

УДК 616-001.17-08:615.322.035.4-092.6

ОСОБЕННОСТИ РЕСТРУКТУРИЗАЦИИ ХРОМАТИНА И АКТИВАЦИИ ЯДЕР НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В ПРОЦЕССЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ НР-АССОЦИИРОВАННОГО ГАСТРИТА, АССОЦИИРОВАННОГО С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

²Евглевский А.А., ¹Нестерова И.В., ²Фомичева Е.В.¹Российский университет дружбы народов, Москва;²Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, e-mail: evglandr@mail.ru

Методом топологического исследования реструктуризации хроматина нейтрофильных гранулоцитов (НГ) здоровых людей и больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) в условиях хирургического лечения установлена адекватная динамика их активационного потенциала. Исследование ядер НГ лиц контрольной группы показало, что величина оптической анизотропии хроматина их ядер составляет в среднем $2,65 \pm 0,11$. При этом показатель активации нейтрофилов (ПАН) составил $1,35 \pm 0,11$. У больных ЯБДК, осложненной стенозом, до планового оперативного вмешательства величина анизотропии ядер НГ колебалась от 2,09 до 2,4, составляя в среднем $2,2 \pm 0,007$, что на 17% было ниже, чем в ядрах аналогичных клеток лиц контрольной группы ($P < 0,01$). При этом величина ПАН составила $1,8 \pm 0,007$. Через 1 месяц после операции ядра НГ больных ЯБДК обнаружили усиление эффекта анизотропии по сравнению с предыдущим сроком исследования, уровень которого составил в среднем $2,35 \pm 0,006$, при этом показатель ПАН соответственно снизился до $1,65 \pm 0,006$. Увеличение уровня анизотропии ядер НГ на 7% превысило уровень, характерный для лиц, обследованных до оперативного вмешательства ($P < 0,05$), однако величины контроля не достигло и составляло 88,7% его уровня. ($P < 0,001$). По нашему мнению, остающаяся повышенной, по сравнению с контролем, активационная готовность хроматина ядер НГ указывает на то, что оперативное лечение в комплексе с другими традиционными методами лечения ЯБДК, имея положительный эффект, не устраняет патогенетических причин данного заболевания.

Ключевые слова: реструктуризация хроматина, нейтрофильные гранулоциты, язвенная болезнь

FEATURES OF RESTRUCTURING OF CHROMATIN AND ACTIVATION OF KERNELS OF NEUTROPHILY GRANULOCYTES IN THE COURSE OF SURGICAL TREATMENT OF HP-ASSOCIATED OF GASTRITIS, ASSOCIATED WITH ULCER OF THE DUODENUM

²Evglevskiy A.A., ¹Nesterova I.V., ²Fomicheva E.V.¹Russian university of friendship of the people, Moscow;²Kuban state medical university, Krasnodar, e-mail: evglandr@mail.ru

The method of the study of the topological restructuring of the chromatin of neutrophil granulocytes (NG) healthy people and patients with duodenal ulcer (DU) in the surgical treatment of conditions set adequate dynamics of their potential activation. The study of nuclei NG control group showed that the magnitude of the optical anisotropy of nuclear chromatin is averaging $2,65 \pm 0,11$. The indicator of the activation of neutrophils (PAN) was $1,35 \pm 0,11$. In patients with DU, complicated stenosis before elective surgery, the anisotropy of nuclear NG ranged from 2,09 to 2,4, averaging $2,2 \pm 0,007$, an increase of 17% was lower than in the nuclei of cells of similar control group ($P < 0,01$). The value of PAN was $1,8 \pm 0,007$. After 1 month after surgery, patients nucleus NG DU found gain anisotropy effect from the previous investigation period, the level of which averaged $2,35 \pm 0,006$ while the PAN component respectively decreased to $1,65 \pm 0,006$. The increase in core anisotropy NY 7% higher than typical for individuals surveyed before surgery ($P < 0,05$), but the value of the control is not reached and was 88,7% of its level. ($P < 0,001$). In our opinion, remaining elevated compared with the control, the activation of nuclei chromatin readiness NG indicates that surgical treatment in combination with other conventional treatments DU having a positive effect, does not eliminate the causes of the disease pathogenesis

