МОДУЛИРУЮЩИЕ ВЛИЯНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* СИНТЕТИЧЕСКОГО ТИМИЧЕСКОГО ГЕКСАПЕПТИДА НА СУБПОПУЛЯЦИИ $CD66B^{+}CD16^{+}CD11B^{+}CD11C^{-}$ И $CD66B^{+}CD16^{+}CD11B^{+}CD11C^{+}$ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ УСЛОВНО-ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ И ДЕТЕЙ С ОСТРОЙ ДЕСТРУКТИВНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ СЕПСИСОМ

Чудилова Г. А. [1],
Сафонцева А. Д. [1],
Чапурина В. Н. [1],
Ломтатидзе Л. В. [1]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар, Россия

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

MODULATING EFFECTS OF SYNTHETIC THYMIC HEXAPEPTIDE IN AN IN VITRO EXPERIMENT ON SUBSETS $CD66B^+CD16^+CD11B^+CD11C^-$ AND $CD66B^+CD16^+CD11B^+CD11C^+$ NEUTROPHIL GRANULOCYTES FROM HEALTHY CHILDREN AND CHILDREN WITH ACUTE DESTRUCTIVE PNEUMONIA COMPLICATED BY SEPSIS

Chudilova G. A. [a],
Safontseva A. D. [a],
Chapurina V. N. [a],
Lomtatidze L. V. [a]

[a] Federal State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnodar, Russia

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Резюме

Нарушения функции нейтрофильных гранулоцитов (НГ) могут способствовать развитию тяжелого течения гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ). Воздействие иммуномодулирующих субстанций способно изменить уровень экспрессии рецепторов НГ и улучшить их функциональную активность. Исследование нарушений в субпопуляциях НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ и оценка эффекторных функций НГ, а также влияния на них иммуномодулирующих субстанций, могут послужить основой для разработки диагностических инструментов и новых иммунотерапевтических подходов.

Цель исследования: уточнить эффекты модулирующих влияний синтетического тимического гексапептида на субпопуляции НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ в системе *in vitro* у условно-здоровых детей и детей с острой деструктивной пневмонией, осложненной сепсисом (ОДПс).

Материалы и методы: исследованы образцы периферической крови (ПК) детей 2-5 лет: с ОДПс (n=12) - группа исследования (ГИ), условно-здоровых детей (n=17) – группа сравнения (ГС). Образцы инкубировали с ГП (10^{-6} г/л, 60 мин, Т 37°С) - ГИ1, ГС1. Определяли: количество НГ субпопуляций $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$, плотность экспрессии молекул по MFI, NADPH-оксидазную активность в NBT-тесте, количество NETs в мазках ПК.

Результаты: В ПК ГС и ГИ выявлено две субпопуляции НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$. В ГИ показано увеличение в 4,5 раза доли субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$НГ и снижение в 5,5 раза доли субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$НГ ($p_{1,2}<0,05$). НГ обеих изучаемых субпопуляций в ГИ характеризовались более низкой MFI рецепторов относительно ГС. Также в ГИ установлено повышение %ФПКсп и СЦИсп и снижение данных показателей при нагрузке *S.aureus*, что свидетельствует об истощении оксидазных резервов ($p_{1,2}<0,05$). В ПК ГИ установлено наличие NETs. Инкубация с ГП не влияла на количество НГ и фенотип исследуемых субпопуляций в ГС1. В ГИ1 эффекты ГП проявлялись в повышении в 6 раз доли субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$НГ, снижение в 5 раз доли $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$НГ ($p<0,05$), восстановлении активности оксидаз, снижение количества НГ, сформировавших NETs.

Заключение. Полученные данные *in vitro*, подтверждают иммуномодулирующий эффект ГП, свидетельствуют о положительном воздействии на изучаемые субпопуляций НГ, что сопровождалось восстановлением микробицидной активности НГ у детей с ОДПс и могут быть транслированы в клиническую практику.

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, субпопуляции, гексапептид, острая деструктивная пневмония, дети, система in vitro.

Abstract

Neutrophil granulocyte (NG) functional disorders can lead to the severe or course of purulent-inflammatory diseases (PID). The use of immunomodulatory substances can change the level of NG receptor expression and improve their functional activity. Research of studied NG subsets $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ impairments, NG effector functions and the effect of immunomodulatory substances on them in children with PID can serve as a basis for development of diagnostic tools and new immunotherapeutic approaches.

Objective: to clarify the modulatory effects of a synthetic thymic hexapeptide (HP) on the subsets of $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ neutrophilic granulocytes *in vitro* system in healthy children and children with acute destructive pneumonia complicated by sepsis (ADP-s).

Materials and methods: peripheral blood (PB) samples of children aged 2-5 years were studied: with ADP-s (n=12), the study group (SG), and healthy children (n=17), the comparison group (CG). The samples were incubated with HP (10^{-6} g/l, 60 min, T=37°C) - SG1, CG1. The following parameters were determined: the number of $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ NG subsets, the MFI of molecules, NADPH-oxidase activity in the NBT test, and the number of NETs in PB smears.

