

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕЙТРОФИЛОВ, ПРЕДОБРАБОТАННЫХ ГОРМОНАМИ, С БИОПЛЕНКАМИ КОММЕНСАЛЬНОГО И УРОПАТОГЕННОГО ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI IN VITRO*

И.Л. Масленникова, И.В. Некрасова, Е.Г. Орлова, О.Л. Горбунова, С.В. Ширшев

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермский федеральный исследовательский центр
Уральского отделения РАН, г. Пермь, Россия

Резюме. Цель работы — изучить взаимодействие нейтрофилов, предобработанных хорионическим гонадотропином, эстриолом, кисспептином, лептином и грелином, с биопленками комменсального и уропатогенного штаммов *Escherichia coli*. Нейтрофилы периферической крови здоровых небеременных женщин I фазы менструального цикла ($n = 8$) культивировали в течение часа с гормонами в концентрации, соответствующей уровню I и III триместра беременности. Взаимодействие нейтрофилов с биопленками комменсального *E. coli* TG1 и уропатогенного *E. coli* DL82 (UPEC) штаммов оценивали после часового контакта. Биомасса биопленки штаммов, активность миелопероксидазы и катепсина G оценивалась спектрофотометрически на мультипланшетном ридере «Synergy™ H1» (BioTec, США). Установлено, что предобработка нейтрофилов хорионическим гонадотропином (10; 100 МЕ/мл), эстриолом (2; 20 нг/мл) и лептином (10 нг/мл) усиливала способность нейтрофилов разрушать опсонизированную биопленку только у комменсального штамма, не влияя на биопленку UPEC. Биомасса неопсонизированной биопленки комменсального *E. coli* TG1 снижалась после взаимодействия с нейтрофилами, предобработанными эстриолом (2 нг/мл), кисспептином (9,6 пМ) и грелином (0,83 нг/мл). Для UPEC только при действии на нейтрофилы хорионического гонадотропина (10 МЕ/мл) отмечено большее разрушение неопсонизированной биопленки как по сравнению с контролем, так и по сравнению с концентрацией гормона 100 МЕ/мл. Секретция миелопероксидазы повышалась при взаимодействии UPEC с нейтрофилами, предобработанными эстриолом в концентрации 2 нг/мл. При сравнении двух штаммов отмечено, что хорионический гонадотропин (10 МЕ/мл) и эстриол (20 нг/мл) усиливали активность миелопероксидазы нейтрофилов после взаимодействия с биопленками UPEC в большей степени по сравнению с биопленками *E. coli* TG1. Гормоны, эстриол (20 нг/мл) и кисспептин (9 пМ), снижали активность катепсина G нейтрофилов при взаимодействии с биопленками UPEC.

Ключевые слова: биопленки, *E. coli*, UPEC, нейтрофилы, хорионический гонадотропин, эстриол, лептин, грелин, кисспептин, катепсин G, миелопероксидаза.

Адрес для переписки:

Масленникова Ирина Леонидовна
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13,
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.
Тел.: 8 922 317-87-77 (моб.).
E-mail: I.Maslennikova1974@gmail.com

Contacts:

Irina L. Maslennikova
614081, Russian Federation, Perm, Goleva str., 13,
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB of RAS.
Phone: +7 922 317-87-77 (mobile).
E-mail: I.Maslennikova1974@gmail.com

Библиографическое описание:

Масленникова И.Л., Некрасова И.В., Орлова Е.Г., Горбунова О.Л., Ширшев С.В. Взаимодействие нейтрофилов, предобработанных гормонами, с биопленками комменсального и уропатогенного штаммов *Escherichia coli in vitro* // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 1. С. 64–72. doi: 10.15789/2220-7619-IVI-1146

Citation:

Maslennikova I.L., Nekrasova I.V., Orlova E.G., Gorbunova O.L., Shirshv S.V. In vitro interaction of hormone-conditioned neutrophils with commensal and uropathogenic *Escherichia coli* biofilms // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 64–72. doi: 10.15789/2220-7619-IVI-1146

© Масленникова И.Л. и соавт., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-IVI-1146>

IN VITRO INTERACTION OF HORMONE-CONDITIONED NEUTROPHILS WITH COMMENSAL AND UROPATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* BIOFILMS

Maslennikova I.L., Nekrasova I.V., Orlova E.G., Gorbunova O.L., Shirshov S.V.

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

Abstract. The aim of the work was to examine an interaction between neutrophils conditioned with chorionic gonadotropin, estradiol, kisspeptin, leptin, ghrelin and commensal and uropathogenic *Escherichia coli* biofilms. Peripheral blood neutrophils isolated from healthy non-pregnant women in the first phase of the menstrual cycle ($n = 8$) were cultured *in vitro* for 1 hour together with hormones at concentration corresponding to their level in the first and third trimester of pregnancy. An interaction of neutrophils with commensal *E. coli* TG1 and uropathogenic *E. coli* DL82 (UPEC) biofilms was assessed 1 hour later. The biofilm biomass, activity of myeloperoxidase and cathepsin G was measured spectrophotometrically on a microplate reader Synergy H1 (BioTec, USA). Neutrophils conditioned with chorionic gonadotropin (10; 100 IU/ml), estradiol (2; 20 ng/ml) and leptin (10 ng/ml) were found to enhance their potential to destroy solely opsonized commensal *E. coli* biofilm, without affecting the UPEC biofilm. The biomass of non-opsonized biofilm of commensal *E. coli* TG1 decreased after interaction with neutrophils conditioned with estradiol (2 ng/ml), kisspeptin (9.6 pM) and ghrelin (0.83 ng/ml). In contrast, non-opsonized UPEC biofilm was more destroyed by neutrophils exposed to low- vs. high-dose chorionic gonadotropin (10 IU/ml and 100 IU/ml, respectively) or control group. Myeloperoxidase secretion increased when UPEC interacted with neutrophils conditioned with estradiol at concentration of 2 ng/ml. Comparing the two *E. coli* strains allowed to find that chorionic gonadotropin (10 IU/ml) and estradiol (20 ng/ml) enhanced activity of neutrophil myeloperoxidase after interaction with UPEC biofilms to a greater extent than with *E. coli* TG1 biofilms. Estradiol (20 ng/ml) and kisspeptin (9 pM) reduced activity of neutrophil cathepsin G after interaction with UPEC biofilms.

Key words: *biofilms, E. coli, UPEC, neutrophils, chorionic gonadotropin, estradiol, leptin, ghrelin, kisspeptin, cathepsin G, myeloperoxidase.*

Введение

Микробные биопленки, оседлые сообщества микроорганизмов особого фенотипа, прикрепленные к субстрату или поверхности друг друга, погруженные во внеклеточный полимерный матрикс [13], рассматриваются как один из факторов патогенности оппортунистических бактерий. Более 65% микробных инфекций разных биотопов вызваны биопленкообразующими микроорганизмами [23]. Источником инфекции мочевыводящих путей (ИМП) в 62–80% случаев является *Escherichia coli* [7, 15, 55], причем среди изолятов могут встречаться уропатогенные *E. coli* (UPEC) и комменсальные штаммы *E. coli* [27, 31, 45]. UPEC имеет несколько факторов вирулентности, которые позволяют им колонизировать поверхность слизистых оболочек, образовывать биопленки или биопленкоподобные внутриклеточные сообщества в эпителиальных клетках, используя гемолизины, фимбрии, липополисахариды, секретируемые белки, капсулы и системы потребления железа [11, 15, 40, 46, 48, 50]. Элиминация из биопленок бактерий затруднена вследствие их устойчивости к различным антибиотикам и противомикробным механизмам клеток врожденного иммунитета.

Инфекция мочевыводящих путей — наиболее часто встречающееся заболевание во всем мире. Половина женщин до 32 лет хотя бы раз имели данные инфекции [33], в частности, возникающие при беременности. Это может регулироваться гормонами (эстрогенами), влияя, с одной стороны, на способность *E. coli* удер-

живаться на слизистых мочевыводящих путей и формировать биопленки [35]. С другой стороны, функциональная активность нейтрофилов, а именно микробицидный потенциал, также регулируется гормонами, такими как кистепептин, хорионический гонадотропин (ХГ), эстрадиол (E_2), лептин и грелин [1, 3, 4, 5, 9].

Бактериальные биопленки являются одной из главных причин персистирующих и тяжелых деструктивных инфекционных процессов [19]. Взаимодействие нейтрофилов с биопленками разных видов микроорганизмов характеризуется своими особенностями. Так, нейтрофилы могут разрушать биопленки *Staphylococcus aureus* [6] или закрепляться на поверхности у *Pseudomonas aeruginosa* [25], тем самым увеличивая биомассу. Не исключено, что тяжесть ИМП может определяться функциональной активностью нейтрофилов, а именно особенностями взаимодействия их с биопленочными бактериальными структурами в зависимости от гормонального фона, в частности при беременности.

Цель работы: изучить взаимодействие нейтрофилов, предобработанных ХГ, E_2 , кистепептином, лептином и грелином, с биопленками комменсального и уропатогенного штаммов *E. coli*.

Материалы и методы

Гормоны. Все гормоны использовались в концентрациях, соответствующих их уровню в I и III триместры беременности: кистепептин (кистепептин-54, Metastatin, Calbiochem, США) — 4,6 и 9,6 пМ [24]; ХГ (Profasi, Италия) — 100 и 10 МЕ/мл [10];

E_3 (Biomedical, Inc, Германия) — 2 и 20 нг/мл [26]; лептин (Sigma, США) — 10 и 35 нг/мл [20]; грелин (Sigma, США) — 1,2 и 0,8 нг/мл [16].

Штаммы бактерий. В работе использовали комменсальный штамм *Escherichia coli* TG1 (Ap^r) [2], способный образовывать массивную биопленку, уропатогенный штамм *E. coli* DL82 (UPEC), любезно предоставленный профессором M. Starcic Erjavec из коллекции биотехнологического университета Люблянского университета (Словения).

Выделение нейтрофилов и предобработка гормонами. Нейтрофилы периферической крови здоровых небеременных женщин I фазы менструального цикла ($n = 8$) выделяли на двойном градиенте фиколл-урографина (1,077 г/мл и 1,112 г/мл). Нейтрофилы культивировали в среде RPMI 1640 (Биолот, Россия) с гормонами в течение часа в концентрациях, соответствующих уровню I и III триместра беременности. Затем нейтрофилы центрифугировали при 200g 5 мин, надсадочную жидкость удаляли. Клетки ресуспендировали в среде RPMI 1640.

Анализ бактериальных биопленок. Биопленки штаммов *E. coli* TG1 (Ap^r), *E. coli* DL82 выращивали на среде LB (Luria-Bertani) (Sigma-Aldrich, США) в течение 24 ч, затем 3-кратно отмывали физиологическим раствором. Часть пленок опсонизировали сывороткой крови человека (10% сыворотки в растворе Хенкса) в течение 15 мин. Нейтрофилы (100 мкл, 10^7 кл/мл), предобработанные гормонами, взаимодействовали с бактериальными биопленками 1 ч, затем межклеточный комплекс отмывали, высушивали и окрашивали 1% генцианвиолетом. К окрашенной биопленке добавляли 100 мкл 96% спирта и определяли оптическую плотность (ОП₅₈₀) на мультипланшетном ридере «Synergy™ H1» (BioТес, США) [42].

Оценка микробицидного потенциала нейтрофилов при взаимодействии с бактериальными биопленками. После взаимодействия нейтрофилов с опсонизированными бактериальными биопленками в течение 1 ч суспензия клеток осаждалась путем центрифугирования 10 мин при 200g. Супернатанты отбирали и замораживали при -20°C . Активность миелопероксидазы (МПО) тестировали с использованием хромогенного пероксидазного субстрата О-фенилендиамин дигидрохлорида (Sigma, США) в соответствии с инструкциями производителя. Реакцию останавливали 10% H_2SO_4 , оптическую плотность измеряли при 450 нм на мультипланшетном ридере «Synergy™ H1» (BioТес, США).

Активность катепсина G исследовали с использованием N-бензоил-L-тирозин гидрохлорида этилового эфира (Sigma, США), растворенного в метаноле. Оптическую плотность

измеряли при 256 нм 5 мин на мультипланшетном ридере «Synergy™ H1» (BioТес, США). Результаты рассчитывали согласно формуле Бугера–Ламберта–Бера, данные представляли в виде МЕ/мл.

Статистика. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического. Статистический анализ выполнен с применением парного t-критерия Стьюдента. Достоверность различий считали значимой при $p \leq 0,05$.

Результаты

Роль гормонов при взаимодействии нейтрофилов с биопленками комменсального штамма *E. coli* TG1. Результаты проведенных исследований позволили выявить, что опсонизация биопленок приводила к увеличению ее биомассы как в присутствии, так и в отсутствии нейтрофилов (табл. 1). В отсутствие гормонов нейтрофилы не разрушали биопленки. Предобработка нейтрофилов ХГ и E_3 при всех исследованных концентрациях вызывала эффективную деструкцию опсонизированной биопленки. Сходный эффект наблюдался при действии лептина, но только в концентрации, соответствующей I триместру беременности.

Способность нейтрофилов разрушать неопсонизированные биопленки комменсального *E. coli* TG1 усиливалась после их предобработки E_3 (2 нг/мл), кисспептином и грелином в концентрации III триместра беременности,

Деструктивное действие нейтрофилов на биопленки после предобработки гормонами не зависело от опсонизации, за исключением 2 нг/мл E_3 , где биомасса неопсонизированной биопленки после взаимодействия с нейтрофилами была ниже.

Роль гормонов при взаимодействии нейтрофилов с биопленками уропатогенного штамма *E. coli* DL82. Биопленкообразующая способность уропатогенного штамма была ниже, чем у комменсального (табл. 1). Опсонизация биопленки не приводила к увеличению ее биомассы. В отличие от комменсального штамма выявлена деструкция интактными нейтрофилами как опсонизированной, так и неопсонизированной биопленки *E. coli* DL82

В связи с этим, возможно, все изученные гормоны не влияли на способность нейтрофилов снижать биомассу опсонизированной биопленки. Только при действии ХГ (10 МЕ), в концентрации соответствующей уровню III триместра, отмечено большее разрушение неопсонизированной биопленки нейтрофилами.

Влияние гормонов на активность МПО и катепсина G нейтрофилов при взаимодействии с биопленками комменсального штамма *E. coli*

TG1. При взаимодействии нейтрофилов, преобработанных всеми исследованными гормонами, с биопленками комменсального штамма активность МПО не изменялась (табл. 2). В то же время отмечено достоверное снижение активности катепсина G нейтрофилов, преобработанных ХГ в обеих концентрациях, после взаимодействия с биопленками.

Влияние гормонов на активность МПО и катепсина G нейтрофилов при взаимодействии с биопленками уропатогенного штамма E. coli DL82. Активность МПО нейтрофилов, преобработанных E₃ вне зависимости от концентрации, увеличивалась при взаимодействии с биопленкой уропатогенного штамма (табл. 2).

При действии ХГ (100 МЕ) активность другого микробицидного агента, катепсина G, сни-

жалась. Напротив, лептин (35 нг/мл) и грелин (1,25 нг/мл) повышали активность катепсина G.

Лептин, в концентрации, соответствующей уровню III триместра (35 нг/мл), способствовал снижению активности МПО нейтрофилов, грелин — уменьшению активности катепсина G после взаимодействия с биопленками *E. coli* DL82.

Биопленки UPEC активировали МПО нейтрофилов сильнее после прединкубации с ХГ и E₃ в концентрациях, соответствующих III триместру беременности, по сравнению с комменсальным штаммом. Активность катепсина G нейтрофилов после преобработки E₃ и кисспептином в концентрациях III триместра при взаимодействии с биопленками UPEC, наоборот, снижалась.

Таблица 1. Биомасса биопленки комменсального *E. coli* TG1 и уропатогенного *E. coli* DL82 штаммов после взаимодействия с нейтрофилами, преобработанных гормонами, *in vitro*

Table 1. Biofilm biomass of commensal *E. coli* TG1 and uropathogenic *E. coli* DL82 strains after interaction with hormones exposure neutrophils *in vitro*

Варианты Variants	Концентрация (триместр беременности) Concentration (pregnancy trimester)	№ No.	<i>E. coli</i> TG1		<i>E. coli</i> DL82	
			Опсонизация/Opsonization			
			Есть Present	Нет Absent	Есть Present	Нет Absent
Без нейтрофилов Without neutrophils		1	1,90±0,08	1,70±0,09*	1,17±0,05	1,14 ±0,04
Контроль Control		2	1,84±0,11	1,70±0,11*	0,94±0,04 p ₁₋₂ ≤ 0,05	0,82±0,03* p ₁₋₂ ≤ 0,05
ХГ hCG	100 МЕ/мл (I)	3	1,58±0,11 p ₁₋₃ ≤ 0,05 p ₂₋₃ ≤ 0,05	1,50±0,10 p ₁₋₃ ≤ 0,05	0,98±0,04 p ₁₋₃ ≤ 0,05	0,81±0,04* p ₁₋₃ ≤ 0,05
	10 МЕ/мл (III)	4	1,48±0,09 p ₁₋₄ ≤ 0,05	1,33±0,09 p ₁₋₄ ≤ 0,05	0,88±0,05 p ₁₋₄ ≤ 0,05 p ₃₋₄ ≤ 0,05	0,76±0,04 p ₁₋₄ ≤ 0,05 p ₂₋₄ ≤ 0,05 p ₃₋₄ ≤ 0,05
Е3	2 нг/мл (I)	5	1,68±0,11 p ₂₋₅ ≤ 0,05	1,55±0,10 p ₁₋₅ ≤ 0,05 p ₂₋₅ ≤ 0,05	0,99±0,05 p ₁₋₅ ≤ 0,05	0,87±0,04* p ₁₋₅ ≤ 0,05
	20 нг/мл (III)	6	1,68±0,11 p ₂₋₆ ≤ 0,05	1,60±0,11 p ₂₋₆ ≤ 0,05	0,96±0,04 p ₁₋₆ ≤ 0,05	0,82±0,04* p ₁₋₆ ≤ 0,05
Кисспептин Kisspeptin	4,6 пМ (I–II)	7	1,72±0,12	1,59±0,10	1,00±0,04	0,84±0,04* p ₁₋₇ ≤ 0,05
	9,6 пМ (III)	8	1,70±0,11	1,60±0,11 p ₂₋₈ ≤ 0,05	1,01±0,05	0,87±0,04* p ₁₋₈ ≤ 0,05
Лептин Leptin	10 нг/мл (I)	9	1,76±0,11 p ₂₋₉ ≤ 0,05	1,68±0,11	0,96±0,04 p ₁₋₉ ≤ 0,05	0,81±0,03* p ₁₋₉ ≤ 0,05
	35 нг/мл (II–III)	10	1,82±0,12	1,69±0,10	0,98±0,05	0,84±0,04 p ₁₋₁₀ ≤ 0,05
Грелин Ghrelin	1,25 нг/мл (I)	11	1,75±0,12	1,63±0,11	0,94±0,04 p ₁₋₁₁ ≤ 0,05	0,84±0,04 p ₁₋₁₁ ≤ 0,05
	0,83 нг/мл (III)	12	1,77±0,13	1,60±0,10 p ₂₋₁₂ ≤ 0,05	0,96±0,05	0,84±0,04 p ₁₋₁₂ ≤ 0,05

Примечания. * — статистически достоверные отличия по t-критерию Стьюдента между величиной опсонизированных и неопсонизированных биопленок при p ≤ 0,05. ХГ — хорионический гонадотропин, E₃ — эстриол.