Keywords: restructuring of a chromatin, neutrophil granulocytes, ulcer of duodenum

В последние годы получены объективные доказательства того, что патология иммунной системы играет большую роль в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта. В патогенезе такого распространенного заболевания, как язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ДПК), в полной мере проявляется дисфункция иммунной системы [1]. Несмотря на то, что

в литературе накоплен обширный материал о разнообразии изменений в различных звеньях иммунитета, особенности функционирования системы нейтрофильных гранулоцитов (НГ) при язвенной болезни остаются малоизученными, работ такого плана явно недостаточно, а имеющиеся публикации немногочисленны, разрозненны и не исчерпывают проблемы.

По современным представлениям нейтрофильные гранулоциты (НГ) – уникальная мультипотентная популяция клеток иммунной системы, относящаяся к врожденному иммунитету, обладающая при этом другими очень важными функциональными возможностями, позволяющими активировать, регулировать адаптивный иммунитет и способствовать его полноценной реализации [8]. Существует устаревшее широко распространенное, но неправильное мнение о том, что это короткоживущие, конечно дифференцированные клетки с конденсированным ядром и, следовательно, не способные к экспрессии генов в ответ на индукцию. Однако рядом авторов показано, что НГ способны к транскрипционно-зависимому синтезу белка теплового шока [13], к экспрессии РНК-кодированных фагоцитарных рецепторов [16], к модулированию синтеза РНК в ответ на воздействие глюкокортикоидов или лектина [12]. НГ могут повышать экспрессию генов, вовлекаемых в реализацию фагоцитарной функции, таких как гены, кодирующие *gp91phox* и *p22phox* – компоненты фагоцитарного цитохрома В [21]. НГ не только могут отвечать на воздействие провоспалительных цитокинов ($\text{TNF}\alpha$, G-CSF , $\text{IFN}\gamma$) дифференцировкой – экспрессией рецепторов, присущих АПК, например CD83 [17], но и могут становиться участниками формирования «цитокиновой сети» посредством секреции провоспалительных ($\text{IL-1}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, G-CSF , $\text{IFN}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$ и т. д.) и противовоспалительных (IL4 , IL-10 , IL-1Ra и т. д.) цитокинов, регулируя при этом экспрессию генов [20, 21]. Стимуляция НГ бактериальным ЛПС индуцирует в НГ синтез как про-, так и противовоспалительных цитокинов [20]. В то же время показана взаимосвязь между изменением структуры хроматина и генной регуляцией в иммунной системе [22]. Показано, что изменения структуры хроматина являются регуляторным механизмом, управляющим транскрипцией генов цитокинов [19]. Существуют доказательства в модификации гистонов и ремоделирования хроматина при бактериальной инфекции [15]. Вместе с тем Zhang X. et al. [23] изучили изменения генной экспрессии и структуры хроматина в активированных НГ. НГ стимулировали опсонизированной *E. coli* и хемоаттрактантом пептидом формил-мет-лей-фен. Результаты показали изменения уровня транскриптов 148 транскрипционных факторов и хроматин-ремодулирующих генов и 95 регуляторов белкового синтеза. Было показано также, что сочетанная транскрипционная регуляция, включающая изменения структуры хро-

матина, может играть определенную роль в быстрых изменениях генной экспрессии, которые возникают в НГ [23]. В то же время глобальные изменения в генной экспрессии НГ, возникающие во время рецептор-медицированного фагоцитоза, могут влиять на судьбу клеток, позитивно или негативно регулируя процессы апоптоза, а следовательно, влиять на интенсивность и исход бактериального воспаления [18]. Показано, что основную роль в изменении топологического состояния ДНК играют ферменты-топоизомеразы. Исследования топоизомераз выявили большое разнообразие этих ферментов в про- и эукариотических клетках. Была установлена биологическая функция ферментов разных типов, а также аналогии и различия в их структурах и механизмах действия. Анализ топоизомераз с помощью различных методов (включая стационарную и быструю кинетику, сайт-направленный мутагенез и т.д.) позволил установить роль отдельных аминокислот как непосредственно в катализе реакций, так и в кооперативных взаимодействиях между различными доменами [24]. Существующие в настоящее время современные методы исследования экспрессии генов и изменений структурной упорядоченности хроматина являются достаточно сложными, требуют дорогостоящего оборудования и, к сожалению, малодоступны для применения в клинике. В то же время существует метод поляризационной микроскопии, использующий оптический анизотропный эффект для изучения топологических свойств ядерного хроматина. Он позволяет эффективно выявлять структурные характеристики ядерного материала на разных этапах функционирования клетки [3, 5, 8]. Величина выявляемой анизотропии ядра отражает структурно-молекулярную упорядоченность хроматина, основного носителя генетической информации в клетке. Снижение уровня анизотропии может интерпретироваться как показатель деспирализации хроматина, сопровождающейся ослаблением химических связей комплекса ДНК-гистон в ядрах клеток. Подобные явления указывают на биологическую активацию хроматина, что является предпосылкой для появления матричной активности ДНК с последующей экспрессией нескольких сотен генов и дальнейшим белковым синтезом.

