

Е.Г. Орлова, О.А. Логинова, О.Л. Горбунова, С.В. Ширшев

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН «Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН», г. Пермь, Российская Федерация

Резюме. Физиологически протекающая беременность сопровождается глубокими изменениями функций клеток как адаптивного, так и врожденного иммунитета, что необходимо для предотвращения отторжения полуаллогенного плода и сохранения защитных свойств организма матери. **Цель:** исследовать метаболическую активность CD16^{hi}- и CD16^{int}-субпопуляций гранулоцитов периферической крови в I и III триместрах физиологической беременности. **Материалы и методы.** Объектом исследования была периферическая кровь условно-здоровых женщин в I и III триместрах физиологически протекающей беременности. Группу сравнения составили условно-здоровые небеременные женщины в фолликулярной фазе менструального цикла. Метаболическую активность оценивали по экспрессии белка-транспортера глюкозы GLUT-1 и включению митохондриального зонда MitoSpy Green (BioLegend, США), отражающего массу и объем митохондриального компартмента, методом проточной цитофлуориметрии на CD16^{hi}- и CD16^{int}-гранулоцитах периферической крови. Цитотоксичность гранулоцитов оценивали по экспрессии CD107a. **Результаты исследования.** В периферической крови небеременных преобладали CD16^{hi} гранулоциты, а субпопуляции CD16^{hi}- и CD16^{int}-гранулоцитов не отличались по экспрессии GLUT-1, CD107a, массе и объему митохондрий. В I триместре в обеих субпопуляциях гранулоцитов экспрессия GLUT-1, CD107a, масса и объем митохондрий были сравнимы с небеременными, а в III триместре беременности экспрессия CD107a на CD16^{int}-клетках была ниже, чем у небеременных ($p < 0,05$), а масса и объем митохондрий был выше в обеих субпопуляциях ($p < 0,05$). **Вывод.** Полученные результаты важны для понимания механизмов регуляции функций гранулоцитов при беременности.

Ключевые слова: гранулоциты, CD16, GLUT-1, масса митохондрий, объем митохондрий, CD107a, периферическая кровь, беременность

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Орлова Екатерина Григорьевна

orlova_katy@mail.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Орлова Е.Г., Логинова О.А., Горбунова О.Л., Ширшев С.В. Метаболические особенности гранулоцитов периферической крови при физиологической беременности. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 3, с. 233–241, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-233-241

Введение

Физиологически протекающая беременность сопровождается глубокими изменениями функций клеток как адаптивного, так и врожденного иммунитета, что необходимо для предотвращения отторжения полуаллогенного плода и сохранения защитных свойств организма матери.

Нейтрофилы являются доминирующей популяцией эффекторов неспецифической резистентности в периферической крови среди гранулоцитов, основная функция которых заключается в обеспечении антимикробной защиты организма. Для физиологической беременности характерно увеличение как относительного, так и абсолютного количества нейтрофилов в периферической крови [1], однако их

функциональная активность меняется разнонаправленно в течение беременности, что связано с их фенотипической и функциональной гетерогенностью [2].

Согласно современным представлениям, нейтрофилы периферической крови различаются по экспрессии молекулы CD16 – рецептора к Fc-фрагментам IgG, необходимого для фагоцитоза IgG-опсонизированных патогенов [3]. Гранулоциты с высокой экспрессией CD16 (CD16^{hi}) и средней экспрессией CD16 (CD16^{int}) дифференцированы по степени зрелости и характеризуются разной адгезионной способностью к активированному эндотелию и экстравазации. Это определяет разную активность клеток в развитии воспалительного процесса, дополнительно предполагая участие в изменении иммунореактивности при беременности [4]. В немногочисленных исследованиях показано, что нарушение субпопуляционного состава CD16^{hi}- и CD16^{int}-нейтрофилов и их функций ассоциировано со спонтанными абортами в ранние сроки беременности [2].

Известно, что субпопуляции CD16^{hi}- и CD16^{int}-нейтрофилов отличаются метаболической активностью [2-5]. Глюкоза активно используется клетками в качестве источника энергии, сахара поступают в клетку при участии белков-транспортёров (GLUT-1); гликолиз является доминирующим метаболическим путем [6]. Количество и функциональная активность митохондрий в нейтрофилах изменяются в зависимости от степени зрелости и мобилизации, что напрямую связано с реализацией фагоцитарной функции, продукцией активных форм кислорода, способностью к формированию нейтрофильных ловушек [6]. Вместе с тем, изменение субпопуляционного состава и метаболической активности нейтрофилов во взаимосвязи с их функциями при физиологической беременности до конца не изучены. Учитывая наблюдаемое при физиологической беременности снижение антимикробной резистентности материнского организма [1, 2, 6], понимание механизмов регуляции эффекторов неспецифической резистентности является важной задачей иммунологии репродукции.

Цель: исследовать метаболическую активность CD16^{hi}- и CD16^{int}-субпопуляций гранулоцитов периферической крови в I и III триместрах физиологической беременности.

Материалы и методы

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ИЭГМ УрО РАН (протокол №16 от 05.06.2022) и проведено в соответствии с этическими стандартами национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года с ее последующими изменениями или сопоставимым нормам этики. В исследование включено 19 женщин, среди которых было 7 беременных в I триместре и 6 беременных в III триместре физиологической беременности. В группу сравнения вошли 6 условно-здоровых небеременных женщин в фолликулярной фазе менструального цикла.

Критериями включения были: наличие одной и более успешных беременностей; отсутствие патологий беременности в прошлом и настоящем; отсутствие острых и хронических соматических, эндокринных, аутоиммунных, генетических заболеваний; отрицание диет, приема контрацептивных, гормональных, противовоспалительных или антибактериальных препаратов; наличие добровольного информированного согласия на использование биологического материала. Характеристики групп представлены в таблице 1.

Венозную кровь получали из локтевой вены утром натощак в вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой в качестве антикоагулянта. Для удаления эритроцитов использовали коммерческий лизирующий буфер. Фенотип клеток определяли на проточном цитометре «CytoFlex S» (BeckmanCoulter, США) с использованием программы «CytExpert 2.0» (BeckmanCoulter, США). Окрашивание моноклональными антителами проводили согласно инструкции производителя. Анализировали не менее 100 000 событий в каждой пробе. Для уменьшения неспецифического связывания и адгезии клеток окрашивание проводили в фосфатно-солевом буфере, содержащем 2мМ ЭДТА и 0,1% БСА, без использования консервантов. Для контроля неспецифического связывания и выделения негативного по флюоресценции окна использовали соответствующие изотипические и негативные контроли. Стратегия гейтирования представлена на рисунке 1.

Таблица 1
Клиническая и демографическая характеристика участниц исследования
Table 1
Clinical and demographic characteristics of the study participants

Исследуемые группы Study groups	Количество Number	Возраст Ages	Срок беременности, недель Gestation, weeks
Небеременные женщины Non-pregnant women	6	20,5 (20-27)	-
Беременные, I триместр Pregnant women, I trimester	7	31 (25-32)	12 (10-12)
Беременные, III триместр Pregnant women, third trimester	6	29 (25-32)	31 (30-32)

Примечание: возраст и срок беременности представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей Me(Q1-Q3)

Note: the data are presented as Median and interquartile range, Me(Q1-Q3)

Популяцию гранулоцитов определяли методом проточной цитометрии по каналам прямого и бокового светорассеивания. В гейте гранулоцитов анализировали CD3-CD16⁺ клетки, среди которых выделяли субпопуляции CD16^{hi} и CD16^{int}. Флуоресцентный краситель Zombie UV® Fixable Viability Kit (BioLegend, США) использовали для исключения мертвых клеток. В исследуемых субпопуляциях гранулоцитов оценивали процент клеток, позитивных по экспрессии GLUT-1 (GLUT-1⁺) и включению митохондриального зонда MitoSpy® Green FM (BioLegend, США), а также экспрессирующие маркер дегрануляции CD107a [7]. Окрашивание моноклональными антителами проводили согласно инструкции производителя (Табл. 2)

Таблица 2
Характеристика используемых антител
Table 2
Characteristics of the antibodies

Антитела Antibodies	Флюорохром Fluorochrome	Клон Clone	Изотип Isotype	Производитель Company
CD3	PE	ОКТ3	Mouse/IgG2a, κ	BioLegend, USA
CD16	Pacific blue®	3G8	Mouse IgG1, κ	BioLegend, USA
CD107a	APC	H4A3	Mouse IgG1, κ	BioLegend, USA
GLUT-1	PE-Cy5.5	Polyclonal	Rabbit IgG	Biorbyt, Great Britain

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с помощью программы Prism v.8.0.1 (Graphpad, США). Для проверки нормальности распределения использовали критерий Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде медианы (Me), нижних (LQ) и верхних квартилей (UQ). Достоверность различий между группами определяли с использованием критерия Крускала-Уоллиса для множественных сравнений независимых переменных. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что у здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста преобладающей популяцией нейтрофилов являются CD16^{hi} (Рис. 2). Ранее подобные результаты были получены и другими авторами, которые описывают доминирующую популяцию CD16^{hi}-нейтрофилов в периферической крови доноров обоих полов [3-5]. По данным литературы CD16^{hi}-нейтрофилы являются более зрелыми, а CD16^{int}-нейтрофилы – менее зрелыми клетками крови [4]. В динамике беременности соотношение CD16^{hi}/CD16^{int}-клеток изменяется: количество CD16^{int}-клеток увеличивается, а CD16^{hi} – снижается пропорционально сроку беременности ($p < 0,05$).

Учитывая развитие нейтрофильного лейкоцитоза в периферической крови при физиологической беременности, можно полагать, что гормоны, вырабатываемые плацентой, стимулируют выброс из

костного мозга менее зрелых форм нейтрофилов. Существует вероятность того, что системное угнетение цитотоксических реакций клеток адаптивного иммунитета, участвующих в антимикробной защите, при беременности компенсируется увеличением количества нейтрофилов.

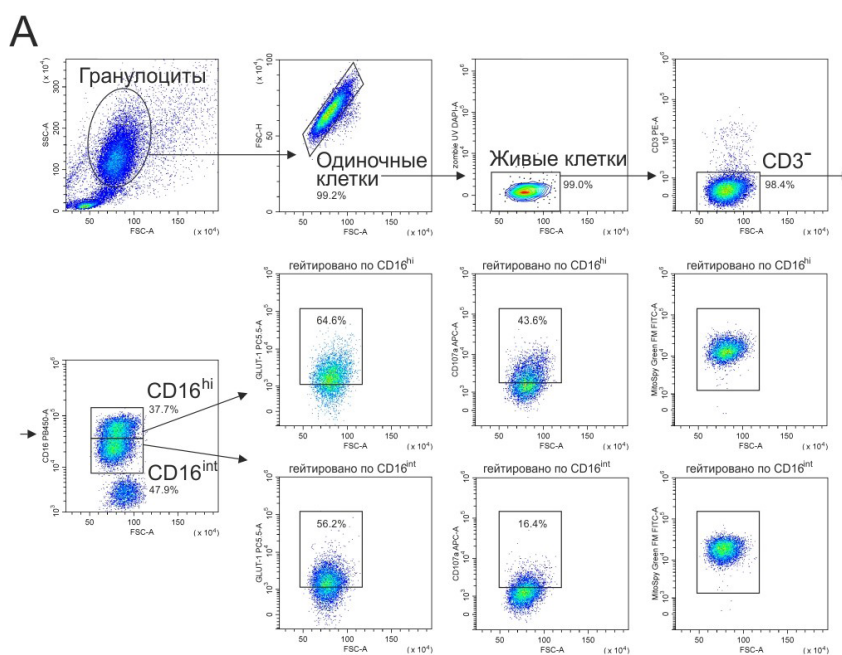


Рисунок 1. Стратегия гейтирования гранулоцитов

Примечание. Последовательно: выделение гранулоцитарного гейта по параметрам площади прямого (FSC-A) и высоты бокового (SSC-H) светорассеивания; дискриминация слипшихся клеток (дуплетов) по параметрам площади и высоты прямого светорассеивания (FSC-A/ FSC-H); определение региона живых клеток с использованием красителя Zombie UV®; исключение гранулярных лимфоцитов с использованием антител к CD3; выделение CD16^{hi} и CD16^{int} субпопуляций среди CD16-позитивных гранулоцитов; оценка экспрессии GLUT-1 и CD107a среди CD16^{hi}- и CD16^{int}-клеток; определение включения флуоресцентного красителя MitoSpy® Green FM в CD16^{hi}- и CD16^{int}-клетки. Представлены гистограммы одного репрезентативного эксперимента.

Figure 1. Granulocyte gating strategy

Note. Consistently: isolation of the granulocyte gate based on forward scatter area (FSC-A) and side scatter height (SSC-H) parameters; discrimination of adherent cells (doublets) based on forward scatter area and height parameters (FSC-A/ FSC-H); definition of the live cell region using Zombie UV® dye; exclusion of granular lymphocytes using CD3 antibodies; isolation of CD16^{hi} and CD16^{int} subpopulations among CD16-positive granulocytes; evaluation of GLUT-1 and CD107a expression among CD16^{hi} and CD16^{int} cells; determination of the MitoSpy® Green FM incorporation in CD16^{hi} and CD16^{int} cells. Histograms of one representative experiment are presented.

Анализ экспрессии маркера цитотоксичности – молекулы CD107a (белок мембраны гранул), которая появляется на поверхности клетки при дегрануляции, показал, что у небеременных женщин количество CD107a-позитивных клеток не отличалось в субпопуляциях CD16^{hi}- и CD16^{int}-нейтрофилов (Рис. 2). У беременных процентное содержание CD16^{hi}-нейтрофилов, экспрессирующих CD107a, достоверно не изменялось в I и в III триместрах и не отличалось от небеременных, хотя выявлялась тенденция к снижению этого показателя в динамике беременности. Процент CD107a-позитивных CD16^{int}-нейтрофилов в I триместре беременности также не имел достоверных отличий от небеременных женщин, но в III триместре снижался в сравнении с небеременными. Учитывая изменение соотношения CD16^{hi}/CD16^{int}-нейтрофилов в динамике физиологической беременности в сторону увеличения количества CD16^{int}-нейтрофилов, можно полагать, что цитотоксичность нейтрофилов периферической крови снижается, что отчасти компенсируется увеличением количества клеток. Таким образом, полученные результаты дополняют наше понимание механизмов снижения антимикробной резистентности организма матери, характерное для физиологической беременности. Предполагает-

ся, что выявленное снижение цитотоксичности нейтрофилов обусловлено регуляторными эффектами гормонов плаценты, что необходимо для предотвращения иммунного отторжения плода.

Метаболическую активность гранулоцитов исследовали по экспрессии GLUT-1 и включению красителя MitoSpy Green. Считали, что увеличение экспрессии GLUT-1 свидетельствовало об усилении потребления глюкозы и активации метаболических процессов в клетке.

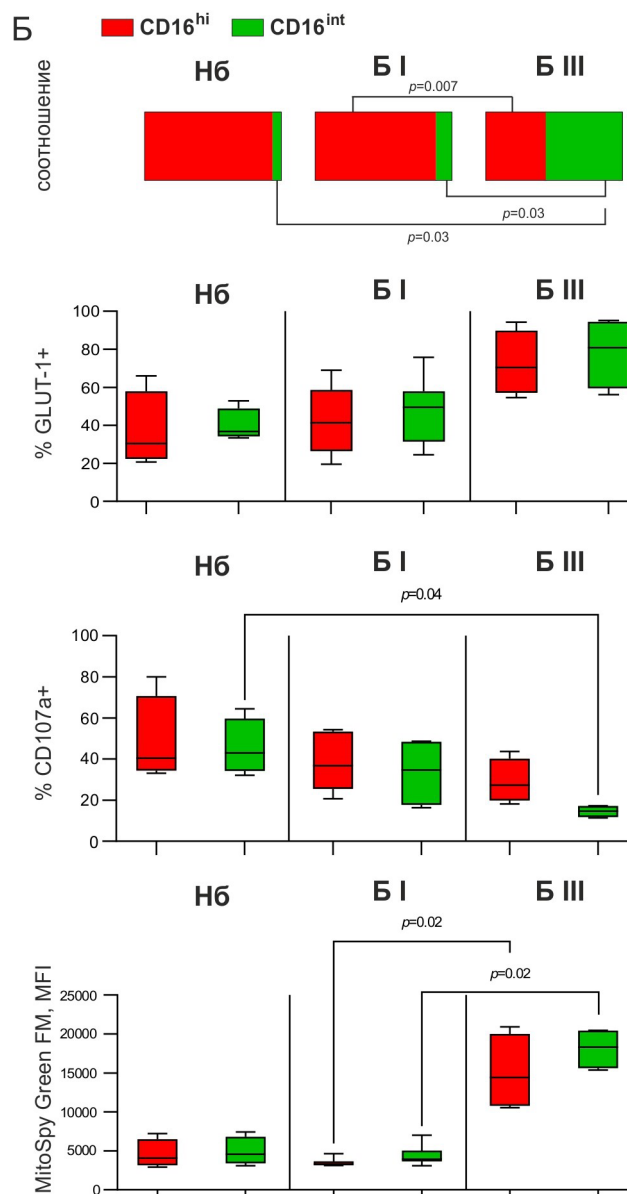


Рисунок 2. Соотношение CD16^{hi}- и CD16^{int}-гранулоцитов; процент клеток, позитивных по экспрессии GLUT-1, CD107a, включению митохондриального зонда MitoSpy Green FM в субпопуляциях CD16^{hi}- и CD16^{int}-гранулоцитов периферической крови у небеременных (Нб), беременных в I (I) и III триместрах (III)

Примечание: данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха, Me (Q1-Q3); по оси ординат представлена медиана интенсивности флуоресценции (MFI, Median Fluorescence Intensity) в клетках, содержащих MitoSpy Green FM; значения «р» представлены по критерию Крускала-Уоллиса с апостериорным тестом Данна

Figure 2. CD16^{hi}- and CD16^{int}-granulocytes ratio; percentage of cells positive for the expression of GLUT-1, CD107a, incorporation of MitoSpy Green FM in subpopulations of CD16^{hi}- and CD16^{int}-granulocytes of peripheral blood in non-pregnant (Nb), pregnant women in I (I) and III trimesters (III)

Note: the data are presented as median and interquartile range, Me (Q1-Q3); median Fluorescence Intensity (MFI) in cells incorporating MitoSpy Green FM is presented in ordinate axis; the values of «р» are presented according to the Kruskal-Wallis criterion with a posteriori Dunn test

Известно, что краситель MitoSpy Green может избирательно накапливаться в матриксе мито-

хондрий, где связывается белками [7]. Накопление MitoSpy Green в клетке прямо пропорционально массе и объему митохондриального компартмента, что свидетельствует об усилении биогенеза энергетических органелл [7]. В исследовании было установлено, что у небеременных CD16^{hi}- и CD16^{int}-нейтрофилы не отличались по экспрессии GLUT-1 и способности накапливать MitoSpy Green, что свидетельствует о сходной метаболической активности обеих субпопуляций клеток. В I триместре беременности экспрессия GLUT-1, масса и объем митохондрий достоверно не менялись в сравнении с данными, полученными у небеременных женщин. В III триместре масса и объем митохондрий достоверно увеличивались в обеих субпопуляциях нейтрофилов, имелась тенденция к увеличению экспрессии GLUT-1 (Рис. 2). Полученные данные позволяют предположить, что метаболическая активность обеих субпопуляций нейтрофилов увеличивается к концу беременности, что, по-видимому, сопряжено с активацией в них синтетических процессов.

В целом, можно заключить, что физиологическая беременность сопровождается фенотипическими и функциональными изменениями нейтрофилов в периферической крови: увеличением количества незрелых CD16^{int}-нейтрофилов со сниженной цитотоксической активностью, увеличением метаболической активности CD16^{hi}- и CD16^{int}-нейтрофилов. Полученные результаты раскрывают новые механизмы регуляции функциональной активности нейтрофилов при беременности. По-видимому, гормоны, продуцируемые плацентой при беременности, эффективно модулируют функции нейтрофилов периферической крови. Учитывая способность нейтрофилов к инфильтрации тканей матки и участию в иммунном отторжении, модуляция их цитотоксической активности важна не только для обеспечения антимикробной резистентности, но и благополучного течения беременности.

Заключение

Таким образом, в динамике физиологически протекающей беременности меняется соотношение CD16^{hi}/CD16^{int}-нейтрофилов периферической крови. Пропорция CD16^{hi}-нейтрофилов снижается, а CD16^{int}-нейтрофилов, соответственно, увеличивается. Изменение соотношения CD16^{hi}/CD16^{int}-нейтрофилов сопровождается увеличением их метаболической активности при ограничении их цитотоксичности. Полученные результаты важны для понимания механизмов регуляции функций нейтрофилов при беременности.

Благодарности

Работа выполнена в рамках госзадания ИЭГМ УрО РАН (№ гос. регистрации 124020500027-7).

ЛИТЕРАТУРА

1. Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В., Зайцева О.О., Худяков А.Н., Соломина О.Н., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С.
Роль нейтрофилов при физиологическом течении беременности, родов и ряде акушерских осложнений. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2015; 55 (4): 75–86.
2. Ye H., Li L., Dong Y., Zheng Q., Sha Y., Li L., Yang P., Jia Y., Gu J. Dysregulated low-density granulocyte contributes to early spontaneous abortion. *Front. Immunol.* 2023; 14:1119756. doi:10.3389/fimmu.2023.1119756.
3. Medara N., Lenzo J.C., Walsh K.A., Reynolds E.C., O'Brien-Simpson N.M., Darby I.B. Peripheral neutrophil phenotypes during management of periodontitis. *J. Periodontal Res.* 2021; 56(1):58-68. doi:10.1111/jre.12793.
4. Kamp V.M., Pillay J., Lammers J.W., Pickkers P., Ulfman L.H., Koenderman L. Human suppressive neutrophils CD16^{bright}/CD62L^{dim} exhibit decreased adhesion. *J. Leukoc. Biol.* 2012; 92(5):1011-1020. doi:10.1189/jlb.0612273.
5. Martin C., Dhôte T., Ladjemi M.Z., Andrieu M., Many S., Karunanithy V., Pène F., Da Silva J., Burgel P.R., Witko-Sarsat V. Specific circulating neutrophils subsets are present in clinically stable adults with cystic fibrosis and are further modulated by pulmonary exacerbations. *Front. Immunol.* 2022; 13:1012310. doi:10.3389/fimmu.2022.1012310.
6. Stojkov D., Gigon L., Peng S., Lukowski R., Ruth P., Karaulov A., Rizvanov A., Barlev N.A., Yousefi S., Simon H.U. Physiological and Pathophysiological Roles of Metabolic Pathways for NET Formation and

Other Neutrophil Functions. Front. Immunol. 2022; 13:826515. doi:10.3389/fimmu.2022.826515.

7. Cottet-Rousselle C., Ronot X., Leverve X., Mayol J.F. Cytometric assessment of mitochondria using fluorescent probes. Cytometry Part A. 2011; 79(6):405-425. doi:10.1002/cyto.a.21061.

Авторы

Орлова Екатерина Григорьевна
Д.б.н., в.н.с. лаборатории иммунорегуляции
orlova_katy@mail.ru

Логинова Ольга Александровна
К.б.н., м.н.с. лаборатории иммунорегуляции
jallorukki@ya.ru

Горбунова Ольга Леонидовна
К.б.н., н.с. лаборатории иммунорегуляции
olia15_77@mail.ru

Ширшев Сергей Викторович
Д.м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, заведующий лабораторией иммунорегуляции
shirshev@iegm.ru

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук» (ИЭГМ УрО РАН)

Пермь, Российская Федерация

E.G. Orlova, O.A. Loginova, O.L. Gorbunova, S.V. Shirshhev

METABOLIC FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD GRANULOCYTES IN PHYSIOLOGICAL PREGNANCY

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences,
Perm, Russian Federation

Abstract. Physiologically, pregnancy is accompanied by profound changes in the functions of cells of both adaptive and innate immunity, which is necessary to prevent rejection of a semi-allogenic fetus and preserve the protective properties of the mother's body. **Objective:** to investigate the metabolic activity of CD16^{hi} and CD16^{int} subpopulations of peripheral blood granulocytes in the I and III trimesters of physiological pregnancy. **Materials and methods.** The object of the study was the peripheral blood of healthy women in the first and third trimesters of physiological pregnancy. The comparison group consisted of healthy non-pregnant women in the follicular phase of the menstrual cycle. Metabolic activity was assessed by the expression of the glucose transporter protein GLUTt-1 and the incorporation of the MitoSpy Green (BioLegend, USA), reflecting the mass and volume of the mitochondrial compartment, by flow cytometry in CD16^{hi} and CD16^{int} granulocytes of peripheral blood. Cytotoxicity of granulocytes was assessed by CD107a expression. **Results.** CD16^{hi} granulocytes predominate in the peripheral blood of non-pregnant women, and the subpopulations of CD16^{hi} and CD16^{int} granulocytes do not differ in the expression of GLUT-1, CD107a, mass and volume of mitochondria. In the first trimester, in both subpopulations, the expression of GLUT-1, CD107a, the mass and volume of mitochondria are comparable to non-pregnant women, and in the third trimester of pregnancy, the expression of CD107a on CD16^{int} is significantly lower than in non-pregnant women, the mass and volume of mitochondria significantly increase in both subpopulations. **Conclusions.** The results obtained are important

for understanding the mechanisms of regulation of granulocyte functions during pregnancy.

Keywords: granulocytes, CD16, GLUT-1, mitochondrial mass, mitochondrial volume, CD107a, peripheral blood, pregnancy

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Ekaterina G. Orlova

orlova_katy@mail.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Orlova E.G., Loginova O.A., Gorbunova O.L., Shirshov S.V. Metabolic features of peripheral blood granulocytes in physiological pregnancy. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 3, pp. 233–241. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-233-241 (In Russ)

REFERENCES

1. Tsirkin V.I., Anisimov K.Y., Polezhaeva T.V., Zaitseva O.O., Khudyakov A.N., Solomina O.N., Khlybova S.V., Dmitrieva S.L., Popova V.S. The role of neutrophils in physiological pregnancy and labor and some obstetric complications [Rol' nejtrofilov pri fiziologicheskom techenii beremennosti, rodov i rjade akusherskih oslozhenij]. Journal of Ural Medical Academic Science=Vestnik Ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki. 2015; 55(4):75-86. (In Russ)
2. Ye H., Li L., Dong Y., Zheng Q., Sha Y., Li L., Yang P., Jia Y., Gu J. Dysregulated low-density granulocyte contributes to early spontaneous abortion. Front. Immunol. 2023; 14:1119756. doi:10.3389/fimmu.2023.1119756.
3. Medara N., Lenzo J.C., Walsh K.A., Reynolds E.C., O'Brien-Simpson N.M., Darby I.B. Peripheral neutrophil phenotypes during management of periodontitis. J. Periodontal Res. 2021; 56(1):58-68. doi:10.1111/jre.12793.
4. Kamp V.M., Pillay J., Lammers J.W., Pickkers P., Ulfman L.H., Koenderman L. Human suppressive neutrophils CD16bright/CD62Ldim exhibit decreased adhesion. J. Leukoc. Biol. 2012; 92(5):1011-1020. doi:10.1189/jlb.0612273.
5. Martin C., Dhôte T., Ladjemi M.Z., Andrieu M., Many S., Karunanithy V., Pène F., Da Silva J., Burgel P.R., Witko-Sarsat V. Specific circulating neutrophils subsets are present in clinically stable adults with cystic fibrosis and are further modulated by pulmonary exacerbations. Front. Immunol. 2022; 13:1012310. doi:10.3389/fimmu.2022.1012310.
6. Stojkov D., Gigon L., Peng S., Lukowski R., Ruth P., Karaulov A., Rizvanov A., Barlev N.A., Yousefi S., Simon H.U. Physiological and Pathophysiological Roles of Metabolic Pathways for NET Formation and Other Neutrophil Functions. Front. Immunol. 2022; 13:826515. doi:10.3389/fimmu.2022.826515.
7. Cottet-Rousselle C., Ronot X., Leverve X., Mayol J.F. Cytometric assessment of mitochondria using fluorescent probes. Cytometry Part A. 2011; 79(6):405-425. doi:10.1002/cyto.a.21061.

Authors

Ekaterina G. Orlova

DB, Leading Researcher of the Laboratory of Immunoregulation

orlova_katy@mail.ru

Loginova Olga Alexandrovna

Ph.D. (Biology), Junior Researcher of the Laboratory of Immunoregulation

jallopukki@ya.ru

Gorbunova Olga Leonidovna

Ph.D. (Biology), Researcher of the Laboratory of Immunoregulation

olia15_77@mail.ru

Shirshev Sergey Victorovich
DM, Head of the Laboratory of Immunoregulation
shirshev@iegm.ru

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences (IEGM
UB RAS)
Perm, Russian Federation