Notes. * — statistically significant differences between opsonized and non-opsonized biofilms according to Students t-test at p ≤ 0,05. hCG — human chorionic gonadotropin, E₃ — estriol.

Обсуждение

В 80% случаев UPEC, принадлежащая к филогенетической группе B2, является этиопатогенным ИМП [34]. Комменсальные штаммы *E. coli* (филогенетическая группа A) являются менее вирулентными, однако их диссеминация в мочеполовом тракте также возможна при определенных условиях. Хотя среди уропатогенных и комменсальных штаммов *E. coli* не выявлено существенной разницы в способности формировать биопленку и уровне гидрофобности клеточной поверхности [21], однако на поверхности полистиролового планшета биомасса биопленки уропатогенного штамма *E. coli* DL82 была ниже, чем у комменсального, что может быть связано с тем, что в условиях *in vitro* UPEC полностью не реализуют свой потенциал биопленкообразования в силу разных причин [14, 36].

Внутри мочевыводящих путей бактерии *E. coli* должны преодолеть несколько линий защиты, среди которых наиболее эффективными являются нейтрофилы. Противодействие антимикробным механизмам врожденного иммунитета может достигаться усиленным синтезом структурных и функциональных белков клеточ-

ной оболочки *E. coli*, позволяя сохранять целостность бактериальной клетки [58]. Нейтрофилы играют ключевую роль в борьбе с патогенными микроорганизмами при развитии инфекции, осуществляя фагоцитоз, высвобождение токсичных ферментов, активных форм кислорода (АФК) из гранул или экстрацеллюлярных ловушек (NETs) [28, 44, 47]. Однако взаимодействие нейтрофилов с микроорганизмами в биопленках затруднено по сравнению с планктонными формами, вследствие отсутствия возможности прямого контакта нейтрофилов с частью популяции бактерий в толще биопленки [54], а также антифагоцитарного влияния структур внеклеточного матрикса биопленок [6].

Различная частота встречаемости ИМП у мужчин и женщин, а также различное проявление инфекционного процесса у женщин до и после менопаузы указывает на возможную роль гормонов в модуляции защитных функций [41]. Беременность рассматривается как один из факторов риска развития ИМП [37] в связи с изменениями гормонального фона. Нейтрофилы имеют рецепторы ко всем исследованным гормонам, что определяет возможность модуляции их функций [22, 38, 39, 49, 52].

Таблица 2. Микробицидный потенциал нейтрофилов, предобработанных гормонами, при взаимодействии с биопленками комменсального *E. coli* TG1 и уропатогенного *E. coli* DL82 штаммов *in vitro*

Table 2. Microbicidal potential of hormone exposure neutrophils while interacting with biofilms of commensal *E. coli* TG1 and uropathogenic *E. coli* DL82 strains *in vitro*

Варианты Variants	Концентрации (триместр беременности) Concentration (pregnancy trimester)	№ No.	МПО, ОП ₄₉₂ MPO, OD ₄₉₂		Cat G, мЕ/мл Cat G, mE/ml	
			<i>E. coli</i> TG1	<i>E. coli</i> DL82	<i>E. coli</i> TG1	<i>E. coli</i> DL82
Контроль Control		1	0,053±0,001	0,053±0,001	20,05±2,38	11,14±3,49*
ХГ hCG	100 МЕ/мл (I)	2	0,054±0,002	0,054±0,001	7,64±3,60 p ₁₋₂ ≤ 0,05	4,45±3,12 p ₁₋₂ ≤ 0,05
	10 МЕ/мл (III)	3	0,053±0,001	0,063±0,006*	4,46±3,12 p ₁₋₃ ≤ 0,05	15,59±6,67
ЕЗ	2 нг/мл (I)	4	0,052±0,001	0,056±0,001 p ₁₋₄ ≤ 0,05	15,60±3,38	15,60±4,31
	20 нг/мл (III)	5	0,053±0,001	0,058±0,002* p ₁₋₅ ≤ 0,05	17,82±0,08	11,14±3,50*
Кисспептин Kisspeptin	4,6 пМ (I–II)	6	0,053±0,001	0,054±0,001	15,27±4,65	8,91±3,60
	9,6 пМ (III)	7	0,053±0,001	0,055±0,001	20,04±5,62	6,68±3,49*
Лептин Leptin	10 нг/мл (I)	8	0,054±0,002	0,055±0,001	15,59±4,32	13,37±4,76
	35 нг/мл (II–III)	9	0,053±0,001	0,053±0,001#	26,89±5,31	20,16±3,83 p ₁₋₉ ≤ 0,05
Грелин Ghrelin	1,25 нг/мл (I)	10	0,053±0,001	0,055±0,001	20,05±2,29	20,05±2,38 p ₁₋₁₀ ≤ 0,05
	0,83 нг/мл (III)	11	0,052±0,001	0,055±0,001	15,50±4,38	11,13±3,49#

Примечания. МПО — миелопероксидаза, Cat G — катепсин G; * — статистически достоверные отличия по t-критерию Стьюдента между уропатогенным и комменсальным штаммами *E. coli* при p ≤ 0,05; # — статистически достоверные отличия по t-критерию Стьюдента между концентрациями гормона в I и III триместрах беременности при p ≤ 0,05.

Notes. MPO — myeloperoxidase, Cat G — cathepsin G; * — statistically significant differences between uropathogenic and commensal *E. coli* strains according Student's t-test at p ≤ 0,05; # — statistically significant differences between hormone concentrations in the first and third trimesters of pregnancy according Student's t-test at p ≤ 0,05.

Несмотря на супрессивное действие вышеуказанных гормонов на фагоцитарную активность нейтрофилов [3, 4, 5, 8, 9, 29], влияние гормонов на антибиопленочную активность нейтрофилов не проявлялось в случае с UPEC, что, вероятно, связано с более сильным угнетающим воздействием бактериальных экзопродуктов.

Известно, что нейтрофилы узнают, адгезируются и фагоцитируют биопленки грамположительных бактерий *S. aureus* вне зависимости от опсонизации IgG и C3 [12, 51]. В настоящей работе нами показано, что опсонизация увеличивала биомассу биопленки комменсального штамма, не влияя на биомассу биопленки UPEC, что может свидетельствовать о низкой эффективности опсонизации этого штамма. После взаимодействия с нейтрофилами биомасса опсонизированной биопленки была достоверно выше неопсонизированной у обоих штаммов, что может быть обусловлено адгезией нейтрофилов на биопленке. Нейтрофилы после инкубации с ХГ и лептином (в концентрациях, соответствующих I триместру), и E3, кисспептином (в обеих концентрациях) достоверно снижали только биомассу неопсонизированной биопленки UPEC по сравнению с опсонизированной. Хотя в статьях не отмечено деструктивное действие опсонингов на биопленки грамположительных бактерий, по всей видимости в случае грамотрицательных бактерий, опсонизация, как показано ранее, усиливала резистентность штаммов *E. coli* к киллингу нейтрофилами [18], что подтверждается и в нашей работе. Также, поскольку вариант взаимодействия нейтрофилов с неопсонизированными биопленками может выступать моделью протекания ИМП на фоне иммунодефицита, вероятно, что модулирование функциональных характеристик нейтрофилов гормонами, приводящее к деструкции биопленок уропатогенного штамма, имеет место только при условии дефицита или снижения активности системы комплемента.

Рассматривая возможный механизм деструкции биопленок *E. coli* нейтрофилами, можно предположить, что он не связан с фагоцитарной активностью из-за отсутствия прямого контакта между нейтрофилами и бактериями биопленок, а обусловлен продукцией АФК и секрецией ферментов азурофильных гранул. Ранее показано, что среди исследованных гормонов ХГ, лептин и грелин угнетали ЛЗХЛ нейтрофилов, а E3 и кисспептин стимулировали [3, 4, 5, 8, 9]. Также протеомный анализ мочи при ИМП показал присутствие в ней 50% белков, специфичных для нейтрофилов, включая МПО и катепсин G [30, 58]. Поэтому МПО, катализируя образование хлорноватистой кислоты, также может являться ключевым компонентом цитотоксического потенциала нейтрофилов при взаимодействии

с биопленками комменсальной *E. coli* и UPEC на фоне гормонального окружения. Так, ранее показано, что ХГ, кисспептин, E3 и лептин оказывали активирующее действие на активность МПО нейтрофилов и макрофагов [1, 4, 17, 53, 57]. По результатам нашей работы только E3 (концентрация III триместра) стимулировал секрецию МПО нейтрофилами при взаимодействии их с биопленкой уропатогенного штамма. Тем не менее, активность МПО нейтрофилов, преобразованных ХГ и E3 (концентрации III триместра), была выше при взаимодействии с менее массивной биопленкой UPEC, чем с биопленкой комменсального штамма. В отношении последних супрессия факторов иммунной системы является основной стратегией их выживания [23], поскольку предусматривает колонизацию биотопа хозяина, препятствуя проникновению других бактериальных патогенов. Это, по всей видимости, и определяло отсутствие влияния всех исследованных гормонов на продукцию МПО нейтрофилами при взаимодействии с биопленкой комменсала.

Согласно последним данным, нейтрофильные гранулярные протеазы, в число которых входит катепсин G, играют скорее регуляторную, чем микробицидную роль при инфекции [43, 56]. Отмечено присутствие в осадке мочи пептидов, характерных для катепсина G [58], что может быть обусловлено их протеолизом. Вероятно, этим объясняется снижение продукции катепсина G при взаимодействии нейтрофилов с биопленками уропатогенного штамма *E. coli* по сравнению с комменсальным. Что касается влияния гормонов на функциональную активность нейтрофилов, то при взаимодействии с биопленками комменсальной *E. coli* TG1 только ХГ снижал секрецию катепсина G. Если учесть, что данный гормон в концентрации, соответствующей I триместру беременности, способствовал разрушению биопленок данного штамма, то можно предположить, что супрессия секреции содержимого азурофильных гранул при действии гормона, по-видимому, не позволяет запускать дальнейшие механизмы иммунного ответа с привлечением макрофагов в зону воспаления. Таким образом, регуляция взаимодействия клеток врожденного иммунитета с комменсальной микрофлорой при гормональном воздействии позволяет сохранить баланс взаимоотношений микробиота–хозяин. Гормоны, грелин (концентрация I триместра) и лептин (концентрация III триместра), регулирующие метаболический обмен и синтезирующиеся плацентой во время беременности, напротив, активировали секрецию катепсина G нейтрофилами, но только при взаимодействии с биопленками UPEC. Учитывая регуляторный потенциал катепсина G, вероятно, что данный гормонально

обусловленный механизм может приводить к запуску дальнейших звеньев иммунного ответа при ИМП, обусловленных УРЕС.

Заключение

Гормоны, детектируемые в кровотоке при беременности, способны оказывать системное влияния на клетки иммунной системы, в том числе модулируя микробицидные и регуляторные механизмы нейтрофилов при взаимодействии с бактериальными биопленками при ИМП. В результате проведенных исследований показано, что разрушение нейтрофилами биопленок комменсального штамма *E. coli*, в отличие от УРЕС, может модулироваться ХГ, эстриолом и лептином в концентрациях, соответствующих уровню I триместра беременности. Дополнительно,

эстриол в данной концентрации ингибировал активность МПО, а ХГ — катепсина G нейтрофилов после взаимодействия с биопленками УРЕС. При воздействии на нейтрофилы гормонов в концентрациях, соответствующих уровню III триместра беременности, только эстриол усиливал деструкцию биопленок комменсала. Грелин и лептин активировали катепсин G нейтрофилов при концентрациях, соответствующих I и III триместру соответственно, при взаимодействии только с биопленками УРЕС. Таким образом, гормоны, продуцируемые плацентой во время беременности, способны избирательно и эффективно модулировать функциональную активность нейтрофилов, взаимодействующих с биопленками *E. coli* при ИМП.

Работа выполнена в рамках государственного задания, № Гос. регистрации: 01201353248.

Список литературы/References

1. Горбунова О.Л., Ширшев С.В. Комплексное исследование иммуномодулирующей активности кисспептина // Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8, № 3. С. 288–290. [Gorbunova O.L., Shirshv S.V. Integrated study immunomodulatory activity of kisspeptine. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, vol. 8, no. 3, pp. 288–290. (In Russ.)]
2. Данилов В.С., Зарубина А.П., Ерошников Г.Е., Соловьева Л.Н., Карташев Ф.В., Завильгельский Г.Б. Сенсорные биолюминесцентные системы на основе lux-оперонов разных видов люминесцентных бактерий // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2002. № 3. С. 20. [Danilov V.S., Zarubina A.P., Eroshnikov G.E., Solov'eva L.N., Kartashev F.V., Zavigelsky G.B. The bioluminescent sensor systems with lux-operons from various species of luminescent bacteria. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16: Biologiya = Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2002, no. 3, p. 20. (In Russ.)]
3. Куклина Е.М., Ширшев С.В. Регуляция окислительной активности нейтрофилов хорионическим гонадотропином. Роль женских половых стероидных гормонов // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2003. № 4. С. 399–404. [Kuklina E.M., Shirshv S.V. Regulation of oxidative activity of neutrophils by chorionic gonadotropin: the role of female steroid sex hormones. *Izvestiya rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya = Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences*, 2003, vol. 30, no. 4, pp. 325–329. doi: 10.1023/A:1024853604934 (In Russ.)]
4. Некрасова И.В., Ширшев С.В. Женские половые стероидные гормоны в регуляции ферментативной активности нейтрофилов // Доклады академии наук. 2013. Т. 453, № 6. С. 690–693. [Nekrasova I.V., Shirshv S.V. Female sex steroid hormones in regulation of neutrophil enzymatic activity. *Doklady akademii nauk = Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2013, vol. 453, no. 1, pp. 312–315. doi: 10.7868/S0869565213360231 (In Russ.)]
5. Орлова Е.Г., Ширшев С.В. модуляция лептином функциональной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови женщин // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6, № 3. С. 44–48. [Orlova E.G., Shirshv S.V. Modulation of women's peripheral blood neutrophils and monocytes functional activity with leptin. *Citokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2007, vol. 6, no. 3, pp. 44–48. (In Russ.)]
6. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д. Нейтрофилы и бактериальные биопленки: диалектика взаимоотношений // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 6. С. 105–112. [Chebotar I.V., Mayansky A.N., Konchakova E.D. Neutrophils and bacterial biofilms: dialectics of relationship. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2013, no. 5, pp. 105–112. (In Russ.)]
7. Шипицына Е.В., Хуснутдинова Т.А., Савичева А.М., Айвазян Т.А. Инфекции мочевыводящих путей в акушерстве и гинекологии // Журнал акушерства и женских болезней. 2015. № 6. С. 91–104. [Shipitsyna E.V., Khusnutdinova T.A., Savicheva A.M., Ayvazyan T.A. Urinary tract infections in obstetrics and gynecology. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 2015, no. 6, pp. 91–104. (In Russ.)]
8. Ширшев С.В., Масленникова И.Л., Некрасова И.В. Влияние секретиремых метаболитов *Escherichia coli* на функциональную активность нейтрофилов человека на фоне действия эстриола // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014. № 5. С. 65–70 [Shirshv S.V., Maslennikova I.L., Nekrasova I.V. Effect of *Escherichia coli* secreted metabolites on functional activity of human neutrophils against the background of estriol effect. *Zhurnal mikrobiologii ehpidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2014, no. 5, pp. 65–70. (In Russ.)]
9. Ширшев С.В., Орлова Е.Г., Сабанцева Ю.П. Роль грелина в регуляции фагоцитарной и микробицидной активности нейтрофилов // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2015. № 4. С. 378–381. [Shirshv S.V., Orlova E.G., Sabantseva Y.P. Roles of the ghrelin in regulation of phagocytic and oxidative activity of neutrophils. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya = Perm University Biological Science Bulletin*, 2015, no. 4, pp. 378–381. (In Russ.)]
10. Cole L.A. hCG, the wonder of today's science. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2012, vol. 10, no. 24. doi: 10.1186/1477-7827-10-24
11. Coote J.G. The RTX toxins of Gram-negative bacterial pathogens: modulators of the host immune system. *Rev. Med. Microbiol.*, 1996, vol. 7, no. 1, pp. 53–62. doi: 10.1097/00013542-199601000-00006
12. Dapunt U., Hänsch G.M., Arciola C.R. Innate immune response in implant-associated infections: neutrophils against biofilms. *Materials (Basel)*, 2016, vol. 9, no. 5: E387. doi: 10.3390/ma9050387

13. Donlan R.M. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin. Infect. Dis*, 2001, vol. 33, no. 8, pp. 1387–1392. doi: 10.1086/322972
14. Eberly A.R., Floyd K.A., Beebout C.J., Colling S.J., Fitzgerald M.J., Stratton C.W., Schmitz J.E., Hadjifrangiskou M. Biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* is favored under oxygen conditions that mimic the bladder environment. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, vol. 18, no. 10: E2077. doi: 10.3390/ijms18102077
15. Fattahi S., Kafil H.S., Nahai M.R., Asgharzadeh M., Nori R., Aghazadeh M. Relationship of biofilm formation and different virulence genes in uropathogenic *Escherichia coli* isolates from Northwest Iran. *GMS Hyg. Infect. Control*, 2015, vol. 10: 11. doi: 10.3205/dgkh000254
16. Fuglsang J., Skjaerbaek C., Espelund U., Frystyk J., Fisker S., Flyvbjerg A., Ovesen P. Ghrelin and its relationship to growth hormones during normal pregnancy. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 2005, vol. 62, no. 5, pp. 554–559. doi: 10.1111/j.1365-2265.2005.02257.x
17. Gajewski M., Rzodkiewicz P., Gajewska J., Wojtecka-Łukasik E. The effect of leptin on the respiratory burst of human neutrophils cultured in synovial fluid. *Reumatologia*, 2015, vol. 53, no. 1, pp. 21–25. doi: 10.5114/reum.2015.50553
18. Gargan R.A., Brumfitt W., Hamilton-Miller J.M. Pre-opsonisation of *Escherichia coli* induces resistance to neutrophil killing in serum and urine: relationship to growth phase. *J. Med. Microbiol.*, 1991, vol. 35, no. 1, pp. 12–17.
19. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, vol. 2, no. 2, pp. 95–108.
20. Hardie L., Trayhurn P., Abramovich D., Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1997, vol. 47, no. 1, pp. 101–106. doi: 10.1046/j.1365-2265.1997.2441017.x
21. Hashemizadeh Z., Kalantar-Neyestanaki D., Mansouri S. Association between virulence profile, biofilm formation and phylogenetic groups of *Escherichia coli* causing urinary tract infection and the commensal gut microbiota: a comparative analysis. *Microb. Pathog.*, 2017, vol. 110, pp. 540–545. doi: 10.1016/j.micpath.2017.07.046
22. Hattori N. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm. IGF Res.*, 2009, vol. 19, no. 3, pp. 187–197. doi: 10.1016/j.ghir.2008.12.001
23. Hirschfeld J. Dynamic interactions of neutrophils and biofilms. *J. Oral. Microbiol.*, 2014, vol. 17, no. 6: 26102. doi: 10.3402/jom.v6.26102
24. Horikoshi Y., Matsumoto H., Takatsu Y., Ohtaki T., Kitada C., Usuki S., Fujino M. Dramatic elevation of plasma metastatin concentrations in human pregnancy: metastatin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, vol. 88, no. 2, pp. 914–919. doi: 10.1210/jc.2002-021235
25. Jesaitis A.J., Franklin M.J., Berglund D., Sasaki M., Lord C.I., Bleazard J.B., Duffy J.E., Beyenal H., Lewandowski Z. Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: characterization of neutrophil and biofilm interactions. *J. Immunol.*, 2003, vol. 171, no. 8, pp. 4329–4339. doi: 10.4049/jimmunol.171.8.4329
26. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of pregnancy. *Mt. Sinai J. Med.*, 1985, vol. 52, no. 1, pp. 11–34.
27. Kazemnia A., Ahmadi M., Dilmaghani M. Antibiotic resistance pattern of different *Escherichia coli* phylogenetic groups isolated from human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Iran Biomed. J.*, 2014, vol. 18, no. 4, pp. 219–224. doi: 10.6091/ibj.1394.2014
28. Khan M.A., Philip L.M., Cheung G., Vadakepeedika S., Grasemann H., Swezey N., Palaniyar N. Regulating NETosis: Increasing pH Promotes NADPH Oxidase-Dependent NETosis. *Front. Med. (Lausanne)*, 2018, vol. 5, pp. 19. doi: 10.3389/fmed.2018.00019
29. Koca C., Şahin Kavaklı H., Alici O. Immunomodulatory role of leptin treatment in experimental sepsis caused by gram negative bacteria. *Turk. J. Med. Sci.*, 2011, vol. 41, no. 2, pp. 251–258. doi: 10.3906/sag-1009-1109
30. Lassek C., Burghartz M., Chaves-Moreno D., Otto A., Hentschker C., Fuchs S., Bernhardt J., Jauregui R., Neubauer R., Becher D., Pieper D.H., Jahn M., Jahn D., Riedel K. A metaproteomics approach to elucidate host and pathogen protein expression during catheter-associated urinary tract infections (CAUTIs). *Mol. Cell Proteomics*, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 989–1008. doi: 10.1074/mcp.M114.043463
31. Lee J.H., Subhadra B., Son Y.J., Kim D.H., Park H.S., Kim J.M., Koo S.H., Oh M.H., Kim H.J., Choi C.H. Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2016, vol. 62, no. 1, pp. 84–90. doi: 10.1111/lam.12517
32. Li B., Zeng M., Zheng H., Huang C., He W., Lu G., Li X., Chen Y., Xie R. Effects of ghrelin on the apoptosis of human neutrophils in vitro. *Int. J. Mol. Med.*, 2016, vol. 38, no. 3, pp. 794–802. doi: 10.3892/ijmm.2016.2668
33. Lichtenberger P., Hooton T.M. Antimicrobial prophylaxis in women with recurrent urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agent*, 2011, vol. 38, pp. 36–41. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.09.005
34. Lühje P., Brauner A. Virulence factors of uropathogenic *E. coli* and their interaction with the host. *Adv. Microb. Physiol.*, 2014, vol. 65, pp. 337–372. doi: 10.1016/bs.ampbs.2014.08.006
35. Lühje P., Brauner H., Ramos N.L., Ovregaard A., Gläser R., Hirschberg A.L., Aspenström P., Brauner A. Estrogen supports urothelial defense mechanisms. *Sci. Transl. Med.*, 2013, vol. 5, no. 190, pp. 190ra80. doi: 10.1126/scitranslmed.3005574
36. Mann R., Mediati D.G., Duggin I.G., Harry E.J., Bottomley A.L. Metabolic adaptations of uropathogenic *E. coli* in the urinary tract. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2017, vol. 7, pp. 241. doi: 10.3389/fcimb.2017.00241
37. Matuszkiewicz-Rowińska J., MaŁyszko J., Wieliczko M. Urinary tract infections in pregnancy: old and new unresolved diagnostic and therapeutic problems. *Arch. Med. Sci.*, 2015, vol. 11, no. 1, pp. 67–77. doi: 10.5114/aoms.2013.39202
38. Molero L., García-Durán M., Diaz-Recasens J., Rico L., Casado S., López-Farré A. Expression of estrogen receptor subtypes and neuronal nitric oxide synthase in neutrophils from women and men: regulation by estrogen. *Cardiovasc. Res.*, 2002, vol. 56, no. 1, pp. 43–51.
39. Ohtaki T., Shintani Y., Honda S., Matsumoto H., Hori A., Kanehashi K., Terao Y., Kumano S., Takatsu Y., Masuda Y., Ishibashi Y., Watanabe T., Asada M., Yamada T., Suenaga M., Kitada C., Usuki S., Kurokawa T., Onda H., Nishimura O., Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 2001, vol. 411, no. 6837, pp. 613–617.
40. Oliveira F.A., Paludo K.S., Arend L.N., Farah S.M., Pedrosa F.O., Souza E.M., Surek M., Picheth G., Fadel-Picheth C.M. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Genet. Mol. Res.*, 2011, vol. 10, no. 4, pp. 4114–4125. doi: 10.4238/2011
41. Olson P.D., Hruska K.A., Hunstad D.A. Androgens enhance male urinary tract infection severity in a new model. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2016, vol. 27, no. 6, pp. 1625–1634. doi: 10.1681/ASN.2015030327
42. O'Toole G.F., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann. Rev. Microbiol.*, 2000, vol. 54, pp. 49–79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49

43. Pham C.T., Ivanovich J.L., Raptis S.Z., Zehnbauer B., Ley T.J. Papillon-Lefevre syndrome: Correlating the molecular, cellular, and clinical consequences of cathepsin C/dipeptidyl peptidase I deficiency in humans. *J. Immunol.*, 2004, vol. 173, no. 12, pp. 7277–7281. doi: 10.4049/jimmunol.173.12.7277
44. Phan Q.T., Sipka T., Gonzalez C., Levraud J.P., Lutfalla G., Nguyen-Chi M. Neutrophils use superoxide to control bacterial infection at a distance. *PLoS Pathog.*, 2018, vol. 14, no. 7: e1007157. doi: 10.1371/journal.ppat.1007157
45. Ramos N.L., Sekikubo M., Dzung D.T., Kosnopfel C., Kironde F., Mirembe F., Brauner A. Uropathogenic Escherichia coli isolates from pregnant women in different countries. *J. Clin. Microbiol.*, 2012, vol. 50, no. 11, pp. 3569–3574. doi: 10.1128/JCM.01647-12
46. Rosen D.A., Hooton T.M., Stamm W.E., Humphrey P.A., Hultgren S.J. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. *PLoS Med.*, 2007, vol. 4, no. 12: e329. doi: 10.1371/journal.pmed.0040329
47. Schwab S., Jobin K., Kurts C. Urinary tract infection: recent insight into the evolutionary arms race between uropathogenic Escherichia coli and our immune system. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2017, vol. 32, no. 12, pp. 1977–1983. doi: 10.1093/ndt/gfx022
48. Schwartz D.J., Kalas V., Pinkner J.S., Chen S.L., Spaulding C.N., Dodson K.W., Hultgren S.J. Positively selected FimH residues enhance virulence during urinary tract infection by altering FimH conformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, vol. 110, no. 39, pp. 15530–15537. doi: 10.1073/pnas.1315203110
49. Shirai F., Kawaguchi M., Yutsudo M., Dohi Y. Human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes at the ovulatory period are in an activated state. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2002, vol. 196, no. 1–2, pp. 21–28. doi: 10.1016/S0303-7207(02)00228-9
50. Soto S.M., Smithson A., Martinez J.A., Horcajada J.P., Mensa J., Vila J. Biofilm formation in uropathogenic Escherichia coli strains: relationship with prostatitis, urovirulence factors and antimicrobial resistance. *J. Urol.*, 2007, vol. 177, no. 1, pp. 365–368. doi: 10.1016/j.juro.2006.08.081
51. Stroh P., Günther F., Meyle E., Prior B., Wagner C., Hänsch G.M. Host defence against Staphylococcus aureus biofilms by polymorphonuclear neutrophils: oxygen radical production but not phagocytosis depends on opsonisation with immunoglobulin G. *Immunobiology*, 2011, vol. 216, no. 3, pp. 351–357. doi: 10.1016/j.imbio.2010.07.009
52. Sun Z., Dragon S., Becker A., Gounni A.S. Leptin inhibits neutrophil apoptosis in children via ERK/NF- κ B-dependent pathways. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 1: e55249. doi: 10.1371/journal.pone.0055249
53. Ujioka T., Matsukawa A., Tanaka N., Matsuura K., Yoshinaga M., Okamura H. Interleukin-8 as an essential factor in the human chorionic gonadotropin-induced rabbit ovulatory process: interleukin-8 induces neutrophil accumulation and activation in ovulation. *Biol. Reprod.*, 1998, vol. 58, no. 2, pp. 526–530.
54. Van Gennip M., Christensen L.D., Alhede M., Qvortrup K., Jensen P.Ø., Høiby N., Givskov M., Bjarnsholt T. Interactions between polymorphonuclear leukocytes and Pseudomonas aeruginosa biofilms on silicone implants in vivo. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 80, no. 8, pp. 2601–2607. doi: 10.1128/IAI.06215-11
55. Vejborg R.M., Hancock V., Schembri M.A., Klemm P. Comparative genomics of Escherichia coli strains causing urinary tract infections. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2011, vol. 77, no. 10, pp. 3268–3278. doi: 10.1128/AEM.02970-10
56. Vethanayagam R.R., Almyroudis N.G., Grimm M.J., Lewandowski D.C., Pham C.T., Blackwell T.S., Petraitis R., Petraitis V., Walsh T.J., Urban C.F., Segal B.H. Role of NADPH oxidase versus neutrophil proteases in antimicrobial host defense. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no. 12: e28149. doi: 10.1371/journal.pone.0028149
57. Yang W.L., Ma G., Zhou M., Aziz M., Yen H.T., Mavropoulos S., Ojamaa K., Wang P. Combined administration of human ghrelin and human growth hormone attenuates organ injury and improves survival in aged septic rats. *Mol. Med.*, 2016, vol. 22, pp. 124–135. doi: 10.2119/molmed.2015.00255
58. Yu Y., Sikorski P., Bowman-Gholston C., Cacciabeve N., Nelson K.E., Pieper R. Diagnosing inflammation and infection in the urinary system via proteomics. *J. Transl. Med.*, 2015, vol. 13, pp. 111. doi: 10.1186/s12967-015-0475-3

Авторы:

Масленникова И.Л., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;
Некрасова И.В., к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;
Орлова Е.Г., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;
Горбунова О.Л., к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;
Ширшев С.В., д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия.

Authors:

Maslennikova I.L., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;
Nekrasova I.V., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;
Orlova E.G., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;
Gorbunova O.L., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;
Shirshov S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation.

Поступила в редакцию 12.02.2019
 Отправлена на доработку 04.06.2019
 Принята к печати 10.06.2019

Received 12.02.2019
 Revision received 04.06.2019
 Accepted 10.06.2019