

ЗАВИСИМОСТЬ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА НЕЙТРОФИЛОВ ОТ СОСТОЯНИЯ ИХ МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ОСТРОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТА

Савченко А.А.^{1,2}, Борисов А.Г.^{1,3}, Здзитовецкий Д.Э.³,
Медведев А.Ю.¹, Гвоздев И.И.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение
ФГБНУ Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук“, г. Красноярск, Россия

² ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

³ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-
Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение зависимости состояния респираторного взрыва нейтрофилов от активности их внутриклеточных ферментов у больных с разной степенью тяжести острого деструктивного панкреатита (ОДП). Обследовано 50 больных ОДП средней (17 пациентов) и тяжелой (33 пациента) степени тяжести. В качестве контроля обследовано 47 здоровых людей. Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа. Исследование активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови проведено с помощью биолюминесцентного анализа. Установлено, что независимо от степени тяжести заболевания выявляется снижение спонтанного и индуцированного синтеза нейтрофилами супероксид-радикала. У больных с тяжелой степенью ОДП также нарушена кинетика синтеза первичных АФК. У больных со средней степенью тяжести повышается уровень синтеза нейтрофилами вторичных АФК, тогда как при тяжелой степени заболевания наблюдаются нарушения в кинетике синтеза вторичных АФК нейтрофилами, находящихся в состоянии относительного покоя, и повышение уровня синтеза при дополнительной индукции зимозаном. Метаболизм нейтрофилов у больных ОДП характеризуется активацией пластических процессов (за счет продуктов пентозофосфатного цикла) и аэробной энергетики (повышение интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот). Однако у больных со средней степенью тяжести нейтрофильный пул NADPH дополнительно поддерживается ферментативными реакциями малик-фермента и NADP-зависимой глутаматдегидрогеназой. У больных с тяжелой степенью ОДП выявляется активация перекисных процессов, для компенсации которых требуется NADPH. Состояние энергетических процессов в нейтрофилах крови у больных ОДП характеризуется отсутствием изменений активности гликолиза и увеличением интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот. У больных со средней степенью тяжести заболевания активность аэробных процессов поддерживается продуктами аминокис-

Адрес для переписки:

Савченко Андрей Анатольевич
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел./факс: 8 (391) 228-06-33.
E-mail: aasavchenko@yandex.ru

Address for correspondence:

Savchenko Andrei A.
Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
Partizan Zheleznyak str., 3g.
Phone/Fax: 7 (391) 228-06-33.
E-mail: aasavchenko@yandex.ru

Образец цитирования:

А.А. Савченко, А.Г. Борисов, Д.Э. Здзитовецкий,
А.Ю. Медведев, И.И. Гвоздев «Зависимость
респираторного взрыва нейтрофилов от состояния их
метаболизма у больных с разной степенью тяжести
острого деструктивного панкреатита» // Медицинская
иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 77-88.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-77-88

© Савченко А.А. и соавт., 2019

For citation:

A.A. Savchenko, A.G. Borisov, D.E. Zdzitovetskiy,
A.Yu. Medvedev, I.I. Gvozdev "Dependence of neutrophil
respiratory burst on their metabolic state in the patients with acute
destructive pancreatitis of different severity", Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 1,
pp. 77-88. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-77-88

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-77-88

лотного обмена (через глутаматдегидрогеназы), тогда как при тяжелой степени ОДП – продуктами липидного катаболизма. С помощью корреляционного анализа исследована зависимость респираторного взрыва нейтрофилов от состояния их метаболизма. Установлено, что у лиц контрольной группы интенсивность и кинетика респираторного взрыва нейтрофилов зависит только от активности NADP-зависимых дегидрогеназ. У больных со средней степенью тяжести ОДП изменение активности внутриклеточных метаболических процессов привело к нарушению их регуляторного влияния на состояние респираторного взрыва нейтрофилов. У пациентов с тяжелой степенью заболевания респираторный взрыв нейтрофилов стимулируется реакциями восстановительного аминирования α -кетоглутарата, но ингибируется внутриклеточными перекисными процессами.

Ключевые слова: панкреатит, степень тяжести, нейтрофилы, функция, респираторный взрыв, хемилюминесценция, активные формы кислорода, метаболизм, активность ферментов

DEPENDENCE OF NEUTROPHIL RESPIRATORY BURST ON THEIR METABOLIC STATE IN THE PATIENTS WITH ACUTE DESTRUCTIVE PANCREATITIS OF DIFFERENT SEVERITY

Savchenko A.A.^{a, b}, Borisov A.G.^{a, c}, Zdzitovetskiy D.E.^c, Medvedev A.Yu.^a, Gvozdev I.I.^a

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

^c V. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to investigate a dependence of respiratory burst state in neutrophils on activities of their intracellular enzymes in patients with acute destructive pancreatitis (ADP) of different severity. The study included 50 patients with ADP of moderate (17 cases) and severe degree (33 cases). A group of 47 healthy people was examined as controls. The respiratory burst state was examined in neutrophilic granulocytes by means of chemiluminescence assays. A study of NAD(P)-dependent dehydrogenases activity in blood neutrophils was performed using bioluminescent analysis. We have revealed that a decrease in spontaneous and induced synthesis of superoxide radical by neutrophils was detected in ADP patients, independently of the disease severity. Kinetics of primary ROS synthesis was also impaired in patients with severe ADP. In patients with moderate disorder, the level of secondary ROS synthesis by neutrophils proved to be increased, whereas, in cases of severe disease, a disturbed kinetics of secondary ROS synthesis by neutrophils was detected at a resting state, showing increased synthetic level upon additional induction by zymosan. Metabolism of neutrophils in patients with ADP is characterized by activation of plastic processes (due to the products of the pentose phosphate cycle) and aerobic energy (increased substrate flow intensity in the cycle of tricarboxylic acids). However, NADPH neutrophilic pool in patients with moderate disorder could be additionally supported by enzymatic malic enzyme reactions and NADP-dependent glutamate dehydrogenase. Activation of peroxidation events in patients with severe ADP is revealed, which needs NADPH compensation. The state of energy processes in blood neutrophils in patients with ADP is characterized by lacking changes in glycolytic activity, and increased intensity of substrate flux along tricarboxylic acids cycle. Activity of aerobic processes in patients with moderate disease is maintained by the products of amino acid metabolism (via glutamate dehydrogenase), whereas, in severe ADP it may be provided by products of lipid catabolism. Using correlation analysis, a dependence of respiratory burst of neutrophils on the state of their metabolism was studied. We have found that intensity and kinetics of respiratory burst in the neutrophils of controls depends only on the activity of NADP-dependent dehydrogenases. The changes in cellular metabolic activity in the patients with moderate ADP led to disturbances of their regulatory effect upon the state of neutrophil respiratory burst. In patients with severe disorder, the degree a neutrophil respiratory burst is stimulated by reductive amination of α -ketoglutarate, being, however, inhibited by intracellular peroxidation processes.

Keywords: pancreatitis, severity stage, neutrophils, function, respiratory burst, chemiluminescence, reactive oxygen species, metabolism, enzyme activity

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

Англоязычный список ферментов

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ) – Glucose-6-phosphate dehydrogenase (Glu6PDH)

Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (ГЗФДГ) – Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (Gly3PDH)

Лактатдегидрогеназа, НАД-зависимая реакция (ЛДГ) – Lactate dehydrogenase, NAD-dependent reaction (LDH)

НАДР-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа (НАДР-МДГ) – NADP-dependent malate dehydrogenase decarboxylated (NADP-MDH)

НАДР-зависимая глутаматдегидрогеназа (НАДР-ГДГ) – NADP-dependent glutamate dehydrogenase (NADP-GluDH)

НАДР-зависимая изоцитратдегидрогеназа (НАДР-ИЦДГ) – NADP-dependent isocitrate dehydrogenase (NADP-ICDH)

Малатдегидрогеназа, НАД-зависимая реакция (МДГ) – Malate dehydrogenase, NAD-dependent reaction (MDH)

НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа (НАД-ГДГ) – NAD-dependent glutamate dehydrogenase (NAD-GluDH)

НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа (НАД-ИЦДГ) – NAD-dependent isocitrate dehydrogenase (NAD-ICDH)

НАДН-зависимая реакция лактатдегидрогеназы (НАДН-ЛДГ) – NADH-dependent reaction of lactate dehydrogenase (NADH-LDH)

НАДН-зависимая реакция малатдегидрогеназы (НАДН-МДГ) – NADH-dependent reaction of malate dehydrogenase (NADH-MDH)

Глутатионредуктаза (ГР) – Glutathione reductase (GR)

НАДН-зависимая реакция глутаматдегидрогеназы (НАДН-ГДГ) – NADH-dependent reaction of glutamate dehydrogenase (NADH-GluDH)

НАДРН-зависимая реакция глутаматдегидрогеназы (НАДРН-ГДГ) – NADPH-dependent reaction of glutamate dehydrogenase (NADPH-GluDH)

Введение

Острый панкреатит является воспалительным процессом с очень вариабельным клиническим течением. У большинства пациентов острый панкреатит протекает в легкой форме без существенных осложнений, однако у 10-20% больных наблюдается острый деструктивный панкреатит (ОДП) – наиболее тяжелая форма заболевания,

характеризующаяся высоким риском развития летальных осложнений с общей смертностью до 30% [1, 18]. Данная группа пациентов нуждается в наиболее раннем выявлении этих рисков, правильном назначении диагностических процедур и выборе обоснованной тактики лечения. Поэтому ранняя оценка степени тяжести больных ОДП важна для назначения ранней специализированной интенсивной терапии и своевременного оперативного вмешательства и, как следствие, улучшает исходы, снижая летальность [10].

Изменения в иммунной системе при ОДП являются наиболее ранними, и их следует рассматривать как фактор, во многом определяющий течение заболевания. Ключевыми клетками в развитии воспаления являются нейтрофилы, которые являются высокореактивными клетками врожденного иммунитета, способными быстро мобилизоваться в очаг воспаления [3, 7, 24]. За счет широкого спектра рецепторов нейтрофильные гранулоциты являются очень чувствительными клетками к изменению гомеостаза организма. Одним из проявлений функциональной активности нейтрофилов является респираторный взрыв, который развивается в процессе фагоцитоза и характеризуется уровнем и кинетикой синтеза активных форм кислорода (АФК) [12, 27]. Изменение уровня фагоцитарной активности значительно коррелирует с интенсивностью синтеза АФК. Так, в работе Marchi L.F. и соавт. (2014) продемонстрировано, что $IFN\gamma$ одновременно стимулировал уровень фагоцитоза и синтез нейтрофилами супероксид-радикала, перекиси водорода и хлорноватистой кислоты [19]. В то же время высокая интенсивность синтеза АФК нейтрофилами также может явиться причиной неконтролируемой воспалительной реакции [22].

Реализация любых функциональных механизмов нейтрофилами не может не зависеть от состояния их метаболизма. Доказано, что воспринимая сигналы о нарушении гомеостаза внутренней среды организма, нейтрофилы модулируют свой метаболизм, что, в свою очередь, приводит к изменению их функциональной активности [6, 8, 20]. Так, в работе Walmsley S. и Whyte M. (2014) показано, что функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов зависит от метаболизма глюкозы (прежде всего, через пентозофосфатный цикл), глутамата и внутриклеточной энергетики [24]. Azevedo E.P. и соавт. (2015) установили, что способность к формированию нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET) зависит от активности пентозофосфатного цикла [8]. Авторами отмечается, что активность НАДРН-оксидазы соответствует уровню продукции НАДРН в пентозофосфатном цикле и влияет на формирование NET. Ранее нами об-

наружено, что динамика активности ферментов нейтрофилов у больных распространенным гнойным перитонитом в послеоперационном периоде реализуется при изменении фенотипа клеток [6]. В то же время механизмы зависимости синтеза АФК от метаболизма нейтрофилов при различных воспалительных заболеваниях человека исследованы еще не полностью.

Таким образом, целью данного исследования явилось изучение зависимости состояния респираторного взрыва нейтрофилов от активности их внутриклеточных ферментов у больных с разной степенью тяжести ОДП.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 50 больных ОДП (27 мужчин и 23 женщины) средней (17 пациентов) и тяжелой (33 пациента) степени тяжести, проходивших лечение в отделениях хирургии и отделении реанимации и интенсивной терапии КБУЗ «КМКБСМП им. Н.С. Карповича» г. Красноярск. Средний возраст больных составил $46,9 \pm 6,5$ года. Из исследования были исключены больные с ОДП легкой степени, у которых ОДП явился осложнением травмы брюшной полости, в том числе и послеоперационный. Исходную степень тяжести состояния больных определяли по шкале SAPS II [16]. Для оценки тяжести ОДП и прогноза развития заболевания применяли шкалу критериев первичной экспресс-оценки тяжести острого панкреатита Санкт-Петербургского НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе [1]. Наличие и степень выраженности полиорганной недостаточности определяли по шкале SOFA [23]. При оценке степени тяжести синдрома системной воспалительной реакции придерживались критериев АССР/SCCM [9]. В качестве контроля обследовано 47 здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Нейтрофильные гранулоциты выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина. Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа [7]. В качестве индикаторов хемилюминесценции использовали люминол и люцигенин. Оценка спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществлялась в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе БЛМ-3607 (ООО «МедБиоТех», Россия). Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение интенсивности (I_{max}), а также площадь под кривой (S) хемилюминесценции. Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, оценивали отношением площади индуцированной хемилюминесценции (S_{ind})

к площади спонтанной (S_{spont}) и определяли как индекс активации (S_{ind}/S_{spont}).

Исследование активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови проведено с помощью биоломинесцентного анализа [4]. Метаболизм нейтрофилов оценивали по активности следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), NADP-зависимой декарбоксилирующей малатдегидрогеназы (малик-фермент, NADP-МДГ), NAD- и NADH-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и NADH-ЛДГ), NAD- и NADH-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и NADH-МДГ), NADP- и NADPH-зависимой глутаматдегидрогеназы (NADP-ГДГ и NADPH-ГДГ), NAD- и NADH-зависимой глутаматдегидрогеназы (NAD-ГДГ и NADH-ГДГ), NAD- и NADP-зависимых изоцитратдегидрогеназ (NAD-ИЦДГ и NADP-ИЦДГ соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Активность NAD(P)-зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на 10^4 клеток, где $1 \text{ E} = 1 \text{ мкмоль/мин}$ [5]. Исследование проводили на ферментативном препарате NAD(P):FMNоксидоредуктаза-люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (получен в Институте биофизики СО РАН, г. Красноярск).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей ($Q_{0,25}$ и $Q_{0,75}$). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

При исследовании интенсивности и кинетики люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов обнаружено, что только у больных со средней степенью тяжести ОДП снижается максимум интенсивности спонтанной хемилюминесценции по сравнению с контрольными показателями и значениями, выявленными у пациентов с тяжелой степенью ОДП (табл. 1).

У больных с тяжелой степенью ОДП уменьшается время выхода на максимум спонтанной и зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови. Независимо от тяжести заболевания, у обследованных пациентов понижается площадь под кривой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции.

Исследование люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови позволило обнаружить, что у больных со средней степенью тяжести ОДП повышается площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции как относительно контрольных значений, так и показателей, выявляемых у пациентов с тяжелой степенью заболевания (табл. 2). При этом у больных с тяжелой степенью ОДП наблюдается значительное снижение площади под кривой спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов относительно контрольных значений. Только у больных с тяжелой степенью ОДП относительно контрольного уровня повышается индекс активации по люми-

нол-зависимой хемилюминесценции. Независимо от тяжести заболевания у обследованных пациентов относительно контрольных значений увеличиваются максимумы интенсивности спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов.

С помощью билюминесцентного анализа исследованы уровни активности NAD- и NADP-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах крови (табл. 3). Обнаружено, что у больных со средней степенью тяжести ОДП в нейтрофилах крови по сравнению с контрольными значениями, а также выявленными у больных с тяжелой степенью заболевания повышаются уровни активности NADP-МДГ, NADP-ГДГ и NAD-ГДГ (табл. 3). Только у пациентов с тяжелой степенью заболевания в нейтрофилах крови относительно контрольного диапазона увеличивается активность ГЗФДГ и ГР. Независимо от тяжести ОДП, повышается внутриклеточная активность ГбФДГ и NAD-ИЦДГ, но снижается активность ЛДГ.

ТАБЛИЦА 1. ЛЮЦИГЕНИН-ЗАВИСИМАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ОДП

TABLE 1. THE LUCIGENIN-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE ACTIVITY OF NEUTROPHILS WITH VARYING DEGREES OF ADP SEVERITY

Показатели Parameters	Контроль Control n = 47		Средняя степень ОДП Average degree of ADP n = 17		Тяжелая степень ОДП Heavy degree of ADP n = 33	
	1		2		3	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
Спонтанная люцигенин-зависимая хемилюминесценция Spontaneous lucigenin-dependent chemiluminescence						
Tmax, сек. Tmax, sec.	2093	1425-2881	1923	1195-3056	1229	838-2181
					p ₁ = 0,033	
Imax, г.у. × 10 ³	7,74	2,61-16,54	2,72	1,45-5,35	6,88	4,04-10,69
			p ₁ = 0,039		p ₂ = 0,042	
S, г.у. × sec. × 10 ⁵	15,16	3,95-41,11	0,29	0,14-0,44	0,65	0,36-0,92
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
Зимозан-индуцированная люцигенин-зависимая хемилюминесценция Zymosan-induced lucigenin-dependent chemiluminescence						
Tmax, сек. Tmax, sec.	1738	1389-2331	1376	1262-2231	1291	951-1366
					p ₁ = 0,003	
Imax, г.у. × 10 ³	14,14	7,59-28,96	9,41	7,64-15,44	14,22	9,11-31,98
S, г.у. × sec. × 10 ⁵	25,16	10,70-64,61	0,81	0,59-1,97	1,26	0,81-3,91
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
Синд./Спонт. Sind./Sspont.	1,77	1,17-3,11	3,06	1,70-4,22	2,38	1,74-3,55

Примечание. сек. – секунды, г.у. – relative units (относительные единицы); p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – -//- с показателями больных со средней степенью ОДП.

Note. sec. – seconds; r.u. – relative units; p₁ – statistically significant differences with indicators of the control group; p₂ – -//- with indicators of patients with an average degree of ADP.

ТАБЛИЦА 2. ЛЮМИНОЛ-ЗАВИСИМАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ОДП

TABLE 2. THE LUMINOL-DEPENDING CHEMILUMINESCENCE ACTIVITY OF NEUTROPHILS WITH VARYING DEGREES OF ADP SEVERITY

Показатели Parameters	Контроль Control n=47		Средняя степень ОДП Average degree of ADP n=17		Тяжелая степень ОДП Heavy degree of ADP n=33	
	1		2		3	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
Спонтанная люминол-зависимая хемилюминесценция Spontaneous luminol-dependent chemiluminescence						
Tmax, сек. Tmax, sec.	969	567-1559	1384	781-1447	1046	733-2315
lmax, г.у. × 10 ³	10,83	4,06-30,88	42,29	30,22-62,03	68,85	31,62-104,28
			p ₁ = 0,004		p ₁ < 0,001	
S, г.у.× sec. × 10 ⁵	14,91	4,49-50,94	24,90	15,20-61,40	5,61	4,06-9,76
			p ₁ = 0,005		p ₁ = 0,008 p ₂ < 0,001	
Зимозан-индуцированная люминол-зависимая хемилюминесценция Zymosan-induced luminol-dependent chemiluminescence						
Tmax, сек. Tmax, sec.	1072	796-1459	994	794-1256	872	766-1823
lmax, г.у. × 10 ³	21,25	7,55-62,59	117,85	86,33-151,08	135,80	131,62-142,39
			p ₁ = 0,003		p ₁ < 0,001	
S, г.у.× sec. × 10 ⁵	24,34	9,21-84,16	27,42	6,61-42,80	16,60	7,99-21,10
Синд./ Спонт. Sind./ Sspont.	1,89	1,34-2,87	1,08	1,10-2,25	2,92	1,91-4,36
					p ₁ = 0,044	

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

С помощью корреляционного анализа были исследованы взаимосвязи между уровнями активности исследуемых ферментов и показателями хемилюминесцентной активности нейтрофилов крови. Установлено, что у лиц контрольной группы активность NADP-ГДГ положительно коррелирует с площадью под кривой зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r = 0,35$, $p = 0,027$). Кроме того, у обследованных данной группы активность Г6ФДГ отрицательно коррелирует с временем выхода на максимум спонтанной ($r = -0,31$, $p = 0,004$) и индуцированной ($r = -0,27$, $p = 0,015$) люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов. Активность NADP-ИЦДГ положительно взаимосвязана с площадью под кривой спонтанной ($r = 0,26$, $p = 0,019$), а также с максимумом ($r = 0,25$, $p = 0,025$) и площадью под кривой ($r = 0,27$, $p = 0,013$) индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции. У лиц контрольной группы также обнаружена отрицательная корреляционная связь между активностью NADP-МДГ и временем выхода на максимум зимозан-индуцированной люми-

нол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r = -0,24$, $p = 0,028$).

У больных со средней степенью тяжести ОДП корреляционные связи между внутриклеточной активностью ферментов и показателями хемилюминесценции нейтрофилов отсутствуют. В то же время у пациентов с тяжелой степенью ОДП активность ЛДГ отрицательно взаимосвязана с временем выхода на максимум спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r = -0,90$, $p = 0,009$). У обследованных данной группы обнаружена отрицательная корреляционная связь активности ГР с максимумом интенсивности спонтанной ($r = -0,92$, $p = 0,008$) и положительная с временем выхода на максимум ($r = 0,75$, $p = 0,010$) зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов. У больных с тяжелой степенью ОДП обнаружены положительные корреляционные связи внутриклеточной активности NADPH-ГДГ со следующими хемилюминесцентными показателями нейтрофилов: с площадью под кривой зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,68$, $p = 0,014$), с ве-

ТАБЛИЦА 3. АКТИВНОСТЬ NAD- И NADP-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В НЕЙТРОФИЛАХ У БОЛЬНЫХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ОДП

TABLE 3. THE ACTIVITY OF NAD- AND NADP-DEPENDENT DEHYDROGENASES IN NEUTROPHILS WITH VARYING DEGREES OF ADP SEVERITY

Показатели Parameters	Контроль Control n=67		Средняя степень ОДП Average degree of ADP n=15		Тяжелая степень ОДП Heavy degree of ADP n=35	
	1		2		3	
	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}	Me	Q _{0,25} -Q _{0,75}
Г6ФДГ Glu6PDH	0,89	0,01-4,18	4,14	0,54-8,68	4,05	1,41-15,61
			p ₁ = 0,011		p ₁ = 0,002	
Г3ФДГ Gly3PDH	0,32	0,01-1,72	1,07	0,01-1,68	1,81	0,33-7,44
					p ₁ = 0,012	
ЛДГ LDH	10,90	0,89-50,65	1,92	0,15-4,69	2,97	0,85-5,85
			p ₁ = 0,038		p ₁ = 0,045	
NADP-МДГ NADP-MDH	0,03	0,01-1,86	2,04	0,15-14,23	0,02	0,01-1,15
			p ₁ = 0,028		p ₂ = 0,032	
NADP-ГДГ NADP-GluDH	0,16	0,03-2,31	20,28	2,19-48,11	0,57	0,01-5,25
			p ₁ = 0,008		p ₂ = 0,037	
NADP-ИЦДГ NADP-ICDH	1,35	0,20-5,88	0,86	0,16-1,06	0,74	0,12-3,96
МДГ MDH	1,95	0,35-7,80	1,22	0,41-4,36	1,20	0,37-3,70
NAD-ГДГ NAD-GluDH	0,67	0,01-4,60	17,29	5,83-26,24	0,75	0,01-6,75
			p ₁ < 0,001		p ₂ = 0,009	
NAD-ИЦДГ NAD-ICDH	0,02	0,01-0,65	5,34	3,70-13,41	4,38	1,69-9,93
			p ₁ < 0,001		p ₁ < 0,001	
NADH-ЛДГ NADH-LDH	4,39	1,02-28,88	5,03	1,88-27,56	8,76	0,25-26,04
NADH-МДГ NADH-MDH	15,80	3,67-55,78	8,33	2,02-27,62	11,01	0,15-26,54
ГР GR	1,14	0,12-6,68	2,41	0,99-7,12	3,95	0,12-11,15
					p ₁ = 0,034	
NADH-ГДГ NADH-GluDH	5,98	0,02-16,39	12,09	1,74-13,19	8,11	2,18-13,50
NADPH-ГДГ NADPH-GluDH	12,48	0,25-41,40	12,51	0,35-23,71	10,37	0,12-41,17

