

## МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ДНК ЭУКАРИОТ НА ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

© 2019 г. Т. В. Русинова<sup>1</sup>, Г. А. Чудилова<sup>1</sup>, С. В. Ковалева<sup>1</sup>,  
В. А. Тараканов<sup>1</sup>, Н. К. Барова<sup>1</sup>, И. В. Нестерова<sup>1,2\*</sup>

\*E-mail: inesterova1@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия;

<sup>2</sup>ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования  
и науки России, Москва, Россия

Поступила: 06.03.2019. Принята: 18.03.2019

Изучены фенотипические особенности 3 субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов (НГ), экспрессирующих CD64, CD32, CD16, CD11b у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями системного характера. Оценено влияние натриевой соли ДНК эукариот в эксперименте *in vitro* на трансформированный фенотип этих субпопуляций НГ. Установлены иммуномодулирующие эффекты ДНК, проявляющиеся в значимом снижении количества НГ провоспалительной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, уменьшении количества НГ субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, дефектной по CD32, увеличении субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ.

**Ключевые слова:** нейтрофильные гранулоциты, фенотип, субпопуляции

DOI: 10.31857/S102872210006945-4

Адрес: 117513, г. Москва, Ленинский проспект, 123–1,  
ФГАБОУ ВО РУДН, кафедра аллергологии и иммунологии.  
Нестерова Ирина Вадимовна. Тел.: 8(916)1877341 (моб.).

E-mail: inesterova1@yandex.ru

**Авторы:**

**Русинова Т. В.**, к. б. н., научный сотрудник ЦНИЛ, ФГБОУ  
ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия;

**Чудилова Г. А.**, к. б. н., доцент, заведующая отделом кли-  
нико-экспериментальной иммунологии и молекулярной  
биологии ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,  
Краснодар, Россия;

**Ковалева С. В.**, к. м. н., доцент, старший научный сотрудник  
ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Красно-  
дар, Россия;

**Тараканов В. А.**, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой  
хирургических болезней детского возраста, ФГБОУ ВО  
КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия.

**Барова Н. К.**, к. м. н., ассистент кафедры хирургических бо-  
лезней детского возраста, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава  
России, Краснодар, Россия.

**Нестерова И. В.**, д. м. н., профессор, профессор кафедры  
аллергологии и иммунологии, ФГАБОУ ВО «Российский  
университет дружбы народов» Министерства образования  
и науки России, г. Москва, Россия; главный научный со-  
трудник ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,  
Краснодар, Россия.

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются регуляторными иммунокомпетентными клетками, участвующими в реализации реакций, как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Выполнение НГ различных функций (фагоцитоз, клеточная цитотоксичность, клиренс иммунных комплексов, образование внеклеточных ловушек и др.) обусловлено наличием функционально-значимых рецепторов, которые могут изменять характер своей экспрессии под действием факторов микроокружения, что влечет за собой изменение субпопуляционного состава НГ. К подобным молекулам можно отнести FcγR – (CD64, CD32, CD16) и рецепторы адгезии CD11b. Экспрессия CD64 считается очень ранней фазой иммунного ответа на бактериальную инфекцию. При системном воспалительном ответе, местной инфекции или повреждении тканей экспрессия CD64 на НГ, а также количество мРНК CD64 повышается [2]. Низкоаффинные CD16 (FcγRIII), CD32 (FcγRII) играют важную роль во взаимодействии НГ с иммунными комплексами. CD11b

регулирует адгезию и миграцию НГ, опосредуют поглощение и полноценный фагоцитоз [1]. Известно о многочисленных субпопуляциях НГ, обладающих различными функциональными возможностями и способных изменять свой фенотип в зависимости от микро- и макроокружения. При этом происходящая перестройка фенотипа субпопуляций не всегда адекватна тяжести инфекционно-воспалительных процессов и может нуждаться в своевременной иммунокоррекции [1]. Определенный интерес в этой связи представляет изучение влияния натриевой соли олигомеров ДНК эукариот на трансформированный фенотип субпопуляций НГ при тяжелых бактериальных инфекциях у детей.

**Цель исследования:** изучение особенностей фенотипа 3 субпопуляций НГ, экспрессирующих CD64, CD32, CD16, CD11b у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями с оценкой эффектов влияния натриевой соли ДНК эукариот в системе *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы образцы периферической крови (ПК) детей с гнойно-воспалительными заболеваниями: 3–4 лет ( $n=7$ ) с остеомиелитом, перитонитом (большая гнойная инфекция – БГИ) и 10 условно-здоровых детей соответствующего возраста. Проводили оценку количества НГ (%) и плотность экспрессии (MFI) мембранных рецепторов CD64, CD32, CD16, CD11b (МКАТ «Beckman Coulter International S.A.», Франция) методом проточной цитометрии (FC500, «Beckman Coulter», США). Оценка экспрессии рецепторов проведена на НГ ПК клинической и контрольной групп; на НГ детей с БГИ после инкубации в течение 1 часа при 37 °С с натриевой солью ДНК (1,5%-ный раствор дезоксирибонуклеината натрия, ЗАО «Фармацевтическое предприятие «Техномедсервис»). Статистическая анализ проводили с использованием программ Microsoft Excel, StatPlus 2009.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных продемонстрировал, что у условно-здоровых детей 3–4 лет в ПК циркулирует мажорная субпопуляция CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ, которая встречается в 96,01 [95,58;97,60]% НГ. При этом НГ одновременно оснащены рецепторами CD32, CD16, CD11b с разной плотностью экспрессии: уровень MFI CD16 составляет 132,5 [117,5;144,5], MFI CD32 – 5,06 [4,34;6,18] и MFI CD11b – 22,4

[12,18;25,75]. Кроме того, выявлена вторая минорная субпопуляция – CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ, составляющая 1,75 [1,4;1,93]% с уровнем MFI CD64 – 9,35 [9,24;9,57], MFI CD16 – 91,55 [82,18;106,48], MFI CD32 – 6,51 [5,02;8,92], MFI CD11b – 19,8 [13,4;26,93]. У больных с БГИ выявлено значительное увеличение субпопуляция CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ до 45,1 [38,47;56,87]% со снижением плотности экспрессии CD64 по MFI до – 3,56 [2,87;4,80], CD32 по MFI – до 4,94 [3,82;5,01], CD16 – до 57,8 [52,69;66,14]. При этом плотность экспрессии по MFI CD11b была увеличена в 2 раза. Установлено появление субпопуляции дефектной по рецептору CD32 – CD64<sup>+</sup>CD32<sup>–</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ – 36,2% [27,79;38,74] с аналогичным уровнем оснащенности рецепторов по MFI CD64, CD16 и CD11b, что расценивается как прогностически неблагоприятный признак неполноценности эффекторных функций НГ. При этом субпопуляция CD64<sup>+</sup>CD32<sup>–</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ составила всего 14,95% [10,28;18,71] и имела рецепторы с низкой оснащенностью, как по CD32, так и по CD11b, в частности уровень экспрессии CD11b составил 36,5 [31,78;47,19]. Инкубация ПК детей с БГИ с натриевой солью ДНК позволила выявить её модулирующие эффекты, проявляющиеся в снижении количества субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ в 1,5 раза с уменьшением в 2,21 раза плотности экспрессии CD11b до значений контроля, на этом фоне наблюдалось увеличение субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>–</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ в 1,4 раза с неизменяющимся низким уровнем оснащения мембранными рецепторами CD32, CD16, а также снижением MFI CD11b до уровня контрольной группы. Отмечена тенденция к снижению количества субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>–</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ с достоверным снижением экспрессии по MFI молекулы CD11b до уровня контроля и позитивным увеличением плотности экспрессии CD16.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования установлен иммуномодулирующий эффект натриевой соли ДНК, проявляющийся в переориентации фенотипа НГ с провоспалительного в противовоспалительный, в частности, снижение количества провоспалительной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ и дефектной по CD32 субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>–</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ, трансформированных при гнойно-воспалительных заболеваниях у детей системно-

го характера. Продемонстрировано увеличение % НГ провоспалительной субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, не несущей CD64. Кроме того, под влиянием натриевой соли ДНК наблюдалась нормализация уровня экспрессии рецепторов CD32, CD16 и CD11b в субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, что расценено, как прогностически благоприятное явление.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А., Неуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. (Часть 2). *Инфекция и иммунитет* 2018, 8(1), 7–18. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18. [Nesterova I. V., Kolesnikova N. V., Chudilova G. A., Lomtatidze L. V., Kovaleva S. V., Yevlevsky A. A., Nguyen T. Z. L. A new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. (Part 2). *Infection and immunity* 2017, 7(3), 219–230. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18. Russian]
2. García-Salido A., de Azagra-Garde A.M., García-Teresa M.A. Accuracy of CD64 expression on neutrophils and monocytes in bacterial infection diagnosis at pediatric intensive care admission. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019, 1–7. DOI: 10.1007/s00005-017-0476-4.

### MODULATING EFFECT OF EUKARYOTIC DNA ON THE EXPRESSION OF FUNCTIONALLY IMPORTANT RECEPTOR OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES

© 2019 T. V. Rusinova<sup>1</sup>, G. A. Chudilova<sup>1</sup>, S. V. Kovaleva<sup>1</sup>, V. A. Tarakanov<sup>1</sup>, N. K. Barova<sup>1</sup>, I. V. Nesterova<sup>1,2\*</sup>

\*E-mail: inesterova1@yandex.ru

<sup>1</sup>Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Autonomous Budget Educational Institution of Higher Professional Education «Peoples' Friendship University of Russia» of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia

Received: 06.03.2019. Accepted: 18.03.2019

In article were studied phenotypic features of 2 neutrophilic granulocytes (NG) subsets expressing CD64, CD32, CD16, CD11b in children with systemic purulent-inflammatory diseases. We evaluated sodium salt of eukaryotic DNA effect on transformed phenotype of these NG subsets in vitro. Immunomodulatory effects of DNA have been established, which are manifested in a significant decrease in the number of NGs of the pro-inflammatory subset CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG, the decrease in the number of NG subset of CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> NG defective in CD32 and the increase the anti-inflammatory subset CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG.

*Key words:* neutrophilic granulocytes, phenotype, subset

#### Authors:

**Rusinova T. V.**, Ph.D. (Biological Sciences), Researcher, Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Chudilova G. A.**, PhD (Biological Sciences), Associate Professor, Head of Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology of Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Kovaleva S. V.**, Ph.D. (Medical Science), Associate Professor, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Tarakanov V. A.**, Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Head of the Department of Surgical Diseases of Childhood, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Barova N. K.**, PhD (Medical Science), Assistant of the Department of Surgical Diseases of Childhood, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Nesterova I. V.**, ✉ Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Professor of the Department of Allergology and Immunology, Federal Budget Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Peoples' Friendship University of Russia» of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia; Chief Researcher of Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia. **E-mail:** inesterova1@yandex.ru