

DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-332-339

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАНСФОРМИРОВАННОГО ФЕНОТИПА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ ПАЦИЕНТОВ С НЕТИПИЧНО ПРОТЕКАЮЩЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В СИСТЕМЕ IN VITRO

Г.А. Чудилова¹, И.В. Нестерова^{1,2}, Л.В. Ломтатидзе¹,
С.В. Ковалева¹, Т.В. Русинова¹

¹Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

²Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Настоящими исследованиями показано, что представление о функциональном состоянии нейтрофильных гранулоцитов (НГ) может дать определение фенотипа субпопуляционного состава НГ при оценке одномоментной экспрессии CD16, CD32, CD11b мембранных маркеров с учетом плотности экспрессируемых молекул. Изменение фенотипа субпопуляций НГ свидетельствует об активном или дефектном включении НГ в иммунный ответ при воспалении. Различные индуцирующие стимулы эндо- и экзогенной природы активируют НГ и способствуют транслокации из цитоплазматических гранул и везикул или экспрессии на поверхностную цитоплазматическую мембрану рецепторных молекул. В связи с этим интерес представляло изучение особенностей экспрессии рецепторов CD16, CD32, CD11b НГ у больных с нетипично протекающими бактериальными инфекциями (хроническим гайморитом) и возможности ремоделирования фенотипа НГ под влиянием глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) и IFN γ in vitro. Объектом исследования явились образцы крови больных хроническим гайморитом и условно-здоровых лиц. Методом проточной цитометрии на CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США) проводили оценку %НГ, экспрессирующих CD16, CD32, CD11b и интенсивности флуоресценции этих молекул (MFI) до и после инкубации с исследуемыми веществами. Проведенные исследования продемонстрировали наличие трансформированного фенотипа CD16^{dim}CD32^{mid}CD11b^{br} субпопуляции CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ у пациентов с ХГ упорно-рецидивирующего течения. Показано, что выявленные изменения уровня экспрессии триггерных мембранных рецепторов не позволяет НГ полноценно включиться в воспалительный процесс и реализовать эффекторные и регуляторные функции. Продемонстрирована высокая мобилизационная способность изучаемых НГ в отношении функционально-значимых мембранных рецепторов при реализации различных функций под воздействием регуляторных молекул ГМДП и IFN γ .

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, фенотип, субпопуляции, хронический гайморит

Ответственный за переписку:

Чудилова Галина Анатольевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, ул. Седина, 4, г. Краснодар, 350063, Россия. E-mail: chudilova2015@yandex.ru SPIN: 2092-6412, ORCID: 0000-0001-8005-9325

Нестерова И.В. SPIN: 4714-2488, ORCID: 0000-0002-5339-4504

Ломтатидзе Л.В. SPIN: 2060-9316, ORCID: 0000-0002-7041-7106

Ковалева С.В. SPIN: 8289-5342, ORCID: 0000-0002-9604-5806

Русинова Т.В. SPIN: 9591-0848, ORCID: 0000-0003-2962-3212

Для цитирования: Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Русинова Т.В. Ремоделирование трансформированного фенотипа 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. DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-332-339.

For citation: Chudilova G.A., Nesterova I.V., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Rusinova T.V. (2018). Remodeling of the Transformed Phenotype of CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ Neutrophilic Granulocytes of Patients with Atypical Chronic Bacterial Infection in vitro. *RUDN Journal of Medicine*, 22 (3), 332—339. DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-332-339.

Процесс развития иммунного ответа организма сопровождается динамическими изменениями субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток. В настоящее время показано, что существуют субпопуляции нейтрофильных гранулоцитов (НГ), обладающие регуляторными влияниями как активирующего, модулирующего, так и супрессирующего характера [1—4]. Пластичность НГ обуславливает вероятность изменения фенотипических особенностей их различных субпопуляций под влиянием про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, гормонов, токсинов, микробных аггессоров и т.д. [5—10]. При этом множество негативных эндо- и экзогенных факторов могут изменять не только фенотип, но и свойства субпопуляций НГ и негативно менять характер течения инфекционно-воспалительного процесса [11—15]. Нормализация функционирования НГ на фоне модуляции фенотипа воспалительных субпопуляций НГ при нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваниях является актуальной задачей. Предопределяет функциональную полноценность и способность НГ включаться в эффекторные механизмы характер экспрессии функционально значимых триггеров CD16, CD32, CD11b.