Цель исследования – изучить особенности реструктуризации хроматина (РХ) ядер НГ у здоровых людей, а также пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы исследования

Для решения задач, поставленных в работе, под нашим динамическим наблюдением за период с 1999

по 2002 год находились 54 пациента (10 женщин и 44 мужчины) в возрасте от 21 до 49 лет, страдающих язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, осложненной стенозом. Язвенная болезнь диагностирована на основании клинко-эндоскопического исследования. Весь объем исследования проведен трижды: до радикальной дуоденопластики, в раннем послеоперационном периоде (на 5–7-й день после операции), в отдаленном послеоперационном периоде (через 1 месяц после операции).

В раннем послеоперационном периоде, начиная с 5–7-го дня, больные получали традиционное 3-компонентное терапевтическое лечение (омепразол, трихопол, амоксициллин).

Больные были отобраны по общепринятым и весьма строгим критериям и мало отличались по основным клиническим детерминантам заболевания.

Контрольную группу составили 23 условно здоровых добровольца (10 женщин и 13 мужчин).

Диагноз заболеваний устанавливался с использованием комплекса методов, включающих клиническое, инструментальное и лабораторное обследование и соответствующих стандартам оказания медицинской помощи больным с данными видами патологии. Контролем для каждой из перечисленных групп пациентов служили репрезентативные контрольные группы здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту, численностью от 18 до 50 человек. В соответствии с поставленными задачами нами были исследованы особенности реструктуризации хроматина ядер НГ по уровню оптической анизотропии хроматина ядер НГ с использованием модифицированного метода Нестеровой и соавт. [3, 4]. Для этого мазки клеток крови подсушивали на воздухе, фиксировали смесью этанол/ацетон в соотношении 1:1, подвергали гидролизу в 5 N HCl при 20°C и обработке солянокислым гидроксиламином, при температуре 37°C в течение 3 часов. Обработанные таким образом мазки окрашивали 0,05% раствором толуидинового синего при pH 5,0, приготовленного на 0,001 M цитратном буфере. Время окраски составляло 20 минут. Окрашенные препараты быстро отмывали цитратным буфером, высушивали на воздухе и исследовали под поляризационным микроскопом «МП-8» при скрещенном анализаторе и поляризаторе. Для учета интенсивности анизотропного эффекта в ядрах НГ использовали модификацию полуколичественного метода Астальди и Верга, адаптированного для изучения ядер. Все ядра были разделены по уровню оптической анизотропии (ОА) на 5 групп, каждой из которых была присвоена определенная величина ОА (степень ОА «0» означала полное отсутствие анизотропии, что соответствовало наибольшей степени активации хроматина ядра; степень ОА «4» означала, что анизотропно все ядро, что соответствовало отсутствию активности хроматина; степени анизотропии от «1» до «3» соответствовали промежуточным значениям анизотропии ядра) [3]. В ряде случаев для регистрации уровня реструктуризации хроматина нами использовался показатель активации нейтрофильных гранулоцитов (ПАН), который был равен максимальному уровню оптической анизотропии, выраженному в СЦИ за вычетом уровня оптической анизотропии, полученного при полуколичественном исследовании ($\text{ПАН} = 4 - \text{СЦИ}_{(\text{ОА})}$).

Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов вариационной статистики с расчетом средних величин ($\bar{M}$), ошибок средних величин ($\pm m$), средних ква-

дратичных отклонений ($\pm \sigma$), коэффициента вариации (CV). Вычисления проводились с использованием компьютерной программы Biostat 4.0 для Windows и DOS IBM-PC [Primer of Biostatistics, 4th Edition, S.A. Glantz, McGraw-Hill].

Отличие от контрольных значений во всех случаях было статистически значимо (уровень значимости не ниже $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Топологическое исследование ядер нейтрофильных гранулоцитов лиц контрольной группы показало, что величина оптической анизотропии хроматина их ядер составляет в среднем $2,65 \pm 0,11$. При этом показатель активации нейтрофилов (ПАН) составил $1,35 \pm 0,11$ при общей реструктуризации хроматина $0,38 \pm 0,02$.

У больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, осложненной стенозом, до планового оперативного вмешательства величина анизотропии ядер сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов колебалась от 2,09 до 2,4, составляя в среднем $2,2 \pm 0,007$, что на 17% было ниже, чем в ядрах аналогичных клеток лиц контрольной группы ($P < 0,01$). При этом величина ПАН составила $1,8 \pm 0,007$, а уровень реструктуризации хроматина – $0,45 \pm 0,01$.

Непосредственно после операции величина анизотропного эффекта в ядрах нейтрофильных гранулоцитов больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки составила в среднем $2,13 \pm 0,006$, при размахе индивидуальных колебаний от 1,89 до 2,09, что было ниже как по сравнению с контролем, так и по сравнению с уровнем, зарегистрированным перед оперативным вмешательством, на 20 и 3% соответственно. В обоих случаях различие было статистически значимо. Величина ПАН ядер нейтрофильных гранулоцитов достоверно возросла по отношению как к исходному уровню, так и по отношению к контролю и составила $1,87 \pm 0,006$ ($P < 0,01$).

Через 1 месяц после операции, ядра нейтрофильных гранулоцитов больных язвенной болезнью обнаружили явное усиление эффекта анизотропии по сравнению с предыдущим сроком исследования, уровень которого составил в среднем $2,35 \pm 0,006$, при этом показатель ПАН соответственно снизился до $1,65 \pm 0,006$. Данное увеличение уровня анизотропии ядер нейтрофильных гранулоцитов на 7% превысило исходный уровень, характерный для лиц, обследованных до оперативного вмешательства ($P < 0,05$), однако величины контроля не достигло и составляло 88,7% его уровня ($P < 0,001$). Топологическое исследование хроматина ядер нейтрофильных

гранулоцитов больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, осложненной стенозом, показало заметное снижение величины анизотропного эффекта в ядрах этих клеток по сравнению с уровнем анизотропии, характерным для лиц контрольной группы. Величина анизотропии отражает структурно-молекулярную упорядоченность хроматина, который является основным носителем генетической информации в клетке. Снижение уровня анизотропии может интерпретироваться как показатель, свидетельствующий о явлениях деспирализации хроматина и более или менее выраженной диссоциации комплекса ДНК-гистон в ядрах нейтрофильных гранулоцитов. Подобные явления указывают на реструктуризацию хроматина и возможное повышение матричной активности ДНК, а значит, и на увеличение биосинтетической активности этих клеток. Показатель ПАН, являющийся величиной, обратной уровню анизотропного эффекта, наглядно демонстрирует это явление.

Через один месяц после операции активационная готовность ядер нейтрофильных гранулоцитов больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, осложненной стенозом, снижается, что свидетельствует о нормализации факторов, продуцируемых микроокружением этих клеток. Важным является тот факт, что уровень ПАН опускается ниже исходного уровня, характерного для предоперационного периода, однако значений контроля не достигает.

Итак, динамика ПАН свидетельствует о положительном эффекте оперативного вмешательства, как на местном уровне, так и на уровне всего организма. В то же время остающаяся повышенной, по сравнению с контролем, активационная готовность хроматина ядер нейтрофильных гранулоцитов указывает на то, что оперативное лечение в комплексе с другими традиционными методами лечения язвенной болезни, имея положительный эффект, не устраняет патогенетических причин данного заболевания.

Список литературы

1. Амиров Н.Ш. Ферментативные механизмы в этиопатогенезе желудочного язвообразования. Обзор экспериментальных исследований / Н.Ш. Амиров, И.Е. Трубицына // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – № 1 – С. 46–55.
2. Нестерова И.В. Комплексное трехуровневое исследование системы нейтрофильных гранулоцитов с возможной диагностикой ИДС при различной патологии / Колесникова Н.В., Чудилова Г.А. // Метод. рекомендации. – Краснодар, 1996.
3. Нестерова И.В., Особенности активационного потенциала ядер нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии / Евлевский А.А., Фомичева Е.В. // Цитокины и воспаление – 2004. – № 3(2). – С. 52–55.
4. Нестерова И.В. Фенотипические и функциональные характеристики нейтрофильных гранулоцитов при осложненном острым деструктивным панкреатите / Швыдченко И.Н., Роменская В.А. // Рос. Аллергол. журн. – 2008. – № 1, прил. 1. – С. 203–204.
5. Нестерова И.В. Особенности спонтанной и индуцированной реструктуризации хроматина и функционирования кислородзависимых цитотоксических механизмов нейтрофильных гранулоцитов при колоректальном раке / Евлевский А. А.; Фомичева Е.В.; Колесникова Н.В.; Ковалева С.В.; Чудилова Г.А.; Ломтатидзе Л.В.; Коков Е.А.; Кокова Л.Н. // Российский иммунологический журнал. – 2011. – Т. 5, № 3/4. – С. 254–261. – С. 260–261.
6. Нестерова И.В. Особенности ремоделирования фенотипа и функциональных возможностей нейтрофильных гранулоцитов пациентов с колоректальным раком под влиянием G-CSF в системе in vitro / Ковалева С.В.; Чудилова Г.А.; Ломтатидзе Л.В.; Евлевский А.А.; Колесникова Н.В.; Фомичева Е.В.; Коков Е.А. // Иммунология. – 2012. – Т. 33, № 6. – С. 306–311. – С. 310–311.
7. Нестерова И.В. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты. / Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Евлевский А.А. // Иммунология. – 2012. – № 5. – С. 281–287.
8. Нестерова И. В. Нейтрофильные гранулоциты – ключевые клетки иммунной системы / И.В. Нестерова, И.Н. Швыдченко, В.А. Роменская, и др. // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 432–435.
9. Ashby J Chromatin remodelling beyond transcription: the INO80 and SWR1 complexes/ Ashby J Morrison & Xuetong Shen // Nature Reviews Molecular Cell Biology 10, 373–384 (June 2009)
10. Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps: Is immunity the second function of chromatin/ Brinkmann V., Zychlinsky A. // JCB. – 2012. – Vol. 198, № 5, P. 773–78).
11. Bird L. Tumor immunology: Neutrophil plasticity // Nature Reviews Immunology. – 2009. – № 9. – P. 672–673.
12. Granelli-Pforno A. RNA and protein synthesis in human peripheral bipod polymorphonuclear leukocytes / A. Granelli-Pforno, 3.D., E. Vassalli Reich // J. Exp. Med. – 1979. – Vol. 149, 1*1. – P. 284–289.
13. Eid N.S. Heat-shock protein synthesis by human polymorphonuclear cells / Kravirilli K.E., Lanks K.W. // J. Exp. Med. – 1987. – № 165(5) – P. 1448–1452.
14. Fridlender Z.G. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : «N1» versus «N2» TAN / Fridlender Z.G., Jing S., Samuel K. et al // Cancer Cell. – 2009. – Vol. 16. – P. 183–194.
15. Hamon V.F. Histone modifications and chromatin remodeling during bacterial infections / V.F. Hamon, P. Cossart // Cell Host Microbe. – 2008. – № 4(2). – P. 100–109.
16. Jack R.M. Selective synthesis of m RNA and proteins by human peripheral blood neutrophils / R.M. Jack, D.T. Fearon // J.Immunol. – 1988. – № 140(12). – P.4286–4293.
17. Iking-Konert C., Dp-regulation of the dendritic cell marker CD83 on polymorphonuclear neutrophils (PMN): divergent expression in acute bacterial infections and chronic inflammatory disease / C. Iking-Konert, C. Wagner, B. Deneffle // Ctin. Exp. Immunol. – 2002. – V6L 130, H1 3. – P. 501–508.
18. Kobayashi S.D. Global changes in gene expression by human polymorphonuclear leukocytes, during receptor-mediated phagocytosis: cell fate is regulated at the level of gene expression. / S.D. Kobayashi, Voyich J.M., C.L. Buhl // Proc. Natl. Acad. Sci, USA. – 2002. – № 99(10). – P. 6901–6906.
19. Li B., The role of chromatin during transcription / B. Li, M. Carey, O.L. Workman // Cell 2007. – № 128(4). – P. 707–719.
20. Melani C. Interleukin-6 expression in human neutrophil and eosinophil peripheral blood granulocytes / C. Melani,

