

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПЕРЕОРИЕНТИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ И МИКРОБИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ДЕТЕЙ С ГНОЙНО- ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА В СИСТЕМЕ *IN VITRO*

Нестерова И.В.^{1,2}, Чудилова Г.А.¹, Митропанова М.Н.¹,
Павленко В.Н.¹, Ломтатидзе Л.В.¹, Ковалева С.В.¹, Тараканов В.А.¹,
Барова Н.К.¹

¹ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Краснодар, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования РФ,
Москва, Россия

Резюме. Многочисленными исследованиями последнего десятилетия убедительно доказано, что полноценность работы нейтрофильных гранулоцитов (НГ) предопределяет течение и исход многих заболеваний. Выявление вариантов фенотипа функционально значимых субпопуляций НГ – новый подход, позволяющий на молекулярном уровне оценить адекватность или дефектность включения НГ в реализацию процессов инфекционного воспаления. Возможность переориентирования дефектного фенотипа субпопуляций НГ при гнойно-воспалительных заболеваниях за счет перестройки рецепторной оснащённости под влиянием различных иммуотропных субстанций может послужить ключом к восстановлению нормального функционирования НГ. Цель – изучить влияние ГМДП в системе *in vitro* на фенотип четырех функционально значимых субпопуляций CD62L⁺CD63⁺НГ, CD62L⁺CD63⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и с оценкой микробицидной активности НГ у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями.

Исследованы 190 образцов периферической крови (ПК) детей 2-4 лет: 12 с малой гнойной инфекцией (МГИ) и 7 условно здоровых детей. ПК детей инкубировали в течение 60 мин. при T 37 °C с ГМДП

Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Владимовна
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
117513, Россия, Москва, Ленинский пр., 123-1.
Тел.: 8 (916) 187-73-41.
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Address for correspondence:

Nesterova Irina V.,
Kuban State Medical University
117513, Russian Federation, Moscow, Leninsky ave., 123-1.
Phone: 7 (916) 187-73-41.
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Образец цитирования:

И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, М.Н. Митропанова,
В.Н. Павленко, Л.В. Ломтатидзе, С.В. Ковалева,
В.А. Тараканов, Н.К. Барова «Экспериментальное
переориентирование фенотипа функционально
значимых субпопуляций и микробицидной активности
нейтрофильных гранулоцитов детей с гнойно-
воспалительными заболеваниями под влиянием
глюкозаминилмурамилдипептида в системе *in vitro*» //
Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 1. С. 49-62.
doi: 10.15789/1563-0625-IVP-2136

© Нестерова И.В. и соавт., 2021

For citation:

I.V. Nesterova, G.A. Chudilova, M.N. Mitropanova,
V.N. Pavlenko, L.V. Lomtaticidze, S.V. Kovaleva,
V.A. Tarakanov, N.K. Barova "In vitro phenotypic
re-orientation of functionally important neutrophil
subpopulations and their microbicidal activity in the children
with purulent inflammatory diseases influenced by glucosaminil
muramildipeptide", Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 1, pp. 49-62.
doi: 10.15789/1563-0625-IVP-2136

DOI: 10.15789/1563-0625-IVP-2136

(в концентрации 10^{-6} г/л). Проводили оценку относительного количества субпопуляций НГ: CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, CD62L⁺CD63⁻НГ, CD62L⁺CD63⁺НГ с оценкой плотности экспрессии молекул по MFI методом проточной цитометрии. Одновременно проводили тестирование фагоцитарной и микробицидной функции НГ в исследуемых группах. Полученные результаты свидетельствуют о наличии четырех различных субпопуляций НГ как у условно здоровых детей, так и у детей с МГИ. При этом выявлена трансформация фенотипа изучаемых субпопуляций НГ у пациентов с МГИ, сопровождающаяся нарушениями фагоцитарной и микробицидной функций клеток. Установлено в системе *in vitro*, что под влиянием ГМДП произошло переориентирование трансформированного фенотипа 4 функционально значимых субпопуляций НГ пациентов с МГИ. При этом увеличилось количество НГ субпопуляций CD62L⁺CD63⁺НГ и CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, на фоне снижения количества НГ субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и CD62L⁺CD63⁻НГ, что сопровождалось восстановлением микробицидной активности НГ.

Полученные данные позволяют дополнить современные представления о механизмах иммунотропных эффектов ГМДП и расширяют область его экспериментального и клинического применения. Выявленные в системе *in vitro* эффекты влияния ГМДП, заключающиеся в реорганизации фенотипа функционально значимых субпопуляций НГ CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺, CD62L⁺CD63⁻, CD62L⁺CD63⁺ при нетипично протекающих гнойно-воспалительных заболеваниях у детей, могут быть использованы в дальнейшем для разработки новых иммунотерапевтических стратегий, направленных на коррекцию дисфункций НГ при малой гнойной инфекции у детей.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, эксперимент *in vitro*, субпопуляции, глюкозаминилмурамилдипептид, малая гнойная инфекция, дети

IN VITRO PHENOTYPIC RE-ORIENTATION OF FUNCTIONALLY IMPORTANT NEUTROPHIL SUBPOPULATIONS AND THEIR MICROBICIDAL ACTIVITY IN THE CHILDREN WITH PURULENT INFLAMMATORY DISEASES INFLUENCED BY GLUCOSAMINIL MURAMILDYPEPTIDE

Nesterova I.V.^{a,b}, Chudilova G.A.^a, Mitropanova M.N.^a, Pavlenko V.N.^a, Lomtadze L.V.^a, Kovaleva S.V.^a, Tarakanov V.A.^a, Barova N.K.^a

^a *Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation*

^b *Peoples' Friendship University, Moscow, Russian Federation*

Abstract. Numerous studies over last decade have shown that functional capacity of neutrophil granulocytes (NG) determines the course and outcome of many diseases. Identification of phenotypic variants of functionally significant NG subpopulations is a new approach allows us to assess the adequacy or deficiency of NG involvement into infectious inflammation processes at molecular level. An opportunity of reorienting a deficient NG subpopulational phenotype in purulent inflammatory diseases due to the rearrangement of the receptor set induced by various immunotropic substances may serve as a key to recovery of normal NG functioning.

Our aim was to study the effect of glucosaminylmuramyl dipeptide (GMDP) under *in vitro* conditions upon the phenotypic profile of four functionally significant subpopulations, i.e., CD62L⁺CD63⁻NG, CD62L⁺CD63⁺NG and CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG, along with assessment of expression density of appropriate membrane molecules and NG microbicidal activity in the children with purulent inflammatory diseases. 90 samples of peripheral blood (PB) were taken from children 2 to 4 years old, including 12 children with minor purulent infection (MPI), and 7 children were studied as conditionally healthy controls. Their peripheral blood was incubated for 60 minutes at 37 °C with GMP (10^{-6} g/l). Using flow cytometry technique, the relative numbers of some NG subpopulations, i.e.,

CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG, CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG, CD62L⁺CD63⁻NG, CD62L⁺CD63⁺NG were evaluated, and the phenotype features of each subpopulation were investigated according to the density of appropriate membrane molecule expression (MFI). In parallel, phagocytic and microbicidal activity of NG was tested in these study groups. The obtained data indicate for presence of for distinct NG subpopulations, both in healthy children and in children with MPI. We have revealed phenotypic transformation of the four studied NG subpopulations from MPI patients including disturbed phagocytic and microbicidal functions of the cells. Using of this *in vitro* system, we have shown that the transformed phenotype of the four functionally significant NG subpopulations of MPI patients was re-arranged under GMDP treatment. At the same time, the number of CD62L⁺CD63⁺NG and CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ NG subpopulations was increased, along with decreased amounts of CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG and CD62L⁺CD63⁻NG subpopulations, being accompanied by restoration of microbicidal activity of NGs.

The obtained data allow us to accomplish current understanding of immunotropic effects of GMDP, and to extend the potential scope of its experimental and clinical application. The new data on GMDP effects revealed by *in vitro* system, i.e. phenotype rearrangement of functionally significant NG subpopulations CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, CD62L⁺CD63⁻, CD62L⁺CD63⁺ in atypical purulent inflammatory diseases in children, may be used in the future in order to develop innovative strategies of immunotherapy aiming for correction of NG dysfunction in children with MPI.

Keywords: neutrophilic granulocytes, in vitro testing, subpopulations, glucosaminilmuramidipeptide, minor purulent infection, children

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № АААА-А18-118122690053-0 и при частичной финансовой поддержке администрации Краснодарского края в рамках научного проекта № 47-08-10-10.5/19.

The study was carried out as part of the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation (No. АААА-А18-118122690053-0) and with partial financial support from administration of Krasnodar Region (scientific project No. 47-08-10-10.5/19).

Введение

На современном этапе достигнуты значительные успехи в клинической медицине по терапевтическому контролю многих инфекционно-воспалительных заболеваний, но, тем не менее, отмечен неуклонный рост нетипично протекающих инфекционно-воспалительных, в том числе гнойно-воспалительных заболеваний, не отвечающих на методы стандартной терапии. Безусловно, такой рост нетипично протекающих гнойно-воспалительных заболеваний связан с неспособностью иммунной системы своевременно и адекватно отвечать на микробную агрессию [8]. Известно, что развитие иммунной системы ребенка переживает ряд критических этапов становления, среди которых возраст 2-4 года считается одним из наиболее уязвимых. Это проявляется высокой подверженностью к вторичным острым вирусным респираторным ин-

фекциям и острым и хроническим рецидивирующим гнойно-воспалительным заболеваниям, включая малые гнойные инфекции (МГИ) кожи и подкожно-жировой клетчатки [2]. Особенности этиологии МГИ является увеличение количества условно-патогенных микроорганизмов, что имеет в основе снижение противоинфекционного иммунитета и негативные изменения в микробиоме кожи как следствие ухудшающейся экологии и селективного воздействия антибиотиков [7].

Не вызывает сомнений, что одной из причин иммунокомпрометированности может быть неадекватное включение, гипо- или гиперактивация функций нейтрофильных гранулоцитов (НГ), доминантных эффекторных и регуляторных клеток врожденного и адаптивного иммунитета, что приводит к развитию заболеваний с недостаточным терапевтическим контролем [15]. Многочисленными исследованиями последнего десятилетия убедительно доказано, что полноценность работы НГ предопределяет течение и исход многих заболеваний, так как данные клетки обладают высокой пластичностью и легко претерпевают реаранжировку рецепторного оснащения под действием экстрацеллюлярного окружения [11, 20]. Играя решающую роль в антибактериальной защите, НГ реализуют свои функции путем фагоцитоза, трансмембранной дегрануляции, образования нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET) и эктосом [17].

Способности НГ к фагоцитозу и киллингу тесно сопряжены с их фенотипическими характе-

ристиками: количеством и уровнем экспрессии таких мембранных маркеров, как CD11b, CD16, CD32, CD64, CD62L, CD63 [20].

НГ конституитивно экспрессируют CD11b (Mac-1, CR3A) и CD16 (FcγRIII) рецепторы. Включение НГ в иммунный ответ на патоген сопровождается транслокацией внутриклеточных резервных пулов CD16 и CD11b на мембрану, и в периферической крови многократно увеличивается количество активированных НГ с высокой плотностью мембранной экспрессии [3]. Микробицидный профиль НГ ассоциирован с CD16 и CD11b поверхностными мембранными рецепторами, играющими роль триггеров, запускающих каскад активационных и регуляторных процессов. Показано, что CD11b (в присутствии субъединицы CD18) и миелопероксидаза НГ иницируют внутриклеточные сигнальные пути с последующей экзоцитозом гранул НГ, активацией NADPH-оксидаз, усилением поверхностной экспрессии CD11b и других рецепторов CD64, CD32, CD16, CD40, CD80, CD86, HLA-DR и TLR по механизму аутокринной регуляции [6].

CD16 (FcγRIII) – низкоаффинный рецептор, отвечающий за цитотоксическую функцию НГ. Связывание CD32 (FcγRII), CD16 с IgG иницируют разнообразные ответы, включая антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ), фагоцитоз, дегрануляцию, образование активных форм кислорода и пролиферацию [1, 16]. Повышение функциональной активности НГ находится в прямой связи с высокой мембранной экспрессией CD16-рецепторов. Низкоаффинный CD32(FcγRII) участвует в активации сборки NADPH-оксидазного комплекса, обеспечивает процессы захвата антигена, регуляторные и цитотоксические механизмы НГ [19]. Молекулы CD16(FcγRIII) и CD32(FcγRII) опосредуют взаимодействие НГ с иммунными комплексами [12, 21]. Высокоаффинный рецептор CD64 (FcγRI) экспрессируется на «незрелых» НГ и связывает иммуноглобулины (IgG1, 3, 4). Увеличенная экспрессия CD64 на НГ является маркером развития бактериальных инфекций в ответ на индуцирующие стимулы: компоненты микробной стенки (липополисахарид – ЛПС), компоненты комплемента и провоспалительные цитокины [13, 14].

CD62L (LECAM-1) – рецептор адгезии/хоминга, участвующий в движении и проникновении НГ в зону воспаления.

CD63 (LAMP-3) – тетраспанин, основной маркер азурофильных гранул, по которому косвенно можно оценить активность миелопероксидазы [4, 9]. Также CD63 являются белками-посредниками в сигналинге, влияющими на

активацию НГ и регуляторное воздействие на адгезию через CD11/CD18 [4].

Глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) – полусинтетический аналог пептидогликана клеточной стенки бактерии. Контакт ГМДП с внутриклеточно расположенными NOD2-рецепторами приводит к активации сигнальных путей с инициацией синтеза цитокинов, участвующих в воспалительных реакциях, вызывая стимуляцию эффекторных функций фагоцитов [10, 18].

Несмотря на большой интерес, проявляемый в последние годы к особенностям функционирования НГ при различных патологиях и большой объем накопленной информации, малоизученным остается вопрос: как трансформируется фенотип субпопуляций НГ при формировании ответа со стороны НГ на бактериальные антигены при нетипично протекающих гнойно-воспалительных заболеваниях у детей, в том числе при малой гнойной инфекции. Кроме того, практически мало изучена роль функционально значимых субпопуляций НГ – CD62L⁺CD63⁻, CD62L⁺CD63⁺, CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ у условно здоровых детей и детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями. Выявление вариантов фенотипа субпопуляций НГ, с учетом плотности экспрессии каждой из молекул, позволяет на молекулярном уровне оценить адекватность или дефектность включения НГ в реализацию процессов инфекционного воспаления [19, 22]. При этом ранее не проводилась оценка изменения фенотипа субпопуляций НГ за счет перестройки рецепторной оснащенности и восстановления функциональной активности НГ под влиянием субстанции глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) в эксперименте *in vitro*, что представляет исследовательский и практический интерес.

Цель исследования – изучение влияния ГМДП в системе *in vitro* на фенотип четырех функционально значимых субпопуляций CD62L⁺CD63⁻НГ, CD62L⁺CD63⁺НГ, CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и с оценкой микробицидной активности НГ у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями.

Материалы и методы

Исследованы 190 образцов периферической крови (ПК) 12 детей (7 мальчиков и 5 девочек) 2–4 лет с малой гнойной инфекцией (МГИ) – гнойными воспалительными заболеваниями кожи и подкожно-жировой клетчатки (абсцессы, флегмоны «малых размеров») до хирургического вмешательства и 7 условно здоровых детей 2–4 лет. При проведении экспериментального исследова-

дования были сформированы 4 группы образцов ПК детей: группа исследования 1 (60 образцов интактных НГ ПК детей с МГИ) и группа сравнения 1 (35 образцов интактных НГ ПК условно здоровых детей), а также группа исследования 2 (60 образцов НГ ПК детей с МГИ после воздействия ГМДП) и группа сравнения 2 (35 образцов НГ ПК условно здоровых детей после воздействия ГМДП). Образцы ПК детей группы исследования 2 и группы сравнения 2 инкубировали в течение 1 часа при Т 37 °С с глюкозаминилмурамилдипептидом (ГМДП) в концентрации 10⁻⁶ г/л.

Образцы ПК детей группы исследования 1 и группы сравнения 1, а также образцы ПК детей после воздействия ГМДП – группа исследования 2 и группа сравнения 2, исследовали с использованием проточного цитофлуориметра FC 500 (Beckman Coulter, США) и соответствующих МкАТ (Beckman Coulter International S.A., Франция). Определяли содержание субпопуляций НГ CD62L⁺CD63⁻, CD62L⁺CD63⁺, CD64⁻CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ и уровень экспрессии (middle fluorescence intensity – MFI) каждого мембранного рецептора. Параллельно изучали фагоцитарную функцию НГ с учетом степени завершенности по отношению к *Staphylococcus aureus* (штамм 209), по показателям: %ФАН (процент активно-фагоцитирующих НГ); ФЧ и ФИ (фагоцитарное число

и индекс) характеризующие процессы захвата; %П, ИП (процент и индексу переваривания). Активность NADPH-оксидазы НГ оценивалась в спонтанном (сп) и стимулированном (ст) NBT-тесте: средний цитохимический индекс (СЦИсп и СЦИст), коэффициент мобилизации (КМ) – соотношение формазан-позитивных клеток (%ФПК) в стимулированном и спонтанном NBT-тестах (%ФПКст/%ФПКсп) [5].

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki). У всех родителей, периферическая кровь детей которых вошла в исследование, было получено письменное добровольное согласие на участие в исследовании.

Обработку результатов проводили с использованием статистических программ Microsoft Excel 2007 и StatPlus 2010. Результаты представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Для установления значимости различий между количественными показателями зависимых групп (до и после лечения, до и после культивирования образцов с препаратами) использовали непараметрический критерий Вилкоксона. Статистическая значимость различий (p < 0,05) между количественными показателями групп (исследуемые группы, контрольные группы) оценивалась непараметрическими критериями Манна–Уитни (U).

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ГМДП НА КОЛИЧЕСТВО НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ СУБПОПУЛЯЦИЙ CD62L⁺CD63⁻ И CD62L⁺CD63⁺ И УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МЕМБРАННЫХ МОЛЕКУЛ CD62L И CD63 У УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. INFLUENCE OF GMDP ON THE NUMBER OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF CD62L⁺CD63⁻ AND CD62L⁺CD63⁺ SUBPOPULATIONS AND THE LEVEL OF EXPRESSION OF CD62L AND CD63 MEMBRANE MOLECULES IN CONDITIONALLY HEALTHY CHILDREN IN THE IN VITRO EXPERIMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Группа сравнения 1 (НГ условно здоровых детей) Comparison group 1 (NG healthy children)				
НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁻	MFI CD62L	НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁺	MFI CD62L	MFI CD63
89,46 (81,49-96,81)	7,08 (5,44-11,30)	7,55 (0,31-8,65)	4,55 (3,54-8,85)	2,19 (1,68-3,20)
Группа сравнения 2 (НГ условно здоровых детей + ГМДП) Comparison group 2 (NG healthy children + GMDP)				
НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁻	MFI CD62L	НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁺	MFI CD62L	MFI CD63
82,1 (61,45-88,88)	12,12 (5,80-17,45)	15,25* (10,78-38,31)	10,14* (9,27-14,85)	1,47* (1,30-1,55)

Примечание. * – статистически значимые различия между показателями группы сравнения 1 и группы сравнения 2, p < 0,05.

Note. *, statistically significant differences between the indicators of comparison group 1 and comparison group 2, p < 0.05.

Результаты и обсуждение

При тестировании экспрессии поверхностных мембранных рецепторов НГ CD62L и CD63 ПК условно здоровых детей (группа сравнения 1) было выявлено наличие двух субпопуляций CD62L⁺CD63⁻НГ и CD62L⁺CD63⁺НГ. У условно здоровых детей в ПК преобладала субпопуляция CD62L⁺CD63⁻ в 89,46 (81,49-96,81) %, при этом количество НГ активированной субпопуляции CD62L⁺CD63⁺ составляло лишь 7,55 (0,31-8,65) %. Субпопуляция CD62L⁺CD63⁺НГ имела CD63 рецептор с MFI – 2,19 (1,68-3,20) и более низкий уровень экспрессии CD62L (табл. 1).

Под влиянием ГМДП в системе *in vitro* в образцах группы сравнения 2, в отличие от НГ образцов ПК группы сравнения 1 (интактные НГ условно здоровых детей), было отмечено статистически значимое увеличение (в 2 раза) относительного количества НГ субпопуляции CD62L⁺CD63⁺ ($p < 0,05$) с усилением плотности экспрессии в 4,6 раза мембранного CD62L рецептора ($p < 0,05$) на фоне снижения в 1,2 раза MFI молекулы CD63. Одновременно наблюдалось снижение количества субпопуляции CD62L⁺CD63⁻НГ, с более высоким уровнем экспрессии CD62L по MFI ($p < 0,05$) (табл. 1, рис. 1).

Таким образом, эффекты ГМДП в системе *in vitro* на НГ CD62L⁺CD63⁻ и CD62L⁺CD63⁺ субпопуляций у группы сравнения 2 проявлялись статистически значимым приростом количества активированной субпопуляции CD62L⁺CD63⁺НГ со сниженным по сравнению с интактными НГ

уровнем экспрессии CD63 ($p < 0,05$) и тенденцией увеличения плотности экспрессии CD62L рецептора, необходимого для полноценного осуществления процессов миграции в очаг воспаления.

Установлено, что в ПК у детей с МГИ уровень НГ субпопуляции CD62L⁺CD63⁻, выявленный в 89,46 (81,49-96,81) % у условно здоровых детей, определяется только в 28,80 (6,63-32,75) %. У детей с МГИ в ПК преобладает активированная субпопуляция НГ CD62L⁺CD63⁺%, количество которой достигает 63,95 (11,25-64,10) %, что в 8,5 больше, чем у условно здоровых детей ($p < 0,05$), но в то же время ее уровень, по-видимому, является недостаточно адекватным для предотвращения формирования малой гнойной инфекции на фоне столкновения с высокопатогенной гноеродной флорой. Отмечено, что плотность экспрессии CD62L, CD63, определяемая как в субпопуляции CD62L⁺CD63⁻, так и в субпопуляции CD62L⁺CD63⁺НГ, статистически значимо не отличалась от группы сравнения 1 ($p_{1,2} > 0,05$) (табл. 2).

Под влиянием ГМДП у детей с МГИ (группа исследования 2) количество НГ активированной субпопуляции CD62L⁺CD63⁺ статистически значимо увеличивается до 73,5 (67,23-82,53) %, а количество НГ субпопуляции CD62L⁺CD63⁻ снижается с 28,8 (6,63-32,75) % в группе исследования 1 до 18,89 (8,44-28,46) % ($p < 0,05$) (рис. 2), при этом плотность экспрессии CD62L и CD63 оставалась на прежнем уровне ($p_1 > 0,05$; $p_2 > 0,05$). Возрастание количества НГ активированной суб-

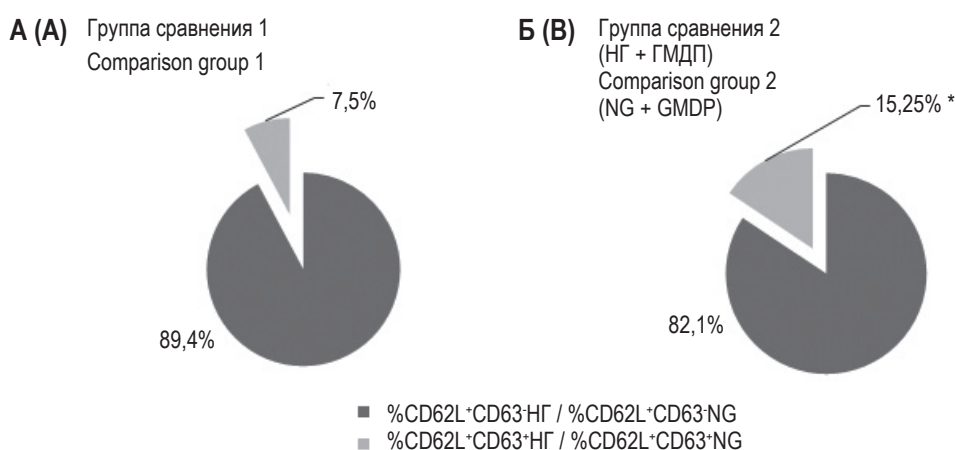


Рисунок 1. Влияние ГМДП на количество нейтрофильных гранулоцитов субпопуляций CD62L⁺CD63⁻ и CD62L⁺CD63⁺ условно здоровых детей в системе *in vitro*

Примечание.* – значимые различия от показателей условно здоровых детей группы сравнения 1, $p < 0,05$.

Figure 1. Influence of GMDP on the number of neutrophilic granulocytes of CD62L⁺CD63⁻ and CD62L⁺CD63⁺ subpopulations of conditionally healthy children in the experimental *in vitro* system

Note. *, significant differences from the indicators of healthy children of the comparison group 1, $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ГМДП НА КОЛИЧЕСТВО НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ СУБПОПУЛЯЦИЙ CD62L⁺CD63⁻ И CD62L⁺CD63⁺ И НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МЕМБРАННЫХ МОЛЕКУЛ CD62L И CD63 ДЕТЕЙ С МАЛОЙ ГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. INFLUENCE OF GMDP ON THE NUMBER OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF CD62L⁺CD63⁻ AND CD62L⁺CD63⁺ SUBPOPULATIONS AND ON THE LEVEL OF EXPRESSION OF CD62L AND CD63 MEMBRANE MOLECULES IN CHILDREN WITH SMALL PURULENT INFECTION IN THE *IN VITRO* EXPERIMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Группа сравнения 1 (НГ условно здоровых детей) Comparison group 1 (NG healthy children)				
НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁻	MFI CD62L	НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁺	MFI CD62L	MFI CD63
89,46 (81,49-96,81)	7,08 (5,44-11,30)	7,55 (0,31-8,65)	4,55 (3,54-8,85)	2,19 (1,68-3,20)
Группа исследования 1 (НГ детей с МГИ) Study group 1 (NG in children with SPI)				
НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁻	MFI CD62L	НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁺	MFI CD62L	MFI CD63
28,8* (6,63-32,75)	5,72 (4,92-8,77)	63,95* (11,25-64,10)	5,64 (4,38-6,77)	2,22 (1,83-2,63)
Группа исследования 2 (НГ детей с МГИ + ГМДП) Study group 2 (NG in children with SPI + GMDP)				
НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁻	MFI CD62L	НГ, % NG, % CD62L ⁺ CD63 ⁺	MFI CD62L	MFI CD63
18,89^ (8,44-28,46)	6,73 (4,87-8,99)	73,5^ (67,23-82,53)	5,91 (4,73-8,72)	1,98 (1,86-2,54)

Примечание. * – статистически значимые различия между показателями группы сравнения 1 и группы исследования 1, $p < 0,05$; ^ – статистически значимые различия между показателями группы исследования 1 и группы исследования 2, $p < 0,05$.

Note. *, statistically significant differences between the indicators of comparison group 1 and study group 1, $p < 0.05$; ^, statistically significant differences between the indicators of study group 1 and study group 2, $p < 0.05$.

популяции CD62L⁺CD63⁺ под влиянием ГМДП, по-видимому, свидетельствует о восстановлении адекватного уровня реагирования НГ на гнойный бактериальный процесс за счет усиления процессов внутриклеточной дегрануляции, что ассоциировано с восстановлением, нарушенной при МГИ, фагоцитарной активности клеток.

Оценка данных синхронной экспрессии CD64, CD16, CD32, CD11b позволила констатировать наличие в ПК 2 субпопуляций мажорной CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ и минорной CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺. У детей группы сравнения 1 мажорная субпопуляция составляет 97,99 (96,87-98,71) % и характеризуется высоким уровнем MFI CD16, средним – MFI CD11b и MFI CD32. Субпопуляция CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, экспрессирующая CD64-рецептор, выявляется лишь в 0,35 (0,20-0,40) % в группе сравнения 1 и имеет низкую плотность мембранной экспрессии CD16 и практически одинаковое с мажорной субпопу-

ляцией оснащение CD11b- и CD32-рецепторами (табл. 3).

При изучении влияния ГМДП *in vitro* на фенотип субпопуляций НГ в группе сравнения 2 было установлено, что при неменяющемся количестве субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ НГ наблюдается усиление экспрессии CD32 ($p < 0,05$), тенденция к увеличению CD16 ($p > 0,05$) и к снижению MFI CD11b ($p > 0,05$) (табл. 3). В минорной субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ выявлено статистически значимое усиление уровня экспрессии CD64 в 3,75 раза ($p < 0,05$), в 1,68 раза – CD32 по MFI ($p < 0,05$) и в 1,72 раза – CD11b по MFI ($p < 0,05$), при неменяющемся MFI CD16 (табл. 3).

У больных с МГИ выявлено статистически значимое уменьшение количества НГ субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ на фоне группы сравнения 1 ($p < 0,05$). Выявлено снижение MFI CD16 в 1,6 раза, незначительное повышение MFI CD11b ($p > 0,05$), при этом MFI CD32 был на

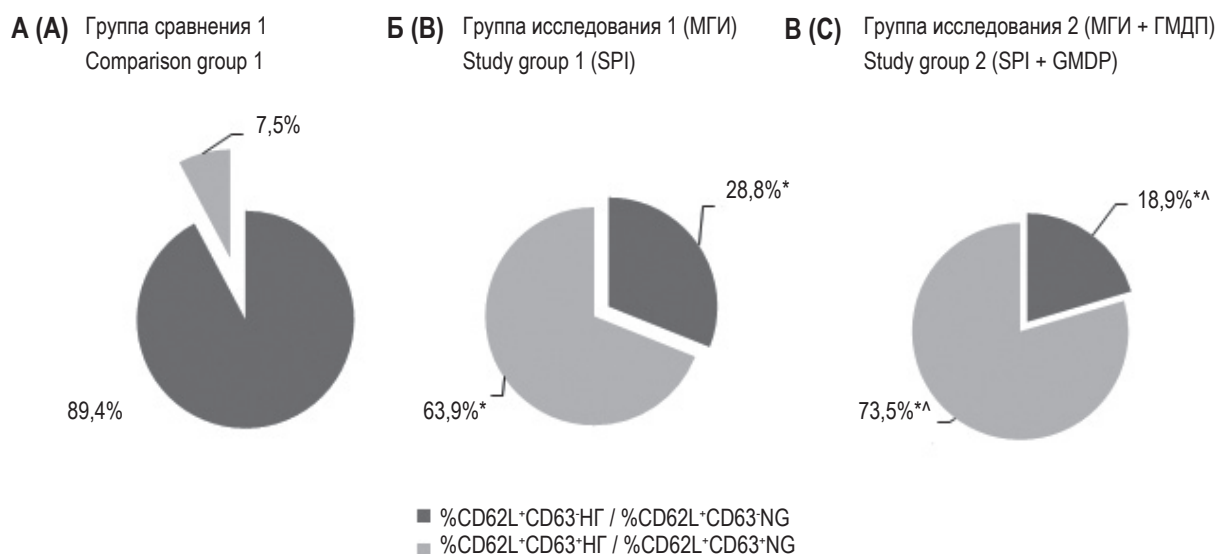


Рисунок 2. Влияние ГМДП на количество нейтрофильных гранулоцитов субпопуляций CD62L+CD63- и CD62L+CD63+ детей с малой гнойной инфекцией в системе *in vitro*

Примечание. * – значимые различия от показателей условно здоровых детей группы сравнения 1, $p < 0,05$; ^ – значимые различия от показателей при малой гнойной инфекции у детей группы исследования 1, $p < 0,05$.

Figure 2. Influence of GMDP on the number of neutrophil granulocytes of CD62L+CD63- and CD62L+CD63+ subpopulations in children with with small purulent infection in the experimental *in vitro* system

Note. *, significant differences from the indicators of healthy children of the comparison group 1, $p < 0.05$; ^, significant differences from the indicators in children with small purulent infection of the study group 1, $p < 0.05$.

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ГМДП НА КОЛИЧЕСТВО НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64+CD16+CD32+CD11b+ И CD64+CD16+CD32+CD11b+ И НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD64, CD16, CD32, CD11b УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. INFLUENCE OF GMDP ON THE NUMBER OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF CD64+CD16+CD32+CD11b+ AND CD64+CD16+CD32+CD11b+ SUBPOPULATIONS AND ON THE LEVEL OF EXPRESSION CD64, CD16, CD32, CD11b IN HEALTHY CHILDREN IN THE *IN VITRO* EXPERIMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

CD64+CD16+CD32+CD11b+НГ CD64+CD16+CD32+CD11b+NG					
	НГ, % NG, %	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b	
Группа сравнения 1 Comparison group 1	97,99 (96,87-98,71)	129,50 (115,70-131,75)	5,73 (4,76-6,11)	16,40 (9,66-20,93)	
Группа сравнения 2 Comparison group 2	98,41 (98,12-98,70)	137,0* (132,0-142,0)	8,29* (6,84-9,74)	12,0 (10,6-13,4)	
CD64+CD16+CD32+CD11b+НГ CD64+CD16+CD32+CD11b+NG					
	НГ, % NG, %	MFI CD64	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b
Группа сравнения 1 Comparison group 1	0,35 (0,20-0,40)	7,92 (5,25-12,20)	9,43 (5,13-19,62)	5,50 (5,20-6,31)	15,39 (4,87-5,90)
Группа сравнения 2 Comparison group 2	0,28 (0,20-0,30)	29,75* (18,1-41,4)	10,13 (5,86-14,40)	9,26* (7,43-11,10)	26,5* (23,2-29,8)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 4. ВЛИЯНИЕ ГМДП НА КОЛИЧЕСТВО НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ И CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ И НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD64, CD16, CD32, CD11b ДЕТЕЙ С МАЛОЙ ГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 4. INFLUENCE OF GMDP ON THE NUMBER OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ AND CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ SUBPOPULATIONS AND ON THE LEVEL OF EXPRESSION CD64, CD16, CD32, CD11b IN CHILDREN WITH SMALL PURULENT INFECTION IN THE *IN VITRO* EXPERIMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

CD64 ⁺ CD16 ⁺ CD32 ⁺ CD11b ⁺ НГ CD64 ⁺ CD16 ⁺ CD32 ⁺ CD11b ⁺ NG					
	НГ, % NG, %	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b	
Группа сравнения 1 Comparison group 1	97,99 (96,87-98,71)	129,50 (115,70-131,75)	5,73 (4,76-6,11)	16,40 (9,66-20,93)	
Группа исследования 1 Study group 1	86,45* (80,49-96,38)	81,5* (64,90-97,30)	5,31 (3,95-5,95)	19,35 (12,88-28,90)	
Группа исследования 2 Study group 2	93,08 (84,38-96,93)	78,6 (60,9-83,7)	5,19 (4,33-6,39)	12,5 (9,99-14,30)	
CD64 ⁺ CD16 ⁺ CD32 ⁺ CD11b ⁺ НГ CD64 ⁺ CD16 ⁺ CD32 ⁺ CD11b ⁺ NG					
	НГ, % NG, %	MFI CD64	MFI CD16	MFI CD32	MFI CD11b
Группа сравнения 1 Comparison group 1	0,35 (0,20-0,40)	7,92 (5,25-12,20)	9,43 (5,13-19,62)	5,50 (5,20-6,31)	15,39 (14,87-15,90)
Группа исследования 1 Study group 1	14,46* (5,60-15,72)	3,36* (2,19-4,72)	71,2* (60,20-98,18)	6,06 (5,02-7,56)	24,6* (18,68-37,12)
Группа исследования 2 Study group 2	4,98^ (4,45-5,20)	4,72 (2,89-6,13)	65,1 (41,55-86,20)	7,05 (6,00-8,02)	17,10^ (15,05-18,60)

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

уровне показателей группы сравнения 1 ($p > 0,05$) (табл. 4.).

При этом установлено значительное увеличение субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ до 14,46 (5,60-15,72) % против 0,35 (0,20-0,40) % в группе сравнения 1 ($p < 0,05$). Установлено снижение в 2,4 раза MFI CD64, увеличение в 7,6 раза MFI CD16 и в 1,6 раза MFI CD11b ($p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$; $p_3 < 0,05$), уровень CD32 не менялся ($p > 0,05$) (табл. 4). Увеличение этой субпопуляции свидетельствует о неполноценности эффекторных функций НГ и служит маркером неблагоприятного течения заболевания.

Инкубация ПК детей с МГИ (группа исследования 2) в системе *in vitro* с ГМДП позволила выявить модулирующие эффекты влияний на трансформированный фенотип субпопуляций НГ пациентов с МГИ, проявляющиеся в снижении относительного количества минорной CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ в 2,9 раза ($p < 0,05$) на фоне тенденции к увеличению мажорной CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ ($p > 0,05$) (табл. 4). Эффекты количественного перераспределения

субпопуляций под действием ГМДП сопровождались лишь статистически значимым снижением MFI CD11b ($p < 0,05$) минорной субпопуляции на фоне неизменяющегося уровня MFI CD32 и CD16 мембранных рецепторов.

Исследование влияния ГМДП в системе *in vitro* на фагоцитарную и микробицидную NADPH-зависимую функцию НГ позволило констатировать эффекты, ассоциированные с перепрограммированием рецепторного оснащения тестируемых субпопуляций. Так, при инкубации НГ детей группы сравнения 1 с ГМДП выявлено, что при неменяющемся %ФАН происходит усиление фагоцитарной реакции (ФЧ и ФИ) и переваривания (ИП), на фоне усиления микробицидной активности с сохранением резервных возможностей (рис. 3).

Анализ способности НГ к осуществлению фагоцитоза у детей с МГИ (группа исследования 1) выявил снижение %ФАН до 48,91 (39,27-53,10) против 55,30 (53,90-57,60) в группе сравнения 1 ($p < 0,05$) на фоне увеличения процессов поглощения (ФЧ – 5,2 (3,9-5,6) против 4,2 (3,7-5,8)

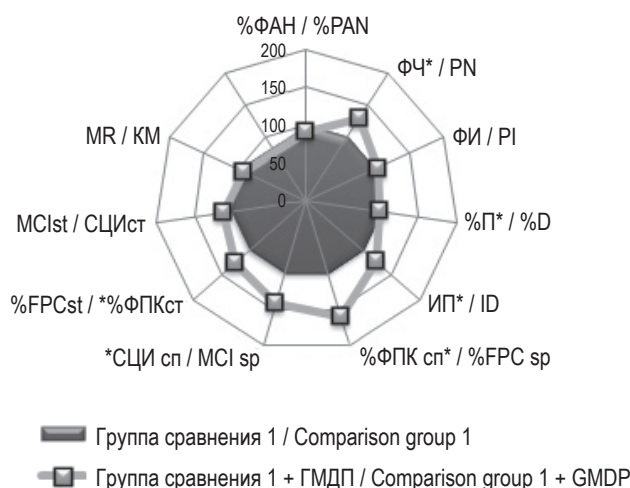


Рисунок 3. Эффекты влияния ГМДП на фагоцитарную и NADPH-зависимую активность нейтрофильных гранулоцитов условно здоровых детей (% от показателей НГ группы сравнения 1)

Примечание. * – различия показателей под влиянием ГМДП по сравнению с фоновыми значениями условно здоровых детей, $p < 0,05$.

Figure 3. Effects of GMDP on phagocytic and NADPH-dependent activity of neutrophilic granulocytes in conditionally healthy children (percentage from comparison group 1)

Note. *, significant differences from the indicators of healthy children of the comparison group 1, $p < 0.05$.

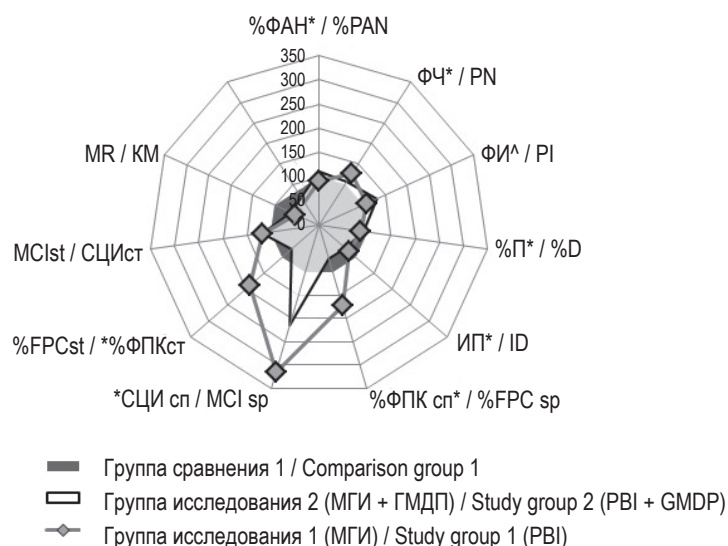


Рисунок 4. Влияние ГМДП на фагоцитарную и NADPH-зависимую активность нейтрофильных гранулоцитов детей с малой гнойной инфекцией в эксперименте *in vitro* (процент от группы сравнения 1)

Примечание. * – различия показателей по сравнению с фоновыми значениями условно здоровых детей, $p < 0,05$; ^ – различия показателей по сравнению с фоновыми значениями при малой гнойной инфекции у детей, $p < 0,05$.

Figure 4. Effects of GMDP on the phagocytic and NADPH-dependent activity of neutrophilic granulocytes in children with small purulent infection in experiment *in vitro* system (percentage from comparison group 1)

Note. *, significant differences from the indicators of healthy children of the comparison group 1, $p < 0.05$; ^, significant differences from the indicators in children with small purulent infection of the study group 1, $p < 0.05$.

в группе сравнения 1 ($p > 0,05$) и ФИ 2,7 (1,8-3,6) против 2,5 (1,8-3,3) в группе сравнения 1 ($p > 0,05$) и снижения переваривания (%П – 53,1 (42,3-57,8) против 61,5 (57,8-62,8) % в группе

сравнения 1, ИП – 1,3 (0,7-1,4) против 1,6 (1,4-1,9) в группе сравнения 1 ($p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$)).

В группе с МГИ наблюдалась активация спонтанных и индуцированных NADPH-оксидаз

($p < 0,05$) без сохранения возможностей НГ к реализации микробицидной активности при стимуляции антигеном ($p < 0,05$) (рис. 4).

Анализ экспериментальных данных по исследованию влияния ГМДП в системе *in vitro* на фагоцитарную и микробицидную функции НГ ПК в группе исследования 2 (пациенты с МГИ) позволил выявить восстановление фагоцитарной активности по увеличению уровня активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) ($p < 0,05$) и улучшению процессов переваривания на фоне сохранения напряженности NADPH-оксидаз для реализации эффекторных функций НГ при воспалении. Следует отметить повышение резервной NADPH-оксидазной активности НГ в 1,2 раза по сравнению с интактными НГ при МГИ ($p < 0,05$) (рис. 4). В то же время показатели ФИ ($p < 0,05$), ИП ($p < 0,05$) оставались ниже значений группы сравнения 1 (рис. 4).

Заключение

Таким образом, полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют о наличии мажорных CD62L⁺CD63⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и минорных CD62L⁺CD63⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ субпопуляций у условно здоровых детей. В то же время у пациентов с МГИ выявлена количественная трансформация как самих субпопуляций CD62L⁺CD63⁺НГ, CD62L⁺CD63⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, так и изменение их фенотипических характеристик. Выявленные трансформационные особенности исследованных субпопуляций, по нашему мнению, недостаточны для полноценного осуществления эффекторных функций НГ и ассоциированы с нарушениями их микробицидной активности, что способствует возникновению нетипично протекающих гнойно-воспалительных заболеваний.

В системе *in vitro* выявлены иммунопротективные эффекты ГМДП на исследуемые субпопуляции НГ у условно здоровых детей:

- количественный прирост в 2 раза активированной субпопуляции CD62L⁺CD63⁺НГ;
- значительно изменились фенотипические характеристики исследуемых субпопуляций CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ.

Иммуномодулирующие эффекты ГМДП в системе *in vitro* на трансформированный фенотип субпопуляций НГ при малой гнойной инфекции проявились:

- в статистически значимом увеличении количества НГ активированной субпопуляции CD62L⁺CD63⁺, что способствовало восстановлению адекватного уровня реагирования этой субпопуляции на гнойный бактериальный процесс за счет усиления процессов внутриклеточной дегрануляции и ассоциировано с восстановлением нарушенной фагоцитарной активности клеток;
- в снижении содержания активированной субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ при возрастании количества субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, что, с нашей точки зрения, может способствовать нормализации функциональной активности НГ и формированию адекватного эффекторного ответа НГ на инфекционный процесс;
- в позитивном эффективном влиянии на достоверное, но неполное восстановление количества активно фагоцитирующих НГ (%ФАН) и функций переваривания;
- в достоверном восстановлении ответа активности NADPH-оксидазы на бактериальные АГ в нагрузочных тестах *in vitro*, при сохранении умеренного повышения спонтанной активности NADPH-оксидазы, что, по-видимому, необходимо для реализации адекватного ответа на инфекционный процесс.

Мы полагаем, что выявленные в системе *in vitro* позитивные эффекты влияния ГМДП на негативно трансформированные функционально значимые субпопуляции НГ пациентов с нетипично протекающими гнойно-воспалительными заболеваниями применимы при создании персонализированной таргетной иммунотерапии, направленной на коррекцию дефектно функционирующих НГ. В перспективе использование таких иммунотерапевтических приемов в комплексном лечении пациентов с МГИ может дать возможность значительно изменить течение гнойно-воспалительных процессов: способствовать более быстрому разрешению заболеваний, ускорить купирование гнойного воспалительного процесса, сократить объем и продолжительность антибактериальной терапии, снизить количество послеоперационных осложнений у детей с МГИ.

Список литературы / References

1. Абакумова Т.В., Генинг Т.П., Долгова Д.Р., Антонеева И.И., Песков А.Б., Генинг С.О. Фенотип циркулирующих нейтрофилов на разных стадиях неоплазии шейки матки // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 6. С. 1127-1138. [Abakumova T.V., Gening T.P., Dolgova D.R., Antoneeva I.I., Peskov A.B., Gening S.O.]

Phenotype of circulating neutrophils at different stages of cervical neoplasia. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 6, pp. 1127-1138. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1127-1138.

2. Абатуров А.Е., Агафонова Е.А., Абатурова Н.И., Бабич В.Л. Эволюция и возрастные особенности врожденной и адаптивной иммунной системы // Современная педиатрия, 2016. № 3 (75). С. 74-84. [Abaturov A.E., Agafonova E.A., Abaturova N.I., Babich V.L. Evolution and age characteristics of the innate and adaptive immune system. *Sovremennaya pediatriya = Modern Pediatrics*, 2016, no. 3 (75), pp. 74-84. (In Russ.)]

3. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Колесникова Н.В., Авдеева М.Г., Русинова Т.В. Дифференцированность вариантов субпопуляций трансформированного фенотипа CD16⁺CD11b⁺ нейтрофильных гранулоцитов при острой вирусной и острой бактериальной инфекциях // Иммунология, 2016. Т. 37, № 4. С. 199-204. [Nesterova I.V., Chudilova G.A., Lomtaticidze L.V., Kovaleva S.V., Kolesnikova N.V., Avdeeva M.G., Rusinova T.V. Differentiation of variants subpopulations transformed phenotype CD16⁺CD11b⁺ neutrophils in acute viral and acute bacterial infections. *Immunologiya = Immunology*, 2016, Vol. 37, no. 4, pp. 199-204. (In Russ.)]

4. Нестерова И.В., Малиновская В.В., Хайдуков С.В., Нгуен Т.З.Л., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В. Дифференцированные влияния глюкозаминилмурамилдипептида на нетрансформированный и экспериментально трансформированный фенотип субпопуляции CD62L⁺CD63⁺CD66d⁺ нейтрофильных гранулоцитов условно здоровых лиц // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 847-854. [Nesterova I.V., Malinovskaya V.V., Khaydukov S.V., Nguyen T.D.L., Chudilova G.A., Lomtaticidze L.V. Differentiated effects of glucosaminyl muramyl dipeptide on the non-transformed and experimentally transformed phenotype of CD62L⁺CD63⁺CD66d⁺ neutrophilic granulocytes in conventionally healthy people. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 847-854. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-847-85410.17513/NP278.

5. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В., Ломтатидзе Л.В., Колесникова Н.В., Евлевский А.А. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии (методические рекомендации). Краснодар, 2017. 52 с. [Nesterova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Lomtaticidze L.V., Kolesnikova N.V., Yevlevsky A.A. Methods for comprehensive assessment of the functional activity of neutrophil granulocytes in health and disease (guidelines)]. Krasnodar, 2017. 52 p.

6. Чудилова Г.А., Нестерова И.В. Фенотипический профиль CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов у здоровых новорожденных, условно-здоровых детей различных возрастных групп и условно-здоровых взрослых субъектов // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13, № 1. С. 53-61. [Chudilova G.A., Nesterova I.V. Phenotypic profile subset CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ neutrophil granulocytes in healthy newborns, conditionally healthy children of different age groups and conditionally healthy adult individuals. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 1, pp. 53-61. (In Russ.)]

7. Шмагель К.В., Зубарева Н.А., Ренжин А.В. Местный иммунитет гнойных ран // Медицинская иммунология, 2010. Т. 12, № 4-5. С. 393-398. [Shmagel K.V., Zubareva N.A., Renzhin A.V. Local immunity patterns in purulent wounds. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2010, Vol. 12, no. 4-5, pp. 393-398. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2010-4-5-393-398.

8. Bartlett J.G. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. *Topics in HIV medicine: a publication of the International AIDS Society, USA*, 2008, Vol. 16, no. 5, pp. 151-155.

9. Boer K., Vogelsang H., Deufel T., Pfister W., Kiehntopf M. CD62L on neutrophil granulocytes, a useful, complementary marker for the prediction of ventriculitis in blood-containing CSF. *Clin. Biochem.*, 2010, Vol. 43, no. 16-17, pp. 1351-1355.

10. Boyle J.P., Parkhouse R., Monie T.P. Insights into the molecular basis of the NOD2 signalling pathway. *Open Biol.*, 2014, Vol. 4, no. 12, pp. 140-178.

11. Cortjens B., Ingelse S.A., Calis J.C., Valar A.P., Koendetman L., Bem R.A., van Woensel J.B. Neutrophil subset responses in infants with severe viral respiratory infection. *Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 176, pp. 100-106.

12. Chen K., Nishi H., Travers R., Tsuboi N., Martinod K., Wagner D.D., Stan R., Croce K., Mayadas T.N. Endocytosis of soluble immune complexes leads to their clearance by FcγRIIIB but induces neutrophil extracellular traps via FcγRIIA *in vivo*. *Blood*, 2012, Vol. 120, no. 22, pp. 4421-4431.

13. Dal Ponte S., Alegretti A., Pilger D., Rezende G., Andrioli G., Ludwig H. Diagnostic accuracy of CD64 for sepsis in emergency department. *J. Glob. Infect. Dis.*, 2018, Vol. 10, no. 2, pp. 42-46.

14. de Jong E., de Lange D.W., Beishuizen A., van de Ven P.M., Girbes A.R., Huisman A. Neutrophil CD64 expression as a longitudinal biomarker for severe disease and acute infection in critically ill patients. *Int. J. Lab. Hematol.*, 2016, Vol. 38, no. 5, pp. 576-584.

15. Garley M., Jabłońska E. Heterogeneity among neutrophils. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 2018, Vol. 66, no. 1, pp. 21-30.

16. Hoffmeyer F., Witte K., Schmidt R.E. The high-affinity FcγRI on PMN: regulation of expression and signal transduction. *Immunology*, 1997, no. 92, pp. 544-552.

17. Kobayashi Y. Neutrophil biology: an update. *EXCLI J.*, 2015, no. 14, pp. 220-227.

18. Laman A.G., Lathe R., Shepelyakovskaya A.O., Gartseva A., Brovko F.A., Guryanova S., Alekseeva L., Meshcheryakova E.A., Ivanov V.T. Muramyl peptides activate innate immunity conjointly via YB1 and NOD2. *Innate Immunity*, 2016, Vol. 22, no. 8, pp. 1-8.
19. Rollet-Labelle E., Gilbert C., Naccache P.H. Modulation of human neutrophil responses to CD32 cross-linking by serine/threonine phosphatase inhibitors: cross-talk between serine/threonine and tyrosine phosphorylation. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 164, no. 2, pp. 1020-1028.
20. Scapini P., Marini O., Tecchio C., Cassatella M.A. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions. *Immunol. Rev.*, 2016, Vol. 273, no. 1, pp. 48-60.
21. van der Heijden J., Nagelkerke S., Zhao X., Geissler J., Rispiens T., van den Berg T.K., Kuijpers T.W. Haplotypes of FcγRIIa and FcγRIIb polymorphic variants influence IgG-mediated responses in neutrophils. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 192, no. 6, pp. 2715-2721.
22. Yang F., Feng C., Zhang X., Lu J., Zhao Y. The diverse biological functions of neutrophils, beyond the defense against infections. *Inflammation*, 2017, Vol. 40, no. 1, pp. 311-323.

Авторы:

Нестерова И.В. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар; профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФПК МР Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования РФ, Москва, Россия

Чудилова Г.А. — к.б.н., доцент, заведующая отделом клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Митропанова М.Н. — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой детской стоматологии, ортодонтии и челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Authors:

Nesterova I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar; Professor, Department of Allergology and Immunology, Peoples' Friendship University, Moscow, Russian Federation

Chudilova G.A., PhD (Biology), Associate Professor, Head, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Mitropanova M.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Pediatric Dentistry, Orthodontics and Dentofacial Surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Павленко В.Н. — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Pavlenko V.N., Postgraduate Student, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Ломтатидзе Л.В. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Lomtadze L.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Ковалева С.В. — к.м.н., старший научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Kovaleva S.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Тараканов В.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Tarakanov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pediatric Surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Барова Н.К. — к.м.н., ассистент кафедры хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Barova N.K., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Pediatric Surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Поступила 25.09.2020
Принята к печати 09.01.2021

Received 25.09.2020
Accepted 09.01.2021