Целью исследования являлось изучение возможности ремоделирования трансформированного фенотипа субпопуляции CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ под влиянием регуляторного пептида — глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) и регуляторного цитокина IFN γ *in vitro* у пациентов с вторичным иммунодефицитом, ассоциированным с нетипично протекающим хроническим гайморитом (ХГ), упорно-рецидивирующего течения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В группу исследования вошли 10 пациентов обоего пола 38—60 лет с ХГ в фазе обострения. При ХГ упорно-рецидивирующего течения (частота рецидивов до 4—6 раз в год), нуждающиеся в антибактериальной терапии не менее 4—6 раз

в год. При этом использование антибактериальной терапии не профилактирует последующих обострений ХГ. Контрольную группу составили 10 условно-здоровых добровольцев. У всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании и забор крови согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). Оценивали %НГ, экспрессирующих CD16, CD32, CD11b и интенсивность флуоресценции этих молекул (MFI) методом проточной цитометрии на CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США) в крови и под влиянием *in vitro* ГМДП и IFN γ . Субпопуляционный состав НГ определялся методом последовательного гейтирования. Для исследования в системе *in vitro* был использован IFN γ (ООО «Имунофарм, Россия) в конечной концентрации 1 мкг/мл (время инкубации составило 1 час при температуре 37 °С), а также ГМДП (чистый продукт ГМДП синтезирован в ФГБУН ИБХ им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ЗАО «Пептек», г. Москва) в конечной концентрации 1 мкг/мл (время инкубации составило 1 час при температуре 37 °С). При статистической обработке данных различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «IBM SPSS Statistic 20». Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе иммунофенотипирования НГ был выявлен факт различного распределения НГ на гистограммах у здоровых людей и больных ХГ, оценивающих клетки по показателям светорассеяния FS/SS, которые отражают морфологические особенности лейкоцитов, где FS (forward scatter) — малоугловое светорассеяние, SS (side scatter) — светорассеяние под углом 90°.

У здоровых людей на гистограмме отмечена высокая локализация зоны, характерной для гранулоцитов (UP_GRA), в сравнении с расположением гранулоцитарного облака у больных ХГ (LOW_GRA) (рис. 1a, b), а также особенность распределения НГ в анализируемых гейтах UP_GRA и LOW_GRA (рис. 1c, d). Изменение объема и плотности НГ у больных ХГ в остром периоде вероятно сопряжено с трансформацией функциональной направленности НГ.

Мультиплексный анализ фенотипа CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, проведенный при многоэтапном гейтировании двухпараметрических гистограмм, позволил выявить особенности оснащения НГ изучаемыми рецепторами.

Установлено, что в периферической крови здоровых лиц и больных с ХГ 86,7—96,7% НГ

представлены популяцией CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ с различным уровнем экспрессии этих рецепторов (рис. 2).

В контрольной группе мажорная субпопуляция характеризуется более высоким оснащением по MFI FcRγII, FcRγIII и низким оснащением CR3 (CD16^{br}CD32^{br}CD11b^{dim}) по сравнению с мажорной субпопуляцией НГ у больных ХГ. В частности, при ХГ выявлены НГ с фенотипом CD16^{dim}CD32^{mid}CD11b^{br}, демонстрирующие низкую оснащенность по CD16, недостаточную экспрессию CD32 на фоне высокого значения MFI CD11b, что позволило выявить нарушения функциональной активности НГ — отсутствие активации и адекватного ответа при обострении хронического бактериального процесса.