G.F. Hattfa, A. Silvani // *Blood*. – 1993. – Vol. 81. – P. 2744–2749.

21. Newburger P.E. In vitro regulation of human phagocyte cytochrome b heavy and light chain gene expression by bacterial lipopolysaccharide and recombinant human cytokines / P.E. Newburger, Q. Dai, C. Whitney // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol. 266, 24. – P. 16171–16177.

22. Smale S.T. Chromatin structure and gene regulation in the immune system. / S.T. Smale, A.G. Fisher // *Annu. Rev. Immunol.* – 2002. – № 20. – C. 427–462.

23. Zhang X. Gene expression in mature neutrophils: early responses to inflammatory stimuli / X. Zhang, Y. Kluger, Y. Nakayama et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2004. – № 75(2). – P. 358.

24. Wang J.C. Cellular roles of ONA topoisomerase: a molecular perspective // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 3, № 6. – P. 430–440.

References

1. Amirov N.SH. Fermentativnye mekhanizmy v ehtiopatogeneze zheludochnogo yazvoobrazovaniya. Obzor eksperimentalnykh issledovaniy / N.SH. Amirov, I.E. Trubicyna // *Zhurn. EHksperimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya* 2005. no. 1 pp. 46–55.

2. Nesterova I.V. Kompleksnoe trekhurovnevoe issledovanie sistemy nejtrofilnykh granulocitov s vozmozhnoy diagnostikoj IDS pri razlichnoy patologii / Kolesnikova N.V., CHudilova G.A. // *Metod. rekomendacii*. Krasnodar, 1996.

3. Nesterova I.V., Osobennosti aktivatsionnogo potentsiala yader nejtrofilnykh granulocitov v norme i patologii / Evglevskij A.A., Fomicheva E.V. // *Citokiny i vospalenie* 2004. 3(2) pp. 52–55.

4. Nesterova I.V. Fenotipicheskie i funktsionalnye karakteristiki nejtrofilnykh granulocitov pri oslozhnenom ostrom destruktivnom pankreatite / SHvydchenko I.N., Romenskaya V.A. // *Ros. Allergol. zhurn.* 2008. no. 1, pril. 1. pp. 203–204.

5. Nesterova I.V. Osobennosti spontannoj i inducirovannoj restrukturyzatsii hromatina i funkcionirovaniya kislorod-zavisimyykh citotoksicheskikh mekhanizmov nejtrofilnykh granulocitov pri kolorektalnom rake / Evglevskij A.A.; Fomicheva E.V.; Kolesnikova N.V.; Kovaleva S.V.; CHudilova G.A.; Lomtadidze L.V.; Kokov E.A.; Kokova L.N. // *Rossiyskij immunologicheskij zhurnal*. 2011. T. 5, no. 3/4. pp. 254–261. pp. 260–261.

6. Nesterova I.V. Osobennosti remodelirovaniya fenotipa i funktsionalnykh vozmozhnostej nejtrofilnykh granulocitov pacientov s kolorektalnym rakom pod vliyaniem G-CSF v sisteme in vitro / Kovaleva S.V.; CHudilova G.A.; Lomtadidze L.V.; Evglevskij A.A.; Kolesnikova N.V.; Fomicheva E.V.; Kokov E.A. // *Immunologiya*. 2012. T. 33, no. 6. pp. 306–311. pp. 310–311.

7. Nesterova I.V. Dvoystvennaya rol nejtrofilnykh granulocitov v realizatsii protivopuholovoy zashchity / Nesterova I.V., Kovaleva S.V., CHudilova G.A., Lomtadidze L.V., Evglevskij A.A. // *Immunologiya*. 2012. no. 5. pp. 281–287.

8. Nesterova I.V. Nejtrofilnye granulocity klyuchevye kletki immunoj sistemy / I.V. Nesterova, I.N. SHvydchenko, V.A. Romenskaya, i dr. // *Allergo-logiya i immunologiya*. 2008. T. 9, no. 4. pp. 432–435.

9. Ashby J Chromatin remodelling beyond transcription: the INO80 and SWR1 complexes / Ashby J Morrison & Xuotong Shen // *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 10, 373–384 (June 2009)

10. Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps: Is immunity the second function of chromatin/ Brinkmann V., Zychlinsky A. // *JCB* 2012, vol. 198, no. 5, pp. 773–78.

11. Bird L. Tumor immunology: Neutrophil plasticity // *Nature Reviews Immunology*. 2009. no. 9. pp. 672–673.

12. Granelli-Pfornio A. RNA and protein synthesis in human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes. / A. Granelli-Pfornio, 3.D., E. Vassalli Reich // *J. Exp. Med.* 1979. Vol. 149, 1*1. pp. 284–289.

13. Eid N.S. Heat-shock protein synthesis by human polymorphonuclear cells. / Kravrilis K.E., Lanks K.W. // *J. Exp. Med.* 1987, 165(5) pp. 1448–1452.

14. Fridlender Z. G. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : N1 versus N2 TAN / Fridlender Z.G., Jing S., Samuel K. et al // *Cancer Cell*. 2009. V. 16. pp. 183–194.

15. Hamon V.F. Histone modifications and chromatin remodeling during bacterial infections / V.F. Hamon, P. Cossart // *Cell Host Microbe* 2008, 4(2), 100–109.

16. Jack R.M. Selective synthesis of m RNA and proteins by human peripheral blood neutrophils / R.M. Jack, D.T. Fearon // *J. Immunol.* 1988, 140(12), pp. 4286–4293.

17. Iking-Konert C., Dp-regulation of the dendritic cell marker CD83 on polymorphonuclear neutrophils (PMN): divergent expression in acute bacterial infections and chronic inflammatory disease / C. Iking-Konert, C. Wagner, B. Deneffle // *Clin. Exp. Immunol.* 2002. V6L 130, H1 3. pp. 501–508.

18. Kobayashi S.D. Global changes in gene expression by human polymorphonuclear leukocytes, during receptor-mediated phagocytosis: cell fate is regulated at the level of gene expression. / S.D. Kobayashi, Voyich J.M., C.L. Buhl // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*- 2002, 99(10), pp. 6901–6906.

19. Li B., The role of chromatin during transcription. / B. Li, M. Carey, O.L. Workman // *Cell* 2007, 128(4), pp. 707–719.

20. Melani C. Interleukin-6 expression in human neutrophil and eosinophil peripheral blood granulocytes / C. Melani, G.F. Hattfa, A. Silvani // *Blood*. 1993. Vol. 81, pp. 2744–2749.

21. Newburger P.E. In vitro regulation of human phagocyte cytochrome b heavy and light chain gene expression by bacterial lipopolysaccharide and recombinant human cytokines / P.E. Newburger, Q. Dai, C. Whitney // *J. Biol. Chem.* 1991, Vol. 266, 24. pp. 16171–16177.

22. Smale S.T. Chromatin structure and gene regulation in the immune system. / S.T. Smale, A.G. Fisher // *Annu. Rev. Immunol.* 2002, 20, pp. 427–462.

23. Zhang X. Gene expression in mature neutrophils: early responses to inflammatory stimuli / X. Zhang, Y. Kluger, Y. Nakayama et al. // *J. Leukoc. Biol* 2004, 75(2), 358.

24. Wang J.C. Cellular roles of ONA topoisomerase: a molecular perspective // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002. Vol. 3, № 6. pp. 430–440.

Рецензенты:

Абушкевич В.Г., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар;

Курзанов А.Н., д.м.н., профессор, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар.