

Функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов и маркеры апоптоза при сахарном диабете 1 типа у детей

Барычева Л.Ю., Эрдни-Горяева Н.А., Александрович Г.А.

ГБОУ ВПО Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь
(ректор — д.м.н., проф. В.Н. Муравьева)

В последние годы доказано, что полиморфноядерные лейкоциты играют важную роль в развитии сахарного диабета (СД). Дисфункция нейтрофилов способствует повреждению ткани поджелудочной железы, а также повышенной восприимчивости к инфекции при СД 1 типа (СД1).

Цель. Изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ) при СД1 у детей.

Материалы и методы. Обследовано 25 детей в возрасте от 7 до 15 лет. Для оценки программируемой клеточной гибели выявляли количество НГ, экспрессирующих маркеры апоптоза (CD95, CD95L, Bcl2). Функциональную активность НГ определяли по показателям фагоцитоза, уровню миелопероксидазы, лизосомальных катионных белков, активных радикалов кислорода.

Результаты. Установлено снижение бактерицидной активности НГ с дефицитом поглощения, секреции активных радикалов кислорода, функционального резерва. Показано увеличение готовности к апоптозу, что сопровождалось повышением экспрессии CD95, снижением — Bcl2. Выявлено увеличение цитотоксического потенциала нейтрофилов в виде повышения уровня миелопероксидазы и лизосомальных катионных белков.

Заключение. Увеличение апоптотического потенциала НГ на фоне функционально-метаболических изменений может являться отражением их активного вовлечения в иммунопатогенез заболевания.

Ключевые слова: сахарный диабет; нейтрофилы; фагоцитоз; миелопероксидаза; лизосомальные катионные белки; оксидазная активность; апоптоз

Neutrophil granulocyte functional status and expression of apoptosis markers in children with type 1 diabetes

Barycheva L.Yu., Erdni-Goryaeva N.E., Aleksandrovich G.A.

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

In recent years, polymorphonuclear leukocytes have been proven to play an important role in the development of diabetes mellitus (DM). Neutrophil dysfunction contributes to pancreatic tissue damage as well as an increased susceptibility to infection in type 1 DM (T1DM) patients.

Objective. The objective of this study was to investigate the functional activity of neutrophil granulocytes (NGs) in children with T1DM.

Materials and methods. This study involved 25 children aged 7–15 years. To evaluate programmed cell death, the number of NGs expressing apoptosis markers (CD95, CD95L and BCL2) was determined. The functional activity of NGs was determined in terms of phagocytosis and the levels of myeloperoxidase, lysosomal cationic proteins and active oxygen radicals.

Results. A reduction in the bactericidal activity of NGs with deficiencies in phagocytosis, secretion of active oxygen radicals and functional reserve was found. An increase in the apoptotic potential of NGs was demonstrated, which was accompanied by an increase in CD95 expression and a decrease in BCL2 expression. An increase in the cytotoxic potential of neutrophils in the form of enhanced levels of myeloperoxidase and lysosomal cationic proteins was revealed.

Conclusions. Therefore, an increase in the apoptotic potential of NGs associated with functional and metabolic changes may reflect the active involvement of NGs in the immunopathogenesis of T1DM.

Keywords: diabetes mellitus; neutrophils; phagocytosis; myeloperoxidase; lysosomal cationic proteins; oxidase activity; apoptosis

DOI: 10.14341/DM2014377-82

В последние годы установлено, что нейтрофильные гранулоциты (НГ) играют важную роль в развитии сахарного диабета (СД) [1, 2, 3]. Доказано участие нейтрофилов в разрушении β -клеток поджелудочной железы (ПЖ), патогенезе микроваску-

лярных повреждений [4]. Зарегистрировано снижение числа периферических полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ), предшествующее дебюту заболевания и сопровождающее развитие СД 1 типа (СД1), что может быть связано с их аккумуляцией в экзокринной части ПЖ [3].

Установлено, что на ранних этапах развития инсулитов происходит направленная миграция в ПЖ лейкоцитарных клеток, способных к локальной секреции провоспалительных цитокинов, а также цитотоксических ферментов, активных форм кислорода, инициирующих апоптоз и некроз β -клеток [5]. При этом гипергликемия считается одним из факторов, повышающих деструктивный потенциал НГ [6]. Показана роль полиморфноядерных лейкоцитов в развитии диабетической ангиопатии, ретинопатии [7, 8]. Получены данные об участии нейтрофилов в патогенезе диабетической нефропатии. Установлено, что тубулярные и мезенхимальные клетки почек при диабете продуцируют большое количество хемокинов, потенцирующих приток лейкоцитов и их адгезию с последующим синтезом провоспалительных цитокинов, склерозом гломерул и фиброзом интерстициальной ткани [9].

У больных СД1 выявляются дефектный хемотаксис, низкая бактерицидная активность нейтрофилов, аномальная продукция супероксида, лейкотриенов, секреция лизосомальных ферментов, а также изменение базального уровня внутриклеточного кальция [10, 11].

Очень мало известно об апоптозе ПМЯЛ при СД1. Ранние исследования выявили увеличение скорости апоптоза нейтрофилов [12] и были сосредоточены на неспособности отложить апоптоз этих клеток у больных СД1 при стимуляции липополисахаридом [12, 13]. Высказывалось мнение о том, что гипергликемия увеличивает апоптоз НГ [1]. В последующем было показано снижение апоптоза ПМЯЛ в клинических и экспериментальных исследованиях, что, вероятно, способствовало накоплению нейтрофилов в воспалительном экссудате и повреждению тканей, а также предрасполагало к тяжелым стафилококковым инфекциям при СД1 [1, 2].

НГ являются основными клетками врожденного иммунитета. Изменение их структурно-метаболического статуса является основой низкой резистентности больных СД, их подверженности инфекционным заболеваниям [2, 3, 14]. Частой причиной обращения за медицинской помощью становятся инфекции ЛОР-органов и дыхательных путей, мочеполового и желудочно-кишечного трактов, инфекции кожи и мягких тканей [14].

Несмотря на очевидную значимость проблемы, роль ПМЯЛ в развитии СД1 у детей окончательно не установлена. Дискутируется участие НГ в возникновении и развитии заболевания. Имеющиеся в литературе данные демонстрируют нарушение клеточной функции нейтрофилов как в сторону активации, так и в сторону ингибирования. Дальнейшее изучение маркеров апоптоза нейтрофилов крови и их функционального состояния имеет большое клиническое значение, поскольку их нарушение способствует повреждению ткани ПЖ, а также повышенной восприимчивости к инфекции при СД1.

Цель

Цель исследования состояла в изучении функциональной активности и маркеров апоптоза НГ при СД1 у детей.

Материалы и методы

Обследовано 25 детей с СД1 в возрасте 7–15 лет (табл. 1). Пациенты были разделены на группы в зависимости от длительности заболевания. В группу I вошли 12 детей с длительностью заболевания менее 3 лет. Средний возраст пациентов составил $9,7 \pm 0,42$ лет, средняя длительность заболевания – $1,7 \pm 0,49$ лет. В группу II включены 13 детей с длительностью СД1 более 3 лет. Средний возраст детей составил $13,3 \pm 0,99$ лет, средняя длительность заболевания – $7,1 \pm 0,88$ лет. Показатели гликированного гемоглобина в группе I достигали $11,3 \pm 0,90\%$, в группе II – $10,0 \pm 0,71\%$.

Контрольную группу составили 15 здоровых детей в возрасте 7–15 лет.

Всеми пациентами и их родителями были подписаны информированные согласия на участие в исследовании.

Для оценки программируемой клеточной гибели выявляли количество НГ, экспрессирующих маркеры апоптоза. Нейтрофилы выделяли на двойном градиенте плотности Ficoll-Paque и фиколл-урографин (GE Healthcare, Швеция). Суспензию клеток трижды отмывали в среде RPMI-1640 («Вектор-Бест», Россия). В культурах нейтрофилов оценивали количество клеток, экспрессирующих рецепторы CD95, CD95L, Vcl2 методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Invitrogen, США).

Фагоцитарный индекс определяли по способности НГ поглощать частицы меламинаформальдегидных латексов. Уровень кислородзависимой бактерицидности НГ оценивали в тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) по числу клеток, содержащих фармазан (*фармазанположительные клетки*). Содержание лизосомальных катионных белков (ЛКБ) определяли методом Шубича М.Г., уровень миелопероксидазы (МП) – методом Грэхема–Кнолля. Рассчитывали средний цитохимический коэффициент по принципу Астальди.

Оценку сопутствующих инфекционно-воспалительных заболеваний проводили на основании клинического обследования в специализированном отделении и анализа амбулаторных карт из детской поликлиники, принимая во внимание результаты диспансерного наблюдения у педиатра, отоларинголога, дерматолога.

Для статистического анализа данных использовали пакет программ Primer of Biostat 4,0, Attestat 10.5.1. Для оценки межгрупповых различий применяли дисперсионный анализ повторных изме-

Таблица 1

Характеристика клинических групп		
Показатель	I группа (n=12)	II группа (n=13)
Средний возраст, лет	$9,7 \pm 0,42$	$13,3 \pm 0,99$
Средняя длительность заболевания, лет	$1,7 \pm 0,49^*$	$7,1 \pm 0,88$
HbA _{1c} %	$11,3 \pm 0,90$	$10,0 \pm 0,71$

* $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с группой II (критерий Ньюмена–Кейлса, критерий Данна)

Таблица 2

Показатели функциональной активности НГ у детей с СД1

Показатели	Длительность СД1 менее 3 лет (I)	Длительность СД1 более 3 лет (II)	Контрольная группа
Фагоцитоз, %	82,6±2,33	72,9±2,35* **	81,0±1,65
КБ (СЦК), усл. ед.	1,8±0,04*	1<7±0<05*	1<4±0<03
МП (СЦК), усл. ед.	2,5±0,03*	2<7±0<07* **	2<1±0<02
НСТ, %	3,0±0,41*	3<6±0<58*	7<7±0<7
ИС НСТ, усл. ед.	2,5±0,37	1<7±0<36* **	2<6±0<05

КБ – катионные белки, МП – миелопероксидаза, НСТ – фармазанположительные клетки, ИС НСТ – индекс стимуляции в НСТ-тесте; * $p<0,05$ – достоверность различий по сравнению с контрольной группой, ** $p<0,05$ – достоверность различий по сравнению с группой I (критерий Ньюмена–Кейлса, критерий Данна).

Таблица 3

Показатели апоптоза НГ у детей с СД1

Показатели	Длительность СД1 менее 3 лет (I)	Длительность СД1 более 3 лет (II)	Контрольная группа
CD95, %	77,6 (71,15–83,99)*	87,93 (84,24–91,63)* **	58,43 (54,95–1,90)
CD95L, %	9,5 (8,14–10,92)*	12,1 (10,22–13,96)* **	7,3 (6,46–8,09)
Bcl2, %	3,99 (2,9–5,08)	2,78 (2,36–3,19)*	5,38 (4,21–6,55)

CD95 – рецептор, опосредующий апоптоз, CD95L – лиганд CD95 рецептора, Bcl2 – рецептор резистентности к апоптозу; * $p<0,05$ – достоверность различий по сравнению с контрольной группой; ** $p<0,05$ – достоверность различий по сравнению с группой I (критерий Ньюмена–Кейлса, критерий Данна).

рений с вычислением критериев Ньюмена–Кейлса, Данна. Анализ качественных признаков выполнялся с использованием критерия χ^2 . Количественные значения с нормальным распределением были представлены как среднее±стандартная ошибка средней ($X\pm s_x$); признаки, характеризующиеся ненормальным распределением – в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1-Q)). Достоверными считали различия при $p<0,05$.

Результаты

При изучении функциональной активности ПМЯЛ установлено снижение уровня фагоцитоза у детей с длительностью заболевания более 3 лет (72,9±2,35, $p<0,05$). У пациентов с длительностью СД1 менее 3 лет показатели фагоцитоза не отличались от контрольной группы (табл. 2).

Показатели оксидантной активности НГ по данным спонтанного НСТ-теста достоверно уменьшались по сравнению с контрольной группой, уровень функционального резерва (ИС НСТ) был снижен у детей с длительностью заболевания более 3 лет.

При сравнительной характеристике показателей функциональной активности НГ в группе детей, страдающих СД1 более 3 лет, установлены более низкие показатели фагоцитоза ($p<0,05$) и ИС НСТ-теста ($p<0,05$) (табл. 2) по сравнению с детьми, болеющими менее 3 лет.

У пациентов обеих групп выявлено увеличение цитоэнзимохимических показателей – уровня МП и лизосомальных катионных белков по сравнению с контрольной группой (с более высокими значениями МП у детей с длительностью заболевания более 3 лет).

При исследовании маркеров апоптоза установлено увеличение экспрессии проапоптотических маркеров

CD95, снижение антиапоптотических – Bcl2 (табл. 3). Максимальные показатели CD95 зарегистрированы у детей с длительностью заболевания более 3 лет.

Установлено увеличение процента ПМЯЛ, имеющих на своей поверхности CD95L. Наиболее высокие показатели выявлены у детей с длительностью заболевания более 3 лет.

Развитие сопутствующих инфекционно-воспалительных заболеваний отмечено у 72% включенных в исследование детей, что превышало аналогичные показатели в контрольной группе (20%), $p<0,05$.

Частые респираторные инфекции регистрировались у детей обеих групп (табл. 4). Хронический тонзиллит диагностировался у 33,4% в группе I и у 30,8% в группе II. Хронический гайморит встречался только в группе II (23,1%).

Инфекции мочевыводящих путей верифицировались в единичных случаях. Цистит был выявлен в 8,3% в группе I и в 7,7% в группе II. Хронический пиелонефрит был диагностирован только в группе II (15,4%).

Заболевания кожи встречались у 16,7% детей в группе I и у 41,7% – в группе II. В структуре патологии имели место стрептодермии – у 16,7% детей в группе I и у 15,4% в группе II, рецидивирующий герпес в группе II – 23,1%, аллергический дерматит – у 8,3% и 23,1% соответственно.

В единичных случаях у детей группы I (8,3%) отмечался кандидоз слизистой полости рта. У школьников длительностью СД1 более 3 лет наблюдались повторные эпизоды стоматита (23,1%).

При сравнительной характеристике частоты инфекционно-воспалительных заболеваний в зависимости от длительности заболевания более высокие показатели отмечались у детей II группы. Однако достоверных межгрупповых различий получено не было, что, вероятно, связано с небольшим объемом выборки.

Таблица 4

Сопутствующие заболевания у школьников с СД1 в зависимости от длительности заболевания

Уровень поражения	Патология	% (кол-во детей)		
		I группа (n=12)	II группа (n=13)	Контрольная группа (n=15)
Инфекции верхних дыхательных путей	Частые ОРВИ	58,3 (7)	53,8 (7)	20,0 (3)
	Рецидивирующий бронхит	16,7 (2)	23,1 (3)	-
Инфекции ЛОР-органов	Хронический тонзиллит	33,4 (4)	30,8 (4)	13,3 (2)
	Хронический гайморит	-	23,1 (3)	-
Заболевания кожи и подкожной клетчатки	Аллергический дерматит	8,3 (1)	23,1 (3)	-
	Пиодермия	16,7 (2)	15,4 (2)	-
	Кожно-слизистый герпес	-	23,1 (3)	6,7 (1)
	Хронический пиелонефрит	-	15,4 (2)	-
	Цистит	8,3 (1)	7,7 (1)	-
	Лямблиоз кишечника	8,3 (1)	-	-
Инфекции мочевых путей	Функциональная диспепсия	16,7 (2)	15,4 (2)	6,7 (1)
	Кандидоз слизистых рта	16,7 (2)	15,4 (2)	-
	Стоматит	-	23,1 (3)	-

Обсуждение

Известно, что структурно-метаболический статус ПМЯЛ неразрывно связан с выполнением их физиологических задач и складывается из активации, адгезии, хемотаксиса клеток, поглощения антигена, его киллинга и расщепления. Нами установлено снижение количества фагоцитирующих клеток у детей с длительностью заболевания более 3 лет, что согласуется с результатами большинства исследований, посвященных фагоцитарной активности при СД1 [2, 10, 11].

Известно, что нарушению поглотительной и хемотаксической функции ПМЯЛ при СД могут способствовать гипергликемия и гиперкетонемия, под действием которых нейтрофилы приобретают сферическую форму и в значительной мере теряют способность образовывать псевдоподии. В результате снижаются адгезивные и эмиграционные свойства НГ, затрудняется поглощение, кэпинг [4].

В работе показано уменьшение показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста у детей с СД1, что может быть связано с нарушением процесса дегрануляции – слияния специфических и азурофильных гранул ПМЯЛ с их фагосомами. Известно, что дегрануляция – энергозатратный процесс. В экспериментальных условиях выявлено, что при СД в ПМЯЛ значительно сокращаются запасы гликогена, тормозится его синтез, снижается активность ключевых ферментов анаэробного окисления глюкозы и пентозного цикла, что приводит к уменьшению внутриклеточных запасов АТФ [15].

При сравнительной характеристике показателей функциональной активности НГ в группе детей, страдающих СД1 более 3 лет, были установлены более низкие показатели фагоцитоза и НСТ-теста по сравнению с детьми, болеющими менее 3 лет, что, вероятно, связано с длительностью заболевания и функциональным истощением НГ [16].

У пациентов обеих групп выявлено увеличение цитоэнзимохимических показателей – уровня МП и лизосомальных катионных белков по сравнению с контрольной

группой с более высокими значениями МП у детей с длительностью заболевания более 3 лет. Полученные нами данные, вероятно, могут свидетельствовать об увеличении биоагрессивного потенциала нейтрофилов периферической крови у детей с СД1 вследствие увеличения продукции НОС1 и катионных белков. Известно, что наиболее цитотоксичными продуктами миелопероксидазной системы являются гипохлорная кислота и гипохлорит-анион, которым принадлежит роль основных повреждающих агентов в биологических системах [17].

Нами установлено, что течение СД у детей сопровождается увеличением процента нейтрофилов, экспрессирующих маркеры апоптоза (CD95), и уменьшением доли клеток, имеющих на своей поверхности антиапоптотические белки. Наиболее выраженная активация апоптоза отмечена в группе детей с длительностью заболевания более 3 лет.

По данным литературы, интенсивность апоптоза нейтрофилов при СД может быть как низкой [18, 19], так и высокой [12, 13, 20]. Установлено, что ПМЯЛ больных СД не демонстрируют замедление апоптоза, индуцированное бактериями и липополисахаридом [13]. Существует мнение, что нарушение утилизации глюкозы и глутамина может быть фактором, предрасполагающим к повышенному апоптозу ПМЯЛ [2].

Однако в литературе имеются сведения и о снижении скорости апоптоза НГ при СД, что, вероятно, инициирует процессы хронического воспаления с повреждением ткани ПЖ [18, 19].

В исследовании выявлено увеличение процента клеток, имеющих на своей поверхности CD95L, что может способствовать усилению процессов запрограммированной клеточной гибели в островковых β-клетках ПЖ, инфицированных лейкоцитарными клетками. Наиболее высокие показатели отмечены у детей с длительностью заболевания более 3 лет.

Таким образом, увеличение апоптотического потенциала НГ на фоне функционально-метаболических изменений является отражением активного вовлечения НГ в иммунопатогенез заболевания.

Установлено, что гиперэкспрессия отдельных факторов биоцидности ПМЯЛ в виде увеличения МП и ЛКБ сопровождается усилением их апоптоза, что может быть связано с изменением метаболизма глутамина в НГ при развитии и прогрессировании СД.

Вместе с тем установлено снижение бактерицидной активности нейтрофилов с дефицитом поглощения, секреции активных радикалов кислорода, функционального резерва. Степень функциональной недостаточности зависит от длительности заболевания и увеличивается у детей, болеющих СД1 более 3 лет.

Известно, что ПМЯЛ являются связующим звеном между врожденным и адаптивным иммунитетом и выполняют главенствующую роль в антибактериальной защите. Нарушение их функциональной компетенции у детей с СД1 становится одним из факторов, предрасполагающих к развитию инфекционных заболеваний. У детей, страдающих СД1, отмечена повышенная чувствительность к инфекционным заболеваниям, что согласуется с данными зарубежных исследователей [2, 3, 14].

Выводы

1. НГ при СД у детей характеризуются высокой готовностью к апоптозу, низкой бактерицидной активностью с дефицитом фагоцитоза, продукции активных радикалов кислорода, функционального резерва.

2. Увеличение экспрессии CD95L на НГ при СД1 может способствовать усилению процессов запрограммированной гибели β -клеток в островках ПЖ, инфильтрированных иммунокомпетентными клетками.
3. Признаки антигенной стимуляции ПМЯЛ и увеличения их цитотоксического потенциала при СД1 выявляются в виде активации метаболической активности с повышением уровня МП и лизосомальных катионных белков.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Работа выполнена в рамках федеральной целевой научной программы. Номер государственной регистрации 01200954364.

Выполнение настоящего исследования одобрено Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (ул. Мира, 310). Протокол №16 от 14 мая 2012 г.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведенным исследованием и публикацией настоящей статьи.

Список литературы

1. Alba-Loureiro TC, Hirabara SM, Mendonça JR, Curi R, Pithon-Curi TC. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *Journal of Endocrinology* 2006;188(2):295–303. doi: 10.1677/joe.1.06438
2. Alba-Loureiro TC, Munhoz CD, Martins JO, Cerchiario GA, Scavone C, Curi R, et al. Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res* 2007;40(8):1037–1044. doi: 10.1590/S0100-879X2006005000143
3. Valle A, Giamporcaro GM, Scavini M, Stabilini A, Grogan P, Bianconi E, et al. Reduction of Circulating Neutrophils Precedes and Accompanies Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2013;62(6):2072–2077. doi: 10.2337/db12-1345
4. Tong PC, Lee KF, So WY, Ng MH, Chan WB, Lo MK, et al. White Blood Cell Count Is Associated With Macro- and Microvascular Complications in Chinese Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(1):216–222. doi: 10.2337/diacare.27.1.216
5. Lo H, Lin S, Wang Y. The relationship among serum cytokines, chemokine, nitric oxide, and leptin in children with type 1 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry* 2004;37(8):666–672. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2004.02.002
6. Karima M, Kantarci A, Ohira T, Hasturk H, Jones VL, Nam B, et al. Enhanced superoxide release and elevated protein kinase C activity in neutrophils from diabetic patients: association with periodontitis. *Journal of Leukocyte Biology* 2005;78(4):862–870. doi: 10.1189/jlb.1004583
7. Балаболкин МИ, Клебанова ЕА, Креминская ВМ. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 1999;(1):2–8. [Balabolkin MI, Klebanova EM, Kreminskaya VM. Patogenez angiopatij pri sakharnom diabete. *Diabetes mellitus*. 1999;(1):2–8.] doi: 10.14341/2072-0351-5725
8. Hayasaka S, Zhang X, Cui H, Yanagisawa S, Chi Z, Hayasaka Y, et al. Chemokines and Sho (Zheng in Chinese) of Chinese-Korean-Japanese medicine in patients with diabetic vitreoretinopathy. *Am. J. Chin. Med.* 2006;34(04):537–543. doi: 10.1142/S0192415X06004077
9. Morii T, Fujita H, Narita T, Shimotomai T, Fujishima H, Yoshioka N, et al. Association of monocyte chemoattractant protein-1 with renal tubular damage in diabetic nephropathy. *J. Diabetes Complications* 2003;17(1):11–15. doi: 10.1016/S1056-8727(02)00176-9
10. Nabi AHMN, Islam LN, Rahman MM, Biswas KB. Polymorphonuclear Neutrophil Dysfunctions Streptozotocin-induced Type 1 Diabetic Rats. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 2005;38(6):661–667. PubMed PMID: 16336780
11. Kannan Y, Tokunaga M, Moriyama M, Kinoshita H, Nakamura Y. Diabetic neutrophil dysfunction and troglitazone. *Clin Exp Immunol* 2004;137(2):263–271. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02532.x
12. Chanchamroen S, Kewcharoenwong C, Susaengrat W, Ato M, Lertmemongkolchai G. Human polymorphonuclear neutrophil responses to *Burkholderia pseudomallei* in healthy and diabetic subjects. *Infect Immun* 2008;77(1):456–463. doi: 10.1128/IAI.00503-08
13. Tennenberg SD. Absence of Lipopolysaccharide-Induced Inhibition of Neutrophil Apoptosis in Patients With Diabetes. *Arch Surg* 1999;134(11):1229–1233. doi: 10.1001/archsurg.134.11.1229
14. Casqueiro J, Casqueiro J, Alves C. Cresio Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J Endocrinol Metab* 2012;16 Suppl 1(11):27. doi: 10.4103/2230-8210.94253

15. Walrand S, Guillet C, Boirie Y, Vasson M. In vivo evidences that insulin regulates human polymorphonuclear neutrophil functions. *Journal of Leukocyte Biology* 2004;76(6):1104–1110. doi: 10.1189/jlb.0104050
16. Kaczmarek M, Lewandowicz-Uszyńska A, Iwanicka Z, Jankowski A. Whole blood neutrophil chemiluminescence in children with diabetes depending on their clinical condition. *Centr Eur J Immunol* 2012;4(4):345–349. doi: 10.5114/cej.2012.32723
17. Ziegler D, Sohr CG, Nourooz-Zadeh J. Oxidative stress and antioxidant defense in relation to the severity of diabetic poly-neuropathy and autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2004;27(9):2178–2183. doi: 10.2337/diacare.27.9.2178
18. Seo KH, Na JO, Moon SH, Uh ST, Kim YH, Park CS. Neutrophil Apoptosis and H₂O₂ Release by LPS in Diabetics. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 2004; 57 (3): 250–256. Available from: http://www.e-trd.org/abstract/view_article.php?year=2008&no=707&page_list=abslist
19. Zhang B, Hirahashi J, Cullere X, Mayadas TN. Elucidation of Molecular Events Leading to Neutrophil Apoptosis following Phagocytosis: cross-talk between caspase 8, reactive oxygen species, and MAPK/ERK activation. *Journal of Biological Chemistry* 2003;278(31):28443–28454. doi: 10.1074/jbc.M210727200
20. Glowacka E, Banasik M, Lewkowicz P, Tchorzewski H. The effect of LPS on neutrophils from patients with high risk of type 1 diabetes mellitus in relation to IL-8, IL-10 and IL-12 production and apoptosis in vitro. *Scand J Immunol* 2002;55(2):210–217. doi: 10.1046/j.1365-3083.2002.01046.x

Барычева Людмила Юрьевна

д.м.н., профессор кафедры детских инфекционных болезней, ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация
E-mail: for_ludmila@inbox.ru

Эрди-Горяева Наталья Эдуардовна

врач-эндокринолог Ставропольского краевого клинического диагностического центра, соискатель кафедры детских инфекционных болезней, ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация

Александрович Галина Алексеевна

к.м.н., доцент, заслуженный врач России, зав. кафедрой эндокринологии, детской эндокринологии и диабетологии, ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация