344>.

36. Nierhaus A., Klatt S., Linssen J., Eismann N.M., Wichmann D., Hedke J., Braune S.A., 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>.

37. Hampson P., Dinsdale R.J., Wearn C.M., Bamford A.L., Bishop J.R.B., Hazeldine J., Moiem N.S., Harrison P., Lord J.M. Neutrophil dysfunction, immature granulocytes, and cell-free DNA are early biomarkers of sepsis in burn-injured patients: a prospective observational cohort study. *Ann Surg* 2017; 265(6): 1241–1249, <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001807>.

38. Drifte G., Dunn-Siegrist I., Tissieres P., Pugin J. Innate immune functions of immature neutrophils in patients with sepsis and severe systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2013; 41(3): 820–832, <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318274647d>.

39. Галкин А.А., Демидова В.С. Повреждение защитных функций нейтрофилов на ранней стадии ожоговой болезни. *Успехи современной биологии* 2012; 132(3): 297–311.

Galkin A.A., Demidova V.S. Damage of protection functions of neutrophils at the early stage of burns. *Uspehi sovremennoj biologii* 2012; 132(3): 297–311.

40. Kasperkiewicz P., Poreba M., Snipas S.J., Lin S.J., Kirchhofer D., Salvesen G.S., Drag M. Design of a selective substrate and activity based probe for human neutrophil serine protease 4. *PLoS One* 2015; 10(7): e0132818, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132818>.

41. Stapels D.A., Geisbrecht B.V., Rooijackers S.H. Neutrophil serine proteases in antibacterial defense. *Curr Opin Microbiol* 2015; 23: 42–48, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.11.002>.

42. Martin L., van Meegern A., Doemming S., Schuerholz T. Antimicrobial peptides in human sepsis. *Front Immunol* 2015; 6: 404, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00404>.

43. Clark H.L., Jhingran A., Sun Y., Vareechon C., de Jesus Carrion S., Skaar E.P., Chazin W.J., Calera J.A., Hohl T.M., Pearlman E. Zinc and manganese chelation by neutrophil S100A8/A9 (Calprotectin) limits extracellular aspergillus fumigatus hyphal growth and corneal infection. *J Immunol* 2016; 196(1): 336–344, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502037>.

44. Embleton N.D., Berrington J.E., McGuire W., Stewart C.J., Cummings S.P. Lactoferrin: antimicrobial activity

and therapeutic potential. *Semin Fetal Neonatal Med* 2013; 18(3): 143–149, <https://doi.org/10.1016/j.siny.2013.02.001>.

45. Mayeur S., Spahis S., Pouliot Y., Levy E. Lactoferrin, a pleiotropic protein in health and disease. *Antioxid Redox Signal* 2016; 24(14): 813–836, <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6458>.

46. Mahlapuu M., Håkansson J., Ringstad L., Björn C. Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Front Cell Infect Microbiol* 2016; 6: 194, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00194>.

47. Qiao J., Liu Z., Purro M., Xiong M.P. Antibacterial and potentiation properties of charge-optimized polyrotaxanes for combating opportunistic bacteria. *J Mater Chem B* 2018; 6(33): 5353–5361, <https://doi.org/10.1039/C8TB01610K>.

48. Santajit S., Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed Res Int* 2016; 2475067, <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.

49. Pfalzgraff A., Brandenburg K., Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. *Front Pharmacol* 2018; 9: 281, <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00281>.

50. Azzopardi E.A., Azzopardi E., Camilleri L., Villapalos J., Boyce D.E., Dziewulski P., Dickson W.A., Whitaker I.S. Gram negative wound infection in hospitalised adult burn patients—systematic review and metanalysis. *PLoS One* 2014; 9(4): e95042, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095042>.

51. Selders G.S., Fetz A.E., Radic M.Z., Bowlin G.L. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regen Biomater* 2017; 4(1): 55–68, <https://doi.org/10.1093/rb/rbw041>.

52. Zawrotniak M., Rapala-Kozik M. Neutrophil extracellular traps (NETs) — formation and implications. *Acta Biochim Po* 2013; 60(3): 277–284.

53. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood* 2013; 122(16): 2784–2794, <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-457671>.

54. Li Y., Liu B., Fukudome E.Y., Lu J., Chong W., Jin G., Liu Z., Velmahos G.C., Demoya M., King D.R., Alam H.B. Identification of citrullinated histone H3 as a potential serum protein biomarker in a lethal model of lipopolysaccharide-induced shock. *Surgery* 2011; 150(3): 442–451, <https://doi.org/10.1016/j.surg.2011.07.003>.

55. Remijsen Q., Kuijpers T.W., Wirawan E., Lippens S., Vandenabeele P., Vanden Berghe T. Dying for a cause: NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality. *Cell Death Differ* 2011; 18(4): 581–588, <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.1>.

56. Dwivedi D.J., Totli L.J., Swystun L.L., Pogue J., Liaw K.L., Weitz J.I., Cook D.J., Fox-Robichaud A.E., Liaw P.C.; Canadian Critical Care Translational Biology Group. Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2012; 16(4): R151, <https://doi.org/10.1186/cc11466>.

57. Hirose T., Hamaguchi S., Matsumoto N., Irisawa T., Seki M., Tasaki O., Hosotsubo H., Yamamoto N., Yamamoto K., Akeda Y., Oishi K., Tomono K., Shimazu T. Presence of neutrophil extracellular traps and citrullinated histone H3 in the bloodstream of critically ill patients. *PLoS One* 2014; 9(11): e111755, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111755>.

58. De Backer D., Orbegozo Cortes D., Donadello K., Vincent J.L. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence* 2014; 5(1): 73–79, <https://doi.org/10.4161/viru.26482>.

59. Kovach M.A., Standiford T.J. The function of neutrophils in sepsis. *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25(3): 321–327, <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283528c9b>.
60. Wang X., Qin W., Sun B. New strategy for sepsis: targeting a key role of platelet-neutrophil interaction. *Burns Trauma* 2014; 2(3): 114–120, <https://doi.org/10.4103/2321-3868.135487>.
61. Hietbrink F., Koenderman L., Althuisen M., Pillay J., Kamp V., Leenen L.P. Kinetics of the innate immune response after trauma: implications for the development of late onset sepsis. *Shock* 2013; 40(1): 21–27, <https://doi.org/10.1097/shk.0b013e318295a40a>.
62. Osterbur K., Mann F.A., Kuroki K., DeClue A. Multiple organ dysfunction syndrome in humans and animals. *J Vet Intern Med* 2014; 28(4): 1141–1151, <https://doi.org/10.1111/jvim.12364>.
63. Yago T., Liu Z., Ahamed J., McEver R.P. Cooperative PSGL-1 and CXCR2 signaling in neutrophils promotes deep vein thrombosis in mice. *Blood* 2018; 132(13): 1426–1437, <https://doi.org/10.1182/blood-2018-05-850859>.
64. Rahman M., Zhang S., Chew M., Syk I., Jeppsson B., Thorlacius H. Platelet shedding of CD40L is regulated by matrix metalloproteinase-9 in abdominal sepsis. *J Thromb Haemost* 2013; 11(7): 1385–98, <https://doi.org/10.1111/jth.12273>.
65. Kaplan M.J., Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. *J Immunol* 2012; 189(6): 2689–2695, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201719>.
66. McDonald B., Urrutia R., Yipp B.G., Jenne C.N., Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from the bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe* 2012; 12(3): 324–333, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.06.011>.
67. Derive M., Bouazza Y., Sennoun N., Marchionni S., Quigley L., Washington V., Massin F., Max J.P., Ford J., Alauzet C., Levy B., McVicar D.W., Gibot S. Soluble TREM-like transcript-1 regulates leukocyte activation and controls microbial sepsis. *J Immunol* 2012; 188(11): 5585–5592, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102674>.
68. Butler K.L., Ambravaneswaran V., Agrawal N., Bilodeau M., Toner M., Tompkins R.G., Fagan S., Irimia D. Burn injury reduces neutrophil directional migration speed in microfluidic devices. *PLoS One* 2010; 5(7): e11921, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011921>.
69. Jones C.N., Moore M., Dimisko L., Alexander A., Ibrahim A., Hassell B.A., Warren H.S., Tompkins R.G., Fagan S.P., Irimia D. Spontaneous neutrophil migration patterns during sepsis after major burns. *PLoS One* 2014; 9(12): e114509, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114509>.
70. Ellett F., Jorgensen J., Marand A.L., Liu Y.M., Martinez M.M., Sein V., Butler K.L., Lee J., Irimia D. Diagnosis of sepsis from a drop of blood by measurement of spontaneous neutrophil motility in a microfluidic assay. *Nat Biomed Eng* 2018; 2(4): 207–214, <https://doi.org/10.1038/s41551-018-0208-z>.
71. Zhang F., Liu A.L., Gao S., Ma S., Guo S.B. Neutrophil dysfunction in sepsis. *Chin Med J* 2016; 129(22): 2741–2744, <https://doi.org/10.4103/0366-6999.193447>.
72. Spiller F., Costa C., Souto F.O., Vinchi F., Mestriner F.L., Laure H.J., Alves-Filho J.C., Freitas A., Rosa J.C., Ferreira S.H., Altruda F., Hirsch E., Greene L.J., Tolosano E., Cunha F. Inhibition of neutrophil migration by hemopexin leads to increased mortality due to sepsis in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183(7): 922–931, <https://doi.org/10.1164/rccm.201002-0223OC>.
73. Bzowska M., Hamczyk M., Skalniak A., Guzik K. Rapid decrease of CD16 (Fc $\gamma$ RIII) expression on heat-shocked neutrophils and their recognition by macrophages. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 284759, <https://doi.org/10.1155/2011/284759>.
74. Adams M.N., Ramachandran R., Yau M.K., Suen J.Y., Fairlie D.P., Hollenberg M.D., Hooper J.D. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors. *Pharmacol Ther* 2011; 130(3): 248–282, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.003>.
75. van den Berg C.W., Tambourgi D.V., Clark H.W., Hoong S.J., Spiller O.B., McGreal E.P. Mechanism of neutrophil dysfunction: neutrophil serine proteases cleave and inactivate the C5a receptor. *J Immunol* 2014; 192(4): 1787–1795, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301920>.
76. Goh C., Narayanan S., Hahn Y.S. Myeloid-derived suppressor cells: the dark knight or the joker in viral infections? *Immunol Rev* 2013; 255(1): 210–221, <https://doi.org/10.1111/imr.12084>.
77. Liefeld P.H., Wessels C.M., Leenen L.P., Koenderman L., Pillay J. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation. *Crit Care* 2016; 20: 73, <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1250-4>.
78. Tak T., Wijten P., Heeres M., Pickkers P., Scholten A., Heck A.J.R., Vrisekoop N., Leenen L.P., Borghans J.A.M., Tesselaar K., Koenderman L. Human CD62Ldim neutrophils identified as a separate subset by proteome profiling and in vivo pulse-chase labeling. *Blood* 2017; 129(26): 3476–3485, <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-727669>.
79. Visser T., Pillay J., Pickkers P., Leenen L.P., Koenderman L. Homology in systemic neutrophil response induced by human experimental endotoxemia and by trauma. *Shock* 2012; 37(2): 145–151, <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e31823f14a4>.
80. Pillay J., Kamp V.M., van Hoffen E., Visser T., Tak T., Lammers J.W., Ulfman L.H., Leenen L.P., 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>.
81. Kamp V.M., Pillay J., Lammers J.W., Pickkers P., Ulfman L.H., Koenderman L. Human suppressive neutrophils CD16bright/CD62Ldim exhibit decreased adhesion. *J Leukoc Biol* 2012; 92(5): 1011–1020, <https://doi.org/10.1189/jlb.0612273>.
82. de Kleijn S., Langereis J.D., Leentjens J., Kox M., Netea M.G., Koenderman L., Ferwerda G., Pickkers P., Hermans P.W. IFN- $\gamma$ -stimulated neutrophils suppress lymphocyte proliferation through expression of PD-L1. *PLoS One* 2013; 8(8): e72249, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072249>.
83. Liu Q., Li C.S. Programmed cell death-1/programmed death-ligand 1 pathway: a new target for sepsis. *Chin Med J* 2017; 130(8): 986–992, <https://doi.org/10.4103/0366-6999.204113>.
84. Hampton H.R., Bailey J., Tomura M., Brink R., Chtanova T. Microbe-dependent lymphatic migration of neutrophils modulates lymphocyte proliferation in lymph nodes. *Nat Commun* 2015; 6: 7139, <https://doi.org/10.1038/ncomms8139>.
85. Kamenyeva O., Boullaran C., Kabat J., Cheung G.Y., Cicala C., Yeh A.J., Chan J.L., Periasamy S., Otto M., Kehrl J.H. Neutrophil recruitment to lymph nodes limits local humoral response to *Staphylococcus aureus*. *PLoS Pathog*

2015; 11(4): e1004827, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004827>.

86. Gabrilovich D.I., Ostrand-Rosenberg S., Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(4): 253–268, <https://doi.org/10.1038/nri3175>.

87. Darcy C.J., Minigo G., Piera K.A., Davis J.S., McNeil Y.R., Chen Y., Volkheimer A.D., Weinberg J.B., Anstey N.M., Woodberry T. Neutrophils with myeloid derived suppressor function deplete arginine and constrain T cell function in septic shock patients. *Crit Care* 2014; 8(4): R163, <https://doi.org/10.1186/cc14003>.

88. Xiu F., Jeschke M.G. Perturbed mononuclear phagocyte system in severely burned and septic patients. *Shock* 2013; 40(2): 81–88, <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318299f774>.

89. Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(11): 723–37, <https://doi.org/10.1038/nri3073>.

90. Ito I., Asai A., Suzuki S., Kobayashi M., Suzuki F. M2b macrophage polarization accompanied with reduction of long noncoding RNA GAS5. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 493(1): 170–175, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.09.053>.

91. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* 2012; 122(3): 787–795, <https://doi.org/10.1172/JCI59643>.

92. Krzyszczyk P., Schloss R., Palmer A., Berthiaume F. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. *Front Physiol* 2018; 9: 419, <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00419>.

93. Porta C., Riboldi E., Ippolito A., Sica A. Molecular and epigenetic basis of macrophage polarized activation. *Semin Immunol* 2015; 27: 237–248, <https://doi.org/10.1016/j.smim.2015.10.003>.

94. Lateef Z., Stuart G., Jones N., Mercer A., Fleming S., Wise L. The cutaneous inflammatory response to thermal burn injury in a murine model. *Int J Mol Sci* 2019; 20(3): E538, <https://doi.org/10.3390/ijms20030538>.

95. Laskin D.L., Sunil V.R., Gardner C.R., Laskin J.D. Macrophages and tissue injury: agents of defense or destruction? *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2011; 51: 267–288, <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105812>.

96. Kobayashi M., Toliver-Kinsky T., Suzuki F. Host defense antibacterial effector cells influenced by massive burns.

In: *Total burn care*. Elsevier; 2018; p. 221–231, <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-47661-4.00020-4>.

97. Hume D.A. The many alternative faces of macrophage activation. *Front Immunol* 2015; 6: 370, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00370>.

98. Wang L.X., Zhang S.X., Wu H.J., Rong X.L., Guo J. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. *J Leukoc Biol* 2019; 106(2): 345–358, <https://doi.org/10.1002/JLB.3RU1018-378RR>.

99. Лямина С.В., Малышев И.Ю. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа. *Фундаментальные исследования* 2014; 10–5: 930–935.

Lyamina S.V., Malyshev I.Y. Macrophage polarization in the modern concept of immune response development. *Fundamental'nye issledovaniya* 2014; 10–5: 930–935.

100. Martinez F.O., Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep* 2014; 6: 13, <https://doi.org/10.12703/P6-13>.

101. Ogle M.E., Segar C.E., Sridhar S., Botchwey E.A. Monocytes and macrophages in tissue repair: implications for immunoregenerative biomaterial design. *Exp Biol Med (Maywood)* 2016; 241(10): 1084–1097, <https://doi.org/10.1177/1535370216650293>.

102. Kobayashi M., Jeschke M.G., Shigematsu K., Asai A., Yoshida S., Herndon D.N., Suzuki F. M2b monocytes predominated in peripheral blood of severely burned patients. *J Immunol* 2010; 185(12): 7174–7179, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903935>.

103. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами. *Гены и клетки* 2016; 11(1): 9–17.

Sarbaeva N.N., Ponomareva J.V., Milyakova M.N. Macrophages: diversity of phenotypes and functions, interaction with foreign materials. *Geny i клетки* 2016; 11(1): 9–17.

104. Ito I., Bhopale K.K., Nishiguchi T., Lee J.O., Herndon D.N., Suzuki S., Sowers L.C., Suzuki F., Kobayashi M. The polarization of M2b monocytes in cultures of burn patient peripheral CD14+ cells treated with a selected human CCL1 antisense oligodeoxynucleotide. *Nucleic Acid Ther* 2016; 26(5): 269–276, <https://doi.org/10.1089/nat.2016.0617>.

105. Nishiguchi T., Ito I., Lee J.O., Suzuki S., Suzuki F., Kobayashi M. Macrophage polarization and MRSA infection in burned mice. *Immunol Cell Biol* 2017; 95(2): 198–206, <https://doi.org/10.1038/icb.2016.84>.