

ВЗАИМОСВЯЗЬ ФЕНОТИПА И МЕТАБОЛИЗМА НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА

А.А. Савченко^{1,2}, А.Г. Борисов^{1,2}, И.В. Кудрявцев^{3,4,5}, И.И. Гвоздев¹, А.В. Мошев¹, Д.В. Черданцев², О.В. Первова²

¹ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

² ФГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск, Россия

³ ФГБНУ НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия

⁵ ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение взаимосвязи фенотипа и метаболизма нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом (РГП) в динамике послеоперационного периода. Обследовано 27 пациента с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП. Взятие крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода. В качестве контроля обследовано 67 относительно здоровых людей. Исследование фенотипа нейтрофильных гранулоцитов крови проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови. По средней интенсивности флуоресценции оценивались уровни экспрессии поверхностных рецепторов. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови исследовали с помощью биолюминесцентного метода. Обнаружено, что у больных РГП уже в дооперационном периоде в периферической крови повышено содержание CD62L⁺, HLA-DR⁺ и CD64⁺-нейтрофилов. Высокий уровень содержания CD62L⁺-клеток сохраняется в течение 24 суток послеоперационного периода, тогда как количество HLA-DR⁺ и CD64⁺-нейтрофилов на 24 сутки послеоперационного периода снижается до уровня нормы. Динамике изменения содержания CD64⁺-клеток в периферической крови больных РГП соответствует уровень экспрессии CD64-рецептора на мембране нейтрофильных гранулоцитов. Метаболизм нейтрофилов крови у больных РГП в до- и послеоперационном периоде характеризуется высокой интенсивностью субстратного потока по циклу трикарбонных кислот, низкой активностью НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы и аэробной реакции лактатдегидрогеназы. В дооперационном периоде и в течение 14 дней послеоперационного периода в нейтрофильных гранулоцитах больных выявляется высокая активность анаэробной реакции лактатдегидрогеназы, характеризую-

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12,
Scientific Research Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Библиографическое описание:

Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Гвоздев И.И., Мошев А.В., Черданцев Д.В., Первова О.В. Взаимосвязь фенотипа и метаболизма нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 3. С. 259–270. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-259-270

© Савченко А.А. и соавт., 2017

Citation:

Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Gvozdev I.I., Moshev A.V., Cherdancev D.V., Pervova O.V. The phenotype and metabolism relationship of blood neutrophils in patients with widespread purulent peritonitis in the postoperative period dynamics // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 259–270. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-259-270

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2017-3-259-270>

шая повышенную активность анаэробного гликолиза. В конце послеоперационного периода интенсивность анаэробной энергетики в нейтрофилах больных РГП снижается до контрольного уровня. Завершающий этап послеоперационного лечения со стороны метаболизма нейтрофилов крови больных РГП также характеризуется активацией пентозофосфатного цикла, низкой активностью малат-аспартатного шунта митохондрий и высокой интенсивностью субстратного взаимодействия между лимонным циклом и реакциями аминокислотного обмена. С помощью корреляционного анализа установлена дизрегуляция между фенотипом и системой внутриклеточного метаболизма нейтрофилов, которая может определяться миграцией активированных клеток в очаг воспаления, а также изменением активности внутриклеточных ферментов под воздействием различных регуляторных факторов и, в том числе, методов послеоперационной терапии перитонита.

Ключевые слова: перитонит, послеоперационный период, нейтрофильные гранулоциты, фенотип, метаболизм, активность ферментов.

THE PHENOTYPE AND METABOLISM RELATIONSHIP OF BLOOD NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS IN THE POSTOPERATIVE PERIOD DYNAMICS

Savchenko A.A.^{a,b}, Borisov A.G.^{a,b}, Kudryavcev I.V.^{c,d,e}, Gvozdev I.I.^a, Moshev A.V.^a, Cherdancev D.V.^b, Pervova O.V.^b

^a Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation

^c Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^d Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

^e Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to examine the relationship of the phenotype and metabolism of neutrophils in patients with widespread purulent peritonitis (WPP) in the dynamics of the postoperative period. The study involved 27 patients with acute surgical diseases and injuries of abdominal organs complicated by WPP. Blood sampling was performed prior to surgery (pre-operative period) and at 7, 14 and 24 day post-operative period. As controls 67 respect healthy people were examined. Research blood neutrophilic granulocytes phenotype was performed by flow cytometry using a direct immunofluorescence whole peripheral blood. The levels of surface receptor expression was assessed by the mean fluorescence intensity. The NAD- and NADP-dependent dehydrogenases activity in the blood neutrophils studied using bioluminescence method. It was found that in patients with WPP in the preoperative period in the peripheral blood increased content of CD62L⁺, HLA-DR⁺ and CD64⁺-neutrophils. High levels of CD62L⁺-cells stored within 24 postoperative days, whereas the amount of HLA-DR⁺ and CD64⁺-neutrophils on 24 postoperative day is reduced to the level of controls. The dynamics of changes in the content of CD64⁺-cells in the peripheral blood of patients with WPP corresponds to the expression level of CD64-receptor on the membrane of neutrophilic granulocytes. The metabolism of blood neutrophils in patients with WPP in the pre- and postoperative period is characterized by high intensity of the substrate stream on the citric acid cycle, low activity of NADP-dependent glutamate dehydrogenase and aerobic reaction of lactate dehydrogenase. In the preoperative period and within 14 days of the postoperative period in neutrophil granulocytes of the patients revealed high activity of anaerobic lactate dehydrogenase reaction characterized by increased activity of anaerobic glycolysis. In the late postoperative period the intensity of anaerobic energy in the neutrophils of patients with WPP was reduced to the control level. The final stage of post-operative treatment the metabolism in the blood neutrophils of patients with WPP is also characterized by the activation of the pentose phosphate cycle, low activity of malate-aspartate shunt mitochondria and high intensity of the substrate interaction between citric acid cycle and reactions of amino acid metabolism. Using correlation analysis set dysregulation between phenotype and the system of intracellular metabolism of neutrophils which can be determined by the migration of activated cells in the inflammatory focus as well as changes in the activity of intracellular enzymes under different regulatory factors and including postoperative therapy methods peritonitis.

Key words: peritonitis, post-operative period, neutrophil granulocytes, phenotype, metabolism, enzyme activity.

Введение

Активное участие системы иммунитета во многих жизненно важных процессах организма приводит к тому, что нарушения иммунореактивности обуславливают широкое как функциональное, так и структурное (патоморфологическое) многообразие проявлений патологий человека [4, 5]. Показано, что распростра-

ненный гнойный перитонит (РГП) протекает на фоне иммунодефицита, а в терминальной стадии (полиорганной недостаточности) иммунная недостаточность наиболее выражена [4, 18]. Предполагается, что нарушения в иммунной системе имеют решающее значение для возникновения различных осложнений заболевания.

Характер течения инфекционно-воспалительного процесса в брюшной полости при

РГП во многом определяются функциональной активностью нейтрофильных гранулоцитов. Нейтрофилы представляют собой высокореактивный тип клеток иммунной системы, они быстро мобилизуются в очаг воспаления, от их фагоцитарной активности во многом зависит эффективность противомикробной защиты организма [4, 5, 18]. Доказано, что нейтрофильные гранулоциты являются не только эффекторными (фагоцитирующими) клетками, но и регуляторными, так как синтезируют широкий спектр цитокинов, которые также включаются в регуляторный комплекс иммуновоспалительных реакций [4, 14, 27].

Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов зависит от уровня экспрессии различных рецепторов [8, 11, 20]. Так, миграция клеток из кровеносного русла в опухоль определяется экспрессией адгезионных молекул [8, 13, 17]. Экспрессия рецепторов для Fc-фрагмента иммуноглобулинов на поверхности нейтрофилов формирует пул армированных фагоцитов, участвующих в процессе антителозависимой цитотоксичности [10, 11, 26]. Учитывая, что все регуляторные и антигенные молекулы реализуют свое воздействие на клетку через рецепторы, влияя на экспрессию генов, модулируя энергетические и пластические реакции, функциональные проявления нейтрофилов не могут не иметь метаболической основы [3, 12, 23]. РГП сопровождается избыточным поступлением в биологические среды организма микробных антигенов и бактериальных токсинов, источниками которых являются гнойно-деструктивные очаги в брюшной полости, перитонеальный экссудат и паралитически измененные петли кишечника [4, 18]. В связи с этим, активность внутриклеточных ферментов в нейтрофилах будет с одной стороны определять уровень их реактивности, с другой стороны, — модулироваться нарушениями гомеостаза, развивающимися при инфекционно-воспалительном процессе.

Таким образом, целью исследования явилось изучение взаимосвязи фенотипа и метаболизма нейтрофильных гранулоцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

В качестве показателей внутриклеточного метаболизма выбраны НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы в связи с тем, что, во-первых, основными переносчиками электронов в клетках являются пиридиновые нуклеотиды, а отсюда — активное участие оксидоредуктаз в биоэнергетических процессах; во-вторых, НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы, участвуя в направленной координации сопряженных метаболических потоков, в значительной степени обуславливают адаптивные изменения клеточного обмена веществ [1, 3, 24].

Материалы и методы

На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» обследовано 27 пациента с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 30–65 лет. Из исследования были исключены пациенты, у которых причиной РГП являлись: острый деструктивный панкреатит (панкреонекроз), тотальный мезентериальный тромбоз, онкологические заболевания, туберкулез. Объем оперативного вмешательства и количество санаций определялись лечащим врачом в зависимости от состояния больного. Забор крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода. В качестве контроля обследовано 67 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Исследование фенотипа нейтрофильных гранулоцитов крови проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с применением моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченых FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7): CD11b, CD62L, CD16, CD23, CD64 и HLA-DR. По средней интенсивности флуоресценции (MFI — Mean Fluorescence Intensity) оценивались уровни экспрессии поверхностных рецепторов. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [2]. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [16]. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента VersaLyse (Beckman Coulter, США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, США). В каждой пробе анализировали не менее 50 000 нейтрофилов.

Нейтрофильные гранулоциты выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина: $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ — для отделения лимфоцитов, $\rho = 1,119 \text{ г/см}^3$ — для выделения нейтрофилов. Для проведения биолюминесцентного анализа активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой

Таблица 1. Фенотип нейтрофильных гранулоцитов у больных РПП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)
 Table 1. The phenotype of neutrophilic granulocytes in patients with WPP in the dynamics of the postoperative period (Median values, C₂₅-C₇₅)

Показатели Parameters	Контроль, n = 67 Control		Дооперационный период, n = 27 Preoperative period		7 сутки после операции, n = 25 7 days after surgery		14 сутки после операции, n = 21 14 days after surgery		24 сутки после операции, n = 21 24 days after surgery	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Нейтрофилы Neutrophils, 10 ⁹ /л	3,13	2,55-3,86	7,76	5,32-10,26	5,35	3,86-10,23	4,48	3,30-6,45	5,16	3,05-6,62
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,001		p ₁ = 0,022; p ₂ = 0,043	
CD62L⁺, %	5,2	2,5-7,5	6,2	4,2-8,5	5,6	3,8-6,9	6,7	3,5-8,1	7,0	4,8-8,9
	0,17	0,06-0,23	0,49	0,28-0,69	0,30	0,28-0,48	0,24	0,20-0,38	0,30	0,27-0,33
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,014; p ₂ = 0,034		p ₁ = 0,015; p ₂ = 0,041	
CD23⁺, %	6,3	4,9-7,7	5,7	2,2-7,5	6,1	1,5-8,7	5,3	3,1-5,6	5,3	5,2-5,8
							p ₂ = 0,043; p ₃ = 0,043		p ₂ = 0,048	
CD23⁺, 10⁹/L	0,18	0,13-0,22	0,34	0,15-0,58	0,32	0,16-0,62	0,21	0,14-0,26	0,18	0,12-0,28
							p ₂ = 0,028; p ₃ = 0,043		p ₂ = 0,043; p ₃ = 0,044	
HLA-DR⁺, %	98,3	94,3-99,2	73,4	42,4-96,4	90,7	60,0-96,7	94,9	75,0-97,3	96,1	95,3-96,6
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,005; p ₃ = 0,023			
HLA-DR⁺, 10⁹/L	2,77	2,02-3,48	4,95	1,64-7,55	4,25	2,28-7,52	3,27	1,78-4,25	5,01	2,92-5,36
							p ₂ = 0,034; p ₃ = 0,012			
CD64⁺, %	14,8	5,5-62,1	69,7	27,1-90,0	64,2	23,1-90,5	25,8	13,9-71,3	18,7	7,9-40,5
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,034		p ₂ = 0,023; p ₃ = 0,028	
CD64⁺, 10⁹/L	0,41	0,14-2,03	1,72	1,47-3,71	1,74	1,12-3,32	1,02	0,40-3,41	0,45	0,11-2,33
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,048		p ₂ = 0,018; p ₃ = 0,033	
MFI HLA-DR⁺, o.e. relative units	1,70	1,53-1,86	1,48	1,32-1,91	1,65	1,41-2,48	1,75	1,39-3,92	1,38	1,02-1,88
							p ₂ = 0,023		p ₃ = 0,045	
MFI CD64⁺, o.e. relative units	2,23	1,62-3,45	11,50	6,41-31,30	5,02	3,15-16,70	5,07	3,95-7,29	2,69	1,48-3,55
			p ₁ < 0,001		p ₁ = 0,001		p ₁ = 0,004		p ₂ < 0,001	

Примечание: статистически значимые различия: p₁ — с показателями контрольной группы; p₂ — с показателями больных, находящихся в дооперационном периоде; p₃ — с показателями на 7 сутки после операции; p₄ — с показателями на 14 сутки после операции.
 Note: p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 7 days after surgery patients with WPP; p₄ — statistically significant differences versus 14 days after surgery patients with WPP.

реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ, соответственно) и глутатионредуктазы (ГР) нейтрофилы разрушали путем осмотического лизиса с добавлением 2 мМ дитиотреитола [3]. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на 10^4 [1]. Исследование проводили на ферментативном препарате NAD(P): FMNоксидоредуктаза-люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (получен в Институте биофизики СО РАН, Красноярск).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Достоверность различий между показателями зависимых выборок (сравнение в динамике лечения) оценивали по непараметрическому критерию Вилкоксона. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

Системная воспалительная реакция у больных РГП уже в дооперационном периоде проявляется значительным увеличением (в 2,5 раза) абсолютного количества нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови (табл. 1). В послеоперационном периоде наблюдается тенденция к снижению абсолютного уровня нейтрофилов, но на 24 сутки обследование сохраняется повышенное количество клеток относительно контрольных значений. В дооперационном периоде у больных в 2,9 раза относительно контрольного уровня повышается абсолютное содержание CD62L⁺-нейтрофилов, в послеоперационном периоде также наблюдается тенденция к снижению их количества, но при сохранении высоких значений на 24 сут-

ки лечения. Процентное и абсолютное количество CD23⁺-нейтрофилов в крови у больных РГП в дооперационном периоде соответствует контрольным значениям. Однако на 14 сутки послеоперационного периода наблюдается снижение содержания клеток с экспрессией CD23-рецептора относительно исходного уровня, которое сохраняется и на 24 сутки обследования. Уже на уровне дооперационного периода у больных РГП по сравнению с контрольным диапазоном снижается относительное количество HLA-DR⁺-нейтрофилов. Пониженное процентное и абсолютное содержание клеток, экспрессирующих HLA-DR-маркер, сохраняется на 7 и 14 сутках послеоперационного периода, после чего повышается до контрольного уровня. При этом средняя интенсивность флуоресценции данного маркера на нейтрофилах у пациентов с РГП на всем протяжении обследования соответствовала контрольному диапазону с незначительной динамикой относительно исходного уровня на 14 и 24 сутки послеоперационного периода. Более чем в 4 раза относительно контрольных значений у больных РГП в дооперационном периоде повышается относительное и абсолютное количество CD64⁺-нейтрофилов. На 7 и 14 сутки после операции повышенное количество CD64⁺-нейтрофилов сохраняется, но на 24 сутки послеоперационного периода — снижается до контрольного диапазона. Подобная же динамика сохраняется и для средней интенсивности флуоресценции CD64: в дооперационном периоде MFI CD64 превышает контрольный диапазон в 5,2 раза, сохраняется на повышенном уровне на 7 и 14 сутки после операции, но 24 сутки послеоперационного периода понижается до контрольных значений.

При исследовании активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови обнаружено, что активность Г6ФДГ значительно повышается относительно контрольных значений в клетках больных РГП на 14 сутки после операции и остается повышенной на 24 сутки послеоперационного периода (табл. 2). В то же время, активность НАДФГДГ понижена у обследованных пациентов с РГП уже в дооперационном периоде и сохраняется на низком уровне весь период обследования. Внутриклеточная активность остальных НАДФ-зависимых дегидрогеназ нейтрофилов крови у больных РГП в до- и послеоперационном периоде соответствует контрольному диапазону.

При исследовании активности НАД-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови обнаружено, что внутриклеточная активность Г3ФДГ у больных РГП относительно контрольного уровня повышена в дооперационном периоде (табл. 3). После операции активность фермента повышается до контрольных значений.

Таблица 2. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)
 Table 2. The activity of NADP-dependent dehydrogenases (mkU) in the neutrophils by patients with WPP in the dynamics of the postoperative period (Median values, C₂₅-C₇₅)

Показатели Parameters	Контроль, n = 67 Control		Дооперационный период, n = 27 Preoperative period		7 сутки после операции, n = 25 7 days after surgery		14 сутки после операции, n = 21 14 days after surgery		24 сутки после операции, n = 21 24 days after surgery	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Г6ФДГ Glu6PDH	0,89	0,01-4,18	0,62	0,05-66,24	0,33	0,07-3,39	11,97	1,95-30,48	5,31	0,99-21,06
НАДФМДГ NADP-MDH	0,03	0,01-0,86	0,02	0,01-0,78	0,02	0,01-0,85	0,02	0,01-0,69	0,02	0,01-0,78
НАДФГДГ NADP-GluDH	0,16	0,01-2,31	0,02	0,01-0,46	0,02	0,01-0,14	0,02	0,01-0,12	0,02	0,01-0,23
НАДФИЦДГ NADP-ICDH	1,35	0,05-5,88	0,83	0,18-3,25	0,88	0,16-3,31	0,83	0,09-2,93	0,38	0,08-1,62
ГР/GR	1,14	0,11-6,68	0,17	0,05-15,46	4,67	0,23-15,56	17,49	0,33-15,47	1,12	0,15-14,48
НАДФН-ГДГ NADPH-GluDH	12,48	4,42-31,40	16,26	8,11-40,40	4,43	0,41-15,04	35,10	9,49-60,22	23,23	12,97-48,92

Примечание: то же, что и для табл. 1.
 Note: the same as for Table 1.

В дооперационном и на всем протяжении послеоперационного периода в нейтрофилах крови больных РГП относительно контрольного уровня снижена активность ЛДГ. Активность МДГ и НАДИЦДГ в клетках обследованных пациентов с РГП повышена относительно контрольных значений в до- и послеоперационном периоде. Активность НАДФГДГ в нейтрофилах крови больных РГП понижена в дооперационном периоде, повышается до контрольного уровня на 7 сутки после операции и затем значительно возрастает относительно исходных значений и контрольного диапазона на 24 сутки послеоперационного периода. Активность НАДН-ЛДГ в нейтрофилах пациентов с РГП повышена относительно контрольного диапазона в дооперационном периоде и на 7 и 14 сутки после операции, но резко снижается (по сравнению с контрольными и исходными значениями) на 24 сутки послеоперационного периода. На 24 сутки послеоперационного периода активность НАДН-МДГ в нейтрофилах больных РГП снижается, как относительно контрольного уровня, так и значений, которые выявлены в предыдущие периоды обследования у пациентов с РГП. Кроме того, обнаружено, что активность НАДН-ГДГ в клетках обследованных больных повышена на 14 и 24 сутки послеоперационного периода относительно контрольных значений.

С помощью корреляционного анализа установлено, что у лиц контрольной группы относительное количество HLA-DR⁺-нейтрофилов положительно взаимосвязано с активностью ГР (r = 0,88, p = 0,008). Также у лиц контрольной группы обнаружены положительные корреляции средней интенсивности флуоресценции HLA-DR с НАДФМДГ (r = 0,79, p = 0,033), а CD64 с ГР (r = 0,85, p = 0,016).

У больных РГП в дооперационном периоде активность МДГ положительно взаимосвязана с относительным и абсолютным количеством HLA-DR⁺-нейтрофилов (r = 0,63, p = 0,021 и r = 0,79, p = 0,001 соответственно). Также выявляется положительная взаимосвязь между активностью ГР и процентным уровнем HLA-DR⁺-нейтрофилов (r = 0,56, p = 0,046).

На 7 сутки послеоперационного периода у больных РГП относительное количество CD62L⁺ нейтрофилов положительно взаимосвязано с активностью НАДФГДГ (r = 0,59, p = 0,041) и отрицательно — с активностью НАДФН-ГДГ (r = -0,61, p = 0,034). У пациентов на данный период обследования процентный уровень CD64⁺ клеток отрицательно коррелирует с активностью НАДИЦДГ (r = -0,90, p = 0,037), тогда как средняя интенсивность флуоресценции положительно взаимосвязана с активностью Г6ФДГ (r = 0,90, p = 0,037), НАДФМДГ (r = 0,97, p = 0,005), НАДФГДГ (r = 0,89, p = 0,041) и МДГ (r = 0,90, p = 0,037).

Таблица 3. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) нейтрофилов у больных РПП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅-C₇₅)
 Table 3. The activity of NAD-dependent dehydrogenases (mku) in the neutrophils by patients with WPP in the dynamics of the postoperative period (Median values, C₂₅-C₇₅)

Показатели Parameters	Контроль, n = 67 Control		Дооперационный период, n = 27 Preoperative period		7 сутки после операции, n = 25 7 days after surgery		14 сутки после операции, n = 21 14 days after surgery		24 сутки после операции, n = 21 24 days after surgery	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
ГЗФДГ Gly3PDH	0,32	0,01-1,72	0,01	0,005-0,17	0,49	0,01-1,79	0,17	0,01-0,78	0,50	0,02-0,94
ЛДГ LDH	10,90	0,89-50,65	1,49	0,55-8,10	0,74	0,08-2,33	1,01	0,18-5,97	0,71	0,49-2,04
МДГ MDH	1,95	0,22-10,80	25,77	10,54-93,20	85,76	4,04-121,51	63,84	7,49-100,11	91,35	45,93-161,81
НАДГДГ NAD-GluDH	0,67	0,01-2,60	0,05	0,01-0,61	0,20	0,10-5,00	0,12	0,08-1,80	14,29	3,87-26,03
НАДИЦДГ NAD-ICDH	0,02	0,01-0,65	2,78	1,41-6,49	6,86	1,26-10,95	6,92	3,12-11,50	10,69	2,66-22,17
НАДН-ЛДГ NADH-LDH	2,39	0,12-18,88	13,81	7,54-36,27	16,38	2,91-47,04	12,26	1,11-23,10	0,28	0,01-2,88
НАДН-МДГ NADH-MDH	15,80	3,67-55,78	22,01	9,94-37,79	33,99	5,73-56,42	12,20	2,00-28,31	0,08	0,01-4,15
НАДН-ГДГ NADH-GluDH	5,98	0,02-16,39	7,95	4,44-12,37	9,88	8,23-25,90	15,93	12,16-29,49	14,19	9,25-59,02

Примечание: то же, что и для табл. 1.
 Note: the same as for Table 1.

На 14 и 24 сутки послеоперационного периода у больных РГП корреляционных взаимосвязей между фенотипом нейтрофилов крови и внутриклеточной ферментов не обнаружено.

Обсуждение

Воспалительная реакция у больных РГП характеризуется увеличением содержания нейтрофилов в периферической крови уже в дооперационном периоде и наличием тенденции к снижению (но при сохранении на повышенном уровне) количество гранулоцитов к концу наблюдаемого периода (24 сутки). Функциональные особенности нейтрофильных гранулоцитов в значительной степени определяются их фенотипом. Обнаружено, что в до- и послеоперационном периоде у больных РГП повышено абсолютное количество нейтрофилов, экспрессирующих CD62L-маркер. Молекула CD62L является мембранным гликопротеином, принадлежащий к семейству L-селектинов, который экспрессируется на широком спектре клеток иммунной системы [5, 13]. Рецептор обеспечивает слабые межклеточные взаимодействия, благодаря которым движение нейтрофильных гранулоцитов в кровотоке замедляется и происходит их экстравазация [8, 17]. При этом необходимо отметить, что повышение CD62L⁺-нейтрофилов связано с общим нейтрофилезом у обследованных пациентов. Иммуновоспалительные реакции РГП определяют не только выброс повышенного количества нейтрофильных гранулоцитов из костного мозга, но их активацию и ускоренную миграцию из сосудистого русла.

С 14 суток послеоперационного периода у больных РГП наблюдается относительное понижение в периферической крови содержания CD23⁺-нейтрофилов (по сравнению с исходным уровнем и выявленным на 7 сутки послеоперационного периода). Гликопротеин CD23 является низкоаффинным рецептором IgE [14, 25]. На нейтрофилах данный маркер экспрессируется под воздействием интерлейкина-4 и характеризует функциональную активацию клеток [14, 27]. Ранее нами было показано, что у больных РГП повышается содержание Th2-клеток, что связано с реакцией иммунной системы на бактериальную инфекцию [4]. По-видимому, в результате проведенной операции и последующего лечения у больных снижается активность Th2-зависимых реакций, что, соответственно, и приводит к относительному снижению количества CD23⁺-нейтрофилов в крови.

У больных РГП в дооперационном периоде снижается относительное количество HLA-DR⁺-нейтрофилов, которое к концу наблюдаемого периода восстанавливается до контрольных значений. В то же время, абсолютное

количество HLA-DR⁺-клеток на 7 и 14 сутки послеоперационного периода повышены, что связано с высоким уровнем общих нейтрофилов в периферической крови. Кроме того, на 14 сутки послеоперационного периода у больных РГП значительно возрастает уровень экспрессии HLA-DR (средний уровень флуоресценции) на поверхности нейтрофилов относительно значений, выявленных в дооперационном периоде. HLA-DR-рецептор является продуктом главного комплекса гистосовместимости II класса, принимает участие в презентации антигенов [5]. Высокий уровень HLA-DR⁺-нейтрофилов и повышенную экспрессию данного маркера, прежде всего, связывают с бактериемией и внеклеточным ацидозом, которые развиваются при различных воспалительных процессах [19, 26, 28]. Соответственно, в результате проведенного лечения интенсивность воспалительных процессов снижается, что на 24 сутки послеоперационного периода приводит к снижению содержания HLA-DR⁺-нейтрофилов в периферической крови и экспрессии активационного маркера.

Содержание CD64⁺-нейтрофилов в крови больных РГП в до- и послеоперационном периоде изменяется аналогично уровню HLA-DR⁺-клеток: в дооперационном периоде значительное превышение контрольных значений, к концу наблюдаемого периода лечения — нормализация. Экспрессия CD64-антигена также повышена в дооперационном периоде и на 24 сутки наблюдения снижается до контрольных значений. CD64 (FcγRI) — является высокоаффинным рецептором к Fc-фрагментам иммуноглобулинов G, является биомаркером бактериальных инфекций [10, 11, 20]. Фагоцитирующие клетки при экспрессии данного рецептора могут удерживать на своей поверхности большое число молекул антител одной специфичности, что обеспечивает специфическое распознавание патогена клетками.

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции на разных метаболических путях клетки, характеризуя основные обменные процессы и тем самым, определяя функциональные возможности нейтрофилов. Так, Г6ФДГ является ключевым и инициализирующим ферментом пентозофосфатного цикла, от активности которого зависит широкий спектр реакций макромолекулярного синтеза и, как следствие этого, значимость фермента в проявлении функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов [1, 7, 29]. Активность фермента повышается в нейтрофилах крови больных РГП на завершающем этапе лечения (14 и 24 сутки послеоперационного периода), тем самым характеризуя высокую реактивность фагоцитирующих клеток.

Нейтрофилы являются клетками с небольшим количеством митохондрий [21]. В связи с этим, большинство энергозависимых про-

цессов реализуется за счет аденозинтрифосфата (АТФ), нарабатанного в гликолизе [4]. Доказано, что при стимуляции функциональной активности нейтрофилов с помощью липополисахаридов бактериального происхождения наблюдается транслокация переносчиков глюкозы на мембрану клеток с последующим повышением интенсивности анаэробного гликолиза [21, 23]. Блокирование транспорта глюкозы в клетку приводило к ингибированию функциональной активности нейтрофилов. В связи с этим, повышение активности анаэробной реакции ЛДГ (терминальной реакции гликолиза) в нейтрофильных гранулоцитах больных РГП в дооперационном периоде и до 14 суток послеоперационного периода определяет высокий уровень анаэробных энергетических процессов и, соответственно, функциональные возможности клеток. К концу периода наблюдения активности фермента снижается, что, по-видимому, связано со снижением интенсивности воспалительных процессов и реактивности фагоцитирующих клеток. Необходимо отметить, что активность аэробной реакции ЛДГ в нейтрофилах больных РГП снижено как в до-, так и послеоперационном периоде. Подобное состояние может определяться реакцией ингибирования аэробной ЛДГ пируватом, который нарабатывается в анаэробном гликолизе. Активность анаэробной энергетики также могут стимулировать продукты липидного катаболизма, которые через ГЗФДГ переносятся на окислительно-восстановительные реакции гликолиза [1, 22]. Активность данного фермента в нейтрофилах крови очень низка в дооперационном периоде, в послеоперационном — восстанавливается.

Цикл трикарбоновых кислот, локализующийся в митохондриях, по сути, выполняет роль амфиболического процесса, объединяя все основные внутриклеточные пути обмена [6, 15]. Мы исследовали уровни активности двух ферментов цикла трикарбоновых кислот — МДГ и НАДИЦДГ. Обнаружено, что активность обоих ферментов в нейтрофилах крови больных РГП повышена, как в до-, так и послеоперационном периоде. Подобное состояние двух оксидоредуктаз цикла Кребса характеризует субстратный поток высокой интенсивности, что положительно повлияет на активность аэробного дыхания. Необходимо отметить, аэробное дыхание вносит незначительный вклад в общую энергетику нейтрофильных гранулоцитов, однако высокая активность дыхательной цепи может стимулировать входение клетки в апоптоз [12, 21]. На 24 сутки послеоперационного периода у больных РГП в нейтрофилах крови наблюдается значительное снижение активности НАДН-зависимой реакции МДГ. Данная реакция является ключевой в системе малат-аспаратного

шунта митохондрий [1]. Снижение активности НАДН-МДГ характеризует понижение водородного градиента в митохондриях и, соответственно, ингибировании уровня аэробного дыхания.

Цикл трикарбоновых кислот тесно взаимодействует с реакциями аминокислотного обмена. Глутаматдегидрогеназы, осуществляя данную взаимосвязь, также являются ключевыми ферментами в реакциях азотного обмена [1, 24]. Обнаружено, что в нейтрофилах больных РГП в течение всего наблюдаемого периода снижена активность НАДФГДГ, в дооперационном периоде понижена активность НАДГДГ с последующим повышением к 24 суткам послеоперационного периода, а также выявляется повышение активности НАДН-ГДГ на 14 и 24 сутках послеоперационного периода. Подобное состояние активности исследуемых глутаматдегидрогеназ характеризует ингибирование субстратного взаимодействия между цитратным циклом и реакциями аминокислотного обмена в начальном периоде лечения и активацию — в конце послеоперационного лечения.

С помощью корреляционного анализа установлены взаимосвязи между фенотипическим составом нейтрофилов и активностью НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ. Так, у здоровых людей обнаружена положительная взаимосвязь между относительным количеством HLA-DR⁺-нейтрофилов и активностью ГР, причем внутриклеточная активность ГР также положительно коррелирует с MFI CD64, а MFI HLA-DR — с активностью НАМФМДГ. Малик-фермент (НАДФМДГ) определяется как ключевой в системе липидного анаболизма [1]. ГР является ферментом глутатион-зависимой антиоксидантной системы [9]. Восстановление глутатиона осуществляется за счет НАДФН, который нарабатывается с помощью НАДФМДГ и в пентозофосфатном цикле. Таким образом, уровень экспрессии активационных маркеров на мембране нейтрофилов и изменение количества клеток в крови, экспрессирующих данные маркеры, взаимосвязано с интенсивностью внутриклеточных перекисных процессов и анаболизма липидов.

У больных РГП в дооперационном периоде количество HLA-DR⁺-нейтрофилов положительно взаимосвязано с активностью МДГ и ГР, что позволяет заключить зависимость содержания активированных нейтрофильных гранулоцитов от интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот и уровня глутатион-зависимой антиоксидантной системы. На 7 сутки послеоперационного периода процентное количество CD62L⁺-нейтрофилов находится в прямой зависимости с внутриклеточной активностью НАДГДГ и в обратной — с НАДФН-ГДГ, тогда как уровень экспрессии HLA-DR зависит от активности Г6ФДГ, малик-фермента, НАДФГДГ и МДГ.

Можно заключить, что на ранней стадии послеоперационного периода метаболический механизм, определяющий миграционную активность нейтрофильных гранулоцитов, определяется направленностью субстратного потока и обмена азота в реакциях, связывающих цикл трикарбоновых кислот и аминокислотный обмен. В то же время, уровень экспрессии CD64-рецептора на мембране нейтрофилов напрямую зависит от интенсивности пентозофосфатного цикла, липидного анаболизма, а также состояния субстратного потока по лимонному циклу и его стимулирования через НАДФГДГ. Необходимо также подчеркнуть, что в реакциях, катализируемых Г6ФДГ, НАДФМДГ и НАДФГДГ, осуществляется восстановление НАДФ⁺ до НАДФН. Восстановленный никотинамиддинуклеотидфосфат может быть использован в реакциях НАДФН-оксидазы для синтеза супероксид-радикала (наиболее бактерицидная активная форма кислорода), антиоксидантной системы и макромолекулярного синтеза. На 14 и 24 сутки взаимосвязи между фенотипом нейтрофилов и внутриклеточной активностью исследуемых оксидоредуктаз отсутствуют, что, по-видимому, определяется миграцией активированных клеток в очаг воспаления, изменением активности внутриклеточных ферментов под воздействием различных регуляторных факторов и, в том числе, методов послеоперационной терапии РГП.

Таким образом, у больных РГП уже в дооперационном периоде повышено содержание CD62L⁺-, HLA-DR⁺- и CD64⁺-нейтрофилов в крови. Высокий уровень содержания CD62L⁺-клеток сохраняется в течение 24 суток послеоперационного периода, тогда как количество HLA-DR⁺- и CD64⁺-нейтрофилов на 24 сутки послеоперационного периода снижается до контрольного уровня. Динамике изменения содержания CD64⁺-клеток в периферической крови больных РГП соответствует уровень экспрессии CD64-рецептора на мембране нейтрофильных гранулоцитов. Метаболизм нейтрофилов крови у больных РГП в до- и послеоперационном периоде характеризуется высокой интенсивностью субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, низкой активностью НАДФГДГ и аэробной реакции ЛДГ. В дооперационном периоде и в течение 14 дней послеоперационного периода в нейтрофильных грануло-

цитах больных выявляется высокая активность анаэробной реакции ЛДГ, характеризующая повышенную активность анаэробного гликолиза. В конце послеоперационного периода интенсивность анаэробной энергетики в нейтрофилах больных РГП снижается до контрольного уровня. Завершающий этап послеоперационного лечения со стороны метаболизма нейтрофилов больных РГП также характеризуется активацией пентозофосфатного цикла, низкой активностью малат-аспартатного шунта митохондрий и высокой интенсивностью субстратного взаимодействия между лимонным циклом и реакциями аминокислотного обмена. С помощью корреляционного анализа установлено, что если у здоровых людей количество нейтрофилов с экспрессией активационных маркеров и уровень их экспрессии на мембране взаимосвязан с состоянием с интенсивностью внутриклеточных перекисных процессов и анаболизма липидов, то у больных РГП в дооперационном периоде количество HLA-DR⁺-нейтрофилов в крови взаимосвязано с интенсивностью субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот и глутатион-зависимой антиоксидантной системы. На 7 сутки послеоперационного периода выявляются корреляционные взаимосвязи, определяющие метаболический механизм миграционной активности нейтрофильных гранулоцитов, а также зависимость уровня экспрессии высокоаффинного рецептора к Fc-фрагментам иммуноглобулинов G от активности липидного анаболизма, субстратного потока по лимонному циклу и его стимулирования через НАДФГДГ. На 14 и 24 сутки послеоперационного периода взаимосвязи между фенотипом нейтрофилов и внутриклеточной активностью исследуемых оксидоредуктаз у больных РГП отсутствуют. Предполагается, что подобная дисрегуляция между фенотипом и системой внутриклеточного метаболизма нейтрофилов связана с миграцией активированных клеток в очаг воспаления, изменением активности внутриклеточных ферментов под воздействием различных регуляторных факторов и, в том числе, методов послеоперационной терапии перитонита.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности».

Список литературы/References

1. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2012. 456 с. [Knorre D.G., Myzina S.D. *Biologicheskaya khimiya* [Biological chemistry]. *Novosibirsk: Publishing House of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2012. 456 p.*]
2. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестичетного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 1. С. 19–26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2015, vol. 17, no. 1, pp. 19–26. doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26 (In Russ.)*]

3. Савченко А.А. Определение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах биолюминесцентным методом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159, № 5. С. 656–660. [Savchenko A.A. Evaluation of NAD(P)-dependent dehydrogenase activities in neutrophilic granulocytes by the bioluminescent method. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 159, no. 5, pp. 656–660. doi: 10.1007/s10517-015-3049-8 (In Russ).]
4. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г. Иммунометаболические нарушения при распространенном гнойном перитоните. Новосибирск: Наука, 2013. 142 с. [Savchenko A.A., Zdzitoveckij D.E., Borisov A.G. Immunometabolicheskie narusheniya pri rasprostranennom gnoynom peritonite [Immune and metabolic disorders by the widespread purulent peritonitis]. *Novosibirsk: Nauka*, 2013. 142 p.]
5. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunologiya [Immunology]. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2010, 752 p.]
6. Akram M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell Biochem. Biophys.*, 2014, vol. 68, no. 3, pp. 475–478. doi: 10.1007/s12013-013-9750-1
7. Azevedo E.P., Rochael N.C., Guimarães-Costa A.B., De Souza-Vieira T.S., Ganihlo J., Saraiva E.M., Palhano F.L., Foguel D. A metabolic shift toward pentose phosphate pathway is necessary for amyloid fibril- and phorbol 12-myristate 13-acetate-induced neutrophil extracellular trap (NET) formation. *J. Biol. Chem.*, 2015, vol. 290, no. 36, pp. 22174–22183. doi: 10.1074/jbc.M115.640094
8. Boer K., Vogelsang H., Deufel T., Pfister W., Kiehltopf 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. doi:10.1016/j.clinbiochem.2010.07.003
9. Couto N., Wood J., Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic. Biol. Med.*, 2016, vol. 95, pp. 27–42. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028
10. Dang Y., Lou J., Yan Y., Yu Y., Chen M., Sun G., Li N. The role of the neutrophil Fcγ receptor I (CD64) index in diagnosing spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients. *Int. J. Infect. Dis.*, 2016, vol. 49, pp. 154–160. doi: 10.1016/j.ijid.2016.06.021
11. 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. doi: 10.1111/ijlh.12545
12. Deng X., Deng T., Ni Y., Zhan Y., Huang W., Liu J., Liao C. Cytochrome c modulates the mitochondrial signaling pathway and polymorphonuclear neutrophil apoptosis in bile duct-ligated rats. *Exp. Ther. Med.*, 2016, vol. 12, no. 1, pp. 333–342. doi: 10.3892/etm.2016.3313
13. Genel F., Atlihan F., Gulez N., Kazanci E., Vergin C., Terek D.T., Yurdun O.C. Evaluation of adhesion molecules CD64, CD11b and CD62L in neutrophils and monocytes of peripheral blood for early diagnosis of neonatal infection. *World J. Pediatr.*, 2012, vol. 8, no. 1, pp. 72–75. doi: 10.1007/s12519-011-0304-6
14. Lavoie-Lamoureux A., Moran K., Beauchamp G., Mauel S., Steinbach F., Lefebvre-Lavoie J., Martin J.G., Lavoie J.P. IL-4 activates equine neutrophils and induces a mixed inflammatory cytokine expression profile with enhanced neutrophil chemotactic mediator release ex vivo. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2010, vol. 299, no. 4, pp. L472–L482. doi: 10.1152/ajplung.00135.2009
15. Macedo L.W., Cararo J.H., Maravai S.G., Gonçalves C.L., Oliveira G.M., Kist L.W., Guerra Martinez C., Kurtenbach E., Bogo M.R., Hipkiss A.R., Streck E.L., Schuck P.F., Ferreira G.C. Acute carnosine administration increases respiratory chain complexes and citric acid cycle enzyme activities in cerebral cortex of young rats. *Mol. Neurobiol.*, 2016, vol. 53, no. 8, pp. 5582–5590. doi: 10.1007/s12035-015-9475-9
16. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, vol. 12, pp. 191–200. doi: 10.1038/nri3158
17. Mastej K., Adamiec R. Neutrophil surface expression of CD11b and CD62L in diabetic microangiopathy. *Acta Diabetol.*, 2008, vol. 45, no. 3, pp. 183–190. doi:10.1007/s00592-008-0040-0
18. Peters B.M., Noverr M.C. *Candida albicans*-*Staphylococcus aureus* polymicrobial peritonitis modulates host innate immunity. *Infect. Immun.*, 2013, vol. 81, no. 6, pp. 2178–2189. doi: 10.1128/IAI.00265-13
19. Pliyev B.K., Sumarokov A.B., Buriachkovskaia L.I., Menshikov M. Extracellular acidosis promotes neutrophil transdifferentiation to MHC class II-expressing cells. *Cell Immunol.*, 2011, vol. 271, no. 2, pp. 214–218. doi: 10.1016/j.cellimm.2011.08.020
20. Qian W., Huang G.Z. Neutrophil CD64 as a marker of bacterial infection in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Immunol. Invest.*, 2016, vol. 45, no. 6, pp. 490–503. doi: 10.1080/088520139.2016.1177540
21. Rodríguez-Espinosa O., Rojas-Espinosa O., Moreno-Altamirano M.M., López-Villegas E.O., Sánchez-García F.J. Metabolic requirements for neutrophil extracellular traps formation. *Immunology*, 2015, vol. 145, no. 2, pp. 213–224. doi: 10.1111/imm.12437
22. Sato T., Yoshida Y., Morita A., Mori N., Miura S. Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 deficiency induces compensatory amino acid metabolism during fasting in mice. *Metabolism*, 2016, vol. 65, no. 11, pp. 1646–1656. doi: 10.1016/j.metabol.2016.08.005
23. Schuster D.P., Brody S.L., Zhou Z., Bernstein M., Arch R., Link D., Mueckler M. Regulation of lipopolysaccharide-induced increases in neutrophil glucose uptake. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2007, vol. 292, no. 4, pp. L845–L851. doi: 10.1152/ajplung.00350.2006
24. Shashidharan P., Plaitakis A. The discovery of human of GLUD2 glutamate dehydrogenase and its implications for cell function in health and disease. *Neurochem. Res.*, 2014, vol. 39, no. 3, pp. 460–470. doi: 10.1007/s11064-013-1227-5
25. Sutton B.J., Davies A.M. Structure and dynamics of IgE-receptor interactions: FcεRI and CD23/FcεRII. *Immunol. Rev.*, 2015, vol. 268, no. 1, pp. 222–235. doi:10.1111/imr.12340
26. Van der Meer W., Stephen Scott C., Verlaet C., Gunnewiek J.K., Warris A. Measurement of neutrophil membrane CD64 and HLA-DR in a patient with abdominal sepsis. *J. Infect.*, 2006, vol. 53, no. 1, pp. e43–e46. doi: 10.1016/j.jinf.2005.09.003
27. Ventura I., Vega A., Chacón P., Chamorro C., Aroca R., Gómez E., Bellido V., Puente Y., Blanca M., Monteseirín J. Neutrophils from allergic asthmatic patients produce and release metalloproteinase-9 upon direct exposure to allergens. *Allergy*, 2014, vol. 69, no. 7, pp. 898–905. doi: 10.1111/all.12414

28. Verschoor C.P., Loukov D., Naidoo A., Puchta A., Johnstone J., Millar J., Lelic A., Novakowski K.E., Dorrington M.G., Loeb M., Bramson J.L., Bowdish D.M. Circulating TNF and mitochondrial DNA are major determinants of neutrophil phenotype in the advanced-age, frail elderly. *Mol. Immunol.*, 2015, vol. 65, no. 1, pp. 148–156. doi: 10.1016/j.molimm. 2015.01.015
29. Walmsley S.R., Whyte M.K. Neutrophil energetics and oxygen sensing. *Blood*, vol. 123, no. 18, pp. 2753–2754. doi: 10.1182/blood-2014-03-560409

Авторы:

Савченко А.А., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Борисов А.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Кудрявцев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории общей иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; старший научный сотрудник кафедры фундаментальной медицины ФГАОУ ВПО Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Гвоздев И.И., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Мошев А.В., младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ НИИ медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия;
Черданцев Д.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой и клиникой хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия;
Первова О.В., д.м.н., профессор кафедры и клиники хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular-Cell Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation; Associate Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Gvozdev I.I., Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Moshev A.V., Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Cherdancev D.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno with a Course of Endoscopy and Endosurgery, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Pervova O.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno with a Course of Endoscopy and Endosurgery, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.