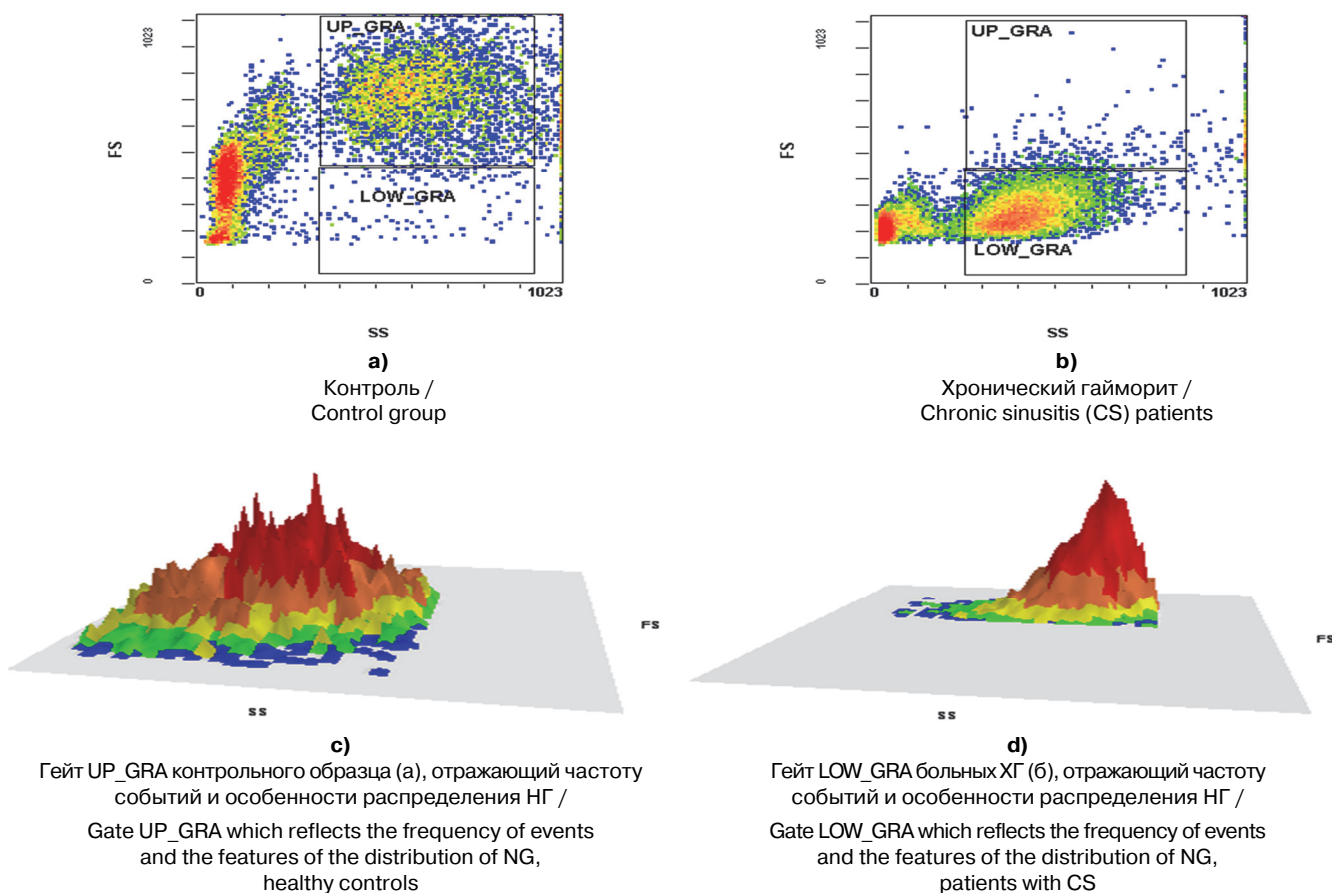


Рис. 1. Особенности распределения лейкоцитов периферической крови здорового контроля и больных хроническим гайморитом в стадии обострения /

Fig. 1. Features of the distribution of peripheral blood leukocytes in control group and in patients with chronic sinusitis in the acute phase

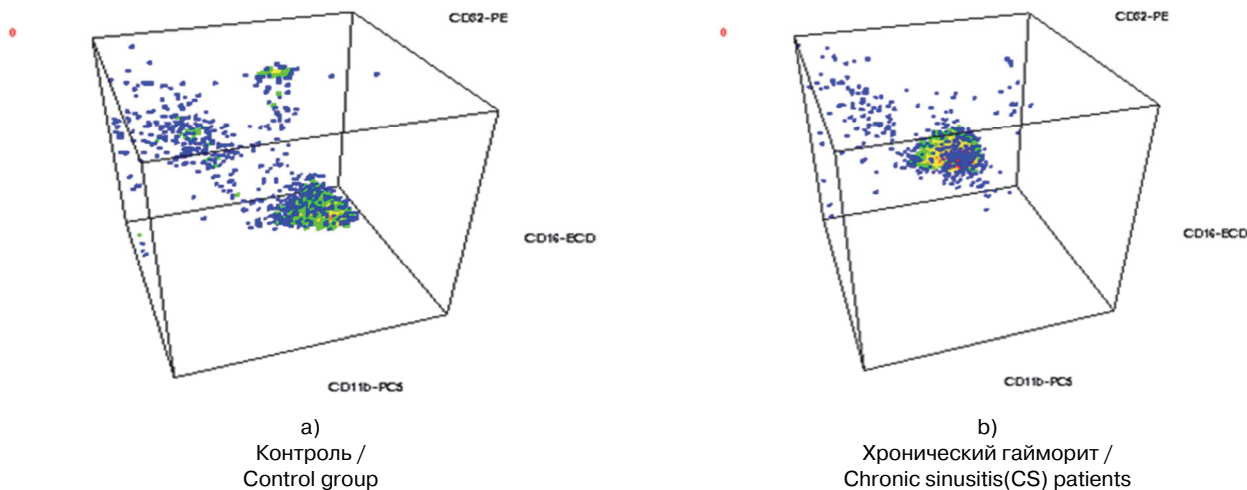


Рис. 2. Трехпараметрическая гистограмма оснащённости НГ CD16, CD32, CD11b у здорового контроля и больных хроническим гайморитом в стадии обострения /

Fig. 2. Three-parameter histogram of equipment NG with CD16, CD32, CD11b in healthy controls and patients with chronic sinusitis in the acute phase

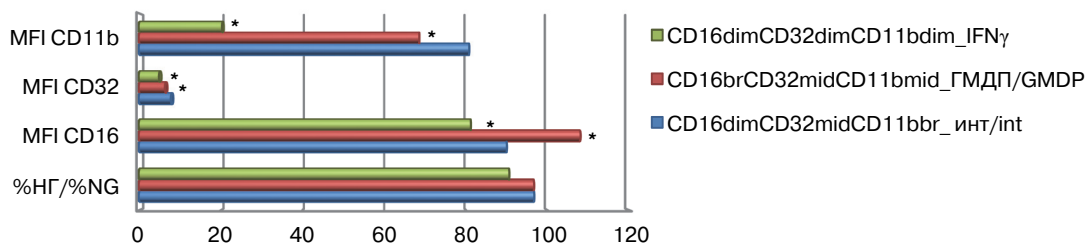


Рис. 3. Иммуотропные эффекты ГМДП и IFN γ на фенотип субпопуляции CD16^{dim}CD32^{dim}CD11b^{dim} НГ in vitro при хроническом гайморите /

Fig. 3. Immunotropic effects of GMDP and IFN γ on NG subset CD16^{dim}CD32^{dim}CD11b^{dim} phenotype in vitro in chronic sinusitis

В целях выявления возможности модуляции негативно трансформированного рецепторного оснащения НГ при хроническом гайморите была проведена в системе *in vitro* инкубация цельной периферической крови с регуляторным пептидом — глюкозаминилмурамилдипептидом и регуляторным цитокином IFN γ (рис. 3).

Выявлено иммуномодулирующее влияние ГМДП, проявляющееся достоверным изменением экспрессии рецепторов, обеспечивающих эффекторные свойства НГ. Отмечено повышение уровня мембранных CD16 на фоне снижения MFI CD11b при ХГ (CD16^{br}CD32^{mid}CD11b^{mid} НГ) (рис. 3), тогда как в контрольной группе инку-

бация с регуляторным пептидом привела к достоверному увеличению значения MFI CD11b (CD16^{br}CD32^{br}CD11b^{br} НГ).

Эффект IFN γ заключался в выраженном снижении MFI CD11b (в 3,9 раза) и достоверном уменьшении MFI CD16 и MFI CD32 у больных ХГ и появлением CD16^{dim}CD32^{dim}CD11b^{dim} НГ, что, вероятно, иллюстрирует включение регуляторных механизмов, направленных на регрессию воспалительной реакции при обострении ХГ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что развитие адекватного иммунного ответа организма на инфекционные процессы сопровождается мощной мобилизацией нейт-

рофильных гранулоцитов. Это относится как к изменению абсолютного количества НГ, так и их субпопуляционного состава, а также к появлению на клеточной поверхности определенных рецепторных молекул, обеспечивающих их полноценное функционирование [8, 9, 16, 17]. НГ могут повышать экспрессию генов провоспалительных цитокинов, вовлекаемых в реализацию фагоцитарной функции, а также отвечать на воздействие провоспалительных цитокинов дифференцировкой, выражающейся изменением экспрессии рецепторов [18, 19].

Проведенные исследования демонстрируют наличие трансформированного фенотипа CD16^{dim}CD32^{mid}CD11b^{br} субпопуляции CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ у пациентов со вторичным иммунодефицитом ассоциированным с нетипично протекающим ХГ упорно-рецидивирующего течения. Очевидно, что выявленное изменение уровня экспрессии триггерных мембранных рецепторов не позволяет НГ полноценно включиться в воспалительный процесс и реализовать эффекторные и регуляторные функции [20]. Ранее нами было показано, что у больных ХГ в период обострения отмечается нарушение экспрессии генов некоторых провоспалительных цитокинов. Так, у здоровых людей и больных ХГ при индукции НГ в системе *in vitro* ГМДП и IFN γ происходило достоверное увеличение экспрессии генов IL-8, IL-1 β и TNF α относительно неиндуцированного контроля. При этом уровень индуцированной экспрессии генов изучаемых цитокинов был значительно ниже у больных с ХГ, чем соответствующий показатель в контрольной группе. Такой неадекватный ответ является одной из причин хронизации воспалительного бактериального процесса [18].

Таким образом, показана возможность ремоделирования негативно трансформированного фенотипа CD16^{dim}CD32^{mid}CD11b^{br} субпопуляции CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ НГ при экспериментальном воздействии регуляторного пептида ГМДП и регуляторного цитокина IFN γ в системе *in vitro*. Отмечена способность НГ под воздействием

регуляторного пептида и цитокина пластично перестраиваться и отвечать изменением экспрессии тех или иных мембранных маркеров.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Mantovani A., Cassatella M.A., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity // *Nat. Rev. Immunol.* V. 11. № 8. P. 519—531. DOI: 10.1038/nri3024 *Nat Rev Immunol.* 2011 Jul 25.
2. Silvestre-Roig C., Hidalgo A., Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis // *Blood.* 2016. V. 127. № 18. P. 2173—2181. DOI: 10.1182/blood-2016-01-688887.
3. Scapini P., Marini O., Tecchio C., Cassatella M.A. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions // *Immunol Rev.* 2016. V. 273. № 1. P. 48—60. DOI: 10.1111/imr.12448.
4. Mandruzzato S., Brandau S., Britten C.M., Bronte V., Damuzzo V., Gouttefangeas C., Maurer D., Ottensmeier C., van der Burg S.H., Welters M.J., Walter S. Toward harmonized phenotyping of human myeloid-derived suppressor cells by flow cytometry: results from an interim study // *Cancer Immunol Immunother.* 2016. V. 65. № 2. P. 161—169. DOI: 10.1007/s00262-015-1782-5.
5. Beyrau M., Bodkin J.V., Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity // *Open Biol.* 2012. V. 2. № 11. P. 120—134. DOI: 10.1098/rsob.120134.
6. Cortjens B., Ingelse S.A., Calis J.C., Valar A.P., Koenderman L., Bem R.A., van Woensel J.B. Neutrophil subset responses in infants with severe viral respiratory infection // *Clinical immunology.* 2017. V. 176. P. 100—106. DOI: 10.1016/j.clim.2016.12.012.
7. Liefeld P.H., Wessels C.M., Leenen L.P., Koenderman L., Pillay J. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation // *Crit. Care.* 2016. V. 20. P. 73. DOI: 10.1186/s13054-016-1250-4.
8. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм (Часть 1) // *Инфекция и иммунитет.* 2017. Том 7. № 3. С. 219—230. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230
9. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм (Часть 2) // *Инфекция и иммунитет.* 2018. Том 8. № 1. С. 7—18. DOI: DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
10. Pillay J., Tak T., Kamp V.M., Koenderman L. Immune suppression by neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: similarities and differences //

- Cell. Mol. Life Sci. 2013. V. 70. № 20. P. 3813—3827. DOI: 10.1007/s00018-013-1286-4.
11. Kobayashi Y. Neutrophil biology: an update // *EXCLI J*. 2015. V. 14. P. 220—227. DOI: 10.17179/excli2015-102. eCollection 2015.
 12. Mare T.A., Treacher D.F., Shankar-Hari M., Beale R., Lewis S.M., Chambers D.J., Brown K.A. The diagnostic and prognostic significance of monitoring blood levels of immature neutrophils in patients with systemic inflammation // *Care*. 2015. V. 19. P. 57. DOI: 10.1186/s13054-015-0778-z.
 13. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond // *J. Exp. Med*. 2013. V. 210. № 7. P. 1283—1299. DOI: 10.1084/jem.20122220.
 14. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Колесникова Н.В., Авдеева М.Г., Русинова Т.В. Дифференцированность вариантов субпопуляций трансформированного фенотипа CD16⁺CD11b⁺ нейтрофильных гранулоцитов при острой вирусной и острой бактериальной инфекциях // *Иммунология*. 2016. Том 37. № 4. С. 199—204. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-4-199-204.
 15. Савченко 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. № 3. С. 259—270. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-259-270.
 16. Garley M., Jabłońska E. Heterogeneity Among Neutrophils // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2018. V. 66. № 1. P. 21—30. DOI: 10.1007/s00005-017-0476-4.
 17. Kruger P., Saffarzadeh M., Weber A.N., Rieber N., Radzak M., von Bernuth H., Benarafa C., Roos D., Skokowa J., Hartl D. Neutrophils: Between host defence, immune modulation, and tissue injury // *PLoS Pathog*. 2015. V. 11. № 3:e1004651. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004651.
 18. Нестерова И.В., Евлевский А.А., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Калашиников А.Е. Особенности реструктуризации хроматина и изменение уровня относительной экспрессии генов IL8, IL-1β и TNFα нейтрофильных гранулоцитов под влиянием глюкозаминилмурамилдипептида и интерферона-γ у больных хроническим гайморитом в системе in vitro // *Иммунология*. 2015. Том 36. № 6. С. 363—367.
 19. Grayson P.C., Carmona-Rivera C., Xu L., Lim N., Gao Z., Asare A.L., Specks U., Stone J.H., Seo P., Spiera R.F., Langford C.A., Hoffman G.S., Kallenberg C.G., St Clair E.W., Tchao N.K., Ytterberg S.R., Phippard D.J., Merkel P.A., Kaplan M.J., Monach P.A. Neutrophil-related gene expression and low-density granulocytes associated with disease activity and response to treatment in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis // *Arthritis Rheumatol*. 2015. V. 67. № 7. P. 1922—1932. DOI: 10.1002/art.39153.
 20. Amulic B., Cazalet C., Hayes G.L., Metzler K.D., Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease // *Annu. Rev. Immunol*. 2012. V. 30. P. 459—489. DOI: 10.1146/annurev-immunol-020711-074942.

Поступила 04.06.2018

Принята 26.06.2018

DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-332-339

REMODELING OF THE TRANSFORMED PHENOTYPE OF CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF PATIENTS WITH ATYPICAL CHRONIC BACTERIAL INFECTION IN VITRO

G.A. Chudilova¹, I.V. Nesterova^{1,2}, L.V. Lomtatidze¹,
S.V. Kovaleva¹, T.V. Rusinova¹

¹Kuban state medical University, Krasnodar, Russia

²The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Abstract. The research has shown that the functional state of neutrophilic granulocytes (NG) is determined by the state of NG subpopulation phenotype composition in evaluating the simultaneous expression of CD16, CD32, CD11b membrane markers with considering the density of expressed molecules. The change in NG subpopulations phenotype indicates active or defective inclusion of NG in the immune response in inflammation. Various inducers of endo- and exogenous nature activate NG and promote translocation from cytoplasmic granules and vesicles or expression to the surface cytoplasmic membrane of

receptor molecules. In this regard, our interest was in studying the expression peculiarities of CD16, CD32, CD11b NG receptors in patients with atypically occurring bacterial infections (chronic sinusitis) and the possibility of remodeling the NG phenotype under the influence of glucosaminylmuramyl dipeptide (GMDP) and IFN γ in vitro. Subjects of this study were blood samples of patients with chronic sinusitis and conditionally healthy individuals. Flow rate cytometry at CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, USA) was used to evaluate the % NGs expressing CD16, CD32, CD11b, and the fluorescence intensity of these molecules (MFI) before and after incubation with the test substances. Flow cytometry (CYTOMICS FC500, Beckman Coulter, USA) were used to evaluate amount (%) of NGs expressing CD16, CD32, CD11b and mean fluorescence intensity of these molecules (MFI) before and after incubation with the test substances. The studies showed that in patients with chronic sinusitis with persistent recurrent course the presence is characterized by transformed phenotype CD16^{dim}CD32^{mid}CD11b^{br} of CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG subpopulation. We have shown that the revealed changes in the level of expression of trigger membrane receptors do not allow NG to fully engage in inflammatory process and to realize its effector and regulatory functions. Under the influence of GMDP and IFN γ regulatory molecules was demonstrated high mobilization capacity of the studied NGs for functionally significant membrane receptors in realization of various functions.

Key words: neutrophilic granulocytes, phenotype, subset, chronic sinusitis

Correspondence Author:

Chudilova Galina, PhD, MS, Associate Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Sedin str., 4, Krasnodar, 350063, Russia, E-mail: chudilova2015@yandex.ru SPIN: 2092-6412, ORCID: 0000-0001-8005-9325

Nesterova I.V. SPIN: 4714-2488, ORCID: 0000-0002-5339-4504

Lomtatidze L.V. SPIN: 2060-9316, ORCID: 0000-0002-7041-7106

Kovaleva S.V. SPIN: 8289-5342, ORCID: 0000-0002-9604-5806

Rusinova T.V. SPIN: 9591-0848, ORCID: 0000-0003-2962-3212

REFERENCES

- Mantovani A., Cassatella M.A., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* V. 11. № 8. P. 519—531. DOI: 10.1038/nri3024Nat Rev Immunol. 2011 Jul 25.
- Silvestre-Roig C., Hidalgo A., Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood.* 2016. V. 127. № 18. P. 2173—2181. DOI: 10.1182/blood-2016-01-688887.
- Scapini P., Marini O., Tecchio C., Cassatella M.A. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions. *Immunol Rev.* 2016. V. 273. № 1. P. 48—60. DOI: 10.1111/imr.12448.
- Mandruzzato S., Brandau S., Britten C.M., Bronte V., Damuzzo V., Gouttefangeas C., Maurer D., Ottensmeier C., van der Burg S.H., Welters M.J., Walter S. Toward harmonized phenotyping of human myeloid-derived suppressor cells by flow cytometry: results from an interim study. *Cancer Immunol Immunother.* 2016. V. 65. № 2. P. 161—169. DOI: 10.1007/s00262-015-1782-5.
- Beyrau M., Bodkin J.V., Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity. *Open Biol.* 2012. V. 2. № 11. P. 120—134. DOI: 10.1098/rsob.120134.
- Cortjens B., Ingelse S.A., Calis J.C., Valar A.P., Koendelman L., Bem R.A., van Woensel J.B. Neutrophil subset responses in infants with severe viral respiratory infection. *Clinical immunology.* 2017. V. 176. P. 100—106. DOI: 10.1016/j.clim.2016.12.012.
- Liefeld P.H., Wessels C.M., Leenen L.P., Koenderman L., Pillay J. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation. *Crit. Care.* 2016. V. 20. P. 73. DOI: 10.1186/s13054-016-1250-4.
- 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. *Infection and immunity.* 2017. V. 7. № 3. P. 219—230. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230.
- 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. *Infection and immunity.* 2018. V. 8. № 1. P. 7—18. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
- Pillay J., Tak T., Kamp V.M., Koenderman L. Immune suppression by neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: similarities and differences. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013. V. 70. № 20. P. 3813—3827. DOI: 10.1007/s00018-013-1286-4.
- Kobayashi Y. Neutrophil biology: an update. *EXCLI J.* 2015. V. 14. P. 220—227. DOI: 10.17179/excli2015-102. eCollection 2015.

12. Mare T.A., Treacher D.F., Shankar-Hari M., Beale R., Lewis S.M., Chambers D.J., Brown K.A. The diagnostic and prognostic significance of monitoring blood levels of immature neutrophils in patients with systemic inflammation. *Care*. 2015. V. 19. P. 57. DOI: 10.1186/s13054-015-0778-z.
13. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *J. Exp. Med.* 2013. V. 210. № 7. P. 1283—1299. DOI: 10.1084/jem.20122220.
14. Nesterova I.V., Chudilova G.A., Lomtadze L.V., Kovaleva S.V., Kolesnikova N.V., Avdeeva M.G., Rusinova T.V. Differentiation of variants of subpopulations of the transformed cd16⁺cd11b⁺ phenotype of neutrophilic granulocytes in acute viral and acute bacterial infections. *Immunologija = Immunology*. 2016. V. 37. № 4. P. 199—204. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-4-199-204.
15. Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Gvozdev I.I., Moshev A.V., Cherdantsev D.V., Pervova O.V. Interrelation of the phenotype and metabolism of blood neutrophils in patients with advanced purulent peritonitis in the dynamics of the postoperative period. *Infection and Immunity*. 2017. V. 7. № 3. P. 259—270. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-259-270.
16. Garley M., Jabłońska E. Heterogeneity Among Neutrophils. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2018. V. 66. № 1. P. 21—30. DOI: 10.1007/s00005-017-0476-4.
17. Kruger P., Saffarzadeh M., Weber A.N., Rieber N., Radsak M., von Bernuth H., Benarafa C., Roos D., Skokowa J., Hartl D. Neutrophils: Between host defence, immune modulation, and tissue injury. *PLoS Pathog*. 2015. V. 11. № 3:e1004651. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004651.
18. Nesterova I.V., Evglevskij A.A., Chudilova G.A., Lomtadze L.V., Kovaleva S.V., Kalashnikov A.E. Features of chromatin restructuring and changes in the level of relative expression of IL8, IL-1 β and TNF α genes of neutrophilic granulocytes under the influence of glucosaminylmuramyl dipeptide and interferon- γ in patients with chronic sinusitis in vitro. *Immunologija = Immunology*. 2015. V. 36. № 6. P. 363—367.
19. Grayson P.C., Carmona-Rivera C., Xu L., Lim N., Gao Z., Asare A.L., Specks U., Stone J.H., Seo P., Spiera R.F., Langford C.A., Hoffman G.S., Kallenberg C.G., St Clair E.W., Tchao N.K., Ytterberg S.R., Phippard D.J., Merkel P.A., Kaplan M.J., Monach P.A. Neutrophil-related gene expression and low-density granulocytes associated with disease activity and response to treatment in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheumatol*. 2015. V. 67. № 7. P. 1922—1932. DOI: 10.1002/art.39153.
20. Amulic B., Cazalet C., Hayes G.L., Metzler K.D., Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2012. V. 30. P. 459—489. DOI: 10.1146/annurev-immunol-020711-074942.

Received 04.06.2018

Accepted 26.06.2018