Results: Two NG subsets $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ were detected in SG and CG. The SG showed 4,5-fold increase in $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$NG subset, 5,5-fold decrease in $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$NG subset ($p_{1,2}<0.05$), lower MFI of receptors in both subsets relative to CG, presence of NETs. Also, in SG, an increase in %PhPCsp and MCIsp and a decrease in these indicators after *S.aureus* treatment were established, which indicates the depletion of oxidase reserves ($p_{1,2}<0.05$). Incubation with HP did not affect the NG content and phenotype of the studied subsets in CG1. In SG1, the effects of HP were manifested in 6-fold increase in the proportion of the $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$NG subset, a 5-fold decrease in the proportion of the $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$NG subset ($p<0.05$), restoration of oxidase activity and a decrease in the number of NETs.

Conclusion. The obtained data confirm the immunomodulatory effect of HP *in vitro*, testify to the positive effect on the studied NG subsets, accompanied by the restoration of the microbicidal activity of NG in children with ADP-s and can be translated into clinical practice.

Keywords: neutrophilic granulocytes, subsets, hexapeptide, acute destructive pneumonia, children, *in vitro* system.

1 Введение

Нейтрофильные гранулоциты образуют первую линию обороны в борьбе с микробными патогенами, в т.ч. с гноеродными бактериями. Адекватный ответ нейтрофильных гранулоцитов (НГ) на внедряющиеся патогены с полноценной реализацией эффекторных функций – залог легкого течения и быстрого выздоровления при гнойно-воспалительных заболеваниях (ГВЗ). Современные исследования показали, что НГ обладают высокой пластичностью, способностью к фенотипической трансформации и участию в регуляции иммунитета [8], быстрой функциональной перестройке в ответ на различные стимулы [2, 3]. Гетерогенность НГ проявляется в существовании различных субпопуляций, отличающихся по функциональному потенциалу и экспрессии поверхностных маркеров [11]. Это имеет особое значение при развитии патологического процесса. Так, на ранних стадиях воспаления преобладают активированные НГ с высокой микробицидной активностью, а чрезмерная активация клеток может привести к повреждению тканей и усугублению воспалительной реакции [12]. Как при тяжелых острых, так и при хроническом течении различных инфекционно-воспалительных заболеваний могут возникать дисфункции НГ, происходить истощение функционального потенциала НГ, что особенно важно при возникновении и развитии в последующем нетипично протекающих ГВЗ, так как может приводить к инвалидизации и снижению качества жизни детей [1,6].

Несмотря на достижение современной медицины ГВЗ сохраняют ведущую позицию в структуре хирургической патологии детского возраста, что обусловлено их высокой распространенностью, склонностью к хронизации процесса и значительным риском развития осложнений, включая сепсис. С учетом выраженного прогресса в области антибактериальной терапии, эффективность лечения ГВЗ в последние десятилетия снижается, что обусловлено, прежде всего, ростом антибиотикорезистентности микроорганизмов [7]. В развитии и исходе гнойно-воспалительного процесса ведущая роль принадлежит врожденному иммунитету, центральным звеном которого являются НГ.

Немногочисленные литературные источники описывают новую субпопуляцию НГ, экспрессирующую CD11c рецептор, являющийся маркером дендритных клеток. Данный рецептор на НГ характеризует зрелость и функциональную полноценность клеток. CD11c молекула имеет преимущественно внутриклеточное расположение [9]. Описано, что при септическом процессе у взрослых увеличение количества НГ, экспрессирующих рецептор CD11c, может усиливать микрососудистую секвестрацию и способствовать инфильтрации НГ очага воспаления, увеличивая потенциал клеточно-опосредованного повреждения тканей, что обусловлено, в большей мере, выраженной оксидазной активностью [10]. Учитывая возрастные особенности иммунной системы детей и быструю генерализацию гнойно-воспалительного процесса вплоть до сепсиса,

наибольшую актуальность представляет оценка возможности регулирования субпопуляций НГ, несущих рецептор CD11c, у детей с ГВЗ раннего возраста.

В последние годы особое внимание уделяется расширению подходов к диагностике и лечению ГВЗ, включая использование методов иммунодиагностики и иммунотерапии [4]. Особое значение имеют исследования, посвященные влиянию иммуномодулирующих факторов на рецепторный аппарат НГ. Показано, что воздействие биологически активных соединений способно изменять уровень экспрессии поверхностных рецепторов НГ и улучшать их функциональную активность [5, 13]. Иммуномодулирующий препарат, действующим субстратом которого является тимический гексапептид (ГП) – синтетический аналог активного центра гормона тимуса тимопоэтина, обладает не только способностью модулировать функциональные вторичные нарушения иммунной системы, но помимо иммуномодулирующего эффекта, гепатопротекторным и дезинтоксикационными свойствами, и способствует снижению антибиотикорезистентности.

Принимая во внимание приведенные данные, можно предположить, что дальнейшее исследование нарушений малоизученных субпопуляций НГ, оснащенных или не оснащенных мембранной молекулой CD11c у здоровых детей и у детей с нетипично протекающими ГВЗ в сочетании с оценкой эффекторных функций НГ, могут открыть путь для разработки новых инструментов диагностики и прогноза, а оценка воздействия такой иммунотропной субстанции как ГП на эти субпопуляции может помочь в создании новых иммунотерапевтических подходов, направленных на восстановление функций НГ и разрешение воспалительного процесса.

Цель исследования: уточнить в экспериментальной системе *in vitro* эффекты модулирующих влияний синтетического тимического гексапептида на субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ нейтрофильных гранулоцитов условно-здоровых детей и детей с острой деструктивной пневмонией, осложненной сепсисом.

2 Материалы и методы

Проведено сравнительное экспериментальное *in vitro* исследование образцов периферической крови (ПК) 29 детей 2–5 лет. Для этого были сформированы две группы: группа исследования (ГИ) - ПК 12 детей (5 мальчиков и 7 девочек) с диагнозом «Острая деструктивная пневмония, осложненная сепсисом» (ОДПс), и группа сравнения (ГС) - ПК 17 условно-здоровых детей (7 мальчиков и 10 девочек). Образцы ПК обеих групп инкубировали с ГП в концентрации 10^{-6} г/л, при 37°С в течение 60 минут – группа исследования 1 (ГИ1) и группа сравнения 1 (ГС1).

С использованием «проточного цитометра «Beckman Coulter DxFLEX» (США, Китай) до и после инкубации выполнялось определение количества субпопуляций НГ: $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ и плотность экспрессии поверхностных

мембранных молекул CD16, CD66b, CD11b, CD11c, ориентируясь на значение индекса флуоресценции MFI (mean of fluorescence index).

Рецептор CD66b (CEACAM8) – GPI-заякоренный гликопротеин суперсемейства Ig, специфический маркер НГ. Учувствует в адгезии, дегрануляции, прикреплении к эндотелию, отражает функциональную активность НГ, а также обладает иммуномодулирующими свойствами: способен костимулировать В-лимфоциты и подавлять воспалительный ответ на эпителиальных клетках дыхательных путей обусловленный TLR-2 – зависимым воспалением. Отмечается роль CD66b в индукции и поддержании антигенпрезентирующей функции НГ за счет способности функционировать как рецептор для галектина-3, который конститутивно экспрессируется Т клетками памяти.

Рецептор CD16 (FcγIII) – представляет собой низкоаффинный рецептор иммуноглобулина G, способствует распознаванию опсонизированных микроорганизмов и является ключевым элементом в механизме антителозависимой клеточной цитотоксичности. Количество рецептора CD16 может меняться при различных патологических состояниях. Увеличение рецептора CD16 свидетельствует об активации клетки. Напротив, снижение CD16 наблюдается у незрелых форм НГ, указывая на нарушения в процессе образования гранулоцитов и на общую дисфункцию иммунной системы.

Рецептор CD11b (интегрин αM, Mac-1 или CR3) - играет центральную роль в прикреплении НГ к эндотелию и их последующей трансэндотелиальной миграцией в очаг воспаления, а взаимодействуя с молекулами межклеточной адгезии обеспечивает прочную фиксацию клеток и их выход из кровотока. Функционируя как рецептор комплемента, способствует распознаванию опсонизированного микроорганизма и запускает его поглощение. Участвует в передаче сигналов внутрь клетки, регулируя активацию цитоскелета, выживание НГ и продукцию медиаторов воспаления.

Рецептор CD11c (интегрин αXβ2, CR4) – представляет собой одну из α-субъединиц β2-интегринов и формирует гетеродимер с CD18, известный как CR4. Особенностью данного рецептора является преимущественно внутриклеточная локализация. CD11c обеспечивает клеточную адгезию, сигнальную трансдукцию, учувствует в регуляции созревании, способствует образованию активных форм кислорода и формированию NETs

NADPH-оксидазную активность тестировали в NBT-тесте (спонтанном и стимулированном *S.aureus*) по доле формазан-позитивных НГ (%ФПК) и среднему цитохимическому индексу (СЦИ)». В мазках ПК, окрашенных по Романовскому-Гимза, на 100 НГ подсчитывали %НГ сформировавшие NETs.

Обработка эмпирических данных проводилась посредством статистического пакета IBM SPSS Statistics 20. Оценка нормальности распределения изучаемых переменных осуществлялась с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения независимых выборок применялся непараметрический критерий Манна-Уитни. Результаты исследования представлены в формате медианы и межквартильного интервала (Me(Q1;Q3)).

Анализ зависимых выборок проводился с применением критерия Вилкоксона. Статистическая значимость выявленных различий определялась при уровне вероятности $p<0,05$. Проведение исследования было санкционировано локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол №145 от 28.05.2025). Методология полностью соответствовала принципам Хельсинкской декларации. Получено добровольное письменное информированное согласие родителей детей-участников исследования.

3 Результаты

В ПК условно-здоровых детей в циркуляции выявлено две субпопуляции НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$. Субпопуляция $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$НГ составила 76,1(66,1; 81,9)% с плотностью экспрессии по MFI CD66b - 28,9(20,7; 36,2)x10^4, CD16 - 708,0(571,5; 759,6)x10^4 и CD11b - 125,0(107,5; 152,6)x10^4. Доля субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$НГ составила - 18,8(17,1; 24,5)%. НГ данной субпопуляции отличались от преобладающей дополнительной экспрессией на поверхностной мембране CD11c с MFI - 15,0

(13,6; 18,8) x10^4 и повышенной в 1,7 раза MFI CD11b ($p<0,05$) рецепторов.

В ГИ при ОДПс выявлены статистически значимые изменения: снижение в 5,5 раза субпопуляции НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$($p<0,05$) и увеличение в 4,5 раза субпопуляции НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ ($p<0,05$) относительно значений ГС (Табл 1).

Перераспределение количества НГ изучаемых субпопуляций сопровождалось изменением их фенотипа.

По сравнению с показателями, регистрируемыми в ГС для НГ обеих субпопуляций при ОДПс была характерна более низкая оснащенность исследуемыми рецепторами. Так, в субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ было выявлено снижение плотности экспрессии в 1,3 раза CD66b ($p>0,05$), в 4,3 раза CD16 ($p<0,05$) и в 2,5 раза CD11b ($p<0,05$) молекул. Наряду с увеличением количества НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ установлено уменьшение MFI CD66b в 1,2 раза ($p>0,05$), CD16 в 3,5 раза ($p<0,05$), CD11b в 2,3 раза ($p<0,05$) и CD11c в 1,6 раза ($p<0,05$) относительно показателей в ГС (Табл.1).

Под влиянием ГП после инкубации ПК ГС не выявлено изменений в количестве и фенотипе исследуемых субпопуляций. Тогда как в ГИ2 с ОДПс эффекты влияния проявлялись в повышении в 6 раз содержания НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ ($p<0,05$), а также снижение в 5 раз количества НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ ($p<0,05$) относительно значений ГИ до инкубации, достигающие показателей ГС. (Рис.1).

После инкубации с ГП в субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$НГ наблюдалось статистически достоверное увеличение экспрессии CD66b рецептора в 2 раза ($p<0,05$) относительно исходного уровня до инкубации, превышающее в 1,6 раза значения установленные в ГС ($p<0,05$). Также

наблюдалось статистически значимое усиление экспрессии молекул CD16 и CD11b в 2,7 раза и в 1,8 раза соответственно ($p_{1,2}$<0,05) относительно показателей ГИ до инкубации, но при этом MFI данных рецепторов оставалась ниже уровня, установленного в ГС (Табл.1).

Сходный характер изменений был отмечен для НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$. Выявлено увеличение: CD66b в 2 раза (p<0,05), CD16 в 1,6 раза (p<0,05) и CD11b в 2 раза (p<0,05) по сравнению с ГИ до инкубации (Табл 1.). Показатели MFI CD66b и CD11b восстанавливались до показателей ГС ($p_{1,2}$>0,05). В то же время, MFI CD16 оставался в 2 раза ниже значений ГС (p<0,05). Особого внимания заслуживает тот факт, что при воздействии in vitro ГП, экспрессия молекул CD11c увеличилась в 1,7 раза по сравнению с ГИ (p<0,05), достигнув при этом уровня ГС (p>0,05) (Табл.1).

С учетом литературных данных о том, что функциональная особенность субпопуляций НГ, экспрессирующих CD11c рецептор, связанна с выраженной активацией клеток, сопровождающейся повышением NADPH-оксидазной активности, образованием NETs были проанализированы эти функции до и после инкубации с ГП.

Анализ параметров, характеризующих NADPH-оксидазную активность, показал отсутствие статистически значимого влияния ГП на показатели спонтанного NBT-теста (%ФПКсп, СЦИсп) в ГС до инкубации ($p_{1,2}$ > 0,05) (Табл 2.) Однако, при дополнительной стимуляции *S.aureus* в NBT стимулированном тесте, после влияния ГП отмечены более высокие показатели %ФПКст и СЦИст ($p_{1,2}$<0,05) (Табл 2.).

У детей ГИ установлено повышение %ФПКсп и СЦИсп в NBTсп и снижение данных показателей в NBTст тесте, что свидетельствует об истощении оксидазных резервов при нагрузке *S.aureus* ($p_{1,2}$<0,05) (Табл 2).

Влияние ГП в ГИ1 проявлялось в умеренном снижении спонтанной продукции NADPH-оксидаз, что отразилось в показателях %ФПКсп и СЦИсп (Табл 2). Тем не менее, после инкубации с ГП, при последующей стимуляции *S.aureus*, наблюдалось восстановление активности оксидаз с сохранением резервных микробицидных возможностей НГ, что было зафиксировано по повышению %ФПКст и СЦИст ($p_{1,2}$<0,05) и коэффициенту мобилизации (КМ).

В периферической крови ГС не выявлялись НГ, сформировавших NETs, тогда как у детей с ОДПс в ГИ было установлено наличие 5,00(2,75; 10,00)% NETs на 100 НГ. При инкубации с ГП отмечалось снижение количества НГ, сформировавших NETs до 0,50(0,00;1,25)%.

4 Обсуждение

В периферической крови условно-здоровых детей и детей с ОДПс была идентифицирована гибридная субпопуляция НГ, экспрессирующая на поверхностной цитоплазматической мембране молекулы CD66b, CD16, CD11b и маркер дендритных клеток CD11c – $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$. Установлено, что количество данной CD11c-позитивной субпопуляции НГ, статистически значимо увеличивается у детей с ОДПс. Тем не менее, функциональная значимость присутствия рецептора CD11c на этих НГ у детей

с ОДПс требует дальнейшего изучения. Несмотря на то, что у детей с ОДПс субпопуляция НГ $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ характеризовалась сниженной экспрессией рецепторов по сравнению с ГС, было выявлено повышение спонтанной NADPH-оксидазной активности с последующим истощением продукции NADPH-оксидаз при дополнительной антигенной нагрузке *S.aureus,* и появлялись в ПК НГ, сформировавшие NETs, что, вероятно, связано с высоким количеством НГ данной субпопуляции. Полученные данные свидетельствуют об активации НГ с возможным клеточно-опосредованным повреждении тканей, что согласуется с полученными другими авторами данными об экспрессии CD11c на НГ как потенциальном диагностическом биомаркере сепсиса и системного воспаления у взрослых [9, 10].

ГП системе в *in vitro* не оказывал влияния на изучаемые субпопуляции и микробицидную NADPH-оксидазную активность НГ у условно-здоровых детей, что демонстрирует его иммуномодулирующие возможности. При этом системе *in vitro* ГП оказывает модулирующие эффекты влияний на субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ НГ детей с ОДПс, поляризуя ответ в сторону преобладания субпопуляции, не несущей CD11c. Особого внимания заслуживает неожиданный модулирующий эффект с ГП в системе *in vitro*, выражающийся в снижении количества НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$, что, вероятно, связано с шеддингом CD11c рецептора, на фоне повышения плотности экспрессии других рецепторов CD66b, CD16, CD11b. Кроме того, интересно отметить, что для НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$, определяемой после инкубации с ГП, уровень экспрессии CD11c не отличался от значений условно-здоровых детей ($p>0,05$). Этот феномен требует дальнейшего изучения. В то же время, под влиянием ГП в эксперименте *in vitro* при ОДПс происходило восстановление активности NADPH-оксидаз и резервного микробицидного потенциала. Кроме того, отмечено снижение количества НГ, образовавших NETs.

5 Выводы

1. Экспериментальные исследования *in vitro* продемонстрировали классический иммуномодулирующий эффект ГП на НГ субпопуляций $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ условно-здоровых детей: количество обеих субпопуляций и уровень экспрессии исследуемых поверхностных мембранных молекул статистически значимо не изменились после инкубации с ГП.

2. При острой деструктивной пневмонии, осложненной сепсисом, выявлено значительное повышение количества НГ субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$, ассоциированное с активацией НГ, повышением микробицидной NADPH-оксидазной активности и появлением в периферической крови НГ, сформировавших NETs.

3. В системе *in vitro* показано модулирующее влияние ГП, заключающееся в перераспределении количества НГ изучаемых

субпопуляций: статистически значимое снижение субпопуляции $CD66b^{+}CD16^{+}CD11b^{+}CD11c^{+}$НГ и повышение $CD66b^{+}CD16^{+}CD11b^{+}CD11c^{-}$ НГ, ассоциированные с повышением плотности экспрессируемых рецепторов.

4. Иммуномодулирующий эффект ГП свидетельствует о комплексном положительном воздействии на количество и фенотип изучаемых субпопуляций НГ, сопровождающееся нормализацией микробицидной активности НГ (NADPH-оксидаз, NETs) у детей с острой деструктивной пневмонией, осложненной сепсисом.

5. Полученные данные, подтверждающие иммуномодулирующие эффекты влияния ГП в системе *in vitro*, в дальнейшем, используя принципы трансляционной медицины «from bench to bedside», могут быть транслированы в клиническую практику.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания номер государственного учета НИОКР 125072208862-7 от 22.07.2025г.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Эффекты влияния гексапептида на содержание и фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ у детей с острой деструктивной пневмонией, осложненной сепсисом, и условно-здоровых детей 2-5 лет в системе in vitro.

Table 1. Effects of hexapeptide on the content and phenotype of subsets of neutrophilic granulocytes $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ in children with acute destructive pneumonia complicated by sepsis and healthy children aged 2-5 years in the in vitro system.

Показатели/ Indicators	Группа сравнения / Comparison group		Группа исследования/ Research Group	
	ГС до инкубации с ГП/ CG before incubation with HP	ГС1 после инкубации с ГП/CG1 after incubation with HP	ГИ до инкубации с ГП / RG1 before incubation with HP	ГИ1 после инкубации с ГП / RG2 after incubation with HP
	ГС/CG, n=17		ГИ/RG, n=12	
	Me(Q_1; Q_3)	Me(Q_1; Q_3)	Me(Q_1; Q_3)	Me(Q_1; Q_3)
$CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$				
НГ/NG %	76,1 (66,1; 81,9)	75,0 (61,4; 83,0)	13,9 (7,5; 21,2)*	83,6 (74,4; 88,8)^
MFI CD66b x10^4	28,9 (20,7; 36,2)	30,3 (21,8; 38,1)	22,1 (18,6; 32,1)*	45,6 (37,6; 54,6)*^
MFI CD16 x10^4	708,0 (571,5; 759,6)	718,3 (550,2; 779,0)	163,8 (97,6; 269,0)*	439,7 (286,9; 547,9)*^
MFI CD11bx10^4	125,0 (107,5; 152,6)	123,8 (102,3; 146,1)	49,6 (37,2;64,2)*	89,7 (74,2; 140,9)*^
$CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$				

НГ/NG %	18,8 (17,1; 24,5)	18,1 (16,8; 25,3)	84,6 (80,1; 92,0)*	16,3 (11,3; 24,6)^
MFI CD66b x10^4	34,1 (26,9; 51,2)	48,3 (36,1; 50,6)	27,8 (26,4; 35,3)	54,4 (46,2; 60,4)^
MFI CD16 x10^4	888,7 (722,7; 982,4)	870,9 (768,6; 929,9)	251,6 (185,4; 371,0)*	405,1 (350,7; 480,1)*
MFI CD11bx10^4	217,4 (180,9; 247,7)	216,6 (214,4; 238,2)	94,3* (91,4; 123,6)	187,2 (132,2; 272,8)^
MFI CD11cx10^4	15,0 (13,6; 18,8)	14,9 (13,7; 19,3)	9,2* (7,2; 13,0)	16,3 (11,4; 27,1)^

Примечания: *- различия показателей от значений группы сравнения, ^- различия показателей до и после инкубации с тимическим гексапептидом, $p<0,05$ по непараметрическому критерию Манна-Уитни

Notes: *- differences in indicators from the values of the comparison group, ^- differences in indicators before and after incubation with thymic hexapeptide, $p<0.05$ according to the nonparametric Mann-Whitney test

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Таблица 2. Эффекты влияния гексапептида на микробицидные функции нейтрофильных гранулоцитов у детей с острой деструктивной пневмонией, осложненной сепсисом, и условно- здоровых детей 2-5 лет в системе in vitro.

Table 2. Effects of hexapeptide on the microbicidal functions of neutrophil granulocytes in children with acute destructive pneumonia complicated by sepsis and conditionally healthy children 2-5 years old in vitro.

Показатели/ Indicators		Группа сравнения / Comparison group		Группа исследования / Research Group	
		ГС до инкубации с ГП / CG before incubation with HP	ГС1 после инкубации / с ГП / CG1 after incubation with HP	ГИ до инкубации с ГП / RG before incubation with HP	ГИ1 после инкубации с ГП / RG1 after incubation with HP
NBT спонтанный / spontaneous	ФПКсп/ PhPCsp	3,00 (2,00;3,10)	3,50 (3,00;4,80)	9,00 (7,00;12,75)*	5,00 (4,25;5,00) *^
	СЦИсп/ ACIsp	0,10 (0,08; 0,15)	0,19 (0,12; 0,27)	0,36 (0,30;0,45) *	0,24 (0,19;0,30) *^
NBT стимулированный/ stimulated	ФПКст/ PhPCst	6,00 (5,00;8,00)	9,00 (8,00;12,25)*	7,00 (5,65;7,75)	9,50 (7,00;12,80)^
	СЦИст / ACIst	0,25 (0,21;0,29)	0,36 (0,35;0,40) *	0,35 (0,32;0,47) *	0,40 (0,30;0,50) *
КМ / IC		2,37 (1,67; 3,67)	1,93 (1,78; 2,50)	0,77 (0,70; 1,06)*	1,91 (1,71; 2,51)^
NETs, %		0 (0,00 0,01)	0 (0,00 0,01)	5,00 (2,75; 10,00)*	0,50 (0,00;1,25) ^

Примечания: *- различия показателей от значений группы сравнения, ^- различия показателей до и после инкубации с тимическим гексапептидом, $p<0,05$ по непараметрическому критерию Манна-Уитни

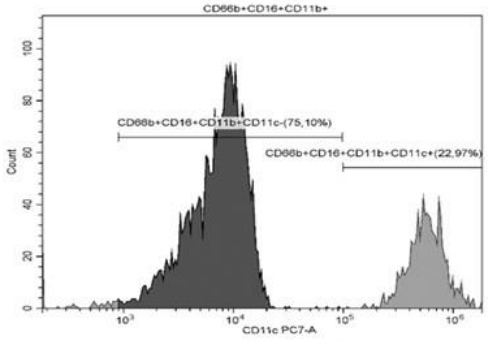
Notes: *- differences in indicators from the values of the comparison group, ^- differences in indicators before and after incubation with thymic hexapeptide, $p<0.05$ according to the nonparametric Mann-Whitney test

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

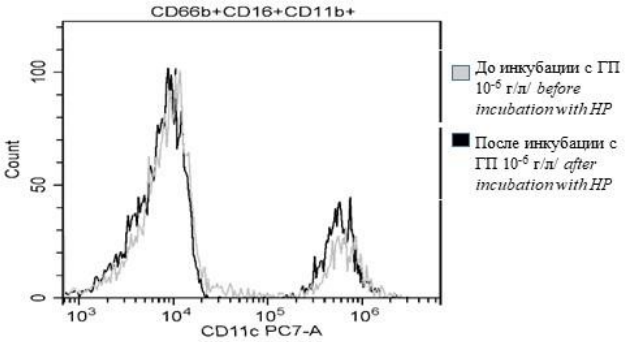
РИСУНКИ

Рисунок 1. Влияние синтетического тимического гексапептида на содержание и фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ в системе in vitro у детей с острой деструктивной пневмонией, осложненной сепсисом, и условно-здоровых детей 2-5 лет.

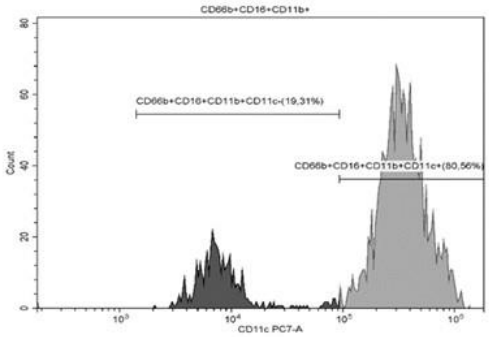
Figure 1. Effect of synthetic thymic hexapeptide on the content and phenotype of neutrophilic granulocyte subsets $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ in the in vitro system in children with acute destructive pneumonia complicated by sepsis and healthy children aged 2-5 years.



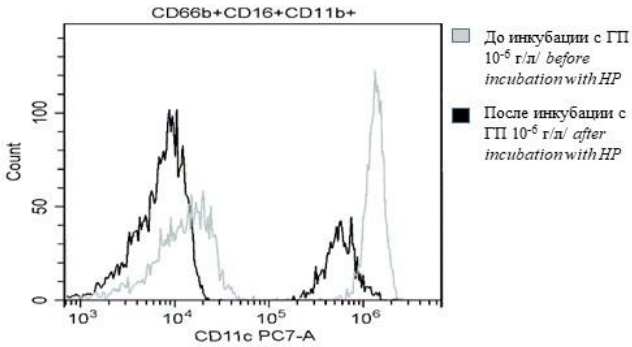
Субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ у условно-здоровых детей / *Subsets $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ in healthy children*



Изменение уровня субпопуляций $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ у условно-здоровых детей до и после инкубации с гексапептидом / *Changes in the level of $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ subsets in healthy children before and after incubation hexapeptide*



Субпопуляции $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ у детей с ОДПс / *Subsets $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ in children with ADPs*



Изменение уровня субпопуляций $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ и $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ у детей с ОДПс до и после инкубации с гексапептидом / *Changes in the level of $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^-$ and $CD66b^+CD16^+CD11b^+CD11c^+$ subsets in children with ADPs before and after incubation with hexapeptide*

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Сафонцева Анастасия Дмитриевна, аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики, младший научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия
Адрес: 350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4
Тел: 8-918- 410-22-14,
E-mail: chudilova2015@yandex.ru
Safontseva Anastasia Dmitrievna, Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Junior Researcher of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology of the Central Scientific Research Laboratory, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation
Address: 350063, Krasnodar, st. Mitrofana Sedina 4
Phone: 8-918- 410-22-14,
E-mail: chudilova2015@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Чудилова Галина Анатольевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая отделом клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия
Chudilova Galina Anatolievna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology of the Central Research Laboratory, Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Чапурина Валерия Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики, старший научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия
Chapurina Valeria Nikolayevna, PhD (Medical Sciences), Associate Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Senior Researcher of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology of the Central Scientific Research Laboratory, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Ломтатидзе Людмила Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии Центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия
Lomtatidze Lyudmila Viktorovna, PhD in Biology, senior researcher of the department of clinical and experimental immunology and molecular biology of the Central Scientific Research Laboratory, Associate Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, FSBI HPE «KubSMU» MOH Russia, Krasnodar, Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи
МОДУЛИРУЮЩИЕ ВЛИЯНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* СИНТЕТИЧЕСКОГО ТИМИЧЕСКОГО ГЕКСАПЕПТИДА НА СУБПОПУЛЯЦИИ $CD66B^+CD16^+CD11B^+CD11C^-$ И $CD66B^+CD16^+CD11B^+CD11C^+$ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ УСЛОВНО-ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ И ДЕТЕЙ С ОСТРОЙ ДЕСТРУКТИВНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ СЕПСИСОМ
MODULATING EFFECTS OF SYNTHETIC THYMIC HEXAPEPTIDE IN AN IN VITRO EXPERIMENT ON SUBSETS $CD66B^+CD16^+CD11B^+CD11C^-$ AND $CD66B^+CD16^+CD11B^+CD11C^+$ NEUTROPHIL GRANULOCYTES FROM HEALTHY CHILDREN AND CHILDREN WITH ACUTE DESTRUCTIVE PNEUMONIA COMPLICATED BY SEPSIS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
РЕМОДУЛИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА НЕЙТРОФИЛОВ
REMODULATION OF THE NEUTROPHIL PHENOTYPE

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, субпопуляции, гексапептид, острая деструктивная пневмония, дети, система in vitro.
Keywords: neutrophilic granulocytes, subsets, hexapeptide, acute destructive pneumonia, children, *in vitro* system.

Школа Клинической Иммунологии «Сочи-2026».
Количество страниц текста – 7,
Количество таблиц – 2,
Количество рисунков – 1.
29.04.2026

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее DOI.
1.	Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Савочкина А.Ю., Минасова А.А., Никушкина К.В., Пыхова Л.Р., Кузнецова А.С., Шапошник И.И. Взаимосвязи иммуносупрессорных нейтрофилов и показателей врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с субклиническим атеросклерозом // Медицинская иммунология. – 2022. – Т. 24, № 2. – С. 283-294.	Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Savochkina A.Yu., Minasova A.A., Nikushkina K.V., Pykhova L.R., Kuznetsova A.S., Shaposhnik I.I. Interactions between immunosuppressor neutrophiles, innate and adaptive immunity indexes in the patients with subclinical atherosclerosis. *Medical Immunology, 2022, Vol. 24, no. 2, pp. 283-294*	10.15789/1563-0625-IBI-2463
2.	Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Фомина Л.О., Файзуллина А.И., Гриценко В.А. Нейтрофилы как цитокинопродуцирующие клетки // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 22, №4. – С. 1469-1471.	Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Fomina L.O., Fayzullina A.I., Gritsenko V.A. Neutrophils as the cytokine producing cells. *Russian journal of immunology, 2019б Vol. 22, no. 4, pp 1469-1471.*	10.31857/S102872210007060-1
3.	Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В.,	Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V.,	10.15789/2220-7619-2018-1-7-18

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

	Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 // Инфекция и иммунитет. – 2018. – Т. 8, № 1. – С. 7-18	Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.D.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2 // *Russian Journal of Infection and Immunity, 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 7–18.*	
4.	Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Чичерев Е.А. Ковалева С.В., Чапурина В.Н., Ломтатидзе Л.В., Барова Н.К., Тетерин Ю.В. Эффективность таргетной моно- и комбинированной иммунотерапии в комплексном послеоперационном лечении острого гематогенного остеомиелита у иммунокомпрометированных детей. Эффективная фармакотерапия. – 2023. – Т. 19 (51). – С. 6–14.	Nesterova I.V., Chudilova G.A., Chicherev E.A., Kovaleva S.V., Chapurina V.N., Lomtatidze L.V., Barova N.K., Teterin Yu.V. Efficiency of Targeted Mono- and Combined Immunotherapy in Complex Postoperative Treatment of Acute Hematogenous Osteomyelitis in Immunocompromised Children. *Effective Pharmacotherapy, 2023, Vol. 19 (51), pp. 6–14.*	10.33978/2307-3586-2023-19-51-6-14
5.	Потапнев М.П., Гущина Л.М., Мороз Л.А. Фенотипическая и функциональная гетерогенность субпопуляций нейтрофилов в норме и при патологии // Иммунология. – 2019. – Т. 40 (5). – С. 84-96.	Potapnev M.P., Hushchyna L.M., Moroz L. Human neutrophils subpopulations and functions heterogeneity in norm and pathology. *Immunology, 2019, Vol. 40 (5), pp. 84-96.*	10.24411/ 0206-4952-2019-15009
6.	Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Русинова Т.В. Ремоделирование трансформированного фенотипа	Chudilova G.A., Nesterova I.V., Lomtatidze L.V., Kovaleva S.V., Rusinova T.V. Remodeling of the transformed phenotype of neutrophilic	10.22363/2313-0245-2018-22-3-332-339

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

	нейтрофильных гранулоцитов $CD16^+CD32^+CD11b^+$ пациентов с нетипично протекающей хронической бактериальной инфекцией в системе in vitro // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. - 2018. - Т. 22. - №3. - С. 332-339.	granulocytes $CD16^+CD32^+CD11b^+$ in patients with atypical chronic bacterial infection in the in vitro system. *Bulletin of the Russian University of Peoples' Friendship. Series: Medicine*, 2018, Vol. 22, no. 3, pp. 332-339.	
7.		Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet. 2022, Vol. 399 (10325), pp. 629-655.*	10.1016/S0140-6736(21)02724-0
8.		Gysemans C., Beya M., Pedace E., Mathieu C. Exploring Neutrophil Heterogeneity and Plasticity in Health and Disease. *Biomedicines, 2025, Vol. 13 (3), pp. 597.*	10.3390/biomedicines13030597.
9.		Hou L, Voit RA, Shibamura-Fujiogi M, Koutsogiannaki S, Li Y, Chen Y, Luo H, Sankaran VG, Yuki K. CD11c regulates neutrophil maturation. *Blood Adv, 2023, Vol. 7(7), pp. 1312-1325*	10.1182/bloodadvances.2022007719
10.		Lewis S.M., Treacher D.F., Edgeworth J., Mahalingam G., Brown C.S., Mare T.A., Stacey M., Beale R., Brown K.A. Expression of CD11c and EMR2 on	10.1111/cei.12679

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

		neutrophils: potential diagnostic biomarkers for sepsis and systemic inflammation. *Clin Exp Immunol, 2015, Vol. 182 (2), pp. 184-194.*	
11.		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, pp. 48-60.*	https://doi.org/10.1111/imr.12448
12.		Silvestre-Roig C., Fridlender Z.G., Glogauer M., Scapini P. Neutrophil Diversity in Health and Disease. *Trends Immunol. 2019, Vol. 40 (7), pp. 565-583.*	10.1016/j.it.2019.04.012.
13.		Song Y, Lei L, Cai X, Wei H, Yu CY. Immunomodulatory Peptides for Tumor Treatment. *Adv Healthc Mater, 2025, Vol. 14(5),pp.e2400512.*	10.1002/adhm.202400512

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)