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

личиной индекса активации по люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r = 0,90$, $p = 0,009$), с максимумом интенсивности ($r = 0,68$, $p = 0,025$) и площадью под кривой ($r = 0,89$, $p = 0,009$) индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции.

Обсуждение

Респираторный взрыв нейтрофилов определяется синтезом широкого спектра АФК, среди которых выделяют первичные (например, супер-

оксид-радикал) и вторичные (перекись водорода, гидроксильный радикал и др.) АФК [7, 17, 26]. Синтез супероксид-радикала осуществляется экспрессированной на мембране клеток NADPH-оксидазой [14, 21]. Известно, что хемилюминесцентная реакция люцигенина осуществляется только при взаимодействии с супероксид-радикалом [2, 7]. Следовательно, показатели люцигенин-зависимой хемилюминесценции характеризуют уровень синтеза супероксид-радикала и активность NADPH-оксидазы.

Обнаружено, что у больных со средней степенью тяжести ОДП снижен уровень спонтанного синтеза нейтрофилами супероксид-радикала (по показателям максимума интенсивности и площади под кривой люцигенин-зависимой хемилюминесценции). При индукции респираторного взрыва нейтрофилов с помощью опсонизированного зимозана у больных данной группы также наблюдается понижение уровня синтеза супероксид-радикала.

У пациентов с тяжелой степенью заболевания выявляется понижение уровня синтеза супероксид-радикала нейтрофилами, как находящимися в состоянии относительного покоя, так и при дополнительной индукции респираторного взрыва зимозаном, но только по площади под кривой спонтанной и индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции. Подобная особенность отражает не только слабую активность NADPH-оксидазы, но и нарушения в кинетике синтеза супероксид-радикала, что подтверждается уменьшением у данной группы больных времени выхода на максимум спонтанной и зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции. Необходимо отметить, что максимум выхода на максимум хемилюминесценции характеризует период времени от момента воздействия регуляторного (в случае спонтанной хемилюминесценции) или функционального (индуцированная хемилюминесценция) стимула, включая восприятие сигнала на внешней цитоплазматической мембране, до максимального уровня синтеза АФК с использованием метаболитических ресурсов клетки [7].

Супероксид-радикал, являясь первичной АФК, обладает низкой бактерицидной активностью [2]. Но его синтез инициирует образование широкого спектра вторичных АФК, среди которых выраженной бактерицидной активностью обладает гипохлорная кислота [26]. Особенности интенсивности и кинетики синтеза АФК нейтрофилами нами исследованы с помощью люминол-зависимой хемилюминесценции. В связи с тем что активность люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов у больных ОДП значительно ниже, чем у лиц контрольной группы, а отдельные показатели активности люминол-зависимой хемилюминесценции превышают контрольные значения, можно предположить, что люминол-зависимая хемилюминесценция характеризует уровень синтеза вторичных АФК нейтрофилами крови.

У больных со средней степенью тяжести ОДП уровни синтеза вторичных АФК нейтрофилами крови, как находящимися в состоянии относительного покоя (спонтанная люминол-зависимая хемилюминесценция), так и при дополнительной

индукции респираторного взрыва (индуцированная хемилюминесценция), значительно повышены относительно контрольных значений. У пациентов с тяжелой степенью ОДП максимальный уровень синтеза вторичных АФК нейтрофилами, находящимися в состоянии покоя, также превышает контрольные значения, но при снижении площади под кривой люминол-зависимой хемилюминесценции. Подобная особенность определяется нарушением кинетики синтеза вторичных АФК, прежде всего, за счет недостаточности внутриклеточных метаболитических ресурсов. При дополнительной индукции респираторного взрыва у больных с тяжелой степенью ОДП выявляется увеличение максимума синтеза вторичных АФК, а также увеличение индекса активации. Последний параметр характеризует метаболитические резервы фагоцитирующих клеток, которые используются для синтеза АФК при дополнительной индукции респираторного взрыва [7].

Разнонаправленные изменения в уровнях синтеза первичных и вторичных АФК нейтрофилами крови больных ОДП, по-видимому, связаны с увеличением активности панкреатических пищеварительных ферментов в кровотоке и соответствующим повреждением NADPH-оксидазы цитоплазматической мембраны нейтрофилов. Деструкция ткани поджелудочной железы и соответствующая активность панкреатических ферментов в крови выше у больных при тяжелой степени ОДП, что и приводит к более выраженным нарушениям механизмов респираторного взрыва нейтрофилов у пациентов данной категории.

В качестве параметров внутриклеточного метаболизма нейтрофилов исследованы уровни активности NAD- и NADP-зависимых дегидрогеназ. Связано это с тем, что пиридиновые нуклеотиды (коферменты дегидрогеназ) являются основными переносчиками электронов в клетках [4]. Кроме того, исследуемые NAD(P)-зависимые дегидрогеназы занимают ключевые позиции в системе внутриклеточного обмена веществ и, соответственно, участвуют в направленной координации сопряженных метаболитических потоков, обуславливая адаптивные изменения клеточного метаболизма [5].

Независимо от степени тяжести ОДП, в нейтрофилах крови обследованных пациентов повышена активность Г6ФДГ. Фермент является ключевым и инициализирующим ферментом пентозофосфатного цикла [13]. Повышение активности данного фермента в нейтрофилах отражает активацию реакций пластического обмена и увеличение наработки NADPH для NADPH-оксидазы. Из исследуемых NADP-зависимых дегидрогеназ только у больных со средней степенью тяжести ОДП в нейтрофилах крови также повы-

шается активность у малик-фермента (NADP-МДГ) и NADP-ГДГ. NADP-МДГ является ключевой в системе липидного анаболизма, тогда как NADP-ГДГ, осуществляя окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты, принимает участие в реакциях субстратного переноса продуктов аминокислотного обмена на реакции цикла трикарбоновых кислот [25, 28]. При этом у пациентов со средней степенью тяжести ОДП в нейтрофилах крови также повышается и активность NAD-ГДГ, что отражает дополнительное стимулирование митохондриальной энергетики клеток продуктами аминокислотного обмена. У больных с тяжелой степенью ОДП в нейтрофилах крови увеличивается активность ГР. Данный фермент принимает участие в глутатион-зависимой антиоксидантной системе, осуществляя NADPH-зависимое восстановление глутатиона [5, 11]. Увеличение активности ГР отражает повышение интенсивности перекисных процессов в нейтрофилах у пациентов с тяжелой степенью ОДП. При этом при восстановлении глутатиона расходуется NADPH, что может привести к снижению наработанного пула NADPH в клетках пациентов данной группы и, соответственно, к снижению активности NADPH-оксидазы.

Характеризуя состояние энергетических процессов в нейтрофилах при ОДП, необходимо отметить независимое от степени тяжести заболевания повышение активности NAD-ИЦДГ. Данный фермент является лимитирующим в цикле трикарбоновых кислот [15]. Повышение его активности характеризует увеличение интенсивности субстратного потока по циклу Кребса. Цикл трикарбоновых кислот является амфиболическим, соответственно, уровень субстратного потока на нем может поддерживаться различными процессами. В частности, как было отмечено выше, субстратная стимуляция цикла может осуществляться за счет продуктов аминокислотного обмена, через глутаматдегидрогеназы. Однако данный механизм реализован в нейтрофилах крови только у больных со средней степенью тяжести ОДП. Анаэробный гликолиз является одним из основных процессов, стимулирующих реакции цикла трикарбоновых кислот. Однако уровни активности анаэробной реакции ЛДГ (NADH-ЛДГ) и NADH-зависимой реакции МДГ (NADH-МДГ) в нейтрофилах крови у больных ОДП соответствуют контрольным значениям, что определяет отсутствие изменений активности гликолиза. Более того, при ОДП, независимо от степени тяжести заболевания, выявляется снижение активности аэробной реакции ЛДГ. При этом гликолиз является основным энергетическим процессом для нейтрофилов. Субстратный поток лимонного цикла также может

стимулироваться продуктами липидного обмена. Обнаружено, что у пациентов с тяжелой степенью ОДП в нейтрофилах повышается активность ГЗФДГ, характеризующей уровень липидного катаболизма и перенос интермедиатов на энергетические процессы [29].

С помощью корреляционного анализа исследованы особенности влияния активности исследуемых ферментов на интенсивность и кинетику респираторного взрыва нейтрофилов. Обнаружено, что у здоровых людей с показателями респираторного взрыва нейтрофилов взаимосвязаны только уровни активности NADP-зависимых дегидрогеназ. При этом скорость развития спонтанного и индуцированного респираторного взрыва зависит от уровней активности ГбФДГ и NADP-МДГ. Интенсивность синтеза первичных и вторичных АФК нейтрофилами крови здоровых людей находится в прямой зависимости от активности NADP-ГДГ и NADP-ИЦДГ.

У больных со средней степенью тяжести ОДП взаимосвязей между уровнями активности ферментов и показателями респираторного взрыва нейтрофилов не обнаружено. Можно предположить, что изменение интенсивности внутриклеточных процессов привело к нарушению их регуляторного влияния на активность и кинетику респираторного взрыва.

Значительно изменено регуляторное влияние исследуемых ферментов на респираторный взрыв нейтрофилов у больных с тяжелой степенью ОДП. Причем на уровень и кинетику синтеза первичных и вторичных АФК влияет активность и NAD-, и NADP-зависимых дегидрогеназ. Так, уровень спонтанного синтеза супероксид-радикала находится в обратной зависимости от активности ГР, тогда как время достижения максимальной активности NADPH-оксидазы также находится в обратной зависимости от активности аэробной реакции ЛДГ. Активность ГР напрямую повышает время достижения максимальной активности NADPH-оксидазы нейтрофилов при дополнительной индукции респираторного взрыва зимозаном, тогда как NADPH-ГДГ стимулирует индуцированный синтез супероксид-радикала. Индуцированный синтез вторичных АФК нейтрофилами крови у больных с тяжелой степенью ОДП зависит от уровней активности NADH-ГДГ и NADPH-ГДГ. Следовательно, при тяжелой степени ОДП респираторный взрыв нейтрофилов крови стимулируется NADH- и NADPH-зависимыми реакциями восстановительного аминирования α -кетоглутарата, но ингибируется внутриклеточными перекисными процессами.

Таким образом, у больных ОДП выявляются нарушения в механизмах респираторного взрыва

нейтрофилов крови. Независимо от степени тяжести заболевания, выявляется снижение спонтанного и индуцированного синтеза нейтрофилами супероксид-радикала. У больных с тяжелой степенью ОДП также нарушена кинетика синтеза первичных АФК. У больных со средней степенью тяжести повышается уровень синтеза нейтрофилами вторичных АФК, тогда как при тяжелой степени заболевания наблюдаются нарушения в кинетике синтеза вторичных АФК нейтрофилами, находящихся в состоянии относительного покоя, и повышение уровня синтеза при дополнительной индукции зимозаном. Можно предположить, что недостаточность активности мембранной NADPH-оксидазы нейтрофилов при ОДП определяется увеличением активности пищеварительных ферментов поджелудочной железы в кровотоке. Патологическое воздействие данных ферментов более выражено при тяжелой степени ОДП, что в последующем и проявляется в нарушении синтеза нейтрофилами вторичных АФК. Метаболизм нейтрофилов у больных ОДП характеризуется активацией пластических процессов (за счет продуктов пентозофосфатного цикла) и аэробной энергетики (повышение интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот). Однако у больных со средней степенью тяжести нейтрофильный пул NADPH, который в том числе может быть использован в реакциях NADPH-оксидазы, дополнительно поддерживается ферментативными реакциями NADP-МДГ и NADP-ГДГ. У больных с тяжелой степенью ОДП выявляется активация перекисных процессов, для компенсации которых требуется NADPH (в реакции восстановления глутатиона).

Состояние энергетических процессов в нейтрофилах крови у больных ОДП характеризуется отсутствием изменений активности гликолиза и увеличением интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот (за счет высокой активности NAD-ИЦДГ). При этом у больных со средней степенью тяжести заболевания активность аэробных процессов поддерживается продуктами аминокислотного обмена (через глутаматдегидрогеназы), тогда как при тяжелой степени ОДП – продуктами липидного катаболизма. С помощью корреляционного анализа исследована зависимость респираторного взрыва нейтрофилов от состояния их метаболизма. Установлено, что у лиц контрольной группы интенсивность и кинетика респираторного взрыва нейтрофилов зависит только от активности NADP-зависимых дегидрогеназ. У больных со средней степенью тяжести ОДП изменение активности внутриклеточных метаболических процессов привело к нарушению их регуляторного влияния на состояние респираторного взрыва нейтрофилов. У пациентов с тяжелой степенью заболевания респираторный взрыв нейтрофилов стимулируется реакциями восстановительного аминирования α -кетоглутарата, но ингибируется внутриклеточными перекисными процессами. Выявленные механизмы регуляторного влияния внутриклеточных метаболических процессов на состояние респираторного взрыва нейтрофилов у больных с различной степенью тяжести ОДП характеризуют особенности иммунопатогенеза и могут быть использованы при разработке новых методов лечения.

Список литературы / References

1. Багненко С.Ф., Толстой А.Д., Краснорогов В.Б., Курьгин А.А., Гринев М.В., Лапшин В.Н., Гольцов В.Р. Острый панкреатит (Протоколы диагностики и лечение) // *Анналы хирургической гепатологии*, 2006. Т. 11, № 1. С. 60-66. [Bagnenko S.F., Tolstoy A.D., Krasnorogov V.B., Kurygin A.A., Grinev M.V., Lapshin V.N., Goltsov V.R. Acute pancreatitis (diagnostic protocols and treatment). *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of Surgical Hepatology*, 2006, Vol. 11, no. 1, pp. 60-66. (In Russ.)]
2. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // *Успехи биологической химии*, 2009. Т. 49. С. 341-388. [Vladimirov Yu.A., Proskurina E.V. Free radicals and cellular chemiluminescence. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances of Biological Chemistry*, 2009, Vol. 49, pp. 341-388. (In Russ.)]
3. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.Л. Гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 // *Инфекция и иммунитет*, 2017. Т. 7, № 3. С. 219-230. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 1. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, Vol. 7, no. 3, pp. 219-230. (In Russ.)]
4. Савченко А.А. Определение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах биолюминесцентным методом // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2015. Т. 159, № 5. С. 656-660. [Savchenko A.A. Evaluation of NAD(P)-dependent dehydrogenase activities in neutrophilic granulocytes by the bioluminescent method. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2015, Vol. 159, no. 5, pp. 656-660. (In Russ.)]
5. Савченко А.А., Анисимова Е.Н., Борисов А.Г., Кондаков А.Е. Витамины как основа иммунометаболической терапии. Красноярск: Издательство КрасГМУ, 2011. 213 с. [Savchenko A.A., Anisimova E.N., Borisov A.G., Kondakov A.E. Vitamins as the basis of immunometabolic therapy. Krasnoyarsk: Publishing House of KrasGMSU, 2011. 213 p.]

Borisov A.G., Kondakov A.E. Vitamins as the basis of immunometabolic therapy]. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Medical University, 2011. 213 p.

6. Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Гвоздев И.И., Мошев А.В., Черданцев Д.В., Первова О.В. Взаимосвязь фенотипа и метаболизма нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода // Инфекция и иммунитет, 2017. Т. 7, № 3. С. 259-270. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Gvozdev I.I., Moshev A.V., Cherdantsev D.V., Pervova O.V. The phenotype and metabolism relationship of blood neutrophils in patients with widespread purulent peritonitis in the postoperative period dynamics. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, Vol. 7, no. 3, pp. 259-270. (In Russ.)]

7. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов и уровни концентрации цитокинов у больных распространенным гнойным перитонитом // Цитокины и воспаление, 2013. Т. 12, № 1-2. С. 115-119. [Savchenko A.A., Zdzitovetskiy D.E., Borisov A.G., Luzan N.A. Neutrophil chemiluminescent activity and cytokine concentration levels in patients with extensive purulent peritonitis. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2013, Vol. 12, no. 1-2, pp. 115-119. (In Russ.)]

8. Azevedo E.P., Rochael N.C., Guimarães-Costa A.B., de Souza-Vieira T.S., Ganilho J., Saraiva E.M., Palhano F.L., Foguel D. A Metabolic shift toward pentose phosphate pathway is necessary for amyloid fibril- and phorbol 12-myristate 13-acetate-induced neutrophil extracellular trap (NET) formation. *J. Biol. Chem.*, 2015, Vol. 290, no. 36, pp. 22174-22183.

9. Bone R.S., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., Schein R.M., Sibbald W.J. American college of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guide lines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.*, 1992, Vol. 20, no. 6, pp. 864-874.

10. Cho J.H., Kim T.N., Chung H.H., Kim K.H. Comparison of scoring systems in predicting the severity of acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol.*, 2015, Vol. 21, no. 8, pp. 2387-2394.

11. Couto N., Wood J., Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic. Biol. Med.*, 2016, Vol. 95, pp. 27-42.

12. Dvorožňáková E., Bucková B., Hurníková Z., Revajová V., Lauková A. Effect of probiotic bacteria on phagocytosis and respiratory burst activity of blood polymorphonuclear leukocytes (PMNL) in mice infected with *Trichinella spiralis*. *Vet. Parasitol.*, 2016, Vol. 231, pp. 69-76.

13. Hashimoto R., Gupte S. Pentose shunt, glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH redox, and stem cells in pulmonary hypertension. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2017, Vol. 967, pp. 47-55.

14. Jacob C.O., Yu N., Yoo D.G., Perez-Zapata L.J., Barbu E.A., Kaplan M.J., Purmalek M., Pingel J.T., Idol R.A., Dinauer M.C. haploinsufficiency of NADPH oxidase subunit neutrophil cytosolic factor 2 is sufficient to accelerate full-blown lupus in NZM 2328 mice. *Arthritis Rheumatol.*, 2017, Vol. 69, no. 8, pp. 1647-1660.

15. Laurenti G., Tennant D.A. Isocitrate dehydrogenase (IDH), succinate dehydrogenase (SDH), fumarate hydratase (FH): three players for one phenotype in cancer? *Biochem. Soc. Trans.*, 2016, Vol. 44, no. 4, pp. 1111-1116.

16. le Gall J.-R., Lemeshow S., Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA*, 1993, Vol. 270, pp. 2957-2963.

17. Li X.J., Deng L., Brandt S.L., Goodwin C.B., Ma P., Yang Z., Mali R.S., Liu Z., Kapur R., Serezani C.H., Chan R.J. Role of p85 α in neutrophil extra- and intracellular reactive oxygen species generation. *Oncotarget*, 2016, Vol. 7, no. 17, pp. 23096-23105.

18. Majidi S., Golembioski A., Wilson S.L., Thompson E.C. Acute pancreatitis: etiology, pathology, diagnosis, and treatment. *South Med. J.*, 2017, Vol. 110, no. 11, pp. 727-732.

19. Marchi L.F., Sesti-Costa R., Ignacchiti M.D., Chedraoui-Silva S., Mantovani B. *In vitro* activation of mouse neutrophils by recombinant human interferon-gamma: increased phagocytosis and release of reactive oxygen species and pro-inflammatory cytokines. *Int. Immunopharmacol.*, 2014, Vol. 18, no. 2, pp. 228-235.

20. Miralda I., Uriarte S.M., McLeish K.R. Multiple phenotypic changes define neutrophil priming. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, Vol. 7, p. 217.

21. Ryu J.C., Kim M.J., Kwon Y., Oh J.H., Yoon S.S., Shin S.J., Yoon J.H., Ryu J.H. Neutrophil pyroptosis mediates pathology of *P. aeruginosa* lung infection in the absence of the NADPH oxidase NOX2. *Mucosal Immunol.*, 2017, Vol. 10, no. 3, pp. 757-774.

22. Stålhammar M.E., Douhan Håkansson L., Sindelar R. Bacterial N-formyl peptides reduce PMA- and *Escherichia coli*-induced neutrophil respiratory burst in term neonates and adults. *Scand. J. Immunol.*, 2017, Vol. 85, no. 5, pp. 365-371.

23. Vincent J.L., Moreno R., Takala J., Willatts S., De Mendonca A., Bruining H., Reinhart C.K., Suter P.M., Thijs L.G. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.*, 1996, Vol. 22, no. 7, pp. 707-710.

24. Walmsley S.R., Whyte M.K. Neutrophil energetics and oxygen sensing. *Blood*, 2014, Vol. 123, no. 18, pp. 2753-2754.

25. Walvekar A.S., Choudhury R., Punekar N.S. Mixed disulfide formation at Cys141 leads to apparent unidirectional attenuation of *Aspergillus niger* NADP-glutamate dehydrogenase activity. *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9, no. 7, e101662. doi: 10.1371/journal.pone.0101662.

26. Winterbourn C.C., Kettle A.J., Hampton M.B. Reactive oxygen species and neutrophil function. *Annu. Rev. Biochem.*, 2016, Vol. 85, pp. 765-792.
27. Yang P., Huang S., Yan X., Huang G., Dong X., Zheng T., Yuan D., Wang R., Li R., Tan Y., Xu A. Origin of the phagocytic respiratory burst and its role in gut epithelial phagocytosis in a basal chordate. *Free Radic. Biol. Med.*, 2014, Vol. 70, pp. 54-67.
28. Yao P., Sun H., Xu C., Chen T., Zou B., Jiang P., Du W. Evidence for a direct cross-talk between malic enzyme and the pentose phosphate pathway via structural interactions. *J. Biol. Chem.*, 2017, Vol. 292, no. 41, pp. 17113-17120.
29. Zhai X., Meng R., Li H., Li J., Jing L., Qin L., Gao Y. miR-181a modulates chondrocyte apoptosis by targeting glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like protein (GPD1L) in osteoarthritis. *Med. Sci. Monit.*, 2017, Vol. 23, pp. 1224-1231.

Авторы:

Савченко А.А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; заведующий кафедрой физиологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Борисов А.Г. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Здзитовецкий Д.Э. — д.м.н., заведующий кафедрой хирургических болезней имени профессора Ю.М. Лубенского ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Медведев А.Ю. — аспирант в лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Гвоздев И.И. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Infections, V. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University Krasnoyarsk, Russian Federation

Zdzitovetskiy D.E., PhD, MD (Medicine), Head, M.Yu. Lubensky Department of Surgical Diseases, V. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Medvedev A.Yu., Graduate Student, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Gvozdev I.I., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation