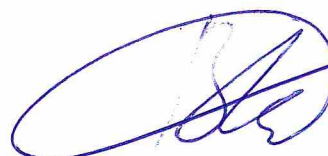


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КРАСНОЯРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» ОБОСОБЛЕННОЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКИХ ПРОБЛЕМ
СЕВЕРА»



На правах рукописи

БЕЛЕНЮК ВАСИЛИЙ ДМИТРИЕВИЧ

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ
ПЕРИТОНИТОМ

14.03.09 -клиническая иммунология,
аллергология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
д.м.н. проф. А.А. Савченко

Красноярск - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Этиология и патогенез распространенного гнойного перитонита	10
1.2 Механизмы врожденного иммунитета при воспалении	13
1.2.1 Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов при воспалении	15
1.2.2 Механизмы участия моноцитов и макрофагов в воспалении	16
1.2.3 Механизмы реализации NK- и NKT-клетками эффекторных функций при воспалении	17
1.3 Механизмы адаптивного иммунитета при воспалении	21
1.3.1 Механизмы реализации Т-клеточного ответа при воспалении	21
1.3.2 Механизмы реализации В-клеточного ответа при воспалении	26
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	30
2.1 Объект исследования	30
2.2 Методы исследования	33
2.2.1 Иммунофенотипирование лейкоцитов методом проточной цитометрии	33
2.2.2 Оценка фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов методом проточной цитометрии	36
2.2.3 Количественное определение цитокинов и иммуноглобулинов в сыворотке крови иммуноферментным методом	38
2.2.4 Статистические методы исследования.	39
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	40
3.1 Фенотип и фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов у больных РГП в зависимости от исхода послеоперационного периода	40
3.2 Особенности фенотипа NK- и NKT-клеток в динамике послеоперационного периода в зависимости от исхода РГП	55
3.3 Изменение фенотипа Т-клеток крови у больных в зависимости от исхода РГП	71

3.4 Изменение фенотипа В-лимфоцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода в зависимости от исхода заболевания	86
3.5 Способ прогнозирования исхода распространенно гнойного перитонита	99
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	102
4.1 Особенности фенотипического состава клеток иммунной системы	102
4.2 Взаимодействие клеток врожденного и приобретенного иммунитета	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	125
ВЫВОДЫ	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	130
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	131

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Одной из наиболее тяжелых инфекционно-воспалительных патологий является распространённый гнойный перитонит (РГП), иммунопатогенез которой до конца не ясен. Летальность при РГП сохраняется на уровне 10-30 %, а в случае генерализации инфекции и развития полиорганной недостаточности достигает 80-90% [1, 2]. Основные алгоритмы лечения РГП в послеоперационном периоде основаны на применении антибиотикотерапии, а, как известно, антибиотики оказывают не только прямое воздействие на патогенную микрофлору, но и в значительной степени нарушают работу иммунной системы. При этом нельзя забывать, что образующиеся в момент оперативного вмешательства повреждения тканей выступают дополнительным источником продуктов клеточного распада, что усиливает активность воспалительного процесса в организме.

За последние годы были выдвинуты и прошли практическую проверку постулаты, утверждающие главенствующую роль системы иммунитета в поддержании внутреннего гомеостаза, контроле процессов метаболизма, защите от внутренних и внешних патогенов [3, 4]. Было показано, что при РГП значительную роль в формировании характера течения заболевания играют процессы, развивающиеся в системе иммунитета [5, 6, 7]. Как следствие, важным шагом стало углубление понимания основных механизмов функционирования ключевых клеток иммунной системы на фоне таких тяжелых состояний как сепсис и перитонит и, соответственно, разработка на их основе новых персонифицированных методов иммуноопосредованной терапии, что в перспективе позволит снизить летальность от РГП.

На фоне перитонита формируется ярко выраженная активация врожденного иммунитета представленного основными популяциями фагоцитов. В исследовании Wang W. (2018), само развитие РГП определяет наличие нарушений в регуляторных и эффекторных механизмах местного и системного иммунитета [8]. При этом часто отмечается угнетение адаптивного звена иммунной системы,

обусловленное совокупностью многих факторов [9]. Есть сведения, что состояние иммунной системы больных РГП характеризуется снижением количественных показателей и активности Т-клеточного звена, а также увеличением числа клеток врожденного иммунитета, дисиммуноглобулинемией в сторону снижения уровня IgA и увеличения содержания IgM и IgG, а также угнетением поглотительной функции нейтрофилов [10, 11]. В работе Kim J.W. (2017) показана гиперкортизолемиа, блокирующая активность стресс-лимитирующих рецепторов иммунологических клеток [12]. Kim J.W. на основе нарушения баланса стресс-реализующих и стресс-лимитирующих механизмов клеток иммунной системы при перитоните, предположил механизм формирования иммунодефицит-подобного состояния. В своих работах он определил, что иммунодепрессии, как правило, возникают при эндотоксикозе 1-2 стадии, а иммунодефицит-подобные состояния – при 2-3 стадиях [12].

Таким образом, становится очевидно, что исследования по данной теме, при должном подходе, могут предложить новые маркеры раннего прогнозирования исхода и течения таких тяжелых заболеваний как РГП. Однако, неоднозначность представлений о взаиморегуляции врожденного и адаптивного иммунитета на фоне антибиотикотерапии при лечении РГП требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования: установить закономерности изменения фенотипа клеток иммунной системы у больных распространенным гнойным перитонитом и определить наиболее значимые предикторы исхода заболевания.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие **задачи**:

1. Оценить особенности фенотипа и уровней экспрессии активационных и адгезионных молекул на поверхности нейтрофилов, моноцитов, NK- и NKT-клеток крови у больных РГП в зависимости от исхода заболевания.
2. Оценить особенности фенотипа и уровней экспрессии активационных и адгезионных молекул на поверхности Т- и В-клеток крови у больных РГП в зависимости от исхода заболевания.

3. На основе выявленных изменений в фенотипе клеток врожденного и приобретённого иммунитета, выделить критерии, имеющие прогностическое значение для оценки исхода течения РГП.

Научная новизна

Впервые были установлены закономерности изменения соотношения классических и неклассических моноцитов в периферической крови у пациентов РГП, в дооперационном периоде и после операции на фоне стандартной терапии, характеризующее повышение роли неклассической фракции клеток. Продemonстрировано, что у пациентов с неблагоприятным исходом РГП, в дооперационном периоде, снижается содержание зрелых NK- и NKT-клеток в периферической крови, как относительно контрольных диапазонов, так и относительно пациентов с благоприятным исходом РГП. Впервые показано, что в дооперационном периоде при благоприятном исходе РГП выявлено повышение количества активированных Т-регуляторных клеток, по сравнению с контрольным диапазоном и показателями больных с неблагоприятным исходом заболевания. Продemonстрировано, что в дооперационном периоде и в течение двух недель после операции при благоприятном исходе РГП выявлено повышение количества CD62L⁺Т-лимфоцитов, по сравнению с контрольным диапазоном и показателями больных с неблагоприятным исходом заболевания. При этом у пациентов с неблагоприятным исходом РГП повышение числа активированных Т-регуляторных клеток в крови выявляется только на третью неделю наблюдения. Получены новые данные о том, что у пациентов с неблагоприятным исходом РГП на фоне терапии в послеоперационном периоде количество общих В-лимфоцитов, наивных В-клеток и В2-лимфоцитов, а также В-клеток, экспрессирующих CD23-рецептор, значительно выше аналогичных параметров, как контрольной группы, так и пациентов с благоприятным исходом РГП. Установлено, что в плазме крови пациентов с неблагоприятным исходом РГП одновременно повышаются концентрации провоспалительного IL-8, и противовоспалительного IL-10, что приводит к усугублению воспалительного процесса и торможению Т-клеточного иммунного ответа.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в расширении знаний об особенностях реакции клеток иммунной системы в зависимости от течения РГП. Полученные результаты раскрывают взаимосвязь между нейтрофильными гранулоцитами и субпопуляциями моноцитов, а также процессами подавления адаптивного иммунитета и связанными с этим нарушениями. Определен вклад Th-клеток в течение воспалительного процесса при РГП. Практическая значимость работы заключается в том, что на основании исследования фенотипического состава регуляторных Т-клеток и В-лимфоцитов был предложен способ прогнозирования исхода течения распространенного гнойного перитонита (Цитометрический способ прогнозирования исхода распространенного гнойного перитонита // Патент на изобретение RU 2691742 С1, 18.06.2019. Заявка № 2018119060 от 23.05.2018) [13].

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Фенотип и функциональная активность клеток иммунной системы у больных РГП значительно различаются, характеризуясь повышением уровня фагоцитарной активности нейтрофилов, количества зрелых NK- и NKT-клеток, активированных Т-регуляторных клеток и снижением содержания активированных В-клеток (CD19⁺CD23⁺), наивных В-лимфоцитов, В1- и В2-клеток в послеоперационном периоде при благоприятном исходе заболевания и отсутствием подобных изменений при неблагоприятном исходе РГП.
2. Коэффициент Т-клеточной регуляции, определяемый из количественных отношений В1-лимфоцитов и Т-регуляторных клеток, является информативным в прогнозе исхода распространенного гнойного перитонита.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 44 таблицами и 19 рисунками.

Список литературы включает 162 библиографических изданий (23 отечественный и 139 иностранный).

Степень достоверности, апробация результатов и личный вклад автора

Высокая достоверность полученных результатов определяется продуманным дизайном исследования, подтверждается использованием различных подходов с автоматизированной оценкой результатов, а также современными методами статистической обработки результатов.

Основные положения диссертационного исследования представлены и обсуждены на Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» (Красноярск, 2016); Актуальные вопросы вакцинопрофилактики, краевая научно-практическая конференция (Красноярск 2017); Сложные системы в экстремальных условиях, XVIII Всероссийский симпозиум с международным участием (Красноярск 2017); Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири, 15-я региональная научно-практическая конференция молодых ученых (Красноярск 2017); Наука, промышленность, экология VII Молодежная школа-конференция (Шира 2017); 21 межрегиональная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы медицины» (Абакан, 2018); XIX Всероссийский симпозиум с международным участием «Сложные системы в экстремальных условиях» (Красноярск 2018); XXI Конференция молодых учёных ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск 2018); V Всероссийская научно-практическая школа-конференция с международным участием «Иммунология в клинической практике» (Красноярск 2018); Всероссийская научно-практическая школа-конференция с международным участием «Иммунология в клинической практике» (Красноярск 2019); XVII научно-практическая конференция молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (Красноярск 2019); XVIII Межрегиональная научно-практическая конференция молодых ученых, посвященная 80-летию члена-корреспондента РАН Валерия Тимофеевича Манчука (Красноярск 2021); XX Международный симпозиум «Сложные системы

в экстремальных условиях», Международная сателлитная конференция «Экологический мониторинг: методы и подходы» (Красноярск 2021); Всероссийский конгресс с международным участием «Иммунология в клинической практике» (Красноярск 2021); Научно-практическая конференция с международным участием «Современные аспекты реабилитации иммунной системы» (Красноярск 2021); Научно-практическая конференция «Инфекции и иммунитет. Диагностика, лечение, реабилитация и профилактика у детей и взрослых» (Красноярск 2022).

Работа проводилась на базе лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, НИИ МПС (руководитель лаборатории д.м.н., профессор А.А. Савченко). Все исследования выполнялись при непосредственном участии автора в рамках темы государственного задания «Изучение распространенности и механизмов развития иммунометаболических нарушений у населения Сибири» (№ госрегистрации 0356-2017-0045, НИОКТР № госрегистрации 01201351110).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 7 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных работ, индексируемых в базах Web of Science, Scopus и РИНЦ, получен 1 патент.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиология и патогенез распространенного гнойного перитонита

Сегодня не вызывает сомнений, что любой иммунный ответ, сопровождается процессом воспаления, которое является универсальным, генетически опосредованным комплексом реакций на любое флогогенное воздействие различной природы [14]. С точки зрения организма именно воспаление обеспечивает концентрацию в очаге повреждения различных защитных факторов, обеспечивающих сперва элиминацию повреждающего агента, а затем восстановление структур и функций поврежденного участка [7].

Достоверно известно, что около 80% заболеваний напрямую ассоциированы с процессом воспаления, и, следовательно, важно соотносить поэтапность развития этого процесса с изменениями, протекающими в структуре иммунитета. Одним из наиболее ярких патологических процессов, сопровождающихся тяжелыми воспалительными процессами, является распространенный гнойный перитонит (РГП) [15]. Протекая в брюшной полости, РГП сопровождается массивным выходом продуктов клеточного распада и метаболических токсинов в периферическую кровь, зачастую приводя к развитию сепсиса и синдрома системной воспалительной реакции (ССВР) [9]. В кратчайшие сроки перитонит приводит к серьёзному, зачастую необратимому поражению жизненно важных органов и систем, поэтому он остается одной из основных причин смерти пациентов с острой хирургической патологией, а также травм органов брюшины [16]. Летальность при РГП варьируется в пределах от 10 до 30%, а при генерализации воспаления и развитии полиорганной недостаточности достигает 80-90% [17]. Причиной РГП могут явиться различные заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), обусловленные как внутренними, так и внешними факторами, например, осложнения острых хирургических заболеваний брюшной полости (рис. 1).

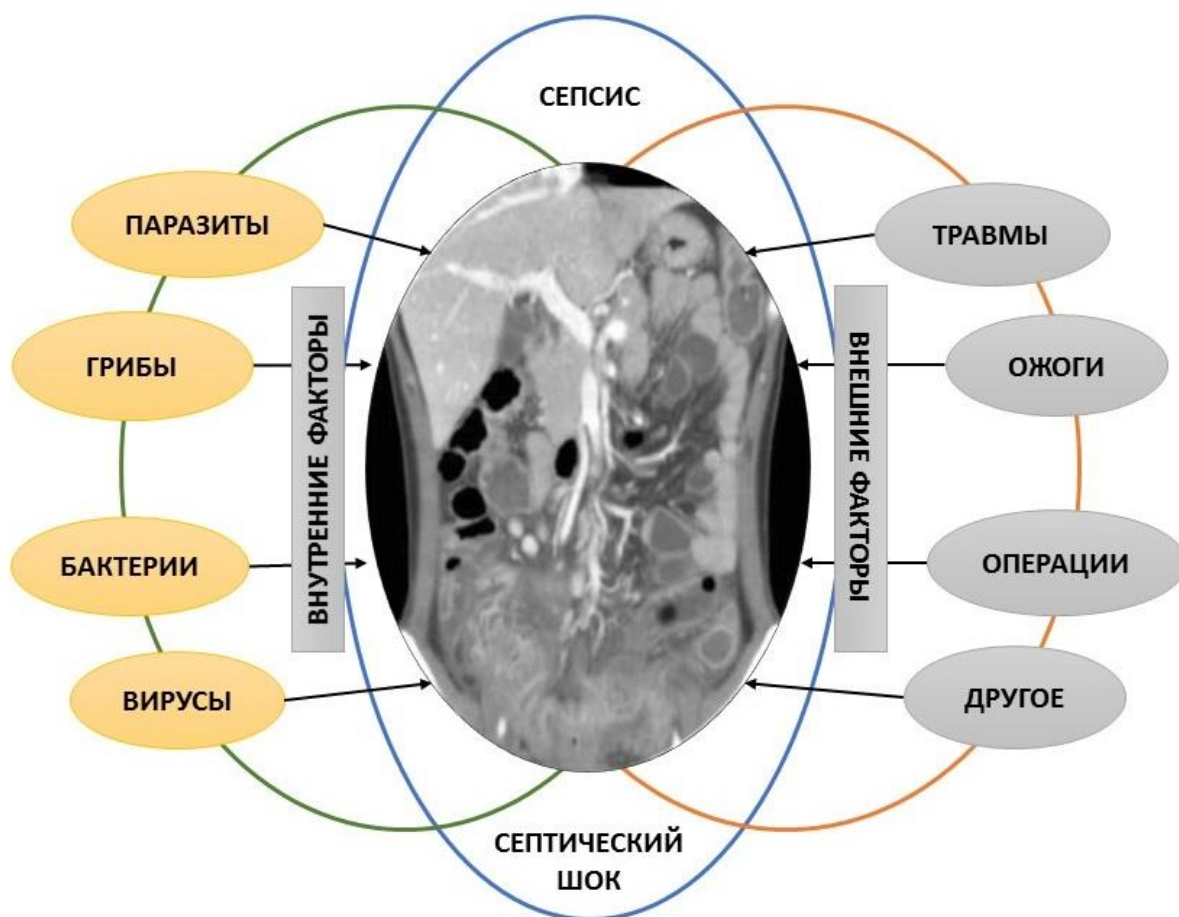


Рисунок 1 – Основные внешние и внутренние факторы развития РГП.

Значение РГП как одного из наиболее тяжелых проявлений инфекции в хирургии, связано с большой площадью и высокой поглотительной способностью брюшины, что при определенных условиях может вызывать быструю генерализацию инфекции с преобладанием общих изменений в организме над местными [18]. Одним из ключевых патологических процессов при РГП является абдоминальный сепсис, в основе этиологии которого лежит целый комплекс патофизиологических реакций, связанных с расстройством метаболизма, эндогенной интоксикацией, срывом защитных функций организма, а также угрозой развития необратимых морфологических изменений [19]. Н. Vester и Р. Dargatz (2015), сообщали о связи между снижением экспрессии HLA-DR и функциональной инактивацией моноцитов, было установлено, что снижение экспрессии HLA-DR может быть признаком тяжелой иммуносупрессии [20]. Выдвинуто предположение учитывать сепсис не как провоспалительное

заболевание, а как отчасти иммунное расстройство. Undurti Das отмечает, что у пациентов с сепсисом уровень моноцитов снижается, и, следовательно, снижается экспрессия HLA-DR [21]. Поскольку моноциты с низкой экспрессией HLA-DR обладают пониженной способностью секретировать цитокины и презентовать антигены, то поддержание экспрессии HLA-DR может иметь важное значение для антибактериального ответа и для предотвращения инфекционных осложнений. Именно сепсис и ССВР, приводящие к полиорганной недостаточности, являются основными причинами высокой смертности больных с РГП [22].

При РГП микробные антигены и бактериальные токсины поступают в биологические среды организма одновременно из трех источников:

- гнойно-деструктивного очага брюшной полости;
- перитониального экссудата;
- паралитически измененного тонкого кишечника.

В процессе гибели микроорганизмов, содержащихся в перитонеальном экссудате, образуется эндотоксин, который при всасывании в кровь соединяется с антителами сыворотки крови и комплементом, создавая агрессивный анафилаксин, который способствует освобождению вазоактивных веществ, действие которых определяет развитие эндотоксинового шока [23]. Патофизиологической основой синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ) при РГП является комбинация четырех основных механизмов его развития (рис. 2). Бактериальные антигены и токсины действуют не только местно, но и нарушают системную гемодинамику и микроциркуляцию, формируя печеночную недостаточность, которая усугубляет эндогенную интоксикацию [24]. В результате у больных РГП повышается сосудистая проницаемость, замедляется кровоток и увеличивается вязкость крови, что приводит к снижению оксигенации и гипоксии. Нарушение энергосинтезирующей функции приводит к прогрессированию прооксидантных процессов и несостоятельности антиоксидантной системы [25].



Рисунок 2 – Механизмы развития синдрома эндогенной интоксикации при РГП.

Эндогенная интоксикация при РГП сопровождается гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, в ответ развивается компенсаторная противовоспалительная реакция, в основе которой лежит активная продукция противовоспалительных цитокинов, что не только сдерживает активность воспалительного процесса, но и, зачастую, обуславливает формирование глубокой иммунодепрессии [26].

1.2 Механизмы врожденного иммунитета при воспалении

Система врожденного иммунного ответа нацелена на консервативные микробные компоненты, общие для различных групп патогенов, вызывающая воспалительную реакцию в течение нескольких минут после воздействия патогена на организм. Кроме того, врожденный иммунитет играет важную роль в активации адаптивного иммунитета [27].

Клетки врожденного иммунитета узнают чужеродный материал с помощью паттерн-распознающих рецепторов PRR (Pattern Recognition Receptor) [3].

Основная функция PRR рецепторов заключается в активации каскада сигнальных путей для повышения синтеза провоспалительных цитокинов. Патогены распознаются PRRs посредством взаимодействия с молекулами, сохраняемыми среди видов микроорганизмов, которые называются молекулярными паттернами, связанными с патогенами (PAMP). Помимо PAMPs, PRR также распознают эндогенные молекулы, высвобождаемые из поврежденных клеток, называемые молекулярными паттернами, связанными с повреждением (DAMPs) [28]. В результате активации PRRs происходит иницирование процесса воспаления, начинается активное привлечение фагоцитов в очаг проникновения патогена, затем активируются процессы элиминирования патогена в очаге воспаления. Запускается противовирусный иммунный ответ, сопровождающийся продукцией интерферонов I типа, а также активацией NK-клеток. Также происходит инициация системы адаптивного иммунитета через презентацию антигена дендритными клетками и экспрессию ими костимуляционных молекул, вследствие чего происходит формирование клонов Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток, запускается синтез антител В-клетками.

На данный момент установлено, что фагоциты далеко не единственные клетки врожденной иммунной системы и сегодня насчитывается минимум пять основных типов. К ним можно отнести клетки барьерных тканей, вовлеченные помимо непосредственного формирования физических барьеров в продукцию антимикробных пептидов. Антигенпрезентирующие клетки (АПК), главным образом дендритные, вовлеченные в процессы продукции цитокинов и привлечения лейкоцитов в очаг проникновения патогена; поглощения, процессинга и доставки антигена в лимфатические узлы, а также непосредственно презентации антигенов и активации клеточных реакций приобретенного иммунитета. Собственно, фагоциты, представленные нейтрофилами и моноцитами/макрофагами, главной функцией которых является фагоцитоз и внеклеточный цитолиз [29]. Стоит отметить, что функции моноцитов/макрофагов не ограничиваются элиминацией патогенов при помощи фагоцитоза, помимо этого они синтезируют и секретируют цитокины и хемокины для привлечения и

активации лейкоцитов в очаг проникновения патогена, синтезируют и секретируют ростовые факторы, запускающие регенерацию в воспаленных тканях, а также активируют клетки, принимающие участие в защитных реакциях приобретенного иммунитета, осуществляя взаимодействие с Th1 при реализации эффекторных функций защитных реакций. К врожденному иммунитету относятся и натуральные киллеры, или NK-клетки, распознающие инфицированные вирусом и малигнизированные клетки по принципу отсутствия своего, связанного с изменением плотности экспрессии на поверхности клеток-мишеней молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС). Также к системе врожденного иммунитета можно отнести некоторые фракции специализированных лимфоцитов, вовлеченные в продукцию цитокинов.

1.2.1 Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов при воспалении

Наибольший интерес вызывают нейтрофилы, моноциты и натуральные киллеры, так как именно эти популяции в значительной мере охватывают все наиболее весомые механизмы врожденного иммунитета. Нейтрофилы на ранних этапах развития воспаления способны противодействовать инфекции посредством фагоцитоза и высвобождения внеклеточных ловушек (NET). При этом на более поздних этапах они помогают восстанавливать поврежденные ткани, ограничивая выработку NET, фагоцитируя мелкий дебрис [30]. Однако, если воспаление хронизируется или возбуждающий агент сохраняется, нейтрофилы из-за неспособности решить проблему могут дополнительно выделять NET, чтобы усугубить повреждение ткани, таким образом приводя к усилению воспалительного процесса.

В работе Silvestre-Roig C. и Braster Q. (2020) показано, что нейтрофилы ускоряют все стадии атеросклероза, в ходе прогрессирования процессов воспаления, способствуя привлечению моноцитов и активации макрофагов, а также повышению местной цитотоксичности [31]. Авторы утверждают, что нейтрофильные гранулоциты играют немало важную роль в регуляции сердечно-

сосудистого воспаления. Нейтрофилы выполняют репаративные функции, прежде всего, способствуя возобновлению роста эндотелия и ангиогенезу. Так же значимую роль в развитии сердечно-сосудистого воспаления в крупных артериях играют выделяемые нейтрофилами NET. Доказано, что нейтрофилы могут вносить вклад в патологический венозный и артериальный тромбоз или «иммунотромбоз» за счет высвобождения NET, и высвобождение NET становится основным фактором тромбообразования в таких патологических ситуациях, как сепсис и злокачественные новообразования, кроме того, микрочастицы, полученные из клеток крови, в том числе из нейтрофилов, оказываются вовлечены в образование тромба [32].

Coffelt S.B. и Wellenstein M.D. (2016) в своей работе утверждают, что за счет изменения цитокинового микроокружения можно манипулировать нейтрофилами на ранней стадии процесса их дифференцировки, для создания различных фенотипических и функциональных субпопуляций, способных к синтезу активных форм кислорода (ROS), активных форм азота (RNS) или протеаз, а также продукции некоторых факторов, которые опосредуют формирование ангиогенеза, включая продукцию фактора роста эндотелия сосудов A (VEGFA), прокинетицина 2 (PROK2) или MMP9. [33]. Нейтрофильные гранулоциты в ряде случаев могут ослаблять иммунную систему, подавляя активность цитотоксических Т-лимфоцитов синтазой оксида азота (iNOS) или аргиназой 1 (ARG1), высвобождаемыми нейтрофилами при стимуляции TGF β [34]. Помимо этого, они могут подавлять функцию естественных киллеров, блокируя процессы элиминации атипичных и инфицированных клеток организма [35].

1.2.2 Механизмы участия моноцитов и макрофагов в воспалении

Важная роль в развитии иммунного ответа при воспалении отводится клеткам моноцитарного ряда. Основная функция моноцитов заключается в обеспечении защиты от инфекций и травм при патологических состояниях таких как, травматическое повреждение, хронический стресс, инфекции [36]. Большой вклад в углубление представлений о роли и функциях моноцитов внесли работы

Guilliams M., Mildner A. и Yona S. (2018) показавшие, что рекрутирование моноцитов в воспаленные ткани не просто вызывает временное увеличение количества макрофагов и дендритных клеток (ДК), вместо этого эти инфильтрирующие моноциты часто выполняют функции, которые не могут выполняться резидентными макрофагами или ДК, и приобретают очень разные функциональные профили в зависимости от ткани и воспалительного контекста [37]. Утверждалось, что эти моноцитарные фенотипы включают эффекторных моноцитов с воспалительным, антигенпрезентирующим, регуляторным или резидентным профилями макрофагов, хотя эти фенотипы могут перекрываться. Недавно стало известно о новых субпопуляциях моноцитов при воспалении и у здоровых доноров, а именно нейтрофилоподобных моноцитах с профилем $Ly6C^{Hi}/SatM/CD209^{+}$ [37]. Эти клетки демонстрируют повышенные провоспалительные, профиброзные и антиген-презентационные способности по сравнению с классическими моноцитами в устойчивом состоянии.

Wong M.E., Jaworowski A. и Hearps A.C. (2019) приводят данные о вкладе моноцитов и макрофагов в развитие и хронизацию вирусных инфекций у пациентов с тяжелыми воспалительными заболеваниями [38]. За счет массовой миграции моноцитов при развитии воспалительных процессов и их перемещения через ткани, в том числе через лимфатические узлы в роли АПК, моноциты могут инфицироваться и способствовать сохранению и прогрессированию инфекции [38].

1.2.3 Механизмы реализации NK- и NKT-клетками эффекторных функций при воспалении

NK-клетки являются медиаторами защиты организма от вирусов и опухолей и играют немаловажную роль в воспалительном процессе [39]. NK-клетки атакуют внутриклеточные патогены путем клеточного лизиса инфицированных патогенами клеток и инициируют реакции адаптивного иммунитета [40]. Вирус ингибирует экспрессию МНС-I и повышает экспрессию активирующих лигандов для NK-клеток. Как только лиганд в инфицированных вирусом клетках

присоединяется к рецептору NKG2D в NK-клетках, NK-клетки активируются и секретируют INF- γ , GM-CSF и TNF и, наконец, убивают инфицированную вирусом клетку [41]. Большое внимание уделяется натуральным киллерам, в работе Hodgins J.J., Khan S.T. et al. (2019), которые указывают на критическую роль NK-клеток в борьбе с трансформированными и злокачественными клетками, выделяют иммунотерапевтические стратегии в доклинической и клинической разработке, такие как адоптивный перенос NK-клеток [42].

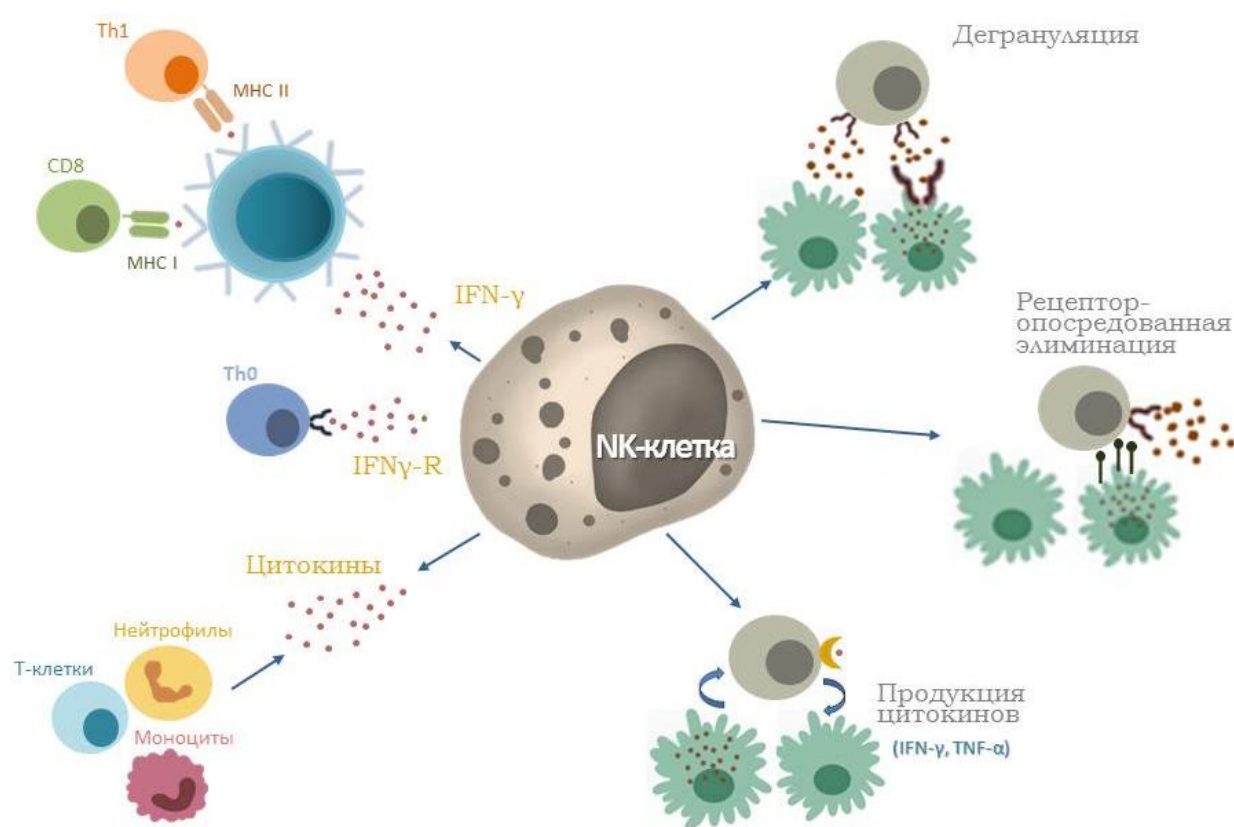


Рисунок 3 – Пути реализации эффекторных функций NK-клеток при воспалении.

Известно, что синтез IFN типа I играет ключевую роль в облегчении эффекторной функции NK-клеток. Эффекторные механизмы NK-клеток при развитии воспалительного процесса формируются по двум основным путям. Во-первых, инфицированные вирусом клетки приводят к продукции интерферона типа I/III, и эти NK-клетки выполняют противовирусную роль посредством дегрануляции, рецептор-опосредованного уничтожения и продукции противовирусного цитокина IFN- γ соответственно [43]. А также, NK-клетки

инициируют ответ адаптивной иммунной системы за счет стимуляции созревания дендритных клеток, дифференцировки незрелых хелперных Т-клеток (Th0) в воспалительный фенотип (Th1) и выработки хемокинов для привлечения других иммунных клеток в месте воспаления [44] (рис. 3).

На границе врожденного и адаптивного иммунитета находятся НК-клетки, несущие TcR-рецептор свойственный Т-лимфоцитам. В настоящее время общепринято, что термин NKT-клетки относится к CD1d-рестриктированным Т-клеткам, некоторые из которых коэкспрессируют сильно смещенный полуинвариантный Т-клеточный рецептор и маркеры НК-клеток [45]. После активации NKT-клетки способны продуцировать большие количества INF- γ , IL-4 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), а также множества других цитокинов и хемокинов, таких как IL-2, IL-13, IL-17, IL-21 и TNF [3]. NKT-клетки распознают гликолипиды, которые представлены CD1d-экспрессирующими антигенпрезентирующими клетками [46]. NKT-клетки могут вовлекаться в целый ряд патологических процессов, таких как аутоиммунные заболевания, диабет, атеросклероз и онкология [47]. Моссчегани Е., Malavolta M. et al. (2004) выделяют НК- и NKT-клетки как лучшую модель для описания врожденного и адаптивного иммунного ответа на фоне возрастных изменений организма, так как, несмотря на постепенное снижение продукция INF- γ и цитотоксичности НК- и NKT-клеток, их врожденные и приобретенные иммунные реакции сохраняются в глубокой старости [48]. В тоже время отмечается, что NKT-клетки, несущие $\gamma\delta$ -TcR, могут проявлять повышенную цитотоксичность и продукцию INF- γ в очень пожилом возрасте. В работе Gerth E. и Mattner J. (2019) приводятся данные подтверждавшие, что, в отличие от обычных Т-лимфоцитов, NKT-клетки, преимущественно находящиеся в печени, подвергаются процессу созревания и дифференцировки тимуса и распознают гликолипидные антигены, представленные молекулой CD1d, подобной МНС-I класса, на антигенпрезентирующих клетках [49]. NKT-клетки экспрессируют полуинвариантный TcR, который объединяет цепь V α 24 с цепью V β 11 [50]. Активность взаимодействий между их TCR, представляющим гликолипидный

антиген, и CD1d регулирует отбор и дифференцировку NKT-клеток. По сравнению с лигированием TcR при взаимодействии с обычными Т-клетками, NKT-клетки TcR доставляет значительно более сильные сигналы, которые запускают уникальную программу развития NKT-клеток. Nishioka Y., Masuda S. et al. (2018) V β 11 указывают, что CD1d-рестриктивные NKT-клетки подразделяются на два подмножества, а именно на тип I и тип II [51]. CD1d-рестриктивные NKT-клетки типа I экспрессируют инвариантные TcR и реагируют с липидными антигенами. Напротив, CD1d-рестриктивные NKT-клетки типа II распознают широкий спектр антигенов, включая гликолипиды, фосфолипиды и гидрофобные пептиды, за счет разнообразия TcR-рецепторов [52]. Puijvelde G.H.M. и Kuiper J. (2017) указывают на критическую роль NKT-клеток в патогенезе атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний путем секреции проатерогенных цитокинов и цитотоксинов, что подтверждается обнаружением CD1d-экспрессирующих антиген-презентирующих клеток в атеросклеротических поражениях [53]. В своей работе Terabe M. и Berzofsky J.A. (2018) отмечают, что в отличие от NKT-клеток I типа, которые, как было установлено, вовлечены в процессы активного клеточного киллинга, NKT-клетки II типа могут подавлять иммунный ответ, и эти две субпопуляции перекрестно регулируют друг друга, образуя иммунорегуляторную ось [54]. NKT-клетки II типа могут стимулировать другие регуляторные клетки, включая регуляторные Т-клетки (Treg) и миелоидные супрессорные клетки (MDSC), и могут индуцировать MDSC секретировать TGF- β , один из наиболее известных иммуносупрессивных цитокинов [55].

Несмотря на то, что общие представления об участии NK- и NKT-клеток в процессах иммунной защиты изучены достаточно хорошо, существует крайне малое количество работ, посвященных исследованию роли данных клеток в патогенезе тяжелых воспалительных заболеваний, таких как РГП и сепсис.

1.3 Механизмы адаптивного иммунитета при воспалении

Хотя адаптивная и врожденная иммунные системы связаны, каждая из них состоит из разных типов клеток с разными задачами [56]. Адаптивный иммунитет эволюционировал, чтобы обеспечить более широкий и более точно настроенный репертуар распознавания как собственных, так и чужеродных антигенов. Он включает в себя строго регулируемое взаимодействие между антигенпрезентирующими клетками и Т - и В-лимфоцитами, которые облегчают патогенспецифические иммунологические эффекторные пути, генерацию иммунологической памяти и регуляцию иммунного гомеостаза организма [57].

1.3.1 Механизмы реализации Т-клеточного ответа при воспалении

При активации реакции адаптивного иммунного ответа, наибольшее значения имеют дендритные клетки (ДК), презентующие Т-лимфоцитам связанные с МНС I и МНС II антигены. В дальнейшем в зависимости от типа антигена ДК экспрессируют либо МНС II и активируют Т-хелперы, несущие корецептор CD4, либо МНС I и соответственно активируют цитотоксические Т-лимфоциты, несущие корецептор CD8 [58]. После распознавания наивными Т-хелперами соответствующего лиганда запускается процесс дифференцировки в зрелые Th1-, Th2-, Th9-, Th17-, Tfh-клетки (рис. 4). Каждый тип лимфоцитов обеспечивает свой комплекс реакций, наиболее полно в настоящее время изучены Th1-, Th2- и в меньшей степени Th9-, Th17- и Tfh-типы иммунного ответа. Известно, что Th1-клетки в основном развиваются после заражения внутриклеточными бактериями и некоторыми вирусами, участвуют в патогенезе органоспецифических аутоиммунных заболеваний, болезни Крона, язвенной болезни, вызванной *Helicobacter pylori*, и т.д [59].

Для Th1-клеток характерна продукция провоспалительных цитокинов IFN γ и TNF, а также IL-2 и IL-15, которые активируют макрофаги и отвечают за клеточно-опосредованный иммунитет и фагоцит-зависимые защитные реакции, а также наличие транскрипционного фактора T-bet и экспрессия на поверхностной мембране CXCR3, CCR5 и рецептора для IL-18 - IL-18R [60].

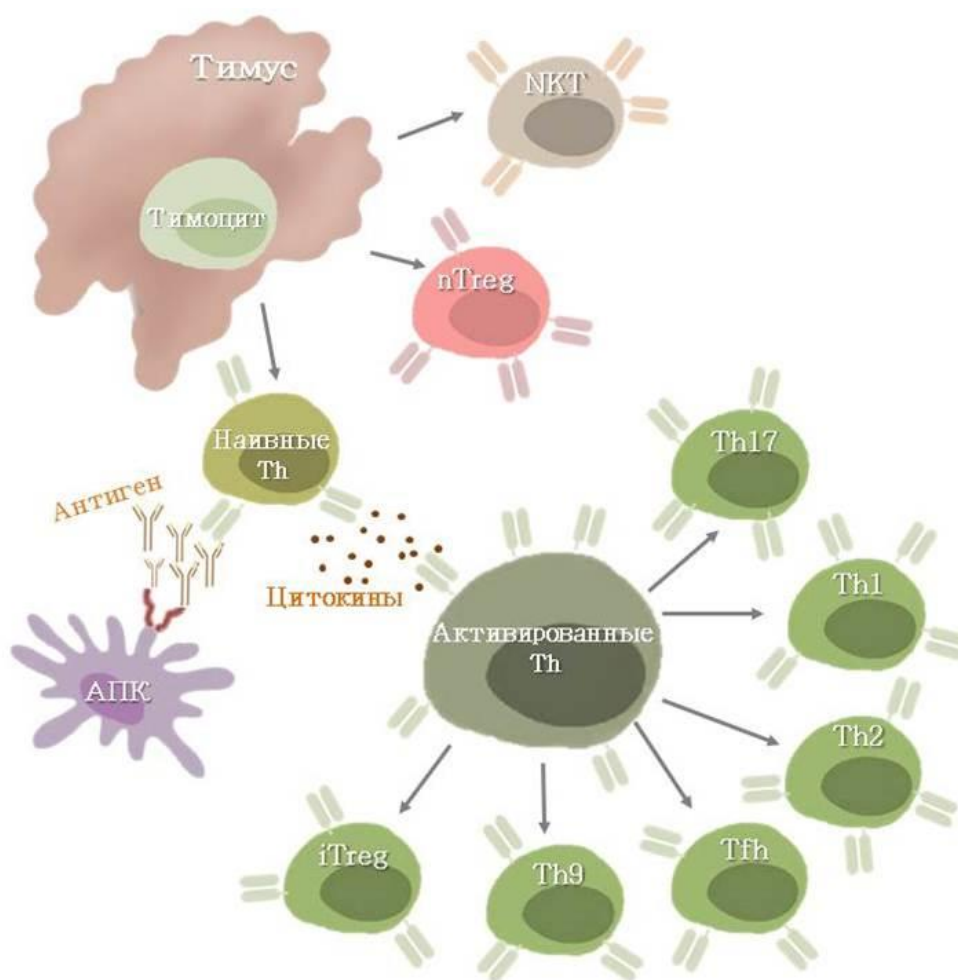


Рисунок 4 – Типы Т-клеточного иммунного ответа после презентации антигена.

Ключевую роль в поляризации Th0-клеток в Th1-клетки играет IL-12, синтезируемый в лимфоидной ткани активированными дендритными клетками, хотя IL-18 и IL-33 в присутствии IL-12 также способствуют появлению CD3⁺CD4⁺клеток со свойствами Th1-клеток [61]. Goldberg M.F. и Roeske E.K. (2018) указывают, что некоторые бактерии, такие как *Salmonella enterica* вызывают стойкие внутриклеточные инфекции, сопровождающиеся формированием плотных гранул, состоящих из iNOS⁺ макрофагов, граничащих с более свободным скоплением моноцитов и макрофагов CXCL9/10⁺ в селезенке, одновременно стимулируя устойчивый Th1-ответ, продуцирующий IFN- γ [62]. Зависимые от Th1-типа иммунного ответа хемокины, MIG, индуцированный IFN- γ , вносят вклад в патогенез воспаления при болезни Грейвса [63]. Таким образом, высокие уровни MIG указывают на Th1-ориентированный иммунный ответ и

связаны с активной фазой заболевания [64]. Th1-клетки, задействованные в тканях, усиливают продукцию IFN- γ и TNF, которые, в свою очередь, стимулируют секрецию MIG этими клетками. Этот механизм порождает петлю обратной связи, вызывая сохранение аутоиммунного процесса. В работе Емануйлова В.И., Емануйловой Н.В. и др. (2021) отмечается, что при аутоиммунных заболеваниях иногда фиксируется увеличение продукции цитокинов не только Th1, но и Th2 типа [65]. Дисбаланс уровней цитокинов вносит значительный вклад в иммунопатогенез и способствует усугублению тяжести аутоиммунных заболеваний, что характеризует участие Th1-, Th2- и Th17-клеток в развитии аутоиммунного воспаления [66].

Th2-клетки являются центральными участниками иммунитета к гельминтам и участвуют в опосредовании воспалительной патологии, связанной с аллергией. Дифференцировка Th2-клеток зависит от факторов транскрипции, таких как GATA3 и STAT6, которые запускают Th2-клетки для секреции IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 и IL-13, отвечающие за регуляцию клеточного и гуморального иммунного ответа [67]. В их цитоплазме и ядре обнаруживается транскрипционный фактор Gata3, а на своей мембране они несут CD294, CCR3, CCR4, CCR8 и некоторые дополнительные антигены [68]. Отмечается что, при отсутствии IL-12 в окружающей ткани, но наличии IL-4 и IL-33, Th0-клетки дифференцируются в Th2-клетки. Несмотря на то, что Th2-тип иммунного реагирования имеет решающее значение для защиты хозяина от крупных паразитов, с другой стороны, нарушение его регуляции может вызывать иммунопатологические состояния, включая астму, атопический дерматит, ринит и анафилаксию [69]. Отмечается, что дендритные клетки (ДК), являются основными АПК, инициирующими Th2-тип иммунного ответа и, хотя базофилы, эозинофилы, тучные клетки и врожденные лимфоидные клетки также способны вызывать активацию Th2-клеток, однако именно нарушения в функционировании ДК могут являться причиной ряда хронических воспалительных заболеваний [70, 71]. Ellenbogen Y. и Jiménez-Saiz R. (2018) отмечают, что нарушения гомеостаза на участках слизистого барьера, вызванные внешними или внутренними разрушителями,

которые могут активировать или снизить порог активации иммунной системы, являются основным требованием для аллергической сенсибилизации, следовательно, сигналы, производимые в ткани в этих условиях, снабжают дендритные клетки программой, которая формирует адаптивный ответ Th2-типа [72]. В работе Mitson-Salazar A., Prussin C. (2017) говорится об существовании абсолютной потребности Th2-клеток в патогенезе эозинофильного воспаления 2-го типа, вызванного аллергенами [73]. Отмечается существование небольшой субпопуляции IL-5⁺Th2-клеток, которая обладает усиленной эффекторной функцией. Данная субпопуляция IL-5⁺Th2-клеток названа патогенными эффекторными Th2-клетками, поскольку она проявляет большую эффекторную функцию и ассоциацию с процессами воспаления, чем обычные клетки Th2-клетки [74]. Патогенные эффекторные Th2-клетки имеют другой профиль экспрессии, по-разному экспрессируют факторы транскрипции и предпочитают использовать специфические сигнальные пути. Rahimi R.A., Nepal K. et al. (2020) отмечают вклад Th2-клеток в развитие аллергической астмы [75]. Замечено, что циркулирующие Th2-клетки памяти после попадания в паренхиму легких инициируют периваскулярное воспаление, способствуя рекрутированию эозинофилов и CD4⁺T-клеток, в тоже время, резидентные в ткани Th2-клетки памяти пролиферируют около дыхательных путей и индуцируют метаплазию слизи, гиперчувствительность дыхательных путей и активацию эозинофилов в дыхательных путях.

В работе Mikami N., Kawakami R. et al. (2020) указывается, что FoxP3⁺CD4⁺регуляторные T-клетки (Treg), необходимые для поддержания иммунологической толерантности и гомеостаза, могут играть важную роль в лечении аутоиммунных и других иммунологических расстройств [76]. Shi H., Chi H. (2019) определяют Treg на основании экспрессии фактора транскрипции Foxp3, который обеспечивает развитие клонов и иммуносупрессивную функцию этих клеток [77]. Так же отмечается, что в различных условиях, наблюдаемых в раковых и нелимфоидных тканях, часть Treg реагирует на специфические сигналы окружающей среды и демонстрирует высокую изменчивость,

пластичность и тканеспецифическую гетерогенность. Существует несколько механизмов подавления иммунитета Treg-клетками: ингибирование костимулирующих сигналов с помощью CD80 и CD86, экспрессируемых дендритными клетками через цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген-4, потребление IL-2 высокоаффинными рецепторами IL-2 с высоким уровнем CD25 (α -цепи рецептора IL-2), секреция ингибирующих цитокинов, метаболическая модуляция триптофана и аденозина и прямое уничтожение эффекторных Т-клеток [78]. Стабильная функция естественных Treg-клеток требует не только экспрессии Foxp3 и других сигнатурных генов Treg, таких как CD25 и CTLA-4, но и генерации Treg-специфических эпигенетических изменений, особенно Treg-специфического гипометилирования ДНК в этих локусах генов [79]. Mikami N. и Kawakami R. (2020) утверждают, что специфические для Treg транскрипционные и эпигенетические изменения могут быть индуцированы в антиген-специфичных обычных Т-клетках *in vivo* и *in vitro*, превращая их в функционально стабильные Treg-клетки [80]. На сегодняшний день описаны дефекты Treg, способные приводить к развитию аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка или ревматоидный артрит, из-за их критической роли в качестве регуляторов периферической иммунной толерантности и гомеостаза [81]. Кроме того, ряд клинических испытаний показал, что некоторые подгруппы Treg пластичны и могут при определенных обстоятельствах усиливать аутоиммунитет и воспалительные процессы. Herrnsdorf G.R. и Steinmetz O.M. (2020) отмечают, что в последнее время стало очевидно существование разные подтипов Treg, среди которых, клоноспецифические Treg1 и Treg17, которые специализируются на подавлении ответов эффекторных Th1- или Th17-клеток [82]. Отмечается, что программирование специализированных Treg и соответствующих Т-хелперных эффекторных клеток зависит от одних и тех же специфических клонов основных факторов транскрипции Tbet (Th1/Treg1) и STAT3 (Th17/Treg17). В работе Krebs C.F. и Steinmetz O.M. (2016) сообщается о новом недавно идентифицированном подмножестве Treg, экспрессирующем Foxp3 вместе с характерным для Th17 транскрипционным фактором ROR γ t [83]. На данный момент Foxp3⁺ROR γ t⁺Tregs

проявляют свойства высоко иммуносупрессивных клеток, обладающих также явным провоспалительным потенциалом благодаря секреции IL-17.

1.3.2 Механизмы реализации В-клеточного ответа при воспалении

После этапа реаранжировки и созревания, сопряжённого с позитивной и негативной селекцией, из незрелых В-клеток, мигрировавших в В-зависимые зоны селезенки и костного мозга, через стадию транзиторных В-клеток, либо из мигрировавших в фолликулы зрелых В-клеток из костного мозга, формируется популяция фолликулярных зрелых В-лимфоцитов (В2) [27]. В2-клетки в дальнейшем могут мигрировать в В-зависимые зоны других лимфоидных органов, таких как лимфатические узлы, лимфоидные образования слизистых и т.д., и реализовывать иммунный ответ при участии Т-хелперов на тимусзависимые антигены. Так же из незрелых В-лимфоцитов может формироваться малая субпопуляция В1-клеток, отвечающая за местный ответ в барьерных тканях, и В-лимфоциты маргинальной зоны селезенки, обе эти популяции реализуют иммунный ответ преимущественно на тимуснезависимые антигены.

Различные пути передачи сигналов BCR, интегрированные с передачей сигналов BAFFR и Notch2, а также сигналы, которые опосредуют их миграцию и удержание, определяют дифференцировку В-клеток либо в зрелые фолликулярные В-клетки (FOB), либо в В-клетки маргинальной зоны (MZB) [84]. Тоническая или даже сильная передача сигналов BCR, сигнал выживания BAFF и передача сигналов NF-κB необходимы для того, чтобы переходные В-клетки рециркулировали через кровь и лимфатические сосуды во вторичные лимфоидные органы, а также превратились в FOB, расположенные в первичных фолликулах [85]. FOB, как правило, имеет большее разнообразие генов IgV(D)J, чем MZB. Отмечается, что основная функция FOB заключается в обеспечении адаптивной продукции антител, для поддержания адаптивного иммунного ответа [86]. FOB взаимодействуют с Т-хелперами с образованием зародышевых центров, проходят рекомбинацию с переключением классов (CSR) и соматическую

гипермутацию (SHM) и в конечном итоге продуцируют высокоаффинные антитела для устранения патогенов или дают начало В-клеткам памяти, которые функционируют, чтобы предотвратить повторное заражение теми же возбудителями [87]. Слабая передача сигналов BCR, сигналы NF-κB и передача сигналов Notch2 важны для развития переходных В-клеток в MZB, которые располагаются во внешней белой пульпе селезенки между маргинальным синусом и красной пульпой [88]. В селезенке лиганд Notch2 delta-like 1 (DL1), который присутствует в высоких концентрациях в венах, но не обнаруживается в зародышевых центрах, является ключевым активатором, отвечающим за развитие MZB [89]. Кроме того, миграция и удержание MZB в фолликулах опосредуются рецептором сфингозин-1-фосфата (S1PR1) и хемокиновым лигандом CXCL13 [90]. Хотя MZB, в первую очередь экспрессируют немутантные гены IgV(D)J, ряд внешних воздействий, реализующихся через контакт с DC, макрофагами и iNKT-клетками, могут запускать CSR в MZB [91]. В отличие от FOB, MZB конститутивно экспрессируют повышенные уровни MHC класса II и молекул CD80 и CD86 и проявляют сильную антигенпрезентирующую активность, которая требуется для активации Tfh-клеток [92]. Более того, MZB также могут быстро реагировать на переносимые с кровью антигены и дифференцироваться в короткоживущие плазмобласты, которые продуцируют большие количества IgM [93]. Следовательно, MZB рассматривается как привратник, выполняющий наблюдение между условными границами врожденного и адаптивного иммунитета.

В1-клетки способны продуцировать естественные антитела, в основном IgM, IgA и IgG3. Фактически, В1-клетки продуцируют около 80% природного IgM, который образует пентамер и имеет низкое сродство, но высокую полиреактивность и способность активации комплемента. Ряд исследований начала XXI века указывает, что IgM, как первый и решающий барьер, играет важную роль в защите от вторжения патогенов до установления адаптивных ответов [94]. Smith F.L. и Baumgarth N. (2019) показали, что поли-реактивный IgA в избытке присутствует в слизистой оболочке кишечника, где он поддерживает

гомеостатическую среду между хозяином и микробиотой [95]. А в исследовании Panda S., Zhang J. et al. (2013) отмечалась роль IgG3, в защите человека от инфекции *P. Aeruginosa* [96]. Однако В1-клетки могут выполнять противоположную функцию, в работе Martin R.K. и Damle S.R. (2018) указывается, что во время заражения нематодным паразитом, IgE, полученный из В1-клеток, подавлял дегрануляцию тучных клеток, тем самым препятствуя изгнанию паразитов, что частично является результатом сокращения гладких мышц, вызванного медиаторами, содержащимися в гранулах тучных клеток [97]. В то же время в работе Novaes E. Brito R.R. (2019) отмечается, что в дополнение к их способности секретировать природные антитела, клетки В1 способны секретировать цитокины, а также поглощать и представлять антигены Т-клеткам во время инвазии патогенов [98]. Gonzaga W.F. et al. (2015) указывает, что продуцируемый В1-клетками индуцированный IL-10 способствует контролю уровня воспаления, а IL-3 и GM-CSF, могут способствовать развитию воспалительного ответа [99].

Seifert M. и Küppers R. (2016) утверждают, что приблизительно 40% В-клеток человека у взрослых представляют собой В-клетки памяти, подразделяющиеся на несколько подмножеств, помимо IgG⁺ и IgA⁺В-клеток памяти, приблизительно 50% В-клеток периферической крови экспрессируют IgM с или без IgD [100]. Пул В-клеток памяти человека характеризуется клональным расширением, часто демонстрируя обширное внутриклональное разнообразие генов IgV [101]. Более того, клоны В-клеток памяти часто состоят из членов различных подмножеств, показывая, что из одного клона В-клеток памяти генерируется множество В-клеток памяти с различными функциями [102].

В исследовании Khoder A., Sarvaria A. et al. (2014) упоминается подмножество регуляторных В-клеток (Breg), которые негативно регулируют Т-клеточные иммунные ответы посредством секреции регуляторных цитокинов, таких как IL-10, и прямого межклеточного контакта [103]. Отмечается что Breg могут быть связаны с аутоиммунными реакциями, воспалением и развитием онкозаболеваний. Alhabbab R.Y. и Nova-Lamperti E. (2019) указывают, что Breg с

фенотипом CD19⁺IgM⁺CD27⁺ и CD19⁺CD24^{hi}CD38^{hi} подавляют пролиферацию и продукцию INF- γ стимулированными CD3/CD28 аутологичными CD4⁺T-клетками дозозависимым образом, полагаясь на секрецию IL-10, а также на межклеточный контакт, опосредованный CD80 и CD86 [104].

Заключение

Несмотря на то, что за прошедшие годы накопилось большое количество исследований, связанных с РГП и сепсисом, окончательная точка в вопросе понимания их иммунопатогенеза до сих пор не поставлена. В основном это связано с тем, что, несмотря на постоянное совершенствование методов исследования, диагностики и лечения, патологические состояния, осложняющиеся сепсисом, системным воспалением, полиорганной недостаточностью и другими подобными тяжелыми состояниями, остаются нерешенной проблемой современной медицины. Поэтому вопросы, связанные с изучением реакций иммунной системы при воспалительных заболеваниях, такие, как РГП, не утратили своей актуальности и сегодня. Согласно исследованной литературе, изменения в соотношении клеток врожденной и адаптивной иммунной системы, их субпопуляционного состава и активационных маркеров могут пролить свет на активность как защитных реакций организма, а также послужить в роли прогностических критериев для оценки эффективности проводимого лечения. Для того чтобы в полной мере установить природу взаимосвязи тяжёлого воспаления с изменениями фенотипического профиля клеток иммунной системы, было решено исследовать пациентов с распространенным гнойным перитонитом различной степени тяжести.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объект исследования

На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра Краевой клинической больницы № 1 обследовано 35 пациента с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 25 – 65 лет (средний возраст пациентов составил $49,6 \pm 9,4$ лет).

Критерии для включения больных в исследование:

1. Больные обоих полов в возрасте от 25 до 65 лет.
2. Классификационная категория: распространённый гнойный перитонит.
3. Происхождение перитонита: осложнившееся течение острых воспалительных заболеваний и травмы органов брюшной полости (внебольничный перитонит) и течение послеоперационного периода у больных, оперированных на органах брюшной полости (госпитальный перитонит).
4. Исходная степень тяжести перитонита на основании Мангеймского индекса перитонита (МИП) – средней тяжести и тяжёлый.
5. Отсутствие летального исхода у больного в течение первых 3 суток после первичной операции по поводу РГП.

Из исследования исключали больных РГП, развившемся вследствие:

1. острого деструктивного панкреатита (панкреонекроз);
2. острого нарушения мезентериального кровообращения различного генеза;
3. онкологического заболевания органов брюшной полости.

Таким образом, из исследования были исключены пациенты с заболеваниями, тяжесть течения которых обусловлена не столько развившимся РГП, сколько изначально существующими тяжёлыми изменениями, связанными с первичным заболеванием (табл. 1).

Окончательная верификация диагноза осуществлялась интраоперационно лечащим врачом гнойно-септического центра Краевой клинической больницы №1. Оценку степени тяжести состояния больных определяли по шкале SAPS [105].

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

Показатель	Благоприятный исход	Неблагоприятный исход	р
Пол М/Ж	12/9	10/4	
Количество санаций на момент исследования (среднее)	2,06	2,23	
Сопутствующая патология, %	87	88	
Продолжительность заболевания до госпитализации	до 24 ч.	до 24 ч.	
Причина перитонита, внешняя/внутренняя	17/4	2/12	
Продолжительность пребывания в РО (среднее сут.)	20,15	16,83	
Продолжительность ИВЛ (среднее, часы)	193,48	271,42	
Продолжительность пребывания в ХО (среднее сут.)	21,39	11,23	<0,001
Продолжительность лечения в ЦРБ (среднее сут.)	3,90	7,52	0,043
Продолжительность пребывания в РО-ЦРБ (среднее сут.)	1,60	4,16	
Продолжительность ИВЛ-ЦРБ (среднее часы)	15,88	91,54	
Продолжительность пребыв. в ХО-ЦРБ (среднее сут.)	2,36	1,58	
Количество операций	5,33	6,35	
Шкала SAPS II, индекс	7,66	14,41	0,001
Шкала SOFA, индекс	4,06	9,00	<0,001
Шкала SIRS, индекс	2,24	2,88	0,001
Шкала MIP, индекс	8,42	12,11	
Шкала ИБП, индекс	14,90	19,94	0,004
Наличие сепсиса, %	69,7	100	<0,001
Степень тяжести	1,96	3,11	<0,001

Наличие синдрома системной воспалительной реакции оценивали по критериям ACCP/SCCM [106]. Тяжесть и прогноз РГП оценивали с помощью Мангеймского индекса перитонита и индекса брюшной полости [107]. Наличие и степень выраженности полиорганной недостаточности при поступлении и в динамике послеоперационного периода определяли по шкале SOFA [108].

В качестве контроля обследовано 38 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона, 25 – 65 лет (средний возраст пациентов составил $45,3 \pm 6$ лет). Забор крови контрольной группы осуществлялся в Красноярском краевом центре крови №1 (табл. 2).

Таблица 2. Характеристика объема проведенных работ

Методы исследования	Здоровые	Больные	Всего
Клинико-anamнестические обследования	0	35	35
Иммунофенотипирование лейкоцитов крови методом проточной цитометрии с использованием прямой пяти цветной иммунофлуоресценции	38	35	73
Количественное определение иммуноглобулинов методом иммуноферментного анализа	38	35	73
Количественное определение цитокинов методом иммуноферментного анализа	38	35	73

Пациенты с РГП участвующие в исследовании, наблюдались в течении 4-х недель. Образцы биоматериала забирались в дооперационном периоде, а также на 7-е, 14-е и 21-е сутки после операции. На основании исхода заболевания, обследуемые были разделены на группы:

- 1 группа - больные с благоприятным исходом РГП (n=21);
- 2 группа - больные с неблагоприятным исходом РГП (n=14);
- 3 группа – контроль (n=38).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические

принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2008 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266 [109, 110].

2.2 Методы исследования

Забор крови для иммунологического исследования, при РГП, производили перед операцией (1 день), а также на 7, 14 и 24 сутки послеоперационного периода, утром натощак с 8 до 9 часов. Забор крови контрольной группы осуществлялся единожды. Венозную кровь из локтевой вены забирали в вакутейнеры с гепарином объемом 6 мл. Затем цельную кровь в объеме 100 мкл использовали для иммунофенотипирования лейкоцитов.

2.2.1 Иммунофенотипирование лейкоцитов методом проточной цитометрии

Иммунофенотипирование лейкоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой пяти цветной иммунофлуоресценции цельной периферической крови. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике. В кювету для проточного цитометра отбирали 100 мкл цельной крови с К₂ЭДТА [111]. После в кюветы добавляли моноклональные антитела, (Beckman Coulter, США) несущие флюоресцентные метки, FITC (fluoresceinisothiocyanate), PE (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) PC7 (phycoerythrin-cyanin 7), FITC и PE по 20 мкл, ECD, PC5 и PC7 по 10 мкл, что соответствует рекомендациям производителя (табл. 3) [112].

Окрашенную кровь тщательно перемешивали при помощи прибора Multi-Vortex V-32 и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 минут в месте, защищенном от проникновения прямых солнечных лучей [113]. По завершении первой инкубации производили лизис эритроцитов по безотмывочной технологии, в кювету добавляли 1 мл реагента VerasLyse (Beckman Coulter, США), тщательно перемешивали при помощи прибора Multi-Vortex V-32 и

повторно инкубировали при комнатной температуре в течении 20 минут в месте, защищенном от проникновения прямых солнечных лучей [114]. Анализ

Таблица 3. Клон белка, изотип, флуорохром и производитель моноклональных антител, используемых в исследовании

Антитело	Клон	Изотип	Флуорохром	Производство
CD45	J33	IgG1 Mouse	FITC	Beckman Coulter
CD4	13B8.2	IgG1 Mouse	PE	Beckman Coulter
CD8	SFCI21Thy2D3	IgG1 Mouse	ECD	Beckman Coulter
CD3	UCHT1	IgG1 Mouse	PC5	Beckman Coulter
CD25	B1.49.9	IgG2a Mouse	PC7	Beckman Coulter
CD62L	DREG56	IgG1 Mouse	FITC	Beckman Coulter
CD127	R34.34	IgG1 Mouse	PE	Beckman Coulter
CD3	UCHT1	IgG1 Mouse	ECD	Beckman Coulter
CD4	13B8.2	IgG1 Mouse	PC5	Beckman Coulter
CD19	89B	IgG1 Mouse	FITC	Beckman Coulter
CD5	BL1a	IgG2a Mouse	PE	Beckman Coulter
CD23	9P25	IgG1 Mouse	ECD	Beckman Coulter
CD27	1A4CD27	IgG1 Mouse	PC5	Beckman Coulter
CD45	J33	IgG1 Mouse	PC7	Beckman Coulter
CD16	3G8	IgG1 Mouse	FITC	Beckman Coulter
CD56	N901	IgG1 Mouse	PE	Beckman Coulter
CD11b	Bear1	IgG1 Mouse	PC7	Beckman Coulter
CD14	RMO52	IgG2a Mouse	ECD	Beckman Coulter
CD57	NC1	IgM Mouse	FITC	Beckman Coulter
CD28	CD28.2	IgG1 Mouse	PC5	Beckman Coulter
HLA-DR	Immu-357	IgG1 Mouse	PE	Beckman Coulter
CD16	3G8	IgG1 Mouse	PC5	Beckman Coulter
CD16	3G8	IgG1 Mouse	PC7	Beckman Coulter

окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC-500 (BeckmanCoulter, USA).

Для разделения лейкоцитов использовали протокол фенотипирования на основе панели моноклональных антител, позволяющей выделить из периферической крови нейтрофильные гранулоциты, моноциты, NK-, NKT-, Т- и В-клетки, а так внутренние субпопуляции такие как регуляторные Т-клетки, В1- и В2-лимфоциты (табл. 4).

Таблица 4. Пятицветные комбинации конъюгированных с флуорохромом моноклональных антител, использованных в исследуемых панелях

№	FITC	PE	ECD	PC5	PC7
1	CD45	CD4	CD8	CD3	CD25
2	CD62L	CD127	CD3	CD4	CD25
3	CD19	CD5	CD23	CD27	CD45
4	CD16	CD56	CD8	CD3	CD11b
5	CD57	CD56	CD3	CD28	CD16
6	CD57	HLA-DR	CD14	CD16	CD45

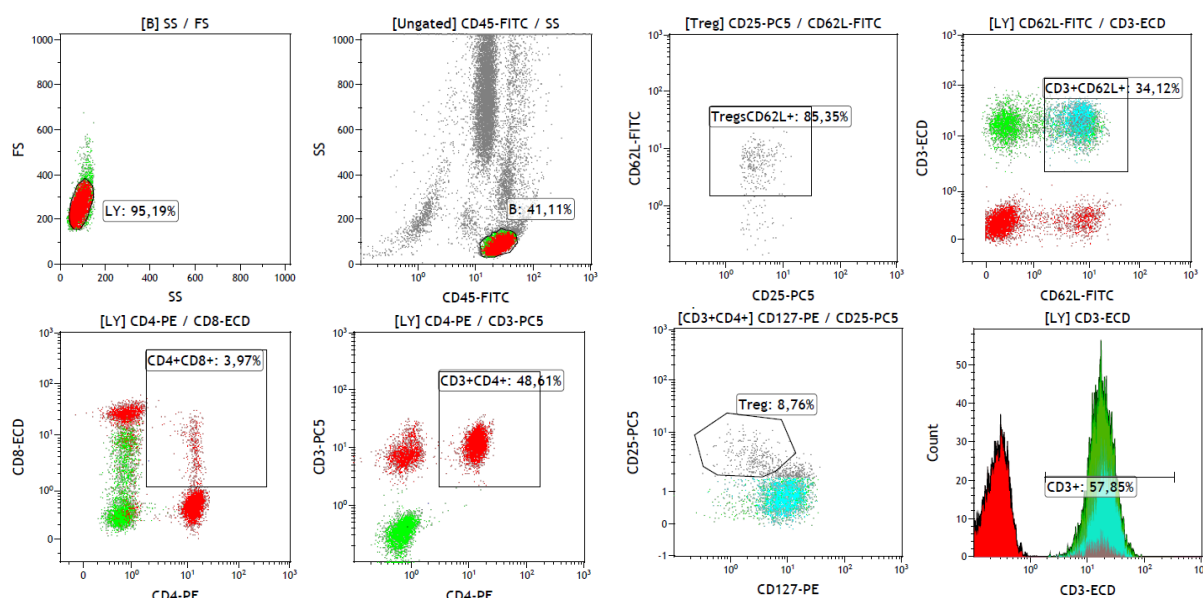


Рисунок 5 – Тактика гейтирования, применяемая для анализа основных популяций Т-лимфоцитов в периферической крови.

В основе протокола гейтирования лежит выделение фракции лейкоцитов за счет экспрессии панлейкоцитарного маркера CD45 (рис. 5). Используя специфичность взаимодействия моноклональных антител с отдельными популяциями лейкоцитов, производили выделение основных клеток врожденной и адаптивной иммунной системы. После выделения основных популяций лимфоцитов производился анализ B1, B2- и NK-, NKT-клеток, а также поверхностных активационных белков отвечающих за реализацию процессов созревания, миграции и костимуляции (рис. 6).

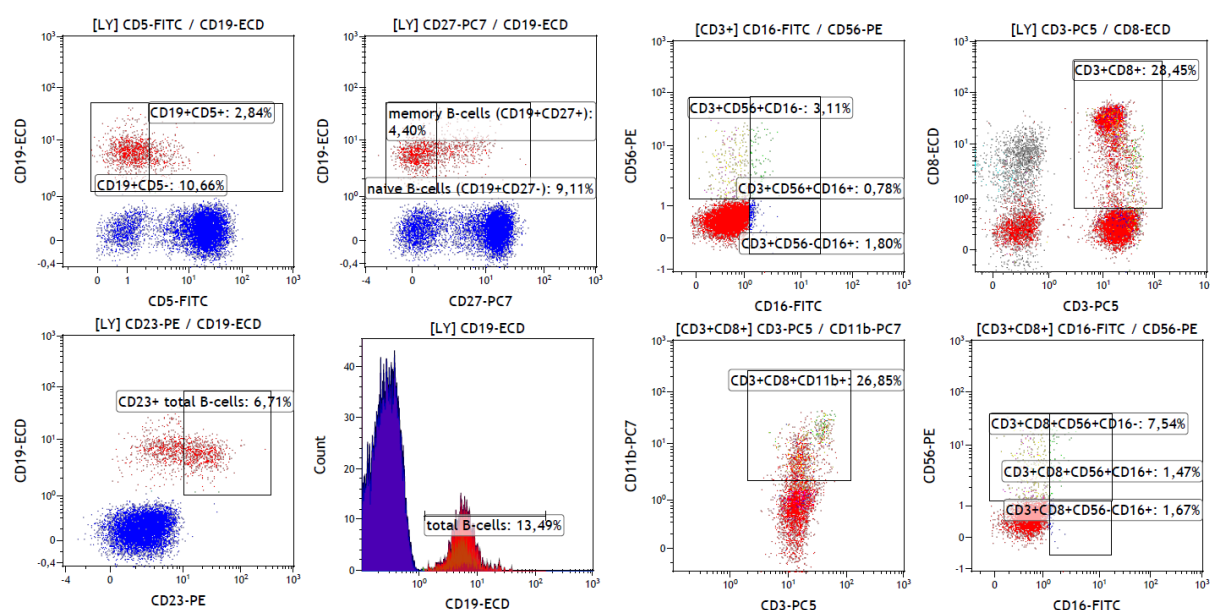


Рисунок 6 – Тактика гейтирования, применяемая для анализа В-лимфоцитов и NK-клеток в периферической крови.

Для обеспечения высокой достоверности анализа, в каждой пробе анализировали не менее 50000 лимфоцитов [115].

2.2.2 Оценка фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов методом проточной цитометрии

Оценку фагоцитарной активности проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой четырех цветной иммунофлуоресценции цельной периферической крови. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике. В кювету для проточного цитометра отбирали 100 мкл цельной крови с Гепарином.

После в кюветы добавляли 10 мкл меченного FITC (fluorescein isothiocyanate) бактериального белка А и помещали на 30 минут в термостат при 37 °С [115]. После завершения инкубации добавляли готовые моноклональные антитела (Beckman Coulter, США) несущие флюоресцентные метки, PE (phycoerythrin), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) (табл. 5).

Таблица 5. Четырех цветная панель конъюгированных с флуорохромом моноклональных антител, для оценки фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов

№	FITC	PE	ECD	PC5	PC7
1	А пер.		CD14	CD16	CD45

Окрашенную кровь перемешивали и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течении 20 минут. По завершении инкубации производили лизис эритроцитов с использованием VerasLyse (Beckman Coulter, США) по безотмывочной технологии [115]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC-500 (BeckmanCoulter, USA).

В основе протокола гейтирования лежит выделение фракции гранулоцитов на основании экспрессии CD14 (рис. 7). Используя двух-параметровую гистограмму CD45/CD16 производили выделения популяций зрелых ($CD45^{+}CD16^{+}$) и незрелых нейтрофилов ($CD45^{low}CD16^{low}$). На основании экспрессии FITC-меченного бактериального белка оценивали фагоцитарный индекс и фагоцитарное число нейтрофилов и моноцитов [27].

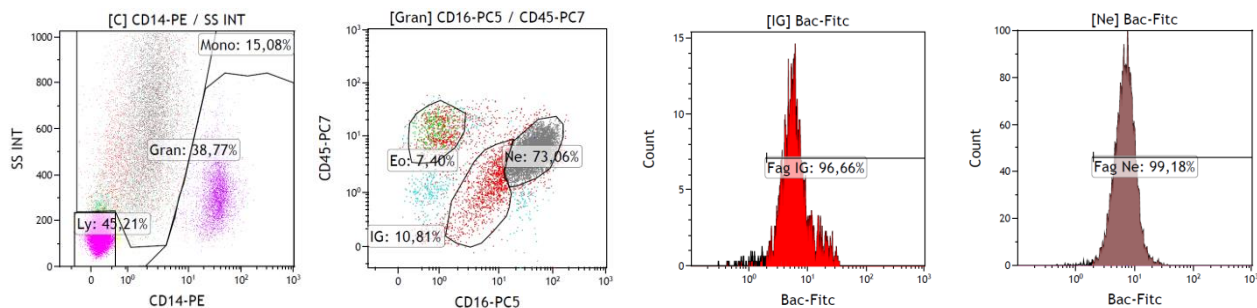


Рисунок 7 – Тактика гейтирования, применяемая для анализа фагоцитарной активности.

Для обеспечения высокой достоверности анализа, в каждой пробе анализировали не менее 50000 гранулоцитов.

2.2.3 Количественное определение цитокинов и иммуноглобулинов в сыворотке крови иммуноферментным методом

Концентрацию цитокинов IL2, IL4, IL6, IL8, IL10, INF- β , TNF- α и иммуноглобулинов класса IgA, IgM и IgG в сыворотке определяли иммуноферментным методом, с применением готовых наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск.

Используемый твердофазный метод иммуноферментного анализа основан на принципе «сэндвича». Анализ проводится в несколько этапов.

Во-первых, используют калибровочные пробы с известной концентрацией исследуемого вещества, для построения калибровочной кривой. Исследуемые образцы инкубируются в лунках планшета с иммобилизованными моноклональными антителами (МКАТ) в течение заданного производителем периода. Затем следует многократная отмывка планшета от не связавшихся компонентов. Для отмывки применялся полуавтоматический вошер производства StatWash 3100 (США). В дальнейшем, связавшиеся в лунках вещества обрабатывают конъюгатом МКАТ с пероксидазой. Избыток конъюгата также отмывается, образовавшиеся иммунные комплексы выявляют ферментативной реакцией пероксидазы с перекисью водорода в присутствии хромогена орто-фенилендиамина. Интенсивность окраски хромогена пропорциональна концентрации вещества в анализируемом образце. После остановки пероксидазной реакции стоп-реагентом (кислотой), результаты учитываются фотометрически на приборе StatFax 303+ (США). Концентрацию исследуемого вещества в пробах определяют по калибровочному графику, автоматически генерируемому прибором в специальной программе.

2.2.4 Статистические методы исследования.

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных, на основе которой, с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10 и GraphPad Prism 8, производился статистический анализ. Выборку описывали с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями контрольной и опытных групп оценивали по непараметрическому критерию Mann-Whitney. Достоверность различий в динамике лечения определяли по критерию Wilcoxon. Наличие тенденции изменения данных в динамике лечения оценивали при помощи критерия Friedman ANOVA. Для оценки чувствительности и специфичности модели прогноза исхода РГП использовали ROC-анализ. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент корреляции. Достоверность различий коэффициентов корреляции оценивали с помощью критерия Spearman. Статистически достоверными считали значения $p < 0,05$. Результаты статистической обработки сведены в таблицах и использованы в рисунках.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Фенотип и фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов у больных РГП в зависимости от исхода послеоперационного периода

На фоне развития системной воспалительной реакции у больных с РГП уже в дооперационном периоде выявляется значительное увеличение (в 2-2,5 раза) абсолютного количества нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови независимо от исхода заболевания (табл. 6). В послеоперационном периоде наблюдается тенденция к снижению абсолютного уровня нейтрофилов, но на 21-е сутки обследования выявляется повышенное количество клеток относительно контрольных значений. В дооперационном периоде у больных РГП независимо от исхода заболевания в 2-3 раза относительно контрольного уровня повышается абсолютное содержание CD62L⁺-нейтрофилов, в послеоперационном периоде наблюдается тенденция к снижению количества данных клеток, но при сохранении высоких значений на 21-е сутки лечения.

Относительное и абсолютное количество CD23⁺-нейтрофилов в крови у больных РГП независимо от исхода заболевания в дооперационном периоде соответствует контрольным значениям (табл. 7). Однако на 14-е сутки послеоперационного периода наблюдается снижение содержания данных клеток относительно дооперационного периода, которое сохраняется и на 21-е сутки обследования. При этом в группе с неблагоприятным исходом РГП снижение содержания CD23⁺-нейтрофилов более выражено в сравнении с показателями группы благоприятного исхода.

Уже в дооперационном периоде у больных РГП по сравнению с контрольным диапазоном снижается относительное количество HLA-DR⁺-нейтрофилов (табл. 8). Пониженное относительное и абсолютное содержание клеток, экспрессирующих HLA-DR-маркер, сохраняется на 7-е и 14-е сутки послеоперационного периода, после чего повышается до контрольного уровня. Величина MFI HLA-DR на нейтрофилах на всем протяжении обследования соответствовала контрольному диапазону. В группе с благоприятным течением

Таблица 6. Количество CD62⁺ нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	1	3,08 (2,55–3,77)	7,77 (5,60–9,90) p ₁ <0,001	5,24 (3,79–10,73) p ₁ <0,001	4,48 (3,16–5,90) p ₁ =0,009	4,01 (2,55–5,99) p ₂ =0,043
	2		6,25 (3,71–9,19) p ₁ <0,001	5,62 (4,15–8,50) p ₁ <0,001	5,25 (3,96–10,08) p ₁ =0,003	6,12 (5,61–6,62) p ₁ =0,022 p ₂ =0,043
CD62L ⁺ , %	1	5,2 (2,5–7,5)	6,2 (3,9 – 8,7)	5,6 (3,8 – 6,8)	6,6 (3,8 – 8,1)	8,8 (6,7 – 10,4)
	2		6,2 (5,2 – 7,7)	5,5 (3,9 – 7,8)	5,6 (2,8 – 8,3)	4,8 (4,4 – 5,3)
CD62L ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,17 (0,06–0,23)	0,56 (0,29 – 0,78) p ₁ <0,001	0,37 (0,27 – 0,54) p ₁ <0,001	0,24 (0,19 – 0,38) p ₁ =0,014 p ₂ =0,034	0,29 (0,25 – 0,39) p ₁ =0,015 p ₂ =0,041
	2		0,36 (0,26 – 0,57) p ₁ <0,001	0,29 (0,27 – 0,34) p ₁ <0,001	0,23 (0,17 – 0,27) p ₁ =0,014 p ₂ =0,034	0,30 (0,27 – 0,33) p ₁ =0,015 p ₂ =0,041

Примечание: Гр. – группа: 1 – больные с благоприятным исходом РГП, 2 – больные с неблагоприятным исходом РГП; p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – -//- больных, находящихся в дооперационном периоде; p₃ – -//- на 7 сутки после операции; p₄ – -//- на 14 сутки после операции. * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001 – статистически значимые различия с соответствующими показателями больных с благоприятным исходом РГП.

Таблица 7. Содержание CD23⁺ нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD23 ⁺ , %	1	6,3 (4,9–7,7)	5,7 (2,7 – 7,1)	6,1 (1,2 – 10,1)	5,4 (5,2 – 5,6) p ₂ =0,043 p ₃ =0,043	5,3 (5,1 – 5,8) p ₂ =0,048
	2		5,7 (2,2 – 8,0)	6,5 (3,7 – 7,9)	1,2** (1,1 – 1,3) p ₁ =0,023 p ₂ =0,043 p ₃ =0,043	1,1** (0,7 – 1,5) p ₂ =0,037 p ₃ =0,041
CD23 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,18 (0,13–0,22)	0,37 (0,15 – 0,54)	0,31 (0,16 – 0,62)	0,24 (0,17 – 0,27) p ₂ =0,028 p ₃ =0,043	0,18 (0,12 – 0,28) p ₂ =0,043 p ₃ =0,044
	2		0,33 (0,08 – 0,92)	0,29 (0,15 – 0,95)	0,08** (0,05 – 0,11) p ₂ =0,028 p ₃ =0,043	0,05** (0,01 – 0,12) p ₂ =0,043 p ₃ =0,044

Примечание: то же, что и для табл. 6.

РГП на 14-е и 21-е сутки отмечалась динамика на снижение уровня MFI HLA-DR относительно дооперационного периода. При этом в группе с неблагоприятным течением РГП на 14-е и 21-е сутки отмечалась динамика на повышение уровня MFI HLA-DR относительно дооперационного периода.

Более чем в 4 раза относительно контрольных значений у больных РГП в дооперационном периоде повышается относительное и абсолютное количество CD64⁺-нейтрофилов (табл. 9). На 7-е и 14-е сутки после операции сохраняется повышенное количество CD64⁺-нейтрофилов, но на 21-е сутки послеоперационного периода – снижается до контрольного диапазона. Подобная же динамика сохраняется и для MFI CD64 в группе с благоприятным течением РГП: в дооперационном периоде данный показатель превышает контрольный диапазон более чем в 4 раза, сохраняется на повышенном уровне на 7-е и 14-е сутки после операции, но на 21-е сутки послеоперационного периода понижается до контрольных значений. При этом, в группе с неблагоприятным исходом РГП повышение уровня MFI CD64 значительно более выражено: в дооперационном периоде показатель превышает контрольный диапазон в 14 раз (группе с благоприятным течением РГП – в 3 раза), сохраняется на повышенном уровне на 7-е и 14-е сутки после операции, значительно превышая показатели группы с благоприятным исходом заболевания, на 21-е сутки послеоперационного периода понижается до контрольных значений.

В дооперационном периоде у больных по сравнению с контрольным диапазоном в 2 раза повышается фагоцитарный индекс (ФИ) нейтрофилов (рис. 7). В послеоперационном периоде наблюдается сохранение высоких значений ФИ нейтрофилов вплоть до конца наблюдения. При этом между группами пациентов, различий обнаружено не было.

В дооперационном периоде у больных с благоприятным исходом РГП в 1,5 раза относительно контрольного уровня повышается фагоцитарное число (ФЧ) нейтрофилов (рис. 8). В послеоперационном периоде на 7-е сутки ФЧ нейтрофилов превышает контрольные значения уже в 2 раза, после чего начинает постепенно снижаться. На 14-е сутки до 1,3 раз, а к 21-м суткам показатель ФЧ

Таблица 8. Количество HLA-DR⁺ нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
HLA-DR ⁺ , %	1	98,3 (94,3 – 99,2)	82,2 (17,1 – 98,8) p ₁ =0,006	94,3 (60,0 – 98,0) p ₁ =0,005	95,9 (74,9 – 97,5) p ₁ =0,005 p ₃ =0,023	96,5 (95,3 – 96,7)
	2		71,0 (51,0 – 78,2) p ₁ <0,001	90,3 (86,1 – 91,2) p ₁ =0,006	86,9 (41,0 – 96,0) p ₁ =0,040 p ₃ =0,034	72,0 (48,7 – 95,3)
HLA-DR ⁺ , 10 ⁹ /л	1	2,77 (2,02 – 3,48)	5,27 (1,47 – 9,21)	4,24 (1,45 – 7,31) p ₁ =0,032	3,28 (1,77 – 5,01) p ₂ =0,034 p ₃ =0,012	3,96 (2,45 – 5,79)
	2		3,62 (3,35 – 7,18)	4,40 (3,10 – 7,71) p ₁ =0,013	2,45 (0,09 – 3,90) p ₂ =0,034 p ₃ =0,012	5,01 (2,92 – 5,36)
MFI HLA- DR ⁺ , о.е.	1	1,70 (1,53 – 1,86)	1,52 (1,28 – 1,94)	1,96 (1,35 – 2,6)	1,57 (1,31 – 2,44) p ₂ =0,023	1,27 (1,20 – 1,88) p ₁ =0,011 p ₃ =0,045
	2		1,44 (1,33 – 1,78)	1,60 (1,41 – 1,92)	5,10 (1,51 – 6,67) p ₂ =0,023	1,99 (1,88 – 2,10) p ₃ =0,045

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Таблица 9. Содержание CD64⁺ нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD64 ⁺ , %	1	14,8 (5,5 – 62,1)	53,7 (17,1 – 90,0) p ₁ <0,001	64,2 (23,1 – 90,5) p ₁ <0,001	25,8 (13,9 – 71,3) p ₁ =0,034	18,7 (7,9 – 40,5) p ₂ =0,023 p ₃ =0,028
	2		72,7 (27,1 – 90,0) p ₁ <0,001	51,5 (13,9 – 99,1) p ₁ <0,001	62,8 (25,8 – 99,7) p ₁ =0,004	37,36 (27,6 – 80,3) p ₂ =0,018 p ₃ =0,011
CD64 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,41 (0,14 – 2,03)	1,62 (1,47 – 5,15) p ₁ <0,001	2,37 (0,19 – 3,32) p ₁ <0,001	1,38 (0,04 – 3,41) p ₁ =0,048	0,45 (0,11 – 2,33) p ₂ =0,018 p ₃ =0,033
	2		2,65 (0,98 – 3,71) p ₁ <0,001	1,74 (1,12 – 3,32) p ₁ <0,001	5,71 (1,02 – 10,40) p ₁ =0,012	0,31 (0,09 – 3,58) p ₂ =0,020 p ₃ =0,028
MFI CD64 ⁺ , о.е.	1	2,23 (1,62 – 3,45)	9,19 (6,41 – 19,00) p ₁ <0,001	3,91 (2,97 – 11,29) p ₁ =0,008	4,95 (2,85 – 5,07) p ₁ =0,004	2,69 (1,48 – 3,55) p ₂ <0,001
	2		31,30** (6,18 – 49,10) p ₁ =0,004	15,13** (5,37 – 24,90) p ₁ =0,025	16,89*** (7,29 – 26,50) p ₁ =0,021	12,35 (1,01 – 15,63)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

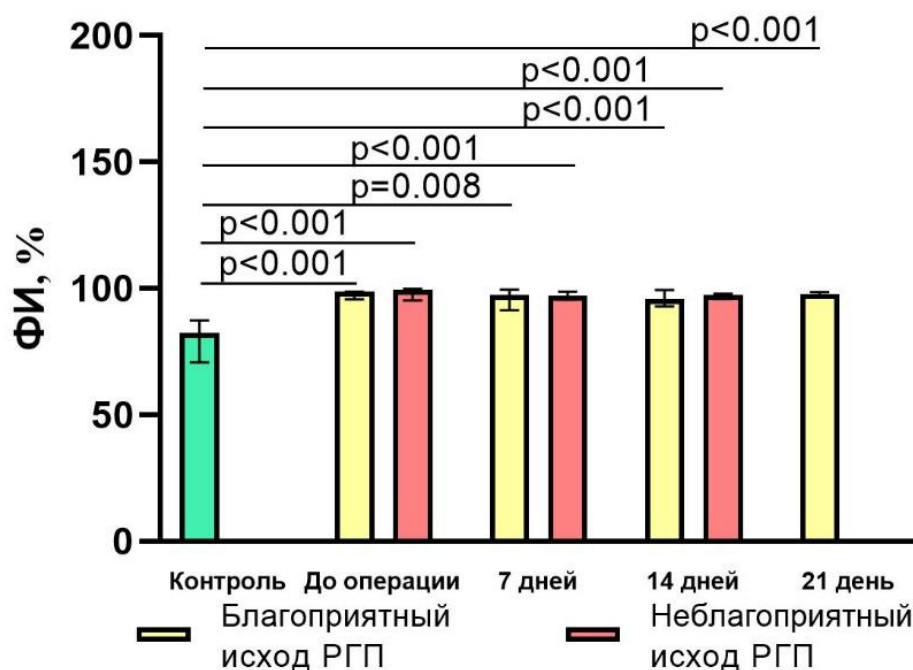


Рисунок 7 – Фагоцитарный индекс (ФИ) нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

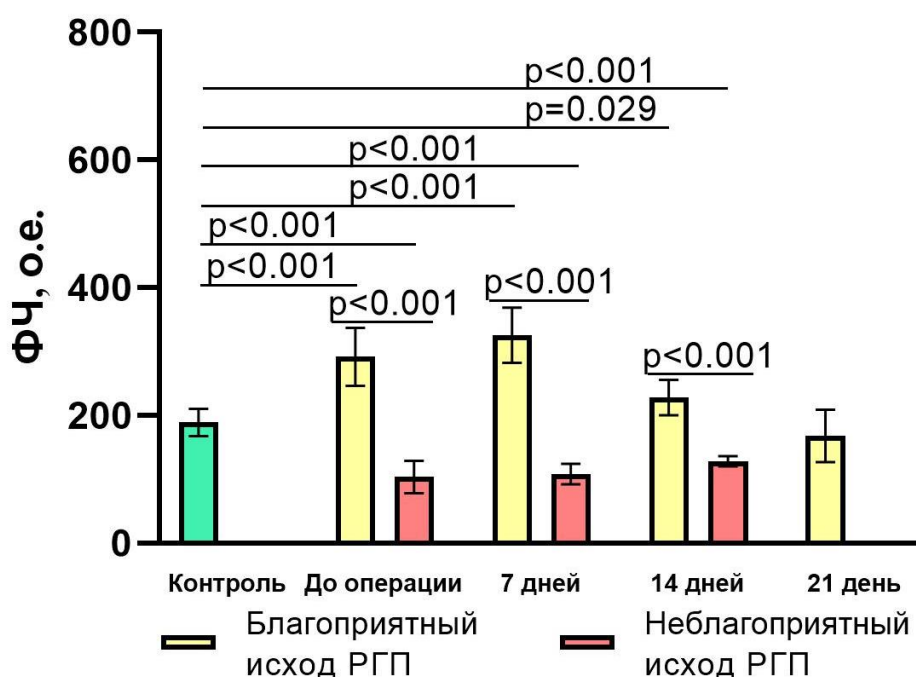


Рисунок 8 – Фагоцитарное число (ФЧ) нейтрофилов у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

нейтрофилов сравнялся с показателями контрольной группы. При этом в группе больных с неблагоприятным исходом РГП в ходе всего периода наблюдения, ФЧ

нейтрофилов достоверно снижено относительно контрольных значений и показателей группы с благоприятным исходом заболевания.

На 7-е сутки у больных с благоприятным исходом РГП наблюдается снижение относительного количества моноцитов в периферической крови (табл. 10). В дальнейшем данный показатель нормализуется и выходит на уровень контрольных значений. В группе с неблагоприятным исходом РГП достоверных изменений в количестве моноцитов обнаружено не было.

Таблица 10. Количество моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, $C_{25} - C_{75}$)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
Моноциты, %	1	6,2 (5,0 – 9,0)	5,0 (4,0 – 7,0)	5,0 (4,0 – 7,0) $p_1 < 0,001$	7,0 (4,0 – 9,0)	7,0 (4,0 – 7,0)
	2		5,5 (3,0 – 9,0)	5,4 (3,9 – 8,0)	6,0 (4,0 – 8,0)	7,5 (6,0 – 9,0)
Моноциты, $10^9/\text{л}$	1	0,36 (0,32–0,48)	0,42 (0,37–0,76)	0,47 (0,27 – 0,68)	0,47 (0,21 – 0,85)	0,30 (0,26 – 0,47)
	2		0,50 (0,22–0,68)	0,50 (0,38 – 0,54)	0,43 (0,25 – 0,80)	0,65 (0,49 – 0,80)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В ходе всего периода наблюдения, независимо от исхода заболевания, отмечается снижение абсолютного и относительного числа классических моноцитов ($CD14^{\text{hi}}CD16^-$) (табл. 11). Между группами пациентов различия не обнаружены.

В ходе первых 3-х недель наблюдения у больных с благоприятным исходом РГП почти в 3 раза относительно контрольного уровня повышается относительное содержание переходных моноцитов ($CD14^{hi}CD16^{+}$) (табл. 12). В группе с неблагоприятным исходом заболевания достоверных различий не обнаружено.

Таблица 11. Содержание классических моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, $C_{25} - C_{75}$)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
$CD14^{hi}$ $CD16^{-}$, %	1	73,4 (48,9–85,7)	25,4 (6,4–54,6) $p_1 < 0,001$	28,9 (14,6 – 73,0) $p_1 < 0,001$	26,4 (7,7 – 50,5) $p_1 < 0,001$	20,7 (7,4 – 44,7) $p_1 = 0,001$
	2		23,7 (10,8–44,0) $p_1 < 0,001$	46,8 (17,5 – 64,0) $p_1 = 0,013$	21,6 (13,3 – 31,3) $p_1 < 0,001$	30,1 (12,4 – 46,0) $p_1 = 0,006$
$CD14^{hi}$ $CD16^{-}$, $10^9/л$	1	0,19 (0,16–0,28)	0,14 (0,01–0,18) $p_1 = 0,008$	0,05 (0,03 – 0,16) $p_1 = 0,002$	0,09 (0,02 – 0,34)	0,03 (0,02 – 0,15)
	2		0,07 (0,03–0,21) $p_1 = 0,013$	0,10 (0,03 – 0,33)	0,10 (0,03 – 0,24)	0,08 (0,05 – 0,12)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В дооперационном периоде у больных с благоприятным течением РГП почти в 2 раза относительно контрольного уровня повышается относительное и абсолютное содержание неклассических моноцитов ($CD14^{+}CD16^{+}$) (табл. 13). В послеоперационном периоде в группе больных с благоприятным течением РГП наблюдается тенденция к снижению количества данных клеток, но при сохранении высоких значений на 21-е сутки лечения. В группе с

неблагоприятным течением заболевания, напротив, в первые 3-и недели наблюдения количество CD14⁺CD16⁺-клеток остается на уровне контрольных значений, а повышение отмечается только к концу периода наблюдения.

Таблица 12. Уровень переходных моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD14 ^{hi} CD16 ⁺ , %	1	10,1 (4,0–26,4)	31,1 (20,2 – 57,7) p ₁ <0,001	23,9 (7,3 – 54,2) p ₁ =0,044	33,9 (19,9–47,0) p ₁ =0,021	33,9 (27,2 – 61,5)
	2		21,8 (14,3 – 62,7)	16,5 (8,8 – 33,1)	40,7 (10,4–41,3)	28,8 (16,0 – 49,5)
CD14 ^{hi} CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,09 (0,03–0,26)	0,23 (0,17 – 0,32)	0,15 (0,06 – 0,27)	0,20 (0,08–0,29)	0,17 (0,16 – 0,19)
	2		0,10 (0,02 – 0,21)	0,10 (0,07 – 0,13)	0,07 (0,03–0,32)	0,33 (0,19 – 0,47)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Уже в дооперационном периоде у больных РГП по сравнению с контрольным диапазоном снижается относительное число HLA-DR⁺-моноцитов (табл. 14). Пониженное содержание этих клеток сохраняется на 7-е и 14-е сутки послеоперационного периода, после чего начинает повышаться вплоть до конца периода наблюдения. В группе с неблагоприятным исходом заболевания снижение числа HLA-DR⁺-моноцитов отмечается также и на 21-е сутки наблюдения. При этом между группами пациентов достоверных различий не обнаружено.

Таблица 13. Количество неклассических моноцитов у больных РГП в послеоперационном периоде (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD14 ⁺ CD16 ⁺ , %	1	4,4 (1,9 – 7,0)	7,2 (4,8 – 10,8) p ₁ =0,003	6,7 (2,7 – 11,0)	7,4 (5,1 – 10,8) p ₁ =0,008	6,2 (3,7 – 9,2)
	2		6,5 (2,6 – 9,6)	4,9 (3,9 – 9,6)	6,1 (3,8 – 14,5)	9,7 (6,7 – 13,7) p ₁ =0,031
CD14 ⁺ CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,02 (0,01–0,04)	0,04 (0,02–0,07) p ₁ =0,048	0,03 (0,02 – 0,05)	0,04 (0,02 – 0,05)	0,02 (0,02 – 0,05)
	2		0,02 (0,01–0,07)	0,04 (0,02 – 0,05)	0,04 (0,01 – 0,05)	0,07 (0,06 – 0,08)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В дооперационном периоде отмечается снижение абсолютного и относительного числа CD64⁺-моноцитов у больных РГП независимо от исхода заболевания (табл. 15). На 7-е, 14-е и 24-е сутки после операции в обеих группах сохраняется снижение только относительного числа данных клеток, относительно контрольных значений. При этом в группе с неблагоприятным течением заболевания снижение числа CD64⁺-моноцитов носит более выраженный характер. На 21-е сутки снова наблюдается снижение абсолютного количества CD64⁺-моноцитов в группе с благоприятным течением РГП относительно контрольного диапазона. В дооперационном периоде независимо от исхода заболевания средняя интенсивность флуоресценции CD64 превышает

контрольный диапазон более чем в 4 раза, и сохраняется на повышенном уровне на 7-е, 14-е и 21-е сутки после операции.

Таблица 14. Содержание HLA-DR⁺ моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
HLA-DR ⁺ , %	1	86,9 (81,4–92,5)	72,2 (59,4–83,6) p ₁ <0,001	76,1 (60,0 – 88,9) p ₁ =0,001	76,8 (1,7 – 87,1) p ₁ =0,012	87,1 (77,6 – 90,8)
	2		67,6 (46,8–74,0) p ₁ <0,001	72,3 (58,0 – 91,4)	64,0 (39,7–80,1) p ₁ =0,001	74,6 (35,3 – 82,4) p ₁ =0,004
HLA-DR ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,36 (0,25–0,43)	0,34 (0,19–0,61)	0,24 (0,14 – 0,59)	0,19 (0,12–0,74)	0,26 (0,23 – 0,43)
	2		0,35 (0,09–0,53)	0,27 (0,21 – 0,36)	0,22 (0,10–0,32)	0,54 (0,39 – 0,68)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В дооперационном периоде независимо от исхода РГП наблюдается снижение более чем в 10 раз относительного и абсолютного содержания дубль позитивных моноцитов по HLA-DR и CD64 (табл. 16). До конца наблюдения в послеоперационном периоде количество HLA-DR⁺CD64⁺-моноцитов значительно снижено. При этом, в обеих группах, на 14-е и 21-е сутки количество данных клеток значительно возрастает относительно первых двух недель наблюдения.

Таблица 15. Содержание CD64⁺ моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD64 ⁺ , %	1	90,0 (82,9 – 92,7)	48,5 (37,1 – 96,5)	75,9 (66,5 – 80,2) p ₁ <0,001	72,8 (65,2 – 85,4) p ₁ =0,031	74,7 (61,2 – 83,4) p ₁ =0,024
	2		26,1 (26,0 – 89,3) p ₁ =0,012	62,0 (34,8 – 89,3) p ₁ =0,024	58,4 (51,2 – 65,7) p ₁ <0,001	52,2 (42,0 – 59,1) p ₁ <0,001
CD64 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,38 (0,32 – 0,46)	0,27 (0,23 – 0,36) p ₁ <0,001	0,42 (0,24 – 0,52)	0,37 (0,36 – 0,48)	0,22 (0,16 – 0,39) p ₁ =0,009
	2		0,19 (0,04 – 0,31) p ₁ =0,015	0,33 (0,19 – 0,47)	0,25 (0,19 – 0,32)	0,34 (0,21 – 0,47)
MFI CD64 ⁺ , о.е.	1	12,10 (9,61 – 21,10)	48,45 (37,10 – 96,52) p ₁ <0,001	34,35 (25,45 – 73,35) p ₁ <0,001	33,11 (31,30 – 47,14) p ₁ =0,005	44,58 (34,17 – 93,88) p ₁ <0,001
	2		108,01 (29,00 – 147,02) p ₁ <0,001	75,15 (35,30-115,50) p ₁ <0,001	80,05 (34,10 – 126,20) p ₁ <0,001	84,25 (36,08 – 127,23) p ₁ <0,001

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Таблица 16. Содержание моноцитов с коэкспрессией HLA-DR и CD64 у больных РГП после операции (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD64 ⁺ HLA- DR ⁺ , %	1	90,3 (86,5–98,8)	0,7 (0,4 – 4,1) p ₁ =0,001	3,6 (2,0 – 56,7) p ₁ <0,001 p ₂ =0,029	10,8 (0,1 – 21,5) p ₁ =0,014 p ₂ =0,043	18,2 (4,7 – 28,4) p ₁ <0,001 p ₂ =0,018
	2		0,2 (0,1 – 0,7) p ₁ <0,001	0,5 (0,2 – 0,9) p ₁ <0,001	32,4 (0,9 – 63,8) p ₁ =0,007 p ₂ =0,005 p ₃ =0,010	28,1 (1,4 – 39,5) p ₁ <0,001 p ₂ =0,003 p ₃ =0,009
CD64 ⁺ HLA- DR ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,40 (0,32–0,48)	0,01 (0,01–0,04) p ₁ <0,001	0,02 (0,01 – 0,11) p ₁ <0,001	0,08 (0,01–0,16) p ₁ =0,019	0,05 (0,01 – 0,13) p ₁ <0,001
	2		0,001 (0,0005– 0,001) p ₁ <0,001	0,003 (0,001–0,009) p ₁ <0,001	0,15 (0,02–0,31) p ₁ =0,014	0,18 (0,01 – 0,32) p ₁ =0,017

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В дооперационном периоде у пациентов с благоприятным исходом РГП отмечается повышение ФИ моноцитов (рис. 9). На 7-е и 14-е сутки наблюдения данный параметр колеблется на уровне контрольных значений, но к 21-м суткам наблюдения снова повышается. При этом у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания ФИ моноцитов в дооперационном периоде находится на уровне контрольных значений, а начиная со 2-й недели наблюдения достоверно снижается относительно показателей контроля и группы пациентов с благоприятным течением РГП.

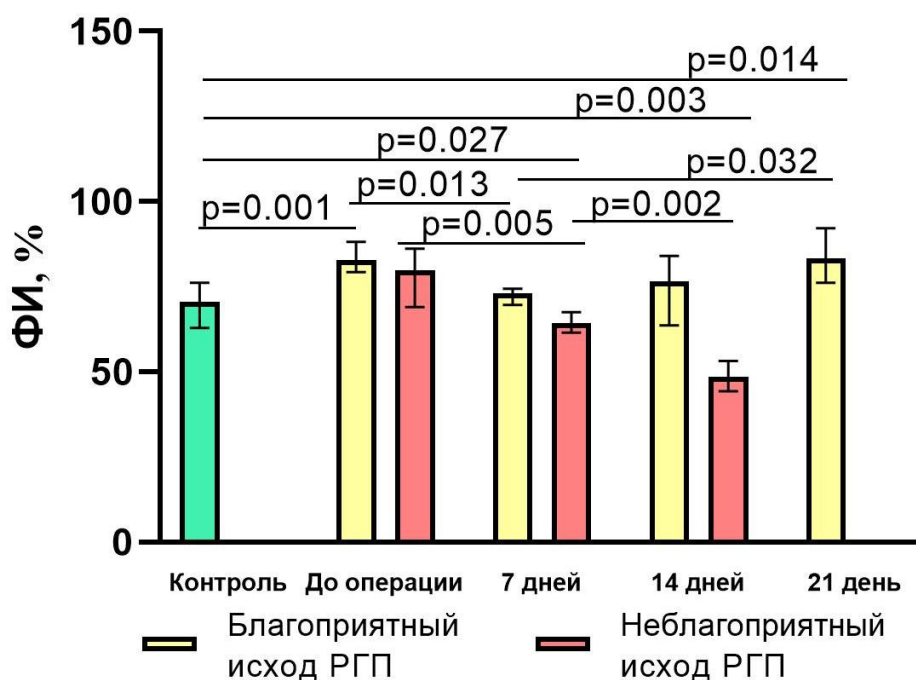


Рисунок 9 – Фагоцитарный индекс (ФИ) моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

Не зависимо от исхода заболевания в дооперационном периоде у обследованных пациентов наблюдается снижение (в 2 раза) ФЧ моноцитов (рис. 10).

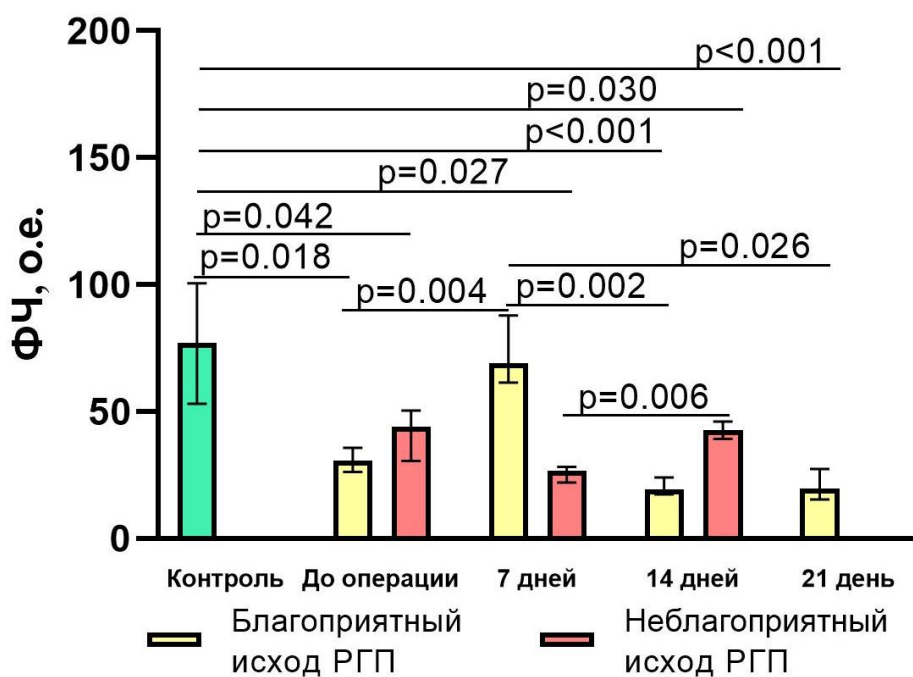


Рисунок 10 – Фагоцитарное число (ФЧ) моноцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

В послеоперационном периоде у пациентов с благоприятным течением РГП на 7-е сутки отмечается непродолжительное повышение ФЧ моноцитов, а начиная с 14-х суток и до конца лечения прослеживается возобновление прогрессирующей динамики снижения. При этом у пациентов с неблагоприятным течением РГП ФЧ моноцитов остается сниженным в ходе всего послеоперационного периода.

Таким образом, независимо от исхода РГП отмечается повышение числа нейтрофильных гранулоцитов и усиление миграционной активности клеток. У больных с благоприятным исходом РГП в течение всего периода наблюдения фагоцитарное число значительно выше, чем у пациентов с неблагоприятным исходом. Также при благоприятном исходе отмечается повышение количества неклассических моноцитов в течение всего периода наблюдения, тогда как при неблагоприятном исходе – только к 3-ей недели послеоперационного периода.

3.2 Особенности фенотипа NK- и NKT-клеток в динамике послеоперационного периода в зависимости от исхода РГП

Важным звеном врожденного иммунного ответа являются NK-клетки, отвечающие за лизис инфицированных и атипичных клеток. При исследовании фенотипа NK-клеток крови у больных РГП обнаружено, что в дооперационном периоде у обследованных пациентов на фоне снижения абсолютного количества лимфоцитов снижается относительное число CD16⁺/56-клеток (табл. 17). Содержание лимфоцитов у пациентов с благоприятным течением РГП относительно дооперационных значений повышается уже на 7-е сутки послеоперационного периода и достигает контрольных значений на 21-е сутки после операции. У пациентов с неблагоприятным течением заболевания абсолютное содержание лимфоцитов начинает повышаться только на 21-е сутки наблюдения. Относительное содержание CD16⁺/56⁺-клеток при благоприятном исходе остается сниженным относительно контрольных значений в течение двух недель послеоперационного периода и повышается до контрольных значений на 21-е сутки после операции. При этом в группе пациентов с неблагоприятным

течением заболевания относительное содержание CD16⁺/56⁺-клеток остается сниженным в ходе всего периода наблюдения.

Таблица 17. Содержание НК-клеток в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1	2,05 (1,56–2,60)	1,06 (0,78–1,33) p ₁ <0,001	1,32 (0,83–2,53) p ₁ =0,007 p ₂ =0,017	1,34 (0,90 – 2,08) p ₁ =0,007 p ₂ =0,042	2,15 (1,35 – 3,89) p ₂ =0,005
	2		0,92 (0,51– 1,25) p ₁ <0,001	0,87 (0,70–1,81) p ₁ <0,001	1,06 (0,65 – 1,11) p ₁ <0,001	2,06 (1,27 – 2,85) p ₂ =0,008 p ₃ =0,014 p ₄ =0,041
CD16 ⁺ / CD56 ⁺ , %	1	16,2 (11,0–21,0)	6,3 (3,6– 11,6) p ₁ <0,001	9,4 (5,6–13,7) p ₁ <0,001	10,5 (6,2 – 12,5) p ₁ =0,048	17,3 (7,3 – 22,5) p ₂ =0,038 p ₃ =0,045
	2		3,9* (3,1– 4,9) p ₁ <0,001	6,8* (2,01–16,8) p ₁ =0,006	4,3* (2,7 – 5,1) p ₁ <0,001	6,1* (2,2 – 12,9) p ₁ =0,017

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В то же время, количество CD16⁺CD56⁺-клеток у больных РГП с благоприятным исходом на 7-е и 14-е сутки послеоперационного лечения соответствуют контрольному уровню и более чем в 2 раза превышает его к концу наблюдаемого периода (табл. 18). У пациентов с неблагоприятным течением заболевания содержание данных клеток достоверно снижено относительно показателей контроля и группы с благоприятным течением в ходе всего периода наблюдения. Относительное содержание CD16⁺CD56⁻ и CD16⁻CD56⁺-клеток при благоприятном исходе заболевания повышено относительно контрольных значений на 7-е и 21-е сутки послеоперационного периода.

Таблица 18. Относительное количество субпопуляций NK-клеток в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	1	7,9 (5,6 – 14,9)	5,6 (2,9 – 10,0) p ₁ =0,041	8,8 (5,1 – 13,0)	9,8 (3,3 – 22,9)	16,6 (7,6 – 22,4) p ₁ =0,045 p ₂ =0,018 p ₃ =0,046
	2		2,8* (1,6 – 6,8) p ₁ =0,004	3,4* (0,8 – 7,0) p ₁ =0,010	4,7* (1,4 – 7,4) p ₁ =0,047	4,9* (2,6 – 7,4) p ₁ =0,048
CD16 ⁺ CD56 ⁻ , %	1	0,33 (0,21 – 0,57)	0,53 (0,17 – 0,83)	0,67 (0,51 – 1,16) p ₁ <0,001	0,48 (0,25 – 1,29)	0,89 (0,59 – 1,20) p ₁ =0,019
	2		0,49 (0,36 – 0,84)	0,54 (0,20 – 0,97)	0,53 (0,44 – 1,17)	0,90 (0,49 – 2,38) p ₁ =0,046
CD16 ⁻ CD56 ⁺ , %	1	0,28 (0,17 – 0,53)	0,33 (0,22 – 0,45)	0,52 (0,27 – 1,10) p ₁ =0,007 p ₂ =0,016	0,43 (0,23 – 0,92)	0,49 (0,26 – 0,72) p ₁ =0,044
	2		0,17* (0,08 – 0,23)	0,18* (0,08 – 0,90)	0,26 (0,25 – 0,99)	0,63 (0,44 – 1,53)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП относительное число CD16⁺CD56⁻-клеток достоверно повышается только на 21-е сутки наблюдения. Содержание у этих пациентов CD16⁻CD56⁺-клеток в дооперационном периоде и на первой неделе после операции достоверно ниже аналогичного показателя у пациентов с благоприятным течением заболевания, но при этом остается на уровне контрольных значений. У больных с неблагоприятным исходом РГП количество CD16⁻CD56⁺-клеток последовательно повышается, начиная с 7-х суток послеоперационного периода, и достигает максимума к концу периода обследования (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=11,10$, $p=0,011$).

На 21-е сутки послеоперационного периода в крови у больных РГП с благоприятным исходом повышается содержание CD16⁺CD56⁺CD11b⁺-клеток как относительно контрольного диапазона, так и дооперационного периода (табл. 19). В группе с неблагоприятным исходом РГП содержание CD16⁺CD56⁺CD11b⁺-клеток достоверно снижено относительно показателей контроля и группы с благоприятным течением заболевания в течение всего периода наблюдения. У пациентов с благоприятным течением РГП относительно значений контроля и группы с неблагоприятным исходом заболевания на 7-е и 21-е сутки после операции в крови увеличивается количество CD16⁺CD56⁻CD11b⁺- и CD16⁻CD56⁺CD11b⁺-клеток. У пациентов с неблагоприятным течением заболевания количество CD16⁺CD56⁻CD11b⁺- и CD16⁻CD56⁺CD11b⁺-клеток относительно показателей контрольной группы остается неизменным. При этом у данных пациентов в дооперационном периоде и на первую неделю после операции количество CD16⁻CD56⁺CD11b⁺-клеток было достоверно ниже относительно аналогичного показателя пациентов с благоприятным исходом РГП.

Содержание CD16⁺/56⁺CD28⁺-клеток не зависит от исхода заболевания и весь период наблюдения оставалось на уровне контрольных значений (табл. 20). Содержание CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток у пациентов с благоприятным исходом РГП повышается к концу наблюдаемого периода, однако только в сравнении с исходным уровнем. При этом в группе пациентов с неблагоприятным течением

Таблица 19. Относительное содержание субпопуляций NK-клеток, экспрессирующих CD11b, у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	1	7,4 (5,5 – 14,0)	5,4 (3,6 – 10,0)	8,5 (5,0 – 12,7)	9,7 (3,2 – 22,4)	16,2 (7,6 – 21,5) p ₁ =0,040 p ₂ =0,022 p ₃ =0,047
	2		2,7* (1,6 – 6,4) p ₁ =0,005	3,4** (0,7 – 6,8) p ₁ <0,001	4,4* (1,2 – 6,6) p ₁ =0,048	4,3* (0,6 – 6,5) p ₁ =0,011
CD16 ⁺ CD56 ⁻ CD11b ⁺ , %	1	0,25 (0,16 – 0,43)	0,39 (0,07 – 0,77)	0,48 (0,38 – 0,78) p ₁ =0,002	0,25 (0,17 – 0,64)	0,79 (0,47 – 1,12) p ₁ =0,012
	2		0,39 (0,16 – 0,80)	0,36* (0,05 – 0,61)	0,38 (0,27 – 0,58)	0,38* (0,19 – 0,84)
CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	1	0,26 (0,16 – 0,47)	0,30 (0,19 – 0,43)	0,48 (0,24 – 1,09) p ₁ =0,008	0,29 (0,22 – 0,51)	0,42 (0,26 – 0,64) p ₁ =0,041
	2		0,17* (0,10 – 0,36)	0,14* (0,08 – 0,76)	0,25 (0,21 – 1,55)	0,34 (0,03 – 1,93)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

заболевания содержание CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток достоверно снижается на 7-е, 14-е и 21-е сутки наблюдения относительно показателей контроля и пациентов с благоприятным течением РГП.

Таблица 20. Содержание НК-клеток, экспрессирующих CD28 и CD57, у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD16 ⁺ / CD56 ⁺	1	0,58 (0,21–1,82)	0,66 (0,09–1,07)	0,57 (0,17 – 1,30)	0,49 (0,13 – 0,91)	0,46 (0,19 – 0,59)
CD28 ⁺ , %	2		0,44 (0,27–1,17)	0,50 (0,20 – 2,31)	0,62 (0,24 – 0,85)	0,61 (0,03 – 6,19)
CD16 ⁺ / CD56 ⁺ CD57 ⁺ , %	1	2,79 (1,52–4,18)	2,09 (1,44–3,49)	2,74 (1,37 – 5,27)	2,25 (1,13 – 5,37)	3,65 (2,01 – 7,52) p ₂ =0,039 p ₃ =0,047 p ₄ =0,042
	2		1,93 (1,55–2,91)	0,99* (0,41 – 2,61) p ₁ =0,048	1,12* (1,04 – 1,95) p ₁ =0,048	0,52* (0,47 – 1,83) p ₁ =0,037 p ₂ =0,040

Примечание: то же, что и для табл. 6.

При исследовании уровня MFI CD28 у больных с благоприятным исходом РГП существенных отличий обнаружено не было (рис. 11). В тоже время, по сравнению с контрольными значениями НК-клетки больных с неблагоприятным исходом РГП интенсивнее экспрессируют CD28-рецептор на 7-е и 14-е сутки.

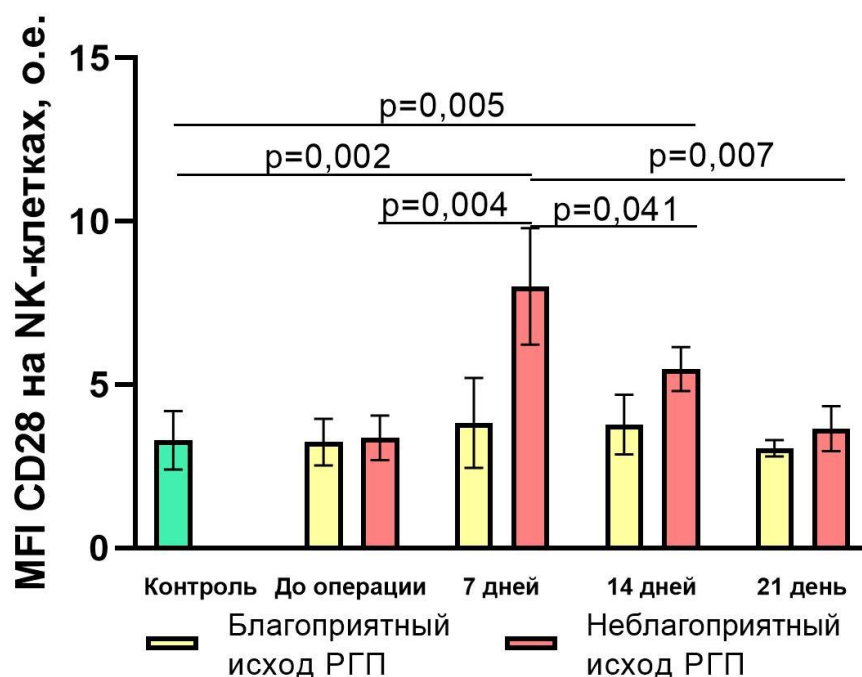


Рисунок 11 – Уровень экспрессии (по MFI) CD28 на поверхности НК-клеток у больных с РГП в динамике послеоперационного периода.

При исследовании уровня MFI CD57 у больных с благоприятным исходом РГП существенных отличий не обнаружено (рис. 12). У больных с неблагоприятным исходом заболевания более высокий уровень MFI CD57 выявляется на 7-е и 21-е сутки после операции.

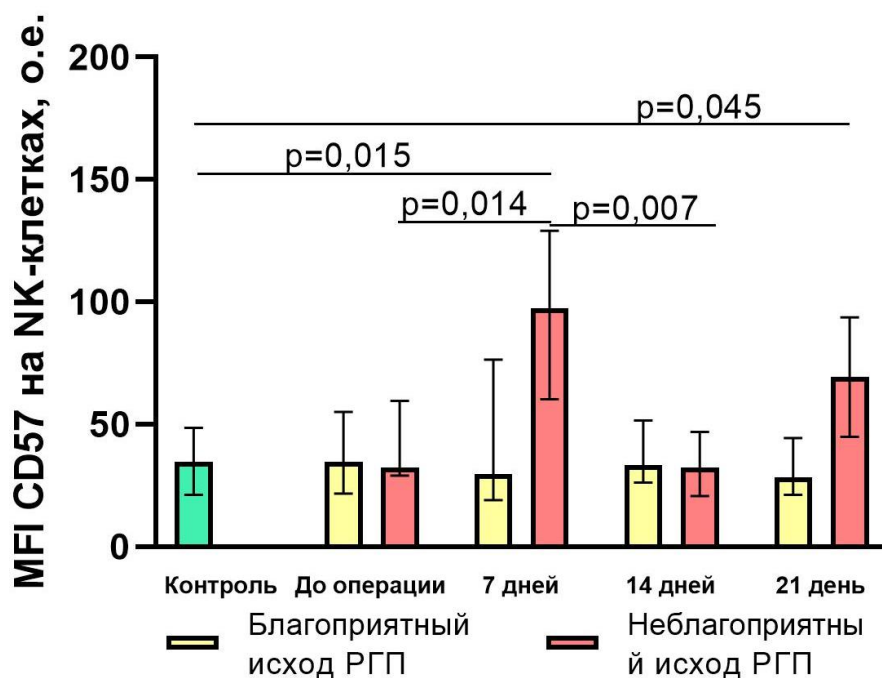


Рисунок 12 – Уровень экспрессии (по MFI) CD57 на поверхности НК-клеток у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

В группе с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие корреляционных связей между нейтрофильными гранулоцитами и NK-клетками, а также NK-клетками и моноцитами (табл. 21). В группе с неблагоприятным исходом заболевания в дооперационном периоде выявлялась единственная взаимосвязь между NK-клетками и нейтрофильными гранулоцитами.

Таблица 21. Корреляционные связи между различными фенотипами клеток врожденного иммунитета в зависимости от исхода РГП.

Взаимосвязанные показатели	r	p
Благоприятный исход РГП		
Нейтрофилы (CD16 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺)	-0.47	0.044
Нейтрофилы (CD16 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺)	-0.61	0.006
Нейтрофилы (CD16 ⁺ HLA-DR ⁺) / NK-клетки (CD56 ⁺)	-0.64	0.008
Моноцитами (CD14 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD57 ⁺)	0.58	0.035
Неблагоприятный исход РГП		
Нейтрофилы (CD16 ⁺ HLA-DR ⁺) / NK-клетки (CD56 ⁺)	-0.88	0.003

NKT-клетки способствуют защите организма от возникновения, внутриклеточных инфекций, роста атипичных клеток и развития аутоиммунных заболеваний. При исследовании фенотипа NKT-клеток крови у больных РГП обнаружено, что в дооперационном периоде у обследованных пациентов снижается (в 1,5-2 раза) относительное число CD3⁺CD16⁺/56⁺-клеток (табл. 22). Абсолютный уровень CD3⁺CD16⁺/56⁺-клеток независимо от исхода остается сниженным относительно контрольных значений в течение трех недель после операции и начинает проявлять тенденцию к восстановлению к 21-м суткам только в группе с благоприятным исходом РГП.

В группе пациентов с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде и на 14-е сутки снижено относительное содержание CD3⁺CD16⁺CD56⁺-клеток, при этом на 7-е и 21-е сутки послеоперационного лечения число этих клеток соответствуют контрольному уровню (табл. 23). В группе пациентов с

неблагоприятным течением заболевания число $CD3^+CD16^+CD56^-$ -клеток достоверно снижается только на 21-е сутки лечения. Между группами пациентов достоверных различий не обнаружено.

Таблица 22. Содержание NKT-клеток в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, $C_{25} - C_{75}$)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
$CD3^+$ $CD16/56^+$, %	1	3,49 (1,96–6,86)	1,89 (1,20–3,35) $p_1=0,012$	3,20 (2,13–7,01)	2,79 (2,28 – 4,33)	3,49 (3,12 – 5,40)
	2		2,10 (1,37–2,70) $p_1=0,024$	3,46 (1,33–5,52)	3,95 (0,66 – 5,65)	2,29 (1,42 – 4,87)
$CD3^+$ $CD16/56^+$, $10^9/л$	1	0,07 (0,03–0,18)	0,02 (0,01–0,04) $p_1=0,008$	0,03 (0,02–0,05) $p_1=0,040$	0,03 (0,02 – 0,06) $p_1=0,042$	0,07 (0,04 – 0,13) $p_2=0,045$
	2		0,02 (0,01–0,03) $p_1<0,001$	0,02 (0,01–0,05) $p_1=0,005$	0,03 (0,01 – 0,06) $p_1=0,023$	0,04 (0,01 – 0,07) $p_1=0,047$

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Относительное число клеток с фенотипом $CD3^+CD16^+CD56^-$ при благоприятном исходе заболевания снижено относительно контрольных значений на 21-е сутки послеоперационного периода. В группе с неблагоприятным течением заболевания данные клетки достоверно повышены 7-е и 14-е сутки послеоперационного периода. Относительное число $CD3^+CD16^-CD56^+$ -клеток при благоприятном исходе заболевания, начиная с дооперационного периода, снижено вплоть до 7-х суток послеоперационного лечения.

Таблица 23. Относительное содержание субпопуляций NKT-клеток у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	1	0,72 (0,42 – 1,14)	0,39 (0,24 – 0,71) p ₁ =0,037	0,67 (0,35 – 0,93)	0,41 (0,21 – 0,73) p ₁ =0,038	0,63 (0,40 – 1,00)
	2		0,57 (0,14 – 1,29)	0,84 (0,75 – 1,80)	0,42 (0,39 – 0,92)	0,43 (0,29 – 0,56) p ₁ =0,044 p ₃ =0,039
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁻ , %	1	0,86 (0,55 – 1,05)	0,83 (0,59 – 1,75)	1,18 (0,93 – 1,69)	0,67 (0,49 – 1,14)	0,48 (0,31 – 0,52) p ₁ =0,024 p ₂ =0,022 p ₃ =0,015
	2		0,74 (0,36 – 1,38)	1,46 (1,26 – 3,42) p ₁ <0,001 p ₂ =0,028	1,36 (0,99 – 2,14) p ₁ =0,033	0,62 (0,33 – 1,04)
CD3 ⁺ CD16 ⁻ CD56 ⁺ , %	1	1,91 (1,28 – 2,65)	0,60 (0,38 – 1,66) p ₁ =0,005	1,42 (0,65 – 2,87) p ₂ =0,048	1,77 (0,41 – 2,39) p ₂ =0,049	2,27 (1,90 – 2,83) p ₂ <0,001
	2		0,73 (0,26 – 1,43) p ₁ =0,009	1,21 (0,95 – 1,36) p ₁ =0,040	2,23 (1,28 – 3,64) p ₂ =0,043	1,16 (0,83 – 1,38) p ₁ =0,039 p ₄ =0,048

Примечание: то же, что и для табл. 6.

При этом в группе с неблагоприятным течением заболевания число $CD3^+CD16^-CD56^+$ -клеток снижено относительно контрольных значений в ходе всего периода наблюдения с кратковременным подъемом на 14-е сутки. С 7-х суток и вплоть до конца наблюдения эти клетки проявляют последовательную динамику восстановления (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=13,08$, $p=0,004$).

В дооперационном периоде количество $CD3^+CD8^+CD16^+CD56^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП снижено относительно контрольного диапазона (табл. 24). При этом, в группе с неблагоприятным исходом заболевания число $CD3^+CD8^+CD16^+CD56^+$ -клеток повышается на 7-е сутки относительно показателей контроля и группы с благоприятным течением РГП. После, количество данных клеток снижается до уровня контрольных значений на 14-е сутки, а затем падает ниже контрольных значений к концу наблюдения. В дооперационном периоде, а также на 14-е и 21-е сутки наблюдения, количество $CD3^+CD8^+CD16^+CD56^-$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП снижено относительно контрольного диапазона. В группе с неблагоприятным исходом заболевания количество $CD3^+CD8^+CD16^+CD56^-$ -клеток достоверно повышено на 7-е и 14-е сутки относительно показателей контроля и группы с благоприятным исходом. В дооперационном периоде и на 7-е сутки наблюдения количество $CD3^+CD8^+CD16^-CD56^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП снижено относительно контрольного диапазона. На 14-е и 21-е сутки лечения у пациентов с благоприятным исходом заболевания наблюдается последовательная динамика, направленная на восстановление $CD3^+CD8^+CD16^-CD56^+$ -клеток вплоть до контрольных значений (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=9,60$, $p=0,022$). В группе с неблагоприятным исходом РГП число данных клеток снижено в дооперационном периоде и на 21-е сутки относительно показателей контроля и группы с благоприятным исходом заболевания.

В дооперационном периоде количество $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП повышено более чем в 2 раза относительно контрольного диапазона (табл. 25). На 7-е сутки повышение сохраняется, но появляется последовательная динамика к снижению (Friedman

Таблица 24. Субпопуляционный состав НКТ-клеток с экспрессией CD8 у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	1	0,54 (0,32 – 0,86)	0,25 (0,15 – 0,44) p ₁ =0,019	0,54 (0,28 – 0,74)	0,39 (0,20 – 0,68)	0,62 (0,37 – 1,01) p ₂ =0,038
	2		0,57 (0,13 – 1,28)	0,83* (0,74 – 1,80) p ₁ =0,042	0,41 (0,38 – 0,92) p ₃ =0,039	0,31 (0,12 – 0,40) p ₁ =0,041 p ₃ =0,009
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁻ , %	1	0,17 (0,11 – 0,21)	0,06 (0,04 – 0,12) p ₁ <0,001	0,12 (0,10 – 0,18)	0,05 (0,03 – 0,07) p ₁ <0,001 p ₃ =0,048	0,07 (0,04 – 0,08) p ₁ <0,001
	2		0,09 (0,05 – 0,89)	0,57 (0,11 – 1,25) p ₁ =0,045	0,66** (0,30 – 1,06) p ₁ <0,001	0,14 (0,06 – 0,50) p ₄ =0,028
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁻ CD56 ⁺ , %	1	1,54 (1,03 – 2,13)	0,59 (0,37 – 1,24) p ₁ =0,004	0,76 (0,35 – 1,50) p ₁ =0,039	1,27 (0,28 – 1,69)	1,59 (1,34 – 2,02) p ₂ =0,042
	2		0,21 (0,09 – 0,88) p ₁ <0,001	0,80 (0,31 – 2,08)	0,81 (0,48 – 1,82) p ₂ =0,048	0,66** (0,20 – 0,72) p ₁ <0,001

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Таблица 25. Процентное количество субпопуляций NKT-клеток, экспрессирующих CD11b, у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	1	0,013 (0,004 – 0,043)	0,041 (0,016 – 0,072) p ₁ =0,034	0,060 (0,027 – 0,113) p ₁ =0,027	0,032 (0,015 – 0,050) p ₃ =0,040	0,034 (0,008 – 0,105)
	2		0,034 (0,005 – 0,173)	0,016 (0,005 – 0,028)	0,046 (0,021 – 0,098)	0,005 (0,003 – 0,028)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁻ CD11b ⁺ , %	1	0,023 (0,012 – 0,030)	0,042 (0,021 – 0,060) p ₁ =0,046	0,060 (0,039 – 0,311) p ₁ =0,022	0,041 (0,022 – 0,112) p ₁ =0,028	0,060 (0,021 – 0,152) p ₁ =0,045
	2		0,015 (0,005 – 0,106)	0,008** (0,004 – 0,009) p ₁ <0,001	0,009* (0,003 – 0,023)	0,071 (0,068 – 0,080) p _{1,2,3} <0,001 p ₄ =0,012
CD3 ⁺ CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	1	0,133 (0,097 – 0,798)	0,377 (0,256 – 0,610)	0,510 (0,442 – 0,993)	0,392 (0,222 – 0,687)	0,678 (0,555 – 1,163) p ₁ =0,040
	2		1,080** (0,621 – 1,203) p ₁ =0,023	0,804 (0,223 – 2,549) p ₁ =0,038	0,637 (0,209 – 1,371) p ₁ =0,047	0,990 (0,333 – 2,254) p ₁ =0,019

Примечание: то же, что и для табл. 6.

ANOVA by Ranks: $\chi^2=12,60$, $p=0,006$), и к концу наблюдения уровень данных клеток достигает значений контрольной группы. В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП количество $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток в ходе всего периода наблюдения оставалось на уровне контрольной группы. У больных с благоприятным исходом РГП в ходе всего периода наблюдения повышено количество $CD3^+CD16^+CD56^-CD11b^+$ -клеток относительно контрольного диапазона. В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП количество $CD3^+CD16^+CD56^-CD11b^+$ -клеток снижено на 7-е сутки наблюдения относительно показателей контроля и пациентов с благоприятным течением. К концу наблюдения количество данных клеток значительно возрастает и достигает значений группы с благоприятным исходом РГП. На 21-е сутки послеоперационного периода в крови у больных РГП с благоприятным исходом повышается количество $CD3^+CD16^-CD56^+CD11b^+$ -клеток относительно контрольного диапазона. В тоже время, у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания в ходе всего периода наблюдения возрастает число данных клеток относительно значений контрольной группы, в дооперационном периоде их повышенное содержание выявляется и относительно показателей группы с благоприятным исходом РГП.

В группе с благоприятным исходом РГП снижается относительное число $CD3^+CD16/56^+CD57^+$ и $CD3^+CD16/56^+CD28^+$ -клеток в дооперационный период, после чего данные клетки проявляют тенденцию к нормализации вплоть до конца лечения (табл. 26). В группе с неблагоприятным исходом заболевания относительное число $CD3^+CD16/56^+CD57^+$ и $CD3^+CD16/56^+CD28^+$ -клеток снижается в дооперационном периоде, и остается сниженным вплоть до 14-х суток наблюдения, после чего наблюдается восстановление числа данных клеток.

При исследовании уровня MFI CD28 на поверхности NKT-клеток у больных с благоприятным исходом РГП существенных отличий не обнаружено (рис. 13). В группе с неблагоприятным исходом заболевания отмечалось снижение уровня MFI CD28 на NKT-клетках на 21-е сутки лечения относительно контрольных значений и показателей группы с благоприятным исходом РГП.

Таблица 26. Содержание субпопуляций NKT-клеток, экспрессирующих CD28 и CD57, у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ CD28 ⁺ , %	1	1,49 (0,82–3,18)	0,91 (0,50–1,62) p ₁ =0,045	1,44 (0,57–3,20) p ₂ =0,048	0,85 (0,59–2,68)	0,96 (0,52–4,42)
	2		0,35 (0,17–1,15) p ₁ =0,005	0,57 (0,42–1,33) p ₁ =0,017	1,17 (0,28–2,60) p ₁ =0,028	1,85 (0,95–1,31) p ₂ =0,044
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ CD57 ⁺ , %	1	1,30 (0,20–2,30)	0,97 (0,67–1,72) p ₁ =0,046	1,19 (0,69–2,16)	1,33 (0,70–1,71)	1,39 (1,12–1,81)
	2		0,62 (0,05–0,88) p ₁ =0,010	0,18 (0,04–1,04) p ₁ =0,032	0,51 (0,05–1,10) p ₁ =0,039	0,97 (0,18–1,01)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

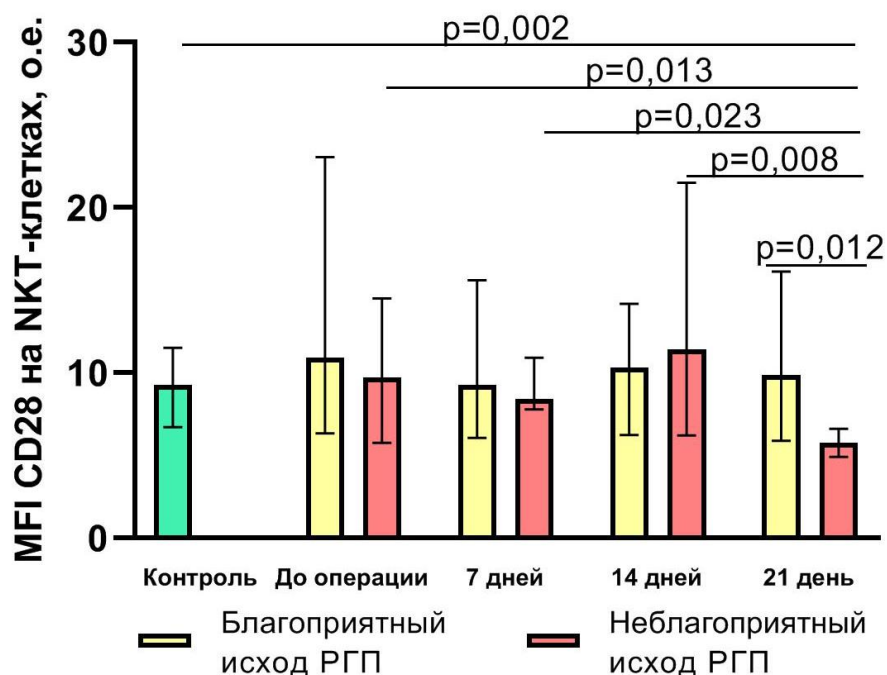


Рисунок 13 – Уровень экспрессии (по MFI) CD28 на поверхности NKT-клеток у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

У больных с благоприятным исходом РГП отмечается снижение уровня MFI CD57 на поверхности NKT-клеток на 21-е сутки наблюдения относительно контрольных значений и показателей группы с неблагоприятным исходом заболевания (рис. 14).

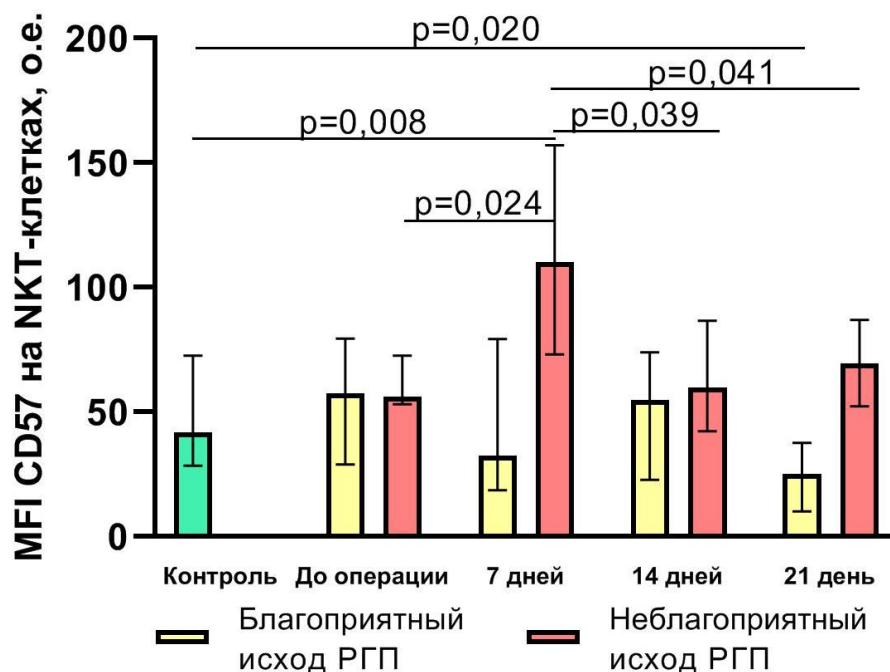


Рисунок 14 – Уровень экспрессии (по MFI) CD57 на поверхности NKT-клеток у больных РГП в динамике послеоперационного периода.

У больных с неблагоприятным исходом заболевания повышенный уровень MFI CD57 на NKT-клетках относительно контрольных значений выявляется на 7-е сутки после операции. В дальнейшем, MFI CD57 снижался до уровня показателей контрольной группы и сохранялся на этом уровне до конца наблюдения.

В группе с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие корреляционных связей между NKT-клетками и субпопуляциями NK-клеток, а также между нейтрофильными гранулоцитами и NKT-клетками (табл. 27). В группе с неблагоприятным исходом заболевания в дооперационном периоде выявляется наличие корреляционных связей только между NKT-клетками и нейтрофильными гранулоцитами, причем их количество меньше, чем при благоприятном исходе.

Таблица 27. Корреляционные связи между различными фенотипами клеток врожденного иммунитета в зависимости от исхода РГП.

Взаимосвязанные показатели	r	p
Благоприятный исход РГП		
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺)	0.55	0.017
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ^{Low})	0.64	0.004
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺)	0.53	0.020
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ^{Low} CD11b ⁺)	0.64	0.004
NKT-клетки MFI CD28 (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD28 ⁺) / NK-клетками (CD56 ⁺)	-0.54	0.019
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.76	0.028
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.58	0.007
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / ФИ Нейтрофилов (CD16 ⁺ A per. ⁺)	-0.84	0.016
Неблагоприятный исход РГП		
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD28 ⁺)	0.70	0.035
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD62L ⁺)	-0.76	0.015
NKT-клетки MFI CD28 (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD28 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.68	0.042

Таким образом, независимо от исхода РГП отмечалось снижение числа NK- и NKT-клеток в дооперационном периоде, при этом в группе пациентов с благоприятным исходом заболевания к 21-м суткам послеоперационного лечения количество этих клеток восстанавливалось за счет увеличения числа CD3⁻CD16⁺CD56^{dim-} и CD3⁻CD16⁻CD56^{hi}-клеток, а также CD3⁺CD16⁻CD56⁺- и CD3⁺CD8⁺CD16⁺CD56⁺-клеток, соответственно.

3.3 Изменение фенотипа Т-клеток крови у больных в зависимости от исхода РГП

После распознавания в очаге воспаления патогенов клетками врожденного иммунитета и этапа первичной презентации происходит активация адаптивного иммунного ответа, реализующегося посредством клональной экспансии специфических Т- и В-лимфоцитов. Т-клетки являются одним из основных

звеньев адаптивного иммунного ответа, выполняя как эффекторные, так и регуляторные функции, нарушение которых на фоне воспалительного процесса может оказывать значительное влияние на течение и исход заболевания.

У больных с РГП в дооперационном периоде обнаружено снижение абсолютного количества лимфоцитов в крови (табл. 28). На 7-е и 14-е сутки независимо от исхода РГП снижение числа лимфоцитов сохраняется, но наблюдается тенденция к повышению их количества, к 21-м суткам послеоперационного периода их количество достигает контрольного диапазона.

Таблица 28. Содержание CD3⁺-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль n=67 (1)	Дооперационный период, n=27 (2)	7 сутки после операции, n=25 (3)	14 сутки после операции, n=21 (4)	21 сутки после операции, n=21 (5)
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1	2,05 (1,56–2,60)	1,06 (0,78–1,33) p ₁ <0,001	1,32 (0,83 – 2,53) p ₁ =0,007 p ₂ =0,017	1,34 (0,90 – 2,08) p ₁ =0,007	2,15 (1,35 – 3,89)
	2		0,70 (0,37–1,25) p ₁ <0,001	0,87 (0,70 – 1,81) p ₁ <0,001	1,06 (0,65 – 1,11) p ₁ <0,001	2,06 (1,27 – 2,85) p ₂ =0,009 p ₃ =0,032
CD3 ⁺ , %	1	68,0 (62,5–74,0)	76,1 (71,7–82,0) p ₁ <0,001	72,6 (67,2 – 81,5) p ₁ =0,009	80,0 (70,0 – 82,6) p ₁ =0,003	76,9 (69,9 – 89,9) p ₁ =0,042
	2		73,1 (67,0–88,3) p ₁ =0,048	70,7 (63,8 – 78,9)	75,4 (64,3 – 82,2)	75,9 (61,0 – 81,6)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

До операции и на всем протяжении послеоперационного периода у пациентов с благоприятным исходом заболевания сохраняется повышенное относительное число CD3⁺-клеток. У пациентов с неблагоприятным исходом заболевания повышение относительного числа CD3⁺-клеток отмечается только в дооперационном периоде. При этом между группами пациентов достоверных различий в количестве CD3⁺-клеток не обнаружено.

К концу периода обследования независимо от исхода заболевания, как относительно контрольного уровня, так и исходных значений понижается относительное число CD3⁺CD28⁺-лимфоцитов (табл. 29).

Таблица 29. Относительное число CD3⁺-лимфоцитов, экспрессирующих CD25 и CD28, в крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD25 ⁺ , %	1	4,9 (2,5 – 11,1)	7,4 (4,5 – 10,2)	5,5 (4,1 – 10,6)	6,3 (4,1 – 13,8)	4,9 (4,6 – 9,8)
	2		7,2 (2,4 – 9,8)	4,0 (2,0 – 10,4)	7,3 (2,5 – 11,6)	6,2 (3,4 – 9,9)
CD3 ⁺ CD28 ⁺ , %	1	65,0 (56,1–71,4)	68,7 (62,4–75,9)	56,2 (48,4 – 72,0)	54,3 (49,3 – 69,1)	36,1 (32,1 – 38,2) p ₁ =0,045 p _{2,3,4} <0,008
	2		66,9 (59,9–72,7)	64,6 (50,2 – 71,4)	60,1 (56,1 – 69,6)	50,1 (31,0 – 59,3) p ₁ =0,031 p ₂ =0,040

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В обеих группах, независимо от исхода заболевания относительное число $CD3^+CD25^+$ -лимфоцитов остается на уровне контрольных значений в течение всего периода наблюдения. Между группами пациентов достоверных различий не обнаружено.

Относительное содержание $CD3^+CD57^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП повышается на 14-е сутки обследования относительно контрольного уровня и значений, выявленных у данных лиц в дооперационном периоде и на 7-е сутки послеоперационного периода (табл. 30). В группе с неблагоприятным исходом заболевания число данных клеток остается на уровне контрольных значений, при этом на 14-е и 21-е сутки оно достоверно ниже аналогичного показателя группы с благоприятным исходом РГП. Относительное количество $CD3^+CD62L^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП повышено в дооперационном периоде относительно контрольных значений. В дальнейшем, на 7-е и 14-е сутки лечения число данных клеток снижается до уровня контрольной группы, а к 21-м суткам наблюдения их число достоверно снижается относительно контрольных значений. В группе с неблагоприятным исходом заболевания в первые 3-и недели наблюдения число $CD3^+CD62L^+$ -клеток остается на уровне контрольных значений. При этом, на всем протяжении послеоперационного периода наблюдается последовательная динамика к снижению содержания $CD3^+CD62L^+$ -клеток (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=8,10$, $p=0,043$). На 21-е сутки наблюдения число данных клеток достоверно снижено относительно значений контрольной группы. При этом в ходе всего наблюдения число этих клеток в группе с неблагоприятным исходом РГП было достоверно ниже аналогичного параметра группы с благоприятным исходом заболевания.

В группе пациентов с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде отмечалось повышение относительного числа $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов относительно контрольных значений (табл. 31). На 7-е и 14-е сутки наблюдения число этих клеток снижалось до контрольного диапазона, а к 21-м суткам — опускалось достоверно ниже аналогичного показателя контрольной группы.

Таблица 30. Содержание CD3⁺-лимфоцитов, экспрессирующих CD57 и CD62L, в крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD57 ⁺ , %	1	8,5 (4,8 – 12,3)	8,5 (4,5 – 16,1)	11,3 (8,2 – 18,8)	20,1 (11,3 – 22,6) p ₁ =0,009 p ₂ =0,048 p ₃ =0,049	27,5 (20,8 – 29,2) p ₁ =0,002 p ₂ =0,027 p ₃ =0,026
	2		10,6 (9,5 – 13,0)	7,8 (4,6 – 17,2)	7,4** (4,6 – 10,2)	13,5** (13,0 – 15,5) p ₁ =0,014
CD3 ⁺ CD62L ⁺ , %	1	42,2 (36,7–51,0)	51,2 (47,2–55,0) p ₁ =0,034	48,9 (34,2 – 54,6)	46,7 (41,0 – 52,5)	32,5 (27,2 – 36,0) p ₁ =0,008 p ₂ =0,014
	2		38,0* (34,1–48,1)	35,5* (31,6 – 48,4)	40,0* (19,1 – 40,2)	27,0* (23,3 – 33,4) p ₁ =0,008

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания в первые 3-и недели наблюдения изменений относительного числа CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов не отмечалось. На 21-е сутки наблюдения число данных клеток у пациентов с неблагоприятным исходом РГП достоверно снижалось относительно контрольного уровня. Абсолютное содержание CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов у больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде в 1,3 раза ниже, чем у лиц контрольной группы, начиная с 7-х суток после операции их количество

Таблица 31. Содержание CD3⁺CD4⁺-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, С25 – С75)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	1	43,1 (35,0 – 48,0)	54,0 (45,7 – 60,5) p ₁ <0,001	45,1 (37,7 – 51,6)	46,7 (39,8 – 50,6)	31,5 (28,5 – 37,5) p ₁ =0,029 p ₂ =0,008
	2		46,5 (42,5 – 52,4)	42,6 (33,0 – 50,2)	38,0 (19,2 – 51,2)	26,3 (25,7 – 37,5) p ₁ =0,020 p ₂ =0,017
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,83 (0,56 – 1,16)	0,62 (0,40 – 0,72) p ₁ =0,002	0,74 (0,35 – 1,15)	0,61 (0,42 – 0,98)	0,74 (0,50 – 1,08)
	2		0,37* (0,19 – 0,59) p ₁ <0,001	0,34* (0,28 – 0,46) p ₁ <0,001	0,41* (0,13 – 0,55) p ₁ =0,001	0,61 (0,48 – 0,75) p ₃ =0,040
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD62L ⁺ , %	1	29,4 (24,6 – 35,9)	53,3 (39,7 – 83,1) p ₁ <0,001	53,0 (36,2 – 78,1) p ₁ <0,001	38,1 (30,8 – 77,8) p ₁ =0,036 p ₂ =0,010 p ₃ =0,008	21,3 (18,7 – 27,9) p ₁ =0,039 p _{2,3} <0,001
	2		32,2* (29,8 – 46,6)	39,6* (20,6 – 52,9)	31,1 (28,6 – 59,9)	26,5 (19,8 – 68,0)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

повышается до контрольных значений. При этом у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания абсолютное число $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов снижено в первые 3-и недели наблюдения относительно показателей контроля и группы с благоприятным исходом РГП и только к 21-м суткам достигает контрольных значений. Относительное содержание $CD3^+CD4^+CD62L^+$ -клеток у пациентов с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде повышено относительно контрольных значений, начиная с дооперационного периода и вплоть до 14-х суток наблюдения. Начиная с 7-х суток, четко прослеживается тенденция к снижению числа данных клеток (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=13,08$, $p=0,004$). На 21-е сутки число $CD3^+CD4^+CD62L^+$ -клеток снижается ниже уровня контрольной группы. В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП число $CD3^+CD4^+CD62L^+$ -клеток в ходе всего периода наблюдения остается на уровне контрольных значений. При этом в первые 2-е недели наблюдения число данных клеток объективно ниже аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

Относительный уровень $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ - и $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}CD62L^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде в 2,2 и 1,9 раз выше соответственно, чем у лиц контрольной группы (табл. 32). На 7-е и 14-е сутки лечения их количество остается повышенным, но на 21-е сутки послеоперационного периода снижается до уровня контрольных значений. В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП в первые 3-и недели наблюдения относительное и абсолютное количество $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ - и $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}CD62L^+$ -клеток остается на уровне контрольной группы, при этом в дооперационном периоде число данных клеток достоверно ниже аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания. На 21-е сутки наблюдения число этих клеток у пациентов с неблагоприятным исходом РГП достоверно снижено относительно показателей контрольной группы и 14-х суток исследования.

Таблица 32. Относительное число регуляторных Т-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, С25 – С75)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Доопераци онный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD127 ^{Low} CD25 ^{High} , %	1	5,1 (4,0–6,6)	11,2 (7,4–15,5) p ₁ <0,001	9,4 (4,8–15,8) p ₁ =0,001	6,4 (5,0–17,1) p ₁ =0,026	3,2 (2,8–4,1) p _{2,3} <0,001 p ₄ =0,034
	2		4,4* (3,0–10,5)	6,3 (2,5–14,8)	6,4 (5,4–17,0)	2,6 (0,3–4,4) p ₁ =0,034 p ₄ =0,006
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD127 ^{Low} CD25 ^{High} CD62L ⁺ , %	1	3,8 (2,9–4,9)	7,3 (5,8–10,5) p ₁ <0,001	6,5 (4,1–8,7) p ₁ =0,001	5,7 (4,0–11,6) p ₁ =0,027	2,6 (2,3–3,4) p _{2,3} <0,001 p ₄ =0,025
	2		3,4* (2,1–5,5)	3,5 (1,2–6,6)	4,8 (4,2–8,2)	2,3 (0,8–2,9) p ₁ =0,045 p ₄ <0,001

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В группе пациентов с благоприятным исходом РГП в первые 3-и недели наблюдения относительное число CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов остается на уровне контрольных значений и только на 21-е сутки исследования отмечалось повышение числа данных клеток относительно контрольных значений (табл. 33). В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания число CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов остается на уровне контрольной группы в ходе всего периода наблюдения. Абсолютное количество CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов у больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде снижено относительно контрольного уровня в 2,6 раза. На 7-е сутки лечения сниженное содержание

этих клеток сохраняется, но на 21-е сутки лечения количество $CD3^+CD8^+$ -клеток повышается как относительно контрольного уровня (в 1,6 раза), так и исходного (в 4,3 раза). В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания абсолютное число $CD3^+CD8^+$ -лимфоцитов снижено относительно показателей контрольной группы в первые 3-и недели наблюдения, начиная с дооперационного периода. На 21-е сутки лечения количество этих клеток повышается до контрольного уровня. При этом на 14-е и 21-е сутки наблюдения число данных клеток у пациентов с неблагоприятным исходом РГП, достоверно ниже аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания. Относительное содержание $CD3^+CD8^+CD11b^+$ -лимфоцитов при благоприятном исходе РГП в дооперационном периоде и на 7-е сутки после операции соответствует контрольным значениям, но на 14-е и 21-е сутки лечения наблюдается значительное повышение их количества. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное содержание $CD3^+CD8^+CD11b^+$ -лимфоцитов в первые 3-и недели наблюдения, начиная с дооперационного периода, соответствует контрольным значениям. На 21-е сутки лечения наблюдается значительное повышение их количества, как относительно контрольного уровня, так и ранних этапов наблюдения.

При исследовании уровней экспрессии активационных и адгезионных рецепторов на поверхности Т-лимфоцитов обнаружено, что у больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде уровень экспрессии CD28 на $CD3^+$ -клетках выше, чем у лиц контрольной группы, но уже после 7-х суток лечения уровень экспрессии данного маркера снижается до контрольных значений (табл. 34). В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания уровень экспрессии CD28 на $CD3^+$ -клетках выше, чем у лиц контрольной группы в ходе всего периода наблюдения. При этом на 14-е сутки наблюдения у пациентов с неблагоприятным исходом РГП уровень экспрессии CD28 на $CD3^+$ -клетках достоверно выше аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

Таблица 33. Содержание CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, С25 – С75)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	1	27,0 (21,2 – 32,0)	21,2 (14,8 – 28,4)	22,2 (19,7 – 31,5)	37,2 (23,0 – 40,3)	41,0 (32,6 – 42,0) p ₁ =0,045 p ₂ =0,007
	2		23,5 (15,3 – 27,1)	19,2 (14,7 – 27,7)	19,6 (16,9 – 31,4)	33,9 (31,5 – 36,2)
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,55 (0,37 – 0,80)	0,21 (0,13 – 0,33) p ₁ =0,013	0,30 (0,21 – 0,35) p ₁ =0,002	0,43 (0,20 – 0,86)	0,90 (0,54 – 1,63) p ₁ =0,025 p _{2,3} <0,001
	2		0,13 (0,08 – 0,19) p ₁ <0,001	0,23 (0,16 – 0,25) p ₁ <0,001	0,21* (0,19 – 0,34) p ₁ =0,005	0,68* (0,46 – 0,90) p _{2,3,4} <0,001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD11b ⁺ , %	1	24,9 (20,2 – 29,7)	21,2 (14,8 – 28,3)	22,0 (19,7 – 31,4)	37,1 (22,6 – 40,2) p ₁ =0,041 p ₂ =0,046	40,7 (32,6 – 41,8) p ₁ =0,018 p ₂ =0,007 p ₃ =0,010
	2		23,5 (15,3 – 27,0)	19,1 (14,7 – 27,1)	19,3 (16,7 – 30,9)	33,5 (31,2 – 35,8) p ₁ =0,032 p _{1,2} <0,001 p ₄ =0,012

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Уровень экспрессии CD57 на CD3⁺-лимфоцитах при благоприятном исходе РГП в дооперационном периоде и первые две недели послеоперационного периода соответствует контрольному диапазону, тогда как на 21-е сутки лечения наблюдается значительное понижение уровня экспрессии данного маркера как относительно контрольных, так и исходных значений. У пациентов с неблагоприятным исходом РГП наблюдается повышенный уровень экспрессии CD57 на CD3⁺-лимфоцитах в ходе всего послеоперационного периода, начиная с 7-х суток наблюдения, как относительно показателей контроля, так и группы с благоприятным исходом заболевания.

Таблица 34. Уровни экспрессии CD28 и CD57 на Т-лимфоцитах крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
MFI CD28 на CD3 ⁺ о.е.	1	12,00 (10,00–13,70)	16,40 (12,80–18,50) p ₁ <0,001	14,00 (11,00–18,30) p ₂ =0,028	13,45 (11,95–15,05)	13,65 (11,15–15,85)
	2		15,70 (12,80–17,90) p ₁ =0,003	14,45 (12,00–16,80) p ₁ =0,045	19,85** (15,10–21,15) p ₁ =0,031	14,15 (12,70–15,60) p ₁ =0,043
MFI CD57 на CD3 ⁺ , о.е.	1	35,25 (24,10–47,90)	44,00 (20,70–63,60)	21,40 (12,30–66,70)	34,10 (15,90–41,70)	21,00 (8,27–33,65) p ₁ =0,029 p ₂ =0,038
	2		44,20 (28,30–51,50)	56,20* (30,10–98,80) p ₁ =0,025	50,30* (38,90–59,10) p ₁ =0,046	43,55* (42,70–44,40) p ₁ =0,048

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Таблица 35. Уровни экспрессии CD62L на Т-лимфоцитах крови у больных РГП в динамике лечения (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
MFI CD62L на CD3 ⁺ -клетках, о.е.	1	3,47 (2,91 – 4,44)	5,15 (3,18 – 6,52) p ₁ =0,042	4,74 (4,01 – 6,31) p ₁ =0,024	5,09 (4,64 – 6,63) p ₁ =0,021	5,46 (4,64 – 6,62) p ₁ =0,039
	2		6,75 (3,89 – 8,06) p ₁ =0,042	5,17 (4,80 – 5,96) p ₁ =0,010	6,96 (5,62 – 8,88) p ₁ =0,015	5,66 (5,17 – 6,14) p ₁ =0,038
MFI CD62L на CD3 ⁺ CD4 ⁺ - клетках, о.е.	1	3,26 (2,61 – 4,46)	4,83 (3,64 – 6,08) p ₁ =0,027	4,50 (3,79 – 5,92) p ₁ =0,018	4,75 (3,97 – 6,20) p ₁ =0,017	5,38 (4,95 – 6,51) p ₁ =0,030
	2		6,08 (3,67 – 7,93) p ₁ =0,014	5,17 (4,66 – 5,66) p ₁ =0,012	6,60 (5,35 – 8,38) p ₁ =0,019	5,30 (4,65 – 5,94) p ₁ =0,018
MFI CD62L на Treg, о.е.	1	3,21 (2,66 – 4,39)	4,28 (2,96 – 5,41)	4,50 (3,77 – 5,67) p ₁ =0,008	4,61 (3,44 – 5,89) p ₁ =0,029	4,96 (4,50 – 6,30) p ₁ =0,032
	2		5,07 (3,56 – 5,44) p ₁ =0,024	5,19 (4,31 – 5,65) p ₁ =0,039	6,60 (5,25 – 7,33) p ₁ =0,008	5,28 (4,62 – 5,94) p ₁ =0,020

Примечание: то же, что и для табл. 6.

Независимо от исхода РГП уровень экспрессии CD62L на CD3⁺- и CD3⁺CD4⁺-клетках повышен относительно контрольного уровня в ходе всего наблюдения (табл. 35). При этом между группами пациентов достоверных различий по данному показателю не наблюдалось. В то же время, в группе пациентов с благоприятным исходом заболевания уровень экспрессии CD62L на CD3⁺CD4⁺CD127^{Low}CD25^{High}CD62L⁺-клетках в дооперационном периоде соответствует контрольным диапазонам, тогда как в послеоперационном периоде, с 7-х суток и до конца наблюдения достоверно превышает показатели контрольной группы. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания уровень экспрессии CD62L на CD3⁺CD4⁺CD127^{Low}CD25^{High}CD62L⁺-клетках достоверно выше контрольного диапазона в ходе всего периода наблюдения. При этом между группами пациентов достоверных различий по данному показателю не наблюдалось.

При исследовании концентрации цитокинов и хемокинов в периферической крови у больных с благоприятным исходом РГП наблюдалось многократное повышение содержания IL-4 относительно контрольного уровня и значений, выявленных у пациентов с неблагоприятным течением заболевания (рис.13).

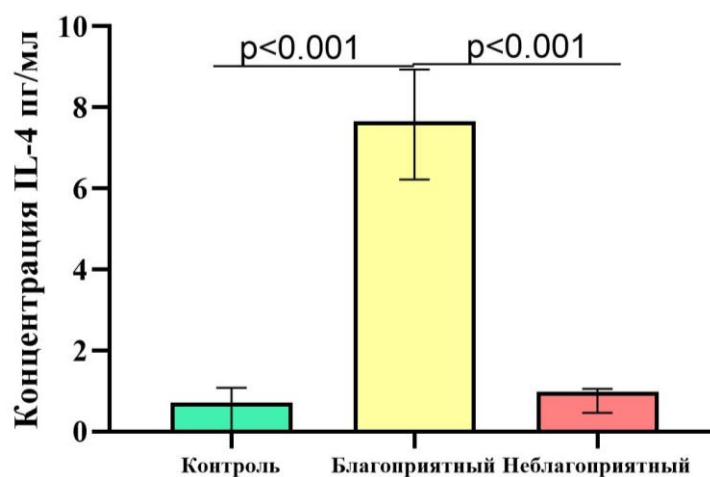


Рисунок 13 – Концентрация IL-4 в дооперационный период в крови больных РГП. p – статистически значимые различия.

У больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде наблюдалось повышение концентрации IL-8 в периферической крови относительно контрольных значений (рис. 14).

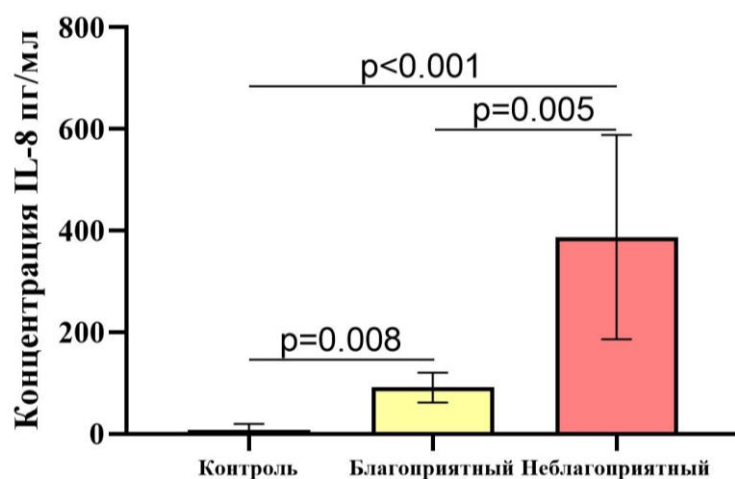


Рисунок 14 – Концентрация IL-8 в дооперационный период в крови больных РГП. p – статистически значимые различия.

В группе с неблагоприятным исходом РГП выявлялось 17-и кратное повышение концентрации IL-8 относительно контрольных значений и 4-х кратное – в сравнении с показателями группы больных с благоприятным исходом.

У больных с РГП в обеих группах в дооперационном периоде наблюдалось повышение концентрации IL-10 в периферической крови относительно контрольных значений (рис. 15). При этом в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП наблюдалось 2-х кратное повышение концентрации IL-10 в сравнении с показателями больных с благоприятным исходом.

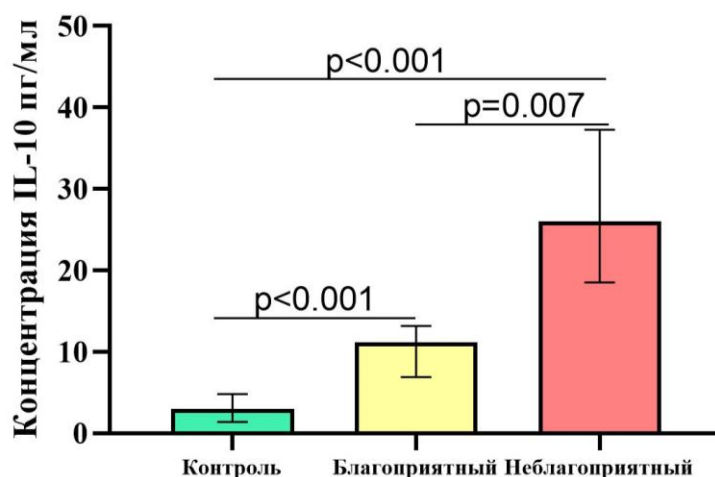


Рисунок 15 – Концентрация IL-10 в периферической крови в дооперационный период РГП. p – статистически значимые различия.

Таблица 36. Корреляционные связи между показателями врождённого и адаптивного иммунитета в зависимости от исхода РГП.

Взаимосвязанные показатели	r	p
Благоприятный исход РГП		
Т-клетки (CD3 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺)	-0.50	0.022
Т-клетки (CD3 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ^{low})	-0.56	0.009
Т-клетки (CD3 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺)	-0.49	0.026
Т-клетки (CD3 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ^{low} CD11b ⁺)	-0.45	0.035
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺) / NK-клетки (CD56 ⁺)	-0.43	0.045
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD127 ^{Low} CD25 ^{High}) / NK-клетки (CD56 ⁺)	-0.66	0.001
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD127 ^{Low} CD25 ^{High} CD62L ⁺) / NK-клетки (CD56 ⁺)	-0.55	0.018
Т-клетки (CD3 ⁺) / NKT-клетки MFI CD57 (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD57 ⁺)	0.64	0.004
Т-клетки (CD3 ⁺) / ФИ Моноцитов (CD14 ⁺ A пер. ⁺)	0.90	0.037
Т-клетки (CD3 ⁺ CD25 ⁺) / IL-8	-0.75	0.025
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺) / IL-8	-0.76	0.021
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD62L ⁺) / IL-8	-0.85	0.006
Т-клетки (CD3 ⁺) / IL-10	-0.71	0.034
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺) / IL-4	0.73	0.043
NKT-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺) / IL-4	0.89	0.012
NK-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ CD11b ⁺) / IL-10	0.67	0.037
NK-клетки MFI CD57 (CD56 ⁺ CD57 ⁺) / IL-8	0.73	0.046
NK-клетки MFI CD28 (CD56 ⁺ CD28 ⁺) / IL-10	0.80	0.014
Неблагоприятный исход РГП		
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD62L ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	-0.66	0.037
Т-клетки (CD3 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD62L ⁺)	0.63	0.047
Т-клетки (CD3 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD23 ⁺)	-0.90	0.037
Т-клетки (CD3 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ HLA-DR ⁺)	-0.68	0.042
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺) / Моноциты (CD14 ⁺)	0.77	0.005
Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺) / Моноциты (CD14 ⁺)	0.64	0.042
Т-клетки MFI CD28 (CD3 ⁺ CD28 ⁺) / Моноциты (CD14 ⁺)	0.81	0.007
Т-клетки (CD3 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺)	-0.73	0.006
Т-клетки (CD3 ⁺) / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺)	-0.69	0.012
Т-клетки (CD3 ⁺) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ^{low})	0.71	0.009
Т-клетки (CD3 ⁺) / NKT-клетки MFI CD28 (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD28 ⁺)	-0.76	0.015
Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺) / NK-клетки (CD56 ⁺)	0.90	0.037

В группе с благоприятным течением РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие корреляционных связей между Т-клетками и популяциями НК- и NKT-клеток, ФИ моноцитов, а также интерлейкинами IL-4, IL-8 и IL-10 (табл. 36). Кроме того, у данной категории больных также выявлялись корреляционные связи между IL-4 и популяциями NKT-клеток, а также популяциями НК-клеток и содержанием IL-8 и IL-10. В группе с неблагоприятным течением РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие взаимосвязей между Т-клетками и нейтрофильными гранулоцитами, моноцитами и популяциями НК- и NKT-клеток.

Таким образом, в дооперационном периоде и впервые недели послеоперационного лечения в группе пациентов с благоприятным исходом РГП отмечается повышение числа $CD3^+CD4^+$ -, $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ - и $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}CD62L^+$ -клеток, при этом в группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания повышение числа данных фракций клеток отмечалось только на 14-е сутки лечения и носило кратковременный характер.

3.4 Изменение фенотипа В-лимфоцитов у больных РГП в динамике послеоперационного периода в зависимости от исхода заболевания

В-клетки играют ключевую роль в поддержании гуморального иммунного ответа на различные инфекционные агенты, обеспечивая генерализацию и разрешение воспалительного процесса на поздних этапах. При исследовании фенотипа В-лимфоцитов крови у больных РГП обнаружено, что в дооперационном периоде относительное содержание $CD19^+$ -клеток у обследованных пациентов соответствует контрольным значениям и не зависит от исхода заболевания (табл. 37). В послеоперационном периоде при благоприятном исходе РГП наблюдается последовательное снижение количества $CD19^+$ -лимфоцитов относительно контрольного диапазона и исходных значений (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=11,10$, $p=0,011$). На 14-е и 21-е сутки наблюдения в группе пациентов с благоприятным исходом заболевания наблюдается

Таблица 37. Содержание В-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Гр.	Контроль, n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD19 ⁺ , %	1	12,0 (9,4 – 14,6)	10,8 (7,2 – 17,4)	9,0 (5,9 – 14,3)	7,7 (5,3 – 11,3) p ₁ =0,006	4,6 (2,0 – 7,9) p=0,009
	2		12,4 (8,1 – 22,5)	21,7* (16,0 – 21,4) p ₁ =0,001	17,7* (10,0 – 20,0)	10,5* (7,5 – 13,4)
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /л	1	0,23 (0,17 – 0,30)	0,12 (0,07 – 0,22) p ₁ =0,002	0,12 (0,08 – 0,20) p ₁ <0,001	0,09 (0,07 – 0,18) p ₁ =0,004	0,09 (0,07 – 0,14) p ₁ =0,002
	2		0,12 (0,08 – 0,16) p ₁ =0,004	0,18 (0,12 – 0,24)	0,15 (0,10 – 0,20)	0,17 * (0,13 – 0,20)
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	1	12,6 (10,4 – 17,9)	8,2 (5,7 – 16,2)	7,4 (5,2 – 8,7) p ₁ =0,009	5,1 (3,7 – 8,0) p ₁ =0,003	4,3 (1,9 – 7,4) p ₁ =0,004
	2		11,1 (3,2 – 26,8)	24,7** (13,3 – 33,7) p ₁ =0,037	10,7 * (7,1 – 14,8)	13,3** (10,4 – 17,3)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

достоверное снижение числа данных клеток относительно контрольной группы. В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП относительное число CD19⁺-клеток 2-хкратно повышается на 7-сутки наблюдения, при этом в дооперационном периоде, а также на 14-е и 21-е сутки лечения количество данных клеток остается на уровне контрольных значений. Важно отметить, что в течение всего послеоперационного периода число CD19⁺-клеток в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП было достоверно выше аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания. Абсолютное число CD19⁺-клеток в группе пациентов с благоприятным исходом РГП снижено относительно контрольных значений в ходе всего периода наблюдения. При этом в группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания абсолютное число CD19⁺-клеток снижается только в дооперационном периоде, а с 7-х суток восстанавливается до уровня контрольной группы. Содержание CD19⁺CD23⁺-клеток в крови при РГП в дооперационном периоде соответствует контрольному диапазону и не зависит от исхода заболевания. При благоприятном исходе РГП относительное содержание CD19⁺CD23⁺-лимфоцитов последовательно снижается относительно контрольных значений с 7-х суток послеоперационного периода и до минимума – к концу периода обследования (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=11,50$, $p=0,010$). В ходе всего послеоперационного периода, начиная с 7-х суток наблюдения, в группе пациентов с благоприятным исходом заболевания наблюдается достоверное снижение числа данных клеток относительно уровня контрольной группы. В группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП относительное число CD19⁺CD23⁺-клеток 2-хкратно повышается на 7-сутки наблюдения, при этом в дооперационном периоде, а также на 14-е и 21-е сутки лечения количество данных клеток остается на уровне контрольных значений. В течение всего послеоперационного периода число CD19⁺CD23⁺-клеток в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП было достоверно выше аналогичного показателя пациентов с благоприятным исходом заболевания.

В дооперационном периоде независимо от исхода РГП относительное число CD19⁺CD27⁻-клеток остается на уровне контрольной группы (табл. 38).

Динамика изменений относительного числа CD19⁺CD27⁻-клеток у больных с благоприятным течением РГП соответствует выявленным по CD19⁺-лимфоцитам (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=11,96$, $p=0,010$).

Таблица 38. Содержание наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD19 ⁺ CD27 ⁻ , %	1	11,0 (8,1–14,5)	8,9 (5,2 – 12,1)	7,0 (4,8 – 8,0)	5,5 (4,2 – 9,1) $p_1=0,003$	3,2 (1,8 – 5,2) $p_1=0,005$
	2		9,0 (5,9 – 18,4)	20,2** (10,9 – 28,9) $p_1=0,041$	15,2** (9,4 – 15,8)	8,0** (4,2 – 11,9)
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	1	2,5 (1,7–5,2)	2,1 (1,2 – 5,3)	2,2 (1,2 – 2,7)	1,7 (0,8 – 2,7)	0,8 (0,2 – 1,7) $p_1=0,031$
	2		3,1 (1,3 – 3,9)	2,0 (1,5 – 4,2)	2,1 (1,3 – 2,3)	2,5 (1,6 – 3,6)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В группе пациентов с благоприятным исходом заболевания число данных клеток снижается на 14-е и 21-е сутки послеоперационного лечения. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное число CD19⁺CD27⁻-клеток 2-хкратно повышается на 7-е сутки наблюдения, при этом в дооперационном периоде, а также на 14-е и 21-е сутки лечения количество данных клеток остается на уровне контрольных значений. В течение всего послеоперационного периода число CD19⁺CD27⁻-клеток в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП было достоверно выше аналогичного показателя

у пациентов с благоприятным исходом заболевания. В группе пациентов с благоприятным исходом РГП относительное число CD19⁺CD27⁺-клеток 3-хкратно снижается на 21-е сутки наблюдения, при этом в дооперационном периоде, а также на 7-е и 14-е сутки лечения количество данных клеток остается на уровне контрольных значений. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное число CD19⁺CD27⁺-клеток в ходе всего периода наблюдения остается на уровне контрольной группы.

В дооперационном периоде не зависимо от исхода РГП относительное число CD19⁺CD27⁺CD23⁺-лимфоцитов остается на уровне контрольной группы (табл. 39).

Таблица 39. Содержание наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти, экспрессирующих CD23, у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD19 ⁺ CD27 ⁺ CD23 ⁺ , %	1	10,6 (7,1–12,2)	8,4 (5,7 – 14,3)	6,6 (5,1-7,4) p ₁ =0,047	4,1 (3,2 – 5,3) p ₁ =0,002	2,9 (1,6 – 4,9) p ₁ =0,001
	2		9,5 (5,4 – 22,8)	22,8*** (18,7 – 27,9) p ₁ =0,008	12,0 * (4,7 – 15,3)	11,8 ** (7,3 – 13,4)
CD19 ⁺ CD27 ⁺ CD23 ⁺ , %	1	2,0 (1,4– 4,6)	1,0 (0,4 – 1,4) p ₁ =0,001	1,2 (0,7 – 2,1)	1,0 (0,4 – 2,4)	1,2 (0,3 – 2,6)
	2		2,1 (0,6 – 3,1)	2,0 (1,1 – 2,8)	1,5 (1,1 – 2,0)	1,5 (1,0 – 2,1)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В послеоперационном периоде у пациентов с благоприятным исходом содержание $CD19^+CD27^-CD23^+$ -лимфоцитов снижается, достигая минимума к концу наблюдаемого периода. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное число $CD19^+CD27^-CD23^+$ -лимфоцитов повышается более чем в 2 раза на 7-е сутки наблюдения, при этом в дооперационном периоде, а также на 14-е и 21-е сутки лечения количество данных клеток остается на уровне контрольных значений. В течение всего послеоперационного периода число $CD19^+CD27^-CD23^+$ -лимфоцитов в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП было достоверно выше аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания. У больных с благоприятным исходом РГП до операции снижено содержание $CD19^+CD27^+CD23^+$ -клеток относительно контрольного уровня, в послеоперационном периоде – достигает контрольного диапазона. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное число данных клеток в ходе всего периода наблюдения остается на уровне контрольной группы.

Количество $CD19^+CD5^+$ -клеток у больных с благоприятным исходом РГП понижено относительно контрольных значений в течение всего периода наблюдения (табл. 40). В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания количество $CD19^+CD5^+$ -клеток достоверно снижено в дооперационном периоде и на 21-е сутки после операции относительно показателей контроля и больных с благоприятным исходом заболевания. На 7-е и 14-е сутки обследования число данных клеток находится на уровне контрольных значений, но при этом оно достоверно выше аналогичного параметра в группе с благоприятным исходом заболевания. Уровень $CD19^+CD5^-$ -лимфоцитов в крови у больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном и в первую неделю послеоперационного периода соответствует контрольным значениям, к концу периода наблюдения снижается до минимума (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=8,90$, $p=0,019$). Число данных клеток достоверно снижено относительно контрольных значений на 14-е и 21-е сутки послеоперационного лечения. В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное число

CD19⁺CD5⁻-лимфоцитов в ходе всего периода наблюдения остается на уровне контрольной группы. В течение всего послеоперационного периода число этих клеток в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП было достоверно выше аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

Таблица 40. Содержание В1- и В2-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Ме, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1	1,7 (1,3 – 3,8)	0,6 (0,4 – 1,7) p ₁ <0,001	0,8 (0,5 – 1,5) p ₁ <0,001	0,5 (0,4 – 0,9) p ₁ <0,001	0,8 (0,3 – 1,7) p ₁ =0,002
	2		0,8 (0,4 – 2,4) p ₁ =0,012	1,8* (1,1 – 2,5)	1,5* (0,8 – 2,7)	0,4* (0,2 – 0,5) p ₁ =0,032
CD19 ⁺ CD5 ⁻ , %	1	10,9 (8,6–15,3)	10,4 (6,6 – 16,0)	8,5 (5,3 – 13,2)	7,9 (4,7 – 10,7) p ₁ =0,043	3,7 (1,8 – 6,2) p ₁ =0,002
	2		10,7 (7,6 – 20,8)	18,2** (14,8 – 29,9)	15,7* (8,8 – 17,1)	10,0** (7,0 – 13,0)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

У больных с благоприятным исходом РГП относительное число CD19⁺CD5⁺CD23⁺-лимфоцитов в дооперационном периоде, а также на 7-е и 14-е сутки послеоперационного периода ниже контрольного уровня и значений, выявляемых при неблагоприятном исходе, но к 21-м суткам лечения достигает контрольного диапазона (табл. 41). В группе с неблагоприятным исходом

заболевания в первые 2-е недели наблюдения число CD19⁺CD5⁺CD23⁺-лимфоцитов остается на уровне контрольной группы, после чего снижается в 2-3 раза относительно контрольного диапазона. При благоприятном исходе заболевания в послеоперационном периоде выявляется последовательное снижение количества CD19⁺CD5⁻CD23⁺-клеток на 7-е, 14-е и 21-е сутки лечения (Friedman ANOVA by Ranks: $\chi^2=9,90$, $p=0,019$).

Таблица 41. Процентное количество В1- и В2-лимфоцитов, экспрессирующих CD23, у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, C₂₅ – C₇₅)

Показатели	Гр	Контроль n=38 (1)	Дооперационный период, n=21 (2)	7 сутки после операции, n=20 (3)	14 сутки после операции, n=18 (4)	21 сутки после операции, n=18 (5)
CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD23 ⁺ , %	1	1,6 (1,0-3,8)	0,6 (0,3 – 1,7) p ₁ =0,002	0,5 (0,4 – 1,5) p ₁ =0,004	0,6 (0,4 – 0,9) p ₁ =0,007	1,0 (0,4 – 1,7)
	2		1,5 (0,1 – 3,2)*	1,9 * (1,0 – 2,4)	0,6 (0,1 – 1,0) p ₁ =0,037	0,3 (0,2 – 0,9) p ₁ =0,005
CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD23 ⁺ , %	1	10,2 (8,0-13,4)	7,6 (5,4 – 14,1)	5,0 (3,1 – 8,3) p ₁ =0,003	4,5 (3,2 – 7,2) p ₁ =0,002	3,6 (1,7 – 5,8) p ₁ =0,004
	2		9,6 (3,1 – 22,6)	22,6 *** (12,0–31,3) p ₁ =0,041	10,1 ** (6,5 – 13,5)	13,0 *** (9,0 – 15,8)

Примечание: то же, что и для табл. 6.

В группе пациентов с неблагоприятным исходом заболевания относительное число CD19⁺CD5⁻CD23⁺-клеток 2-хкратно повышается на 7-е сутки наблюдения, при этом в дооперационном периоде, а также на 14-е и 21-е

Таблица 42. Корреляционные связи между показателями врождённого и адаптивного иммунитета в зависимости от исхода РГП.

Взаимосвязанные показатели	r	p
Благоприятный исход РГП		
В-клетки (CD19 ⁺) / Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	-0.65	0.014
В-клетки (CD19 ⁺) / Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD11b ⁺)	-0.80	0.009
В-клетки (CD19 ⁺) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁻ CD56 ⁺)	-0.76	0.028
В-клетки (CD19 ⁺) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁻)	-0.69	0.001
В-клетки (CD19 ⁺) / ФИ Моноцитов (CD14 ⁺ A пер. ⁺)	-0.78	0.036
В-клетки (CD19 ⁺ CD5 ⁻) / Т-клетки (CD3 ⁺)	-0.45	0.026
В-клетки (CD19 ⁺ CD27 ⁻) / Т-клетки (CD3 ⁺)	-0.49	0.013
В-клетки MFI CD23 (CD19 ⁺ CD23 ⁺) / IL-10	-0.85	0.024
Неблагоприятный исход РГП		
В-клетки (CD19 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD62L ⁺)	0.67	0.033
В-клетки (CD19 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD23 ⁺)	0.90	0.037
В-клетки (CD19 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ HLA-DR ⁺)	0.66	0.049
В-клетки (CD19 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD28 ⁺)	0.71	0.029
В-клетки (CD19 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD11b ⁺)	0.94	0.004
В-клетки (CD19 ⁺ CD23 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.90	0.037
В-клетки (CD19 ⁺ CD5 ⁻) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.68	0.028
В-клетки (CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD23 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.90	0.037
В-клетки (CD19 ⁺ CD27 ⁻) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.63	0.047
В-клетки (CD19 ⁺ CD27 ⁻ CD23 ⁺) / Нейтрофилы (CD16 ⁺)	0.90	0.037
В-клетки (CD19 ⁺) / Т-клетки (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD62L ⁺)	-0.62	0.028
В-клетки (CD19 ⁺) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD57 ⁺)	-0.64	0.031
В-клетки (CD19 ⁺) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁻)	0.74	0.005
В-клетки (CD19 ⁺) / NKT-клетки MFI CD28 (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD28 ⁺)	-0.66	0.049
В-клетки (CD19 ⁺ CD5 ⁻) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺)	-0.70	0.015
В-клетки (CD19 ⁺ CD27 ⁻) / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺)	-0.76	0.005

сутки лечения количество данных клеток остается на уровне контрольных значений. В течение всего послеоперационного периода число CD19⁺CD5⁻CD23⁺-

клеток в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП было достоверно выше аналогичного показателя у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

В группе с благоприятным течением РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие корреляционных связей между популяциями В-лимфоцитов и Т- и NKT-клетками, ФИ моноцитов, а также содержанием IL-10 (табл. 42). В группе с неблагоприятным течением РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие корреляционных связей между популяциями В-лимфоцитов и нейтрофильными гранулоцитами, Т- и NKT-клетками.

При исследовании иммуноглобулинов в периферической крови пациентов с различным исходом РГП было обнаружено 2,5-й кратное снижение IgA у пациентов с благоприятным исходом заболевания относительно контрольных значений (рис. 15). У пациентов с неблагоприятным исходом РГП было обнаружено 4-х кратное снижение IgA относительно контрольных значений и 2-х кратное – относительно показателей пациентов с благоприятным исходом заболевания.

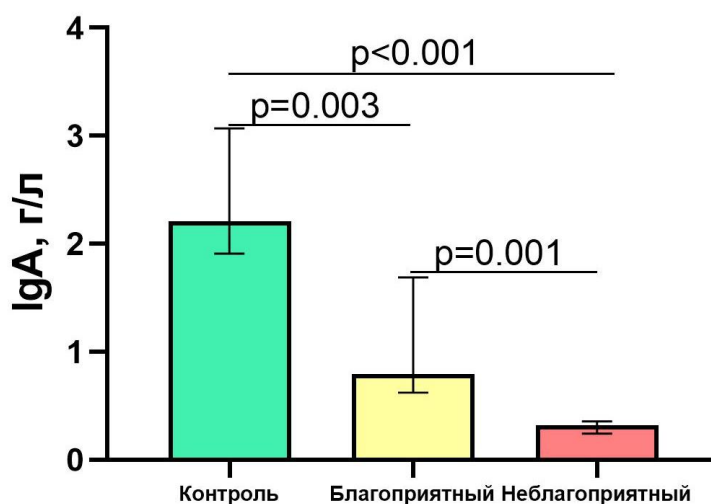


Рисунок 15 – Концентрация IgA в периферической крови в дооперационный период РГП. р – статистически значимые различия.

У пациентов не зависимо от исхода РГП было обнаружено многократное повышение концентрации IgE относительно контрольных значений (рис. 16). Между группами пациентов достоверных отличий не обнаружено.

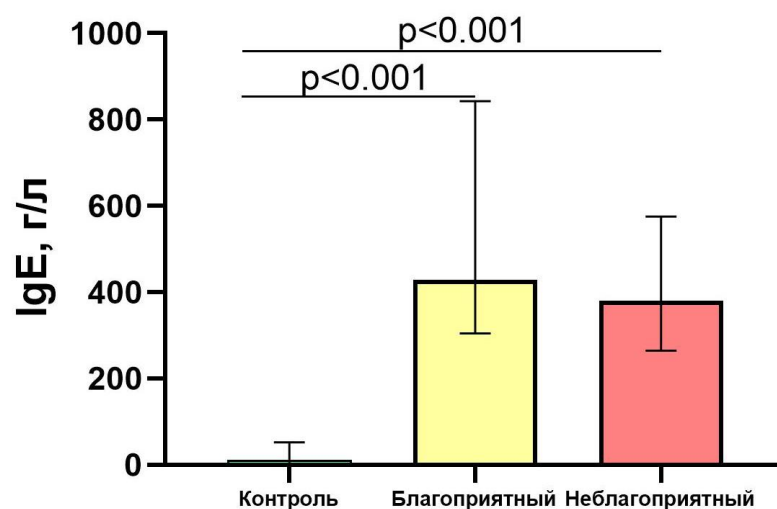


Рисунок 16 – Концентрация IgE в периферической крови в дооперационный период РГП. р – статистически значимые различия.

У пациентов с благоприятным исходом РГП изменения концентрации IgG в дооперационном периоде не обнаружены. При этом у пациентов с неблагоприятным исходом РГП обнаружено 2,5-й кратное повышение концентрации IgG относительно контрольных значений и показателей у пациентов с благоприятным исходом заболевания (рис. 17).

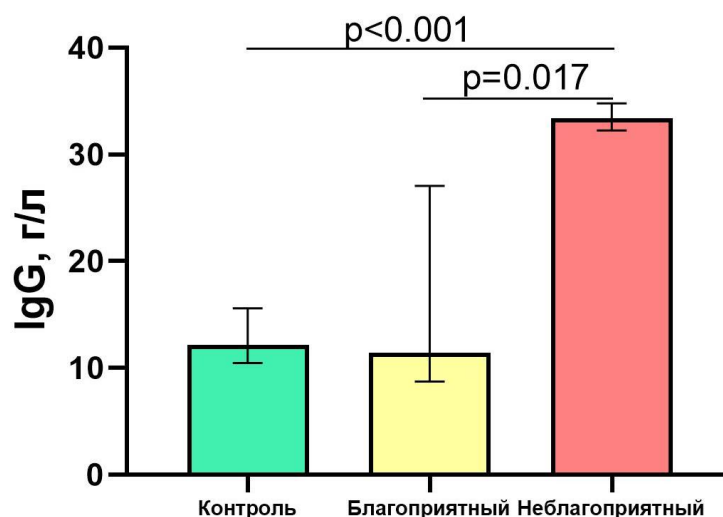


Рисунок 17 – Концентрация IgG в периферической крови в дооперационный период РГП. р – статистически значимые различия.

У пациентов не зависимо от исхода РГП при оценке концентрации IgM достоверных различий между группами пациентов и с показателя контрольной группы не обнаружено (рис. 18).

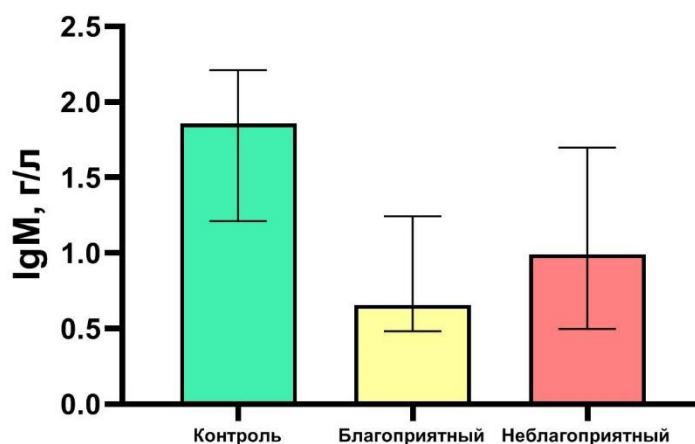


Рисунок 18 – Концентрация IgM в периферической крови в дооперационный период РГП. р – статистически значимые различия.

В группе с благоприятным течением РГП в дооперационном периоде, отмечалось наличие корреляционных связей между уровнями концентрации иммуноглобулинов IgA, IgG, IgE и популяциями Т-, В-, NK-, NKT-клеток, ФИ моноцитов и нейтрофилов, а также содержанием IL-4 и IL-10 (табл. 43). В группе с неблагоприятным течением РГП в дооперационном периоде отмечалось наличие корреляционных связей между уровнями концентрациями иммуноглобулинов IgA, IgG и популяциями Т-, NK- и NKT-клеток.

Таким образом, в группе пациентов с неблагоприятным исходом РГП отмечается повышение числа В1-, В2- и наивных В-лимфоцитов, а также число В-клеток, несущих маркер CD23. При этом в группе пациентов с благоприятным исходом число В-клеток было снижено в течение всего периода лечения.

Таблица 43. Корреляционные связи между показателями гуморального и клеточного иммунитета в зависимости от исхода РГП.

Взаимосвязанные показатели	r	p
Благоприятный исход РГП		
IgA / IL-4	0,82	0,041
IgA / IL-10	0,78	0,036
IgA / NK-клетки (CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD11b ⁺)	-0,71	0,046
IgA / Нейтрофилы (CD16 ⁺ CD11b ⁺)	-0,90	0,037
IgG / IL-10	0,82	0,023
IgG / Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	0,63	0,035
IgG / Т-клетки (CD3 ⁺ CD57 ⁺)	0,76	0,028
IgG / В-клетки (CD19 ⁺ CD27 ⁺)	-0,64	0,012
IgG / В1-клетки MFI CD23 (CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD23 ⁺)	0,82	0,041
IgG / NK-клетки MFI CD28 (CD56 ⁺ CD28 ⁺)	-0,85	0,013
IgG / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁺)	0,71	0,046
IgG / ФЧ Моноцитов (CD14 ⁺ А пер. ⁺)	0,82	0,041
IgE / Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	0,81	0,049
IgE / В-клетки (CD19 ⁺ CD27 ⁺)	-0,77	0,040
IgE / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻)	0,98	0,001
IgE / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁺)	0,98	0,001
IgE / ФЧ Нейтрофилы (CD16 ⁺ А пер. ⁺)	0,88	0,018
Неблагоприятный исход РГП		
IgA / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ CD11b ⁺)	-0,90	0,037
IgG / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻)	0,78	0,024
IgG / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁺)	0,80	0,035
IgG / NKT-клетки (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ CD11b ⁺)	-0,63	0,019
IgG / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺)	-0,89	0,027
IgG / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD28 ⁺)	-0,78	0,034
IgG / NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺)	-0,82	0,020
IgG / Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	0,86	0,024
IgG / Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD11b ⁺)	0,72	0,028

3.5 Способ прогнозирования исхода распространенно гнойного перитонита

Основной задачей, решаемой при помощи разработанного способа, являлся ранний прогноз исхода РГП с использованием метода проточной цитометрии. Оценку осуществляли за счет того, что у больных сразу после постановки диагноза РГП с помощью метода проточной цитометрии определяли относительное число основных популяций клеток адаптивного иммунитета. Затем рассчитывали коэффициент соотношения наиболее значимых показателей и среди полученных коэффициентов был выбран наиболее информативный (табл. 44, рис. 19).

Таблица 44. ROC-характеристики расчетных коэффициентов для раннего прогноза исхода РГП

Коэффициент	S под кривой	Оптимальное значение, о.е.	Чувствит., %	Специф., %	p
CD19 ⁺ CD5 ⁺ / CD62L ⁺ Treg	0.9524	4,23	85,71	88,89	0,001
CD19 ⁺ /Treg	0.7652	0,18	76,92	78,95	0,012
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.5923	2,48	60,00	61,54	0,456

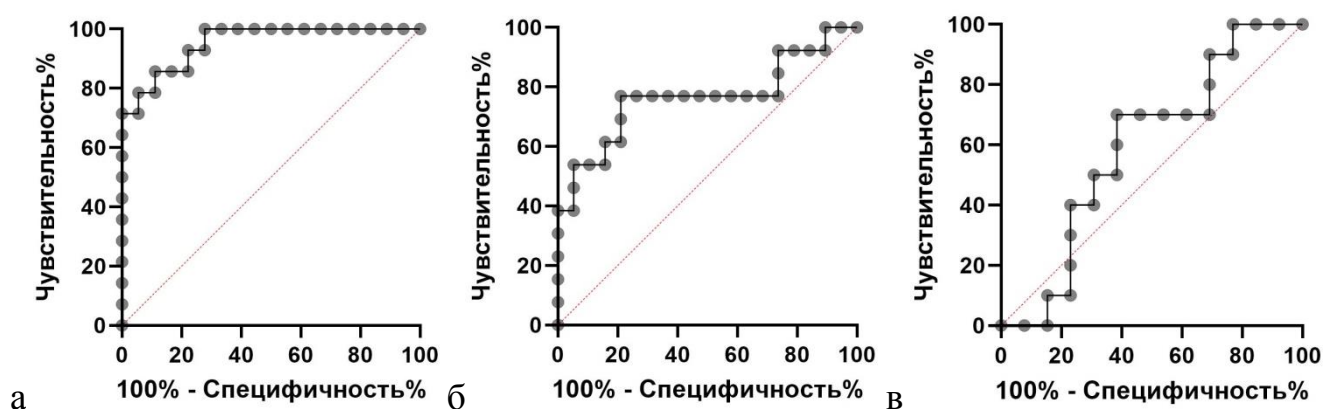


Рисунок 19 – ROC-кривая значения коэффициентов и исхода РГП. а - В1-лимфоциты / активированные Т-регуляторные клетки; б - В-лимфоциты / Т-регуляторные клетки; в – Т-хелперы / цитотоксические Т-клетки.

В качестве основного был выбран коэффициент Т-клеточной регуляции (КТКР), представляющий собой соотношение относительного содержания В1-лимфоцитов к относительному содержанию активированных Т-регуляторных клеток, то есть $КТКР = \text{В1-лимфоциты} / \text{активированные Т-регуляторные клетки}$.

При значении КТКР равном или выше 4,23 прогнозировали неблагоприятный исход РГП, а при КТКР ниже 4,23 – благоприятный исход заболевания. Значение 4,23 было получено опытным путем на основании сопоставления значений рассчитываемого КТКР и данных последующего наблюдения за клиническим состоянием больных РГП. Значение КТКР равное или выше 4,23 свидетельствует о снижении Т-регуляторной активности иммуновоспалительного процесса и повышении количества В1-лимфоцитов.

Способ прогноза реализуется следующим образом. У больных сразу после постановки диагноза РГП забирается венозная кровь свободным током в пробирки с ЭДТА. По 100 мкл крови переносятся в 2 пробирки для проточного цитофлуориметра. В 1-ой пробирке с помощью моноклональных антител, меченных флуоресцентной меткой, прокрашиваются активированные Т-регуляторные клетки. Во 2-ой пробирке прокрашиваются В1-лимфоциты. Пробирки помещаются в темное место на 15 минут. Затем в обе пробирки вносится 1 мл лизирующего раствора VersLyse, после чего они помещаются в темное место на 15 минут. Анализ прокрашенных клеток осуществляется на проточном цитофлуориметре FC-500. Для повышения степени точности анализа анализируется не менее 50000 лимфоцитов в каждой пробе. Затем рассчитывается коэффициент Т-клеточной регуляции (КТКР): $КТКР = \text{В1-лимфоциты} / \text{активированные Т-регуляторные клетки}$. При значении КТКР ниже 4,23 прогнозируется благоприятный исход РГП, при значении КТКР равном и выше 4,23 прогнозируется неблагоприятный исход заболевания [13].

Данный способ апробирован на 36 больных РГП. По результатам обследования больных РГП по заявленному способу установлено, что из 36 больных РГП у 21 (58%) прогнозировался благоприятный исход заболевания. У этих больных величина КТКР составила 1,15 – 4,22 (ниже 4,23). У 15 (42%)

больных РГП прогнозировался неблагоприятный исход заболевания, величина КТКР у них составила 4,23 – 7,89 (равно и выше 4,23). Чувствительность заявленного метода составила 0,86, специфичность 0,89, а общая точность 0,94, все параметры рассчитывались по стандартной формуле. По результатам дальнейшего клинического наблюдения установлено совпадение прогноза в 95% случаев.

Таким образом, разработанный способ информативен, отвечает современным требованиям к методам лабораторной диагностики, позволяет своевременно осуществить прогноз неблагоприятного исхода РГП и может быть рекомендован для применения в клинической практике.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Особенности фенотипического состава клеток иммунной системы

Само развитие РГП определяет наличие нарушений в регуляторных и эффекторных механизмах местного и системного иммунитета [8]. Кроме того, хирургическое вмешательство и последующая антибактериальная терапия также вносят значительный вклад в нарушении иммунных механизмов. Воспалительная реакция у больных РГП характеризуется увеличением содержания нейтрофилов в периферической крови уже в дооперационном периоде и наличием тенденции к снижению (но при сохранении на повышенном уровне) количество гранулоцитов к концу наблюдаемого периода (24-е сутки). Функциональные особенности нейтрофильных гранулоцитов в значительной степени определяются их фенотипом [116]. Обнаружено, что в до- и послеоперационном периоде у больных РГП повышено абсолютное количество нейтрофилов, экспрессирующих CD62L-маркер. Молекула CD62L является мембранным гликопротеином, принадлежащий к семейству L-селектинов, который экспрессируется на широком спектре клеток иммунной системы [117]. Рецептор обеспечивает слабые межклеточные взаимодействия, благодаря которым движение нейтрофильных гранулоцитов в кровотоке замедляется и происходит их экстравазация [118]. При этом необходимо отметить, что повышение CD62L⁺-нейтрофилов связано с общим нейтрофилезом у обследованных пациентов. Иммуновоспалительные реакции РГП определяют не только выброс повышенного количества нейтрофильных гранулоцитов из костного мозга, но их активацию и ускоренную миграцию из сосудистого русла.

С 14 суток послеоперационного периода у больных РГП наблюдается снижение в периферической крови содержания CD23⁺-нейтрофилов (по сравнению с исходным уровнем и выявленным на 7-е сутки послеоперационного периода). Гликопротеин CD23 является низкоаффинным рецептором IgE [119]. На нейтрофилах данный маркер экспрессируется под воздействием интерлейкина-4 и характеризует функциональную активацию клеток. Показано, что у больных РГП

в связи с реакцией иммунной системы на бактериальную инфекцию повышается содержание Th2-клеток. По-видимому, в результате проведенной операции и последующего лечения у больных снижается активность Th2-зависимых реакций, что, соответственно, и приводит к относительному снижению количества CD23⁺-нейтрофилов в крови.

У больных РГП в дооперационном периоде снижается относительное количество HLA-DR⁺-нейтрофилов, которое к концу наблюдаемого периода восстанавливается до контрольных значений. В то же время, абсолютное количество HLA-DR⁺-нейтрофилов на 7-е и 14-е сутки послеоперационного периода повышены, что связано с высоким уровнем общих нейтрофилов в периферической крови. Кроме того, на 14-е сутки послеоперационного периода у больных РГП значительно возрастает уровень экспрессии HLA-DR (средний уровень флуоресценции) на поверхности нейтрофилов относительно значений, выявленных в дооперационном периоде. HLA-DR-рецептор является продуктом главного комплекса гистосовместимости II класса, принимает участие в презентации антигенов [21, 119]. Высокий уровень HLA-DR⁺-нейтрофилов и повышенную экспрессию данного маркера, прежде всего, связывают с бактериемией и внеклеточным ацидозом, которые развиваются при различных воспалительных процессах [120, 121]. Соответственно, в результате проведенного лечения интенсивность воспалительных процессов снижается, что на 24-е сутки послеоперационного периода приводит к снижению содержания HLA-DR⁺-нейтрофилов в периферической крови и экспрессии активационного маркера.

Согласно результатам корреляционного анализа, содержание CD64⁺- и HLA-DR⁺-нейтрофилов в крови больных РГП в до- и послеоперационном периоде изменяется аналогично: в дооперационном периоде значительное превышение контрольных значений, к концу наблюдаемого периода лечения – нормализация. Экспрессия CD64-антигена также повышена в дооперационном периоде и на 24-е сутки наблюдения снижается до контрольных значений. CD64 (FcγRI) является высокоаффинным рецептором к Fc-фрагментам иммуноглобулинов G и биомаркером бактериальных инфекций [122, 123]. Фагоцитирующие клетки при

экспрессии данного рецептора могут удерживать на своей поверхности большое число молекул антител одной специфичности, что обеспечивает специфическое распознавание патогена клетками.

Иммуновоспалительная реакция при благоприятном течении РГП характеризуется снижением процентного содержания общих моноцитов в периферической крови, однако после 7-х суток наступает постепенная нормализация данного показателя. Что говорит о массовой миграции клеток в очаг воспаления на ранних сроках развития заболевания. В то же время, в противовес нейтрофильным гранулоцитам, относительное и абсолютное содержание моноцитов, несущих HLA-DR⁺, CD64⁺ резко снижается в начале лечения и полностью не восстанавливается даже к концу наблюдения. Однако наблюдаемое нами многократное увеличение показателя MFI для CD64 на моноцитах, говорит о повышении индивидуальной эффективности CD64⁺-моноцитов. Очевидным подтверждением значимости данных изменений может послужить отсутствие изменений в количестве моноцитов в периферической крови у пациентов с неблагоприятным исходом, несмотря на аналогичную динамику касательно HLA-DR⁺, CD64⁺-моноцитов.

При благоприятном течении РГП более чем в 2 раза снижается количество классических моноцитов. Субпопуляция классических моноцитов (CD14^{hi}CD16⁻) определяются как крупные клетки с высоким уровнем фагоцитарной активности. Для них характерен повышенный уровень экспрессии таких рецепторов, как CCR2, CD36, CD64, CD62L и низкий уровень синтеза TNF α и IL-1 [37]. На этом фоне наблюдается смещение равновесия в пользу неклассических моноцитов, выраженное увеличением относительного и абсолютного количества неклассических моноцитов. Неклассические моноциты (CD14^{low}CD16⁺) представлены некрупными клетками с низкой фагоцитарной и оксидазной активностью. На их поверхности активно экспрессируются CX3CR1-, CD11c- и HLA-DR-молекулы, тогда как CD62L и CD64 практически отсутствует. Данная субпопуляция активно синтезирует провоспалительные цитокины (TNF- α , IL-1 β и IL-6) и определяется как провоспалительная [120].

В тоже время при неблагоприятном течении РГП снижение количества классических моноцитов, гораздо менее выражено и начинает проявляться в более поздние сроки в сравнении с пациентами с благоприятным течением заболевания. У данной группы пациентов, смещение равновесия в пользу неклассических моноцитов начинает проявляться только на 14-е сутки лечения и достигает значимых показателей только на 21-е сутки.

Необходимо отметить, что повышение содержания неклассических моноцитов отмечено при различных инфекционно-воспалительных заболеваниях [124]. Следовательно, нарушение этого процесса у пациентов с неблагоприятным исходом приводит к задержке иммунного ответа на инфекцию в брюшной полости, что усугубляет течение заболевания и повышает риск развития неблагоприятного исхода. Также особенностью моноцитов крови у больных РГП является снижение содержания клеток, несущих HLA-DR, являющегося критически значимым для осуществления эффективной антигенпрезентации.

С помощью корреляционного анализа мы определили, что содержание общих моноцитов отрицательно взаимосвязано с юными и базофильными гранулоцитами, что, с одной стороны, определяется воспалительной реакцией при данном заболевании (выброс незрелых лейкоцитов в кровь), с другой – миграцией базофилов в зону воспаления. Обнаружены взаимосвязи субпопуляционного состава моноцитов с уровнем палочкоядерных нейтрофилов. Причем, если количество классических моноцитов отрицательно коррелирует с уровнем палочкоядерных нейтрофилов, то содержание неклассических – положительно. Подобные взаимосвязи еще раз характеризуют различную роль субпопуляций моноцитов в иммунопатогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний. Также с популяционным составом гранулоцитов взаимосвязаны моноциты, экспрессирующие HLA-DR- и CD64-рецепторы.

NK-клетки представляют собой гетерогенную популяцию, обладают естественной цитолитической активностью и способны продуцировать цитокины и хемокины [125, 126]. Иммунофенотипирование общей фракции NK-клеток и их основных субпопуляций осуществляли по маркерам CD16 и CD56. CD16 является

низкоаффинным рецептором иммуноглобулинов G III типа (FcγRIII), с помощью которого осуществляется механизм клеточной цитотоксичности [115, 127]. Маркер CD56 (NCAM, Leu-19, NKH-1) является гликопротеином, принадлежащим к суперсемейству иммуноглобулинов, и принимает участие в реализации межклеточных контактов [115, 128, 129]. При этом NK-клетки, активно экспрессирующие CD16 и CD56, определяются как зрелые [130]. NK-клетки с фенотипом CD16⁻CD56⁺ проявляют цитотоксическую активность. NK-клетки с фенотипом CD16⁺CD56⁻ в ответ на стимуляцию IL-2 начинают секретировать широкий спектр цитокинов, но проявляют слабую цитолитическую активность (цитокин-продуцирующие) [115, 131, 132].

У больных РГП независимо от исхода заболевания относительное количество общих NK-клеток (CD16/56⁺) в крови снижено уже в дооперационном периоде, что проявляется на фоне понижения абсолютного уровня лимфоцитов в крови. К концу наблюдаемого периода содержание лимфоцитов нормализуется. В то же время, количество NK-клеток до уровня контрольного диапазона восстанавливается только у больных с благоприятным исходом РГП к 21-м суткам послеоперационного лечения. Более того, в течение всего периода обследования у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания наблюдается низкий уровень NK-клеток по сравнению с выявленным у лиц с благоприятным исходом перитонита. Низкое содержание NK-клеток при перитоните может определяться двумя основными причинами. Во-первых, это миграция клеток в зону воспаления. В частности, на примере экспериментального перитонита показано, что уже через 48 часов развития заболевания количество мигрирующих в брюшную полость NK-клеток достигает максимума [133]. И, во-вторых, в работе Shindo Y. et al. (2017) показано, что на фоне развития экспериментальных острых воспалительных процессов NK-клетки интенсивнее экспрессируют рецептор PD-1 (programmed cell death-1) [134]. Высокий уровень экспрессии PD-1 авторы связывают со снижением количества NK-клеток и других лимфоцитов в крови.

При анализе субпопуляционного состава NK-клеток обнаружено, что в дооперационном периоде у больных РГП независимо от исхода заболевания снижение NK-клеток в крови осуществляется за счет фракции зрелых клеток. Однако у больных с благоприятным исходом РГП содержание зрелых клеток восстанавливается уже к 7-м суткам после операции, а на 21-е сутки наблюдения значительно превышают контрольный диапазон. У пациентов с неблагоприятным исходом заболевания уровень зрелых NK-клеток в послеоперационном периоде практически не меняется. При этом, их количество при неблагоприятном исходе постоянно меньше, чем при благоприятном исходе. У больных с благоприятным исходом РГП на 7-е и 21-е сутки послеоперационного периода в крови повышается содержание цитотоксических и цитокин-продуцирующих NK-клеток. Тогда как у больных с неблагоприятным исходом заболевания повышение содержания цитотоксических NK-клеток наблюдается только на 21-е сутки после операции. Более того, в дооперационном периоде и в первую неделю после операции у данной категории больных выявляется более низкий уровень цитокин-продуцирующих NK-клеток по сравнению с количеством у пациентов с благоприятным исходом.

Способность к реализации функции NK-клетками была охарактеризована через определение количества лимфоцитов, экспрессирующих активационные и адгезионные маркеры. CD11b представляет собой α M цепь интегрина Mac-1, экспрессия данного рецептора на поверхности NK-клеток увеличивает их миграционные и эффекторные возможности [135]. Так, в работе Lin W. et al. (2017) показано, что снижение уровня экспрессии CD11b приводило к понижению функциональной активности NK-клеток и, соответственно, к снижению интенсивности воспалительной реакции [136]. У больных с благоприятным исходом РГП количество зрелых NK-клеток с экспрессией CD11b в дооперационном периоде и в первые две недели послеоперационного лечения соответствует контрольному уровню и значительно повышается на 21-е сутки наблюдения. Содержание цитотоксических и цитокин-продуцирующих NK-клеток, экспрессирующих CD11b, имеет два пика повышения: на 7-е и 21-е сутки

послеоперационного периода. При неблагоприятном исходе РГП наблюдается снижение количества зрелых NK-клеток, экспрессирующих CD11b, в дооперационном периоде и в течение всего периода послеоперационного наблюдения. Содержание цитотоксических и цитокин-продуцирующих NK-клеток с экспрессией CD11b у лиц данной категории соответствует контрольному уровню. Однако, по сравнению с количеством, выявленным при благоприятном исходе РГП, у пациентов с неблагоприятным исходом определяется пониженный уровень основных субпопуляций NK-клеток, экспрессирующих данный рецептор.

Молекула CD28 (Tr44) является гликопротеином, относящимся к суперсемейству иммуноглобулинов, и участвует в формировании второго активационного сигнала, что приводит к стимуляции пролиферации клеток и синтезу цитокинов [137]. Обнаружено, что у больных РГП независимо от исхода заболевания количество NK-клеток, экспрессирующих CD28-рецептор, в течение всего периода наблюдения соответствует контрольным значениям. Однако при неблагоприятном исходе в дооперационном периоде и в течение 2-х недель послеоперационного лечения наблюдается повышение экспрессии CD28 NK-клетками как относительно контрольных значений, так и уровней, выявляемых у пациентов с благоприятным исходом РГП.

CD57 (HNK-1, NK-1, Leu-7) представляет собой олигосахаридную антигенную детерминанту, экспрессируемую на различных белках, липидах и протеогликанах [138]. Доказано, что NK-клетки, экспрессирующие рецептор CD57, способны более активно синтезировать IFN γ , но обладают сниженным уровнем пролиферации, что позволяет определить CD57⁺NK-лимфоциты как зрелые эффекторные клетки [139]. Установлено, что у больных с благоприятным исходом РГП к 21-м суткам послеоперационного лечения повышается количество CD57⁺NK-клеток относительно исходного уровня. У больных с неблагоприятным исходом заболевания в послеоперационном периоде наблюдается последовательное снижение содержания NK-клеток с экспрессией CD57-рецептора относительно контрольных значений и уровней, выявленных при благоприятном исходе РГП. В то же время, уровень экспрессии CD57 у данной

категории в послеоперационном периоде выше, чем у здоровых людей и пациентов с благоприятным исходом заболевания.

Функциональная активность NKT-клеток реализуется через эффекторные (перфорин/гранзимовый или FasL-опосредованный) и регуляторные (синтез цитокинов) механизмы, обеспечивая взаимосвязь между врожденным и адаптивным иммунитетом [55]. Определение субпопуляционного состава NKT-клеток осуществлялось по рецепторам CD16 и CD56. Зрелые NKT-клетки экспрессируют оба маркера. Клетки с фенотипом $CD16^+CD56^{low}$ определяются как цитотоксические, тогда как NKT-клетки с фенотипом $CD16^-CD56^+$ являются цитокин-продуцирующими [45].

В целом, у больных РГП независимо от исхода заболевания в дооперационном периоде снижено относительное и абсолютное содержание NKT-клеток в периферической крови. Причем, если их процентное количество восстанавливается уже на 7-е сутки после операции, то пониженный абсолютный уровень данной фракции лимфоцитов сохраняется и в послеоперационном периоде. И только у больных с благоприятным исходом заболевания к концу наблюдаемого периода (на 21-е сутки после операции) наблюдается повышение процентного содержания NKT-клеток до уровня контрольного диапазона. Особенностью динамики количества NKT-клеток в крови у больных с благоприятным исходом РГП является то, что в дооперационном периоде пониженный уровень клеток связан с низким содержанием зрелых и цитокин-продуцирующих NKT-клеток, тогда как к концу наблюдаемого периода их количество восстанавливается до контрольных значений, а количество цитотоксических NKT-клеток снижается. У пациентов с неблагоприятным исходом РГП пониженный уровень NKT-клеток в дооперационном периоде связан преимущественно с низким содержанием цитокин-продуцирующих клеток, тогда как к 21-м суткам после операции наблюдалось сохранение низкого содержания цитокин-продуцирующих клеток и снижение количества зрелых NKT-клеток.

NKT-клетки, экспрессирующие маркер CD8, входят в состав NKT-клеток II типа ($CD56^{low}CD16^{+}$ -неклассические, неинвариантные) [51, 52]. Данная фракция клеток распознает более широкий спектр (по сравнению с NKT-клетками I типа – $CD56^{hi}CD16^{-}$) антигенных молекул, синтезирует цитокины, индуцирующие дифференцировку Th1- и Th2-лимфоцитов, но также реализуют иммуносупрессорные функции [50]. В частности, через индукцию экспрессии TGF- β ингибируют функциональную активность цитотоксических Т-лимфоцитов, стимулируют активность миелодных супрессорных клеток и осуществляют киллинг антигенпрезентирующих дендритных клеток [54]. У больных РГП с благоприятным исходом заболевания в дооперационном периоде содержание зрелых, цитотоксических и цитокин-продуцирующих фракций NKT-клеток с экспрессией CD8 снижено по сравнению с контрольными значениями, однако уровень зрелых и цитокин-продуцирующих $CD8^{+}$ NKT-клеток восстанавливается до контрольного диапазона к концу наблюдаемого периода (на 21-е сутки после операции). В то же время, у обследованных пациентов с неблагоприятным исходом РГП в дооперационном периоде относительно контрольного диапазона и значений, выявленных при благоприятном исходе, понижено содержание только цитокин-продуцирующих $CD8^{+}$ NKT-клеток. При этом, уровень зрелых $CD8^{+}$ NKT-клеток даже превышает выявленный при благоприятном исходе заболевания. Однако, к 21-м суткам послеоперационного периода количество всех исследуемых фракций $CD8^{+}$ NKT-клеток значительно снижено по сравнению с контрольными значениями.

Экспрессия CD11b на мембране NKT-клеток повышает уровень эффекторной и миграционной активности. В работе Han Y et al. $CD11b^{+}$ NKT-клетки были идентифицированы как подмножество регуляторных NKT-клеток [140]. При благоприятном исходе РГП повышенное количество в дооперационном периоде зрелых NKT-клеток, экспрессирующих CD11b, к 21-м суткам после операции нормализуется, тогда как содержание $CD11b^{+}$ цитотоксических NKT-клеток в до- и послеоперационном периоде остается повышенным. Кроме того, уровень цитокин-продуцирующих $CD11b^{+}$ NKT-клеток у лиц данной группы

повышается к концу наблюдаемого периода. У пациентов с неблагоприятным исходом заболевания количество зрелых CD11b⁺NKT-клеток к 21-м суткам послеоперационного периода значительно снижается как относительно контрольного диапазона, так и значений, выявленных у больных с благоприятным исходом. Кроме того, при неблагоприятном исходе РГП содержание цитотоксических NKT-клеток значительно возрастает только в конце наблюдаемого периода, тогда как уровень цитокин-продуцирующих CD11b⁺NKT-клеток повышен в течение всего периода обследования.

Дополнительно, у больных РГП в зависимости от исхода заболевания было исследовано содержание NKT-клеток, экспрессирующих активационные маркеры CD28 и CD57. У больных с благоприятным исходом РГП содержание CD28⁺ и CD57⁺NKT-клеток в дооперационном периоде снижено относительно контрольных значений. Однако сразу после операции их количество нормализуется и сохраняется на уровне контрольного диапазона до конца наблюдаемого периода. В то же время, у пациентов с неблагоприятным исходом РГП сниженные уровни CD28⁺ и CD57⁺NKT-клеток в дооперационном периоде повышаются до контрольных значений только к концу наблюдаемого периода.

В целом можно заключить, что системная воспалительная реакция у больных РГП с неблагоприятным исходом заболевания в послеоперационном периоде характеризуется нарушением соотношения субпопуляционного состава NKT-клеток с низким уровнем неклассических NKT-клеток к концу наблюдаемого периода (21-й день после операции) и выраженным изменением содержания клеток, экспрессирующих адгезионные и активационные маркеры.

У обследованных пациентов с РГП независимо от исхода заболевания в дооперационном периоде выявляется снижение абсолютного количества лимфоцитов в крови, уровень которых восстанавливается до контрольных значений только на третьей недели лечения. Что соответствует существующим представлениям о патогенезе РГП [2, 6]. В дооперационном периоде также независимо от исхода РГП наблюдается повышение содержания Т-лимфоцитов. Однако, если при благоприятном исходе заболевания высокий уровень Т-

лимфоцитов сохраняется весь период наблюдения (в течение 3-х недель лечения), то при неблагоприятном исходе уже на 7-е сутки послеоперационного лечения выявляется снижение количества Т-клеток до контрольного уровня.

При РГП меняется фенотипический состав Т-лимфоцитов и уровень экспрессии ими ряда маркеров [141]. Так, только при благоприятном исходе РГП в дооперационном периоде наблюдается повышение количества Т-клеток, экспрессирующих CD62L-маркер. Однако независимо от исхода заболевания на 21-е сутки лечения обнаружено снижение количества Т-лимфоцитов с экспрессией рецепторов CD62L и CD28. CD62L обеспечивает межклеточные взаимодействия и homing Т-лимфоцитов в периферические лимфоидные органы [117, 118, 142]. Таким образом, снижение числа CD62L⁺Т-лимфоцитов к концу периода наблюдения указывает на торможение процессов миграции данных клеток в лимфоидные ткани. В тоже время это может быть связано с уменьшением вклада наивных Т-клеток и превалированием на поздних этапах наблюдения терминально дифференцированных эффекторных клеток памяти [27]. При этом необходимо отметить, что уровень экспрессии CD62L на Т-лимфоцитах больных РГП более выражен, чем у лиц контрольной группы, и не зависит от исхода заболевания. CD28 – принимает участие в ко-стимуляции Т-лимфоцитов [143, 144]. Исходно повышенный уровень экспрессии CD28 на Т-клетках больных с благоприятным исходом уже к 7-ым суткам лечения снижается до контрольного уровня, тогда как при неблагоприятном исходе заболевания остается повышенным в течение всего периода наблюдения.

К концу периода наблюдения у больных РГП в крови повышается содержание Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор CD57. CD57 – экспрессируется на терминальной стадии дифференцировки Т-клеток [145, 146]. У больных с благоприятным исходом заболевания повышение количества CD57⁺-Т-лимфоцитов проявляется на 2-ой недели послеоперационного лечения, тогда как при неблагоприятном исходе РГП – на 3-ей недели. В зависимости от исхода заболевания значительно различается уровень экспрессии данного маркера на Т-лимфоцитах. При благоприятном исходе в дооперационном периоде и в течение

2-х недель лечения наблюдается соответствие контрольному уровню и только на 21-е сутки послеоперационного периода уровень экспрессии CD57 на Т-лимфоцитах больных снижается. При неблагоприятном исходе РГП с 7-х суток лечения и до конца наблюдаемого периода установлено повышение уровня экспрессии CD57 на Т-клетках. Причем, CD57 является единственным из исследуемых рецепторов, уровень экспрессии которого зависит от исхода РГП. По-видимому, в крови больных с неблагоприятным исходом РГП с 7-х суток послеоперационного лечения нарушается миграция в зону воспаления эффекторных фракций Т-лимфоцитов в терминальной стадии дифференцировки.

В целом, исходя из данного анализа, можно предположить, что на количество Т-лимфоцитов с экспрессией адгезионных и активационных рецепторов влияет как сам абдоминальный иммуновоспалительный процесс, так и терапия, проводимая в послеоперационном периоде [147]. Соответственно, снижение количества Т-клеток, экспрессирующих CD28 и CD62L, в крови больных РГП на 3-ей недели лечения можно охарактеризовать как ингибированием реактивности клеток иммунной системы на фоне терапии, так и миграцией активированных клеток. Увеличение количества CD57⁺-Т-лимфоцитов в конце периода лечения РГП также можно определить влиянием терапии.

При анализе фенотипического состава CD4⁺-Т-лимфоцитов в зависимости от исхода РГП установлено, что при благоприятном исходе заболевания у обследованных пациентов в дооперационном периоде наблюдается повышение относительного количества CD4⁺-Т-лимфоцитов, но при снижении их абсолютного содержания. На 7-е и 14-е сутки обследования содержание данной субпопуляции Т-лимфоцитов выравнивается относительно контрольного диапазона, на 21-е сутки послеоперационного лечения выявляется понижение их процентного уровня. Изменение содержания в крови CD4⁺-Т-лимфоцитов при благоприятном исходе РГП с одной стороны определяется количеством лимфоцитов в динамике послеоперационного периода, с другой стороны – миграцией клеток из крови. Последнее подтверждается тем, что у данной группы пациентов в течение 2-х недель послеоперационного лечения наблюдается

повышение количества CD4⁺-Т-клеток с экспрессией CD62L. Причем, на всем протяжении обследования CD4⁺-Т-лимфоциты с большей активностью экспрессируют данный маркер, чем клетки данной фракции у здоровых людей.

При неблагоприятном исходе РГП в дооперационном периоде и первые две недели послеоперационного лечения наблюдается соответствие процентного количества CD4⁺-Т-клеток контрольному диапазону с понижением на 21-е сутки. Абсолютное количество данной фракции клеток соответствует послеоперационной динамике абсолютного уровня общих лимфоцитов. Несмотря на повышенный уровень экспрессии рецептора CD62L, количество CD4⁺-Т-клеток с экспрессией CD62L у больных с неблагоприятным исходом не отличается от контрольного уровня на всем протяжении обследования. Отсутствие динамики в содержании CD4⁺CD62L⁺-Т-лимфоцитов при неблагоприятном исходе не позволяют предположить влияние механизмов миграции клеток на содержание Т-лимфоцитов-хелперов в крови, а также незначительностью реакции со стороны клеток данной фракции на терапию.

В состав CD4⁺-Т-лимфоцитов входят Т-регуляторные клетки, которые осуществляют супрессию иммунного и воспалительного ответа [148, 149]. На модели перитонита доказано, что Treg способны мигрировать из крови в зону воспаления и осуществлять ингибирование воспалительных процессов [150]. У больных с благоприятным исходом РГП наблюдается повышенное количество Treg в крови (в том числе, экспрессирующих CD62L-рецептор) в дооперационном периоде и первые две недели послеоперационного лечения, только на 21-е сутки наблюдения количество клеток снижалось до контрольных значений. При неблагоприятном исходе заболевания содержание Treg и CD62L⁺-Treg в дооперационном периоде и до 14-ти суток включительно соответствовала контрольному уровню, тогда как на 21-е сутки понижалось ниже контрольного диапазона. Можно предположить, что понижение содержания в крови Treg, неэкспрессирующих и экспрессирующих CD62L-рецептор, у больных РГП в конце наблюдаемого периода связано с проводимой терапией, в том числе с иммуносупрессирующим действием применяемых антибиотиков.

Известно, что функциональная активность цитотоксических Т-лимфоцитов во многом влияет на характер течения воспалительных процессов [146]. У больных с благоприятным исходом РГП относительное содержание цитотоксических Т-клеток в крови в дооперационном периоде и течение двух недель послеоперационного лечения соответствует контрольному диапазону и повышается только на 21-е сутки лечения. При неблагоприятном исходе на всем протяжении обследования у пациентов выявляется соответствие процентного уровня CD8⁺-Т-клеток контрольному диапазону. Абсолютное содержание цитотоксических Т-лимфоцитов в крови у обследованных больных повторяет динамику количества общих лимфоцитов крови. Кроме того, установлено, что при благоприятном исходе заболевания у больных в крови, начиная с 14-х суток лечения, повышается количество CD11b⁺ цитотоксических Т-клеток, тогда как при неблагоприятном исходе подобное повышение уровня клеток наблюдается только на 21-е сутки послеоперационного лечения. Экспрессия CD11b увеличивает миграционный и эффекторный потенциал цитотоксических Т-клеток [151, 152]. Таким образом, можно предположить, что повышение числа CD11b⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов в периферической крови больных РГП в конце наблюдаемого периода характеризует снижение миграционной активности цитотоксических клеток в очаг воспаления, что, по-видимому, определяется постепенным ослаблением активирующих сигналов и общим разрешением воспаления в случае благоприятного исхода РГП, тогда как при неблагоприятном исходе заболевания наблюдается снижение миграционной активности клеток.

Значительную роль в развитии РГП играет не только фактор инфицирования, но и не способность иммунной системы к локализации очага бактериальной агрессии и элиминации патогена [12, 8]. Как следствие, реактивность организма при иммуновоспалительной реакции на бактериальную инфекцию (основной этиологический фактор при РГП) будет обусловлена механизмами гуморального иммунитета и, соответственно, функциональной активностью В-лимфоцитов [153].

В зависимости от исхода заболевания у больных РГП в до и послеоперационном периоде различается содержание В-лимфоцитов в периферической крови. Так, при благоприятном исходе РГП абсолютное количество В-клеток было снижено в течение всего периода обследования. Относительное содержание В-лимфоцитов в крови у больных данной группы в дооперационном периоде и через 7 суток после операции соответствовало контрольному диапазону, но с 14-х суток послеоперационного лечения – последовательно снижалось. При неблагоприятном исходе РГП у обследованных пациентов в дооперационном периоде выявляется понижение абсолютного содержания В-клеток, после операции их количество повышается до контрольного уровня. На 21-е сутки послеоперационного лечения у больных с неблагоприятным исходом заболевания наблюдается относительно высокий абсолютный уровень В-лимфоцитов относительно значений, выявленных у пациентов с благоприятным исходом РГП. Только на 7-е сутки послеоперационного лечения у больных с неблагоприятным исходом РГП наблюдается высокое процентное содержание В-лимфоцитов в крови относительно контрольных значений, но в течение всего послеоперационного периода – повышенное относительно значений, выявленных у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

В качестве активационного маркера В-лимфоцитов был исследован уровень экспрессии антигена CD23, который экспрессируется на мембране функционально-активированных В-клеток [119]. У больных с благоприятным исходом РГП уже на 7-е сутки после операции содержание активированных В-лимфоцитов снижено относительно контрольных значений и продолжает понижаться к 21-м суткам лечения. У пациентов с неблагоприятным исходом заболевания на 7-е сутки после операции количество CD23⁺В-клеток повышено как относительно контрольного диапазона, так и значений, выявленных при благоприятном исходе РГП. В дальнейшем у больных с неблагоприятным исходом РГП уровень активированных В-лимфоцитов остается повышенным относительно обнаруженного при благоприятном исходе заболевания.

Значительные различия в зависимости от исхода заболевания наблюдаются в субпопуляционном составе В-лимфоцитов. Так, у больных РГП с благоприятным исходом содержание наивных В-клеток с фенотипом $CD19^+CD27^-$ уже на 7-е сутки послеоперационного периода понижено относительно контрольных значений и продолжает понижаться к концу наблюдаемого периода. Через неделю относительно понижения количества наивных В-клеток у лиц данной группы снижается содержание активированных наивных В-лимфоцитов с фенотипом $CD19^+CD27^-CD23^+$ и также остается на низком уровне до конца наблюдаемого периода. У пациентов с неблагоприятным исходом на 7-е сутки после операции наблюдается высокий уровень наивных В-лимфоцитов как относительно контрольных значений, так и показателей больных с благоприятным исходом. На 2-ой и 3-ей недели лечения количество наивных В-лимфоцитов и активированных наивных В-клеток у лиц с неблагоприятным исходом РГП соответствует контрольному диапазону, но остается повышенной относительно показателей больных с благоприятным исходом заболевания. В работе Nevalainen T. et al. (2019) показано, что субпопуляция В-клеток $CD19^+CD27^-$ демонстрирует сильный провоспалительный эффект у лиц старшего возраста, что может усугублять тяжесть течения РГП и способствовать развитию неблагоприятного исхода [154]. Только на 21-е сутки послеоперационного лечения у больных с благоприятным исходом РГП выявляется понижение количества $CD19^+CD27^+$ -клеток памяти относительно контрольных значений. Изменения в содержании активированных В-лимфоцитов памяти с фенотипом $CD19^+CD27^+CD23^+$ у больных данной группы практически обратно фракции $CD19^+CD27^+$ -клеток: снижено относительно контрольных значений в дооперационном периоде и полностью соответствует контрольному уровню в течение всего послеоперационного периода. В то же время, у пациентов при неблагоприятном исходе заболевания в течение всего наблюдаемого периода содержание В-клеток памяти и активированных В-лимфоцитов памяти соответствует контрольному диапазону. При этом, согласно исследованиям Sun H. et al. (2019) отдельные субпопуляции $CD27^+$ В-клеток способны синтезировать

большое количество IL-10 и, тем самым, подавлять пролиферацию Th1-клеток и синтез IFN- γ [155]. Таким образом, можно предположить, что низкий уровень В-клеток с фенотипом CD19⁺CD27⁺CD23⁺ у пациентов с благоприятным исходом РГП может быть связан с их миграцией. Причем, у больных данной группы также выявляется повышение концентрации IL-10 в сыворотке крови в дооперационном периоде.

В настоящее время возрастает количество исследований, характеризующих роль В1-лимфоцитов при различных иммуновоспалительных процессах [156, 157]. В работе Yong L. et al. (2019) показано, что при шистосомной инфекции низкое количество общих В-лимфоцитов коррелирует с активацией формирования гранулем, уровнем воспаления и фиброза в печени [158]. В то же время, увеличение содержания В1-клеток в печени сопровождалось снижением уровней экспрессии хемокинов и провоспалительных цитокинов, что приводило к ингибированию воспалительной реакции и фиброза в печени. Кроме того, в настоящее время в составе В1-лимфоцитов выделяют фракцию В-регуляторных клеток [159, 160, 161]. При благоприятном исходе РГП содержание В1-лимфоцитов снижено до и в течение всего послеоперационного лечения. Уровень активированных В1-клеток также понижен до и в течение 14 суток послеоперационного периода, но к 21-м суткам лечения повышается до контрольных значений. При неблагоприятном исходе РГП содержание В1-клеток также понижено в дооперационном периоде. Затем, в течение 2-х недель послеоперационного лечения повышается до контрольного диапазона, превышая показатели пациентов с благоприятным исходом заболевания, но на 21-е сутки наблюдается значительное снижение их количества. Активированные В1-клетки при неблагоприятном исходе повышены в начале наблюдаемого периода и снижаются относительно контрольных значений во второй половине послеоперационного лечения.

Динамика количества В2-лимфоцитов у больных с благоприятным исходом РГП в до и послеоперационный период полностью повторяет изменение количества общих В-клеток. Данное совпадение определяется тем, что В2-клетки

составляют основную фракцию В-лимфоцитов крови [162]. В частности, у пациентов с благоприятным исходом РГП доля В2-клеток в составе общих В-лимфоцитов находится в диапазоне от 96,3% (в дооперационном периоде) до 80,4% (на 21-е сутки послеоперационного лечения). Соответственно, динамика изменения количества активированных В2-клеток в до и послеоперационном периоде у лиц с благоприятным исходом заболевания также повторяет изменения в содержании общих В2-лимфоцитов. При неблагоприятном исходе заболевания наблюдается повышение содержания В2-лимфоцитов в течение всего послеоперационного периода относительно показателей, выявленных у пациентов с благоприятным исходом, что не соответствует динамике изменений содержания общего количества В-клеток. В то же время динамика изменений количества активированных В2-лимфоцитов полностью соответствует динамике уровней активированных В-лимфоцитов.

В целом, сравнение особенностей динамики фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных РГП с разным вариантом исхода заболевания позволяет выделить некоторые закономерности. Во-первых, у больных с благоприятным исходом РГП в послеоперационном периоде выявляется последовательное изменение содержания В-лимфоцитов в крови (процентное содержание общих В-лимфоцитов, активированных В-клеток, наивных В-клеток, количество В2- и активированных В2-лимфоцитов), что доказано с помощью рангового дисперсионного анализа Фридмана, комплексно характеризующего индивидуальные изменения показателей в динамике. Причем содержание В-клеток к концу наблюдаемого только снижается. Подобные количественные изменения могут определяться как более выраженной миграцией В-лимфоцитов в рамках иммунного ответа при воспалении, так и чувствительностью иммуновоспалительных процессов к послеоперационной антибактериальной терапии что, в конечном счете, в обоих случаях и определяет благоприятный исход заболевания. В частности, на примере миграции нейтрофилов в очаг воспаления доказана эффективность воспалительной реакции при перитоните. Во-вторых, у больных с благоприятным исходом заболевания

РГП в процессе послеоперационного лечения большинство исследуемых показателей ниже, чем у пациентов с неблагоприятным исходом (общие В-лимфоциты, наивные В-клетки, В1- и В2-лимфоциты, активированные В-лимфоциты, активированные наивные В-клетки, активированные В1- и В2-лимфоциты). По-видимому, такое соотношение содержания В-лимфоцитов в крови при РГП подтверждает недостаточный уровень миграции для реализации иммунного ответа при неблагоприятном исходе заболевания.

4.2 Взаимодействие клеток врожденного и приобретенного иммунитета

В целом, у пациентов независимо от течения РГП отмечалось существенное увеличение количества нейтрофильных гранулоцитов, а также повышение числа нейтрофилов, несущих CD23 CD62L CD64 и HLA-DR. У пациентов с благоприятным течением РГП были обнаружены отрицательные взаимосвязи нейтрофилов с NK-клетками, и положительные связи с NKT-клетками, исчезающие у пациентов с неблагоприятным исходом. В тоже время при неблагоприятном течении РГП отмечалось наличие связи с наивными В2-клетками, а также В-лимфоцитами несущими активационный маркер CD23.

У всех пациентов наблюдалось снижение общего пула моноцитов с перехода в сторону провоспалительной популяции с постепенной утратой CD64 и HLA-DR, отвечающих за эффективную презентацию антигена. Однако стоит отметить, что если у пациентов с благоприятным течением РГП переход между популяциями моноцитов фиксировался с первых суток наблюдения, то в группе с неблагоприятным течением заболевания переход обнаруживался только к 14 суткам лечения, что указывало на общее торможение процессов миграции и дифференцировки клеток. В дооперационном периоде у пациентов с благоприятным течением РГП, отмечалось наличие положительной связи моноцитов с NK-клетками, несущими CD57. В тоже время у пациентов с неблагоприятным течением РГП данная связь утрачивалась, и отмечалось наличие положительных связей с Т-хелперами, и значением MFI для CD28 на Т-клетках.

Также независимо от течения заболевания на ранних этапах лечения сильному снижению подверглись популяции NK- и NKT-клеток. Однако в группе с благоприятным течением РГП их количество начало нормализовываться начиная с 14-х суток, и ближе к концу лечения полностью вернулось в норму, также отмечалось увеличение количества NK- и NKT-клеток, несущих CD11b и CD57, что указывает на превалирование пула зрелых, функциональных натуральных киллеров. В противовес этому у пациентов с неблагоприятным течением РГП, NK-и NKT-клетки оставались существенно сниженными вплоть до конца срока наблюдения. Количество NK- и NKT-клеток, несущих CD11b и CD57, также оказалось значительно снижено, лишь на CD16-NKT-клетки отмечалось повышение количества CD11b. Таким образом очевидным становится факт не просто истощения пула NK- и NKT-клеток в периферической крови, но и их дисфункция у пациентов с неблагоприятным исходом РГП. В дооперационном периоде у пациентов с благоприятным течением РГП отмечалось наличие отрицательных связей NK-клеток с популяциями Т-хелперов и регуляторных Т-клеток, а также процентом данных клеток, несущих CD62L. Отмечалась отрицательная связь между NK-клетками и значением MFI для костимуляционного рецептора CD28 на NKT-клетках. NKT-клетки показали наличие положительных связей с NK-клетками и процентом данных клеток, несущих CD11b, что в очередной раз подтверждает о едином механизме активации NK- и NKT-клеток и общих механизмах реализации их ответа. Также отмечалась отрицательная связь между NKT-клетками и ФИ нейтрофилов, что может объясняться ограниченными ресурсами организма и наличием конкурентных взаимоотношений между данными популяциями. В тоже время у пациентов с неблагоприятным течением РГП, ранее описанные связи утрачивались и отмечалось наличие положительной связи NK-клеток с цитотоксическими Т-клетками. NKT-клетки в свою очередь продемонстрировали положительную связь с нейтрофилами, несущими CD28, а также отрицательную связь с нейтрофилами, несущими CD62L, что также что может объясняться конкурентными взаимоотношениями. Однако именно у пациентов с

неблагоприятным течением РГП появились отрицательные связи с В2- и наивными В-лимфоцитами.

Наиболее значимые изменения коснулись популяций Т-хелперов и регуляторных Т-клеток. Так у пациентов с благоприятным течением РГП наблюдалось значительное повышение количества регуляторных Т-клеток в дооперационный период с последующим постепенным снижением вплоть до контрольных значений к концу лечения. Стоит отметить что к концу наблюдения количество клеток, несущих CD28 и CD62L снижается в 1,5-2 раза относительно контрольных значений при этом процент зрелых клеток, несущих CD57, напротив превышает контроль более чем в 3 раза, что может говорить об постепенном торможении иммунной реакции и накоплению зрелых эффекторов в периферической крови после окончания элиминации инфекционного очага. Также в дооперационном периоде отмечалось наличие отрицательных связей между Т- и В-клетками, в частности наивными В2-лимфоцитами, что может объясняться общим переходом в сторону Th2-типа иммунного ответа, а, следовательно, превалирующей ролью Т-клеточного звена иммунитета. Отмечаются положительные связи с ФИ моноцитов и значением MFI для CD57 на NKT-клетках, что в свою очередь прорисовывает картину комплексного противобактериального ответа на всех уровнях иммунной реакции. Однако у пациентов с неблагоприятным течением РГП в дооперационном периоде количество Т-хелперов и регуляторных Т-клеток увеличивается незначительно и начинает повышаться только после 14-х суток лечения. Количество Т-клеток, несущих CD28 и CD62L оказывается существенно ниже аналогичных показателей группы с благоприятным исходом РГП, тоже можно сказать и о количестве зрелых клеток, несущих CD57, процент которых начинает повышаться только к концу периода наблюдения. На лицо явное запаздывание и частичный срыв процессов реализации адаптивного иммунного ответа. У данных пациентов сохраняются отрицательные связи Т- и NK-клеток, при этом отмечаются отрицательные связи с нейтрофилами, несущими CD23 и HLA-DR. В тоже время отмечается положительная связь Т-клеток со значением MFI для CD28 на NKT-

клетках, что говорит об общем единстве процессов для обеих групп пациентов, но наличием значительно меньшего потенциала Т-клеточного звена иммунной системы у пациентов с неблагоприятным течением РГП.

В противовес Т-клеткам, у пациентов с благоприятным течением РГП, В-лимфоциты снижены в ходе всего периода наблюдения, что подтверждается отрицательными связями В-лимфоцитов с цитотоксическими Т-лимфоцитами, НКТ-клетками и ФИ моноцитов. Отмечается усиление процессов миграции В-клеток, вызванное Th2-опосредованной иммунной реакцией и усилением гуморального иммунного ответа. У пациентов с неблагоприятным течением РГП в дооперационном периоде напротив наблюдается резкое повышение содержания В-лимфоцитов в периферической крови, большая часть из которых составляет наивные В2-клетки, частично это объясняется нарушением миграции клеток в ткани. Отмечается торможение процессов адаптивного иммунного ответа у данных пациентов. Отмечается отрицательная связь относительного числа В-клеток с Т-хелперами, НКТ-клетками, несущими CD57 и CD11b, а также положительная связь В-клеток с нейтрофилами, несущими CD62L, CD23, HLA-DR и CD11b, что указывает на изменение алгоритма работы иммунной системы в сравнении с пациентами с благоприятным течением РГП.

У пациентов с благоприятным течением РГП в дооперационный период повышенная концентрация IL-4 продемонстрировала положительную связь с популяциями НКТ-клеток. IL-4 представляет собой цитокин, который индуцирует дифференцировку клеток Th0-лимфоцитов в Th2-клетки. В присутствии IL-4 и IL-13 продуцирующихся при Th2-типе иммунного ответа, запускается процесс активации и дифференцировки макрофагов [3]. В тоже время у пациентов с неблагоприятным течением заболевания изменения концентрации IL-4 отсутствуют, что в очередной раз указывает на несоответствие типов иммунного ответа между группами пациентов с различным исходом РГП.

Независимо от течения заболевания значительно повышается концентрация IL-8 и IL-10 в плазме крови, однако у пациентов с неблагоприятным течением РГП повышение более выражено в сравнении с группой с благоприятным

течением РГП. IL8 – один из основных провоспалительных хемокинов, продуцируемый макрофагами и другими типами клеток, такими как эпителиальные клетки, гладкомышечные клетки дыхательных путей и эндотелиальные клетки. IL8 играет важную роль в системе врождённого иммунитета, и при высвобождении приводит к миграции нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и эозинофилов к участку тканевого повреждения [30]. IL-10 – также известный как фактор ингибирования синтеза цитокинов человека (CSIF), является противовоспалительным цитокином. IL-10 представляет собой цитокин, участвующий в процессах торможения иммунной реакции, и, продуцируемый различными типами клеток, включая макрофаги, моноциты, Т-клетки, В-клетки и кератиноциты. IL-10 способен ингибировать синтез провоспалительных цитокинов, таких как IFN- γ , IL-2, IL-3, TNF и GM-CSF, а также демонстрирует мощную способность подавлять активность АПК. Тем не менее, он также стимулирует определенные типы Т-клеток и тучные клетки, а также стимулирует созревание В-клеток и выработку антител [92]. У пациентов с благоприятным течением РГП в дооперационном периоде, отмечается наличие отрицательных связей между IL-8 и Т-клетками, экспрессирующими CD25, а также CD62L⁺Т-хелперами. Отмечается положительная взаимосвязь с уровнем MFI CD57 на NK-клетках. Фиксируются отрицательные связи между IL-10 и Т-клетками, а также значением MFI CD23 на В-клетках. В тоже время отмечаются положительные связи IL-10 с CD11b⁺NK-клетками и значением MFI CD28 на NK-клетках. Полученные данные указывают на превалирование фагоцитарного звена иммунитета и в силу избыточной продукции провоспалительных цитокинов, пролонгированное угнетение реакций адаптивного иммунитета.

Заключение

Проведенные в данной работе исследования позволяют заключить, что фагоциты крови, представленные нейтрофильными гранулоцитами, а также различными субпопуляциями моноцитов, в динамике лечения РГП способны не только формировать эффективные механизмы, направленные на разрешение воспалительного процесса, но и оказывать избыточное провоспалительное воздействие, вызывая утяжеление характера течения заболевания и, в ряде случаев, неблагоприятный исход РГП. При этом наблюдалось нарушение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с неблагоприятным течением РГП, связанное в том числе с изменениями гуморального иммунного ответа, приводящие к снижению способности клеток реализовывать процессы фагоцитоза. У больных РГП в периферической крови понижается уровень моноцитов, экспрессирующих HLA-DR, а также изменяется соотношение основных популяций моноцитов, что характеризует повышение роли неклассической фракции в патогенезе РГП. Выявлены особенности фенотипа NK- и NKT-клеток в крови при неблагоприятном исходе заболевания, отражающие нарушения в механизмах созревания и миграции данных клеток, что выражается снижением содержания зрелых NK- и NKT-клеток, а также понижением числа CD11b⁺ и CD57⁺ NK- и NKT-клеток, при повышении уровня экспрессии на этих клетках рецепторов CD28 и CD57.

Важной особенностью фенотипа Т-лимфоцитов стало повышение числа CD62L⁺Т-хелперов и активированных Т-регуляторных клеток у пациентов с благоприятным исходом РГП в течение 2-х недель послеоперационного периода. При благоприятном исходе РГП в середине лечения наблюдается повышение количества активированных цитотоксических Т-лимфоцитов, которое при неблагоприятном исходе наблюдается только к концу наблюдения. По-видимому, снижение числа Т-хелперов и активация цитотоксических Т-клеток к 14-м суткам наблюдения являются факторами, характеризующими снижение интенсивности воспалительных процессов при РГП и, тем самым, повышающими вероятность благоприятного исхода заболевания. При этом Т-лимфоциты больных РГП

значительно интенсивнее по сравнению с клетками здоровых людей экспрессируют рецепторы CD28 и CD62L.

У больных с благоприятным исходом РГП в течение послеоперационного периода наблюдается снижение количества большинства субпопуляций В-лимфоцитов, тогда как у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания в дооперационном периоде повышено число наивных В-лимфоцитов и В1-клеток. В послеоперационном периоде уровни содержания различных фракций В-клеток у данных пациентов практически не меняются. Предполагается, что установленные особенности в содержании В-лимфоцитов в крови в зависимости от исхода заболевания определяются тем, что у больных с неблагоприятным исходом РГП снижен уровень миграции клеток в процессе развития иммунного ответа.

В дооперационном периоде у пациентов с благоприятным течением РГП выявляется значительное повышение концентрации IL-4 в сыворотке крови, чего не наблюдалось в группе с неблагоприятным течением РГП. Можно предположить, что у пациентов с неблагоприятным течением РГП переход в сторону Th2-типа иммунной реакции значительно менее выражен, что может способствовать развитию неблагоприятного исхода заболевания. Независимо от течения заболевания отмечалось значительное повышение концентрации IL-8 и IL-10 в сыворотке крови. Однако у пациентов с неблагоприятным течением РГП повышение носило более выраженный характер. Таким образом, одновременный рост концентрации данных цитокинов в плазме крови пациентов с РГП может указывать на развитие дисрегуляции синтеза цитокинов и выраженной гиперпродукции отдельных компонентов гуморальной регуляции, что способствует развитию эффекта «цитокинового шторма».

На основании исследования клеточного и гуморального звеньев иммунной системы при развитии РГП с различным исходом разработан способ прогнозирования исхода распространенно гнойного перитонита на основании оценки количества В-лимфоцитов и Т-регуляторных клеток. При сопоставлении значений, полученных в ходе исследования и данных последующего наблюдения за клиническим состоянием больных РГП, был рассчитан коэффициент Т-

клеточной регуляции (КТКР), представляющий собой соотношение процентного содержания В1-лимфоцитов к процентному содержанию активированных Т-регуляторных клеток, то есть $КТКР = \text{В1-лимфоциты} / \text{активированные Т-регуляторные клетки}$. Было доказано, что значение КТКР равное или выше 4,23 свидетельствует о снижении Т-регуляторной активности иммуновоспалительного процесса и повышении количества В1-лимфоцитов. Таким образом, при значении КТКР ниже 4,23 прогнозируют благоприятный исход РГП, при значении КТКР равном и выше 4,23 прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Фагоцитарный индекс нейтрофилов повышен у всех больных РГП, тогда как фагоцитарное число, повышенное у пациентов с благоприятным исходом заболевания, у больных при неблагоприятном исходе снижено до операции и в течение всего периода послеоперационного лечения, что свидетельствует об активном вовлечении нейтрофилов в иммунопатогенез РГП, но при снижении поглотительной способности клеток у пациентов при неблагоприятном исходе заболевания.
2. В крови у больных РГП понижается фагоцитарная активность моноцитов на фоне снижения количества $CD14^{++}CD16^{-}$ и $HLA-DR^{+}$ -моноцитов. Содержание $CD14^{+}CD16^{+}$ -моноцитов у больных с благоприятным исходом заболевания повышено в течение всего послеоперационного лечения, тогда как при неблагоприятном исходе уровень данной субпопуляции моноцитов повышается только на 3-й недели лечения, что характеризует значимость влияния неклассических моноцитов на характер иммунновоспалительного процесса и, соответственно, исход РГП.
3. Количество зрелых $CD3^{-}CD16^{+}CD56^{+}$ - и $CD3^{+}CD16^{+}CD56^{+}$ -клеток, пониженное у больных с благоприятным исходом РГП, восстанавливалось до нормы после операции за счет увеличения числа $CD3^{-}CD16^{+}CD56^{dim-}$ и $CD3^{-}CD16^{-}CD56^{hi}$ -клеток, а также $CD3^{+}CD16^{-}CD56^{+}$ - и $CD3^{+}CD8^{+}CD16^{+}CD56^{+}$ -клеток, соответственно, что свидетельствует о влиянии послеоперационного лечения на субпопуляции NK- и NKT-клеток и отсутствии этого влияния на сниженное содержание зрелых NK- и NKT-клеток у больных с неблагоприятным исходом заболевания.
4. У пациентов с благоприятным течением РГП повышено количество $CD3^{+}CD4^{+}CD62L^{+}$ и $CD3^{+}CD4^{+}CD127^{Low}CD25^{High}CD62L^{+}$ -клеток, а также концентрация IL-4 в крови относительно контрольных значений и показателей пациентов с неблагоприятным исходом заболевания, что характеризует превалирование Th2-типа иммунного ответа и повышение роли регуляторных T-клеток в патогенезе РГП.

5. При неблагоприятном исходе РГП в крови у больных повышается количество $CD19^+CD27^-$, $CD19^+CD5^+$ и $CD19^+CD5^-$ -лимфоцитов, а также В-клеток, экспрессирующих CD23, по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы и пациентов с благоприятным исходом заболевания, что указывает на значимость роли В-лимфоцитов в реализации иммуновоспалительной реакции при РГП и снижении уровня миграции В-клеток в ткань при неблагоприятном исходе заболевания.

6. Разработан способ прогнозирования исхода РГП на основании расчёта коэффициента Т-клеточной регуляции (КТКР), представляющего собой соотношение процентного содержания В1-лимфоцитов к процентному содержанию активированных Т-регуляторных клеток, определяющий благоприятный исход при повышении Т-регуляторной активности и снижении количества В1-клеток у больных. Повышение КТКР (выше 4,23) свидетельствует о неблагоприятном прогнозе за счет низкой Т-регуляторной активности и повышенного уровня В1-лимфоцитов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК - антигенпрезентирующая клетка

АТФ - аденозинтрифосфат

ЖКТ - желудочно кишечный тракт

МИП - Мангеймский индекс перитонита

ПОН - полиорганная недостаточность

РГП - Распространенный гнойный перитонит

ССВР - Синдром системной воспалительной реакции

СЭИ - Синдром эндогенной интоксикации

TCR- антигенраспознающий рецептор Т-лимфоцитов

BCR - антигенраспознающий рецептор В-лимфоцитов

B1 - барьерные В-лимфоциты

B2 - основная популяция В-лимфоцитов

CDR - участок, определяющий комплементарность

CD - кластер дифференцировки

HLA - лейкоцитарный антиген человека (МНС)

IFN - интерферон

IL - интерлейкин

LFA - функциональный антиген лимфоцитов

МНС - главный комплекс гистосовместимости

МНС-I - молекула главного комплекса гистосовместимости I класса

МНС-II - молекула главного комплекса гистосовместимости II класса

TNF - фактор некроза опухоли

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Малков И.С. Распространенный перитонит: эволюция методов хирургического лечения / Малков И.С., Филиппов В.А., Коробков В.Н., Тагиров М.Р. // Практическая медицина. – 2017. – № 6 (107). – С. 46-49.
2. Capobianco A. The peritoneum: healing, immunity, and diseases / Capobianco A., Cottone L., Monno A. et al // J Pathol. – 2017. – № 243(2). – P. 137-147.
3. Хаитов Р.М. Иммунология. Атлас / Хаитов Р.М., Габир Ф.Ю. – 2-е изд., обновленное. – Москва: ГЭОТАР-Медиа. – 2020. – 416 с.
4. Abul Abbas Cellular and Molecular Immunology, 9th edition / Abul Abbas Andrew Lichtman Shiv Pillai. – Elsevier. – 2017. – P. 608.
5. Останин А.А. Опыт использования экстракорпоральной иммунотерапии в лечении хирургических больных с гнойно-септическими заболеваниями / Останин А.А., Пальцев А.В., Леплина О.Ю. и др. // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2. – № 1. – С. 43-51.
6. Савченко А.А. Состояние клеточного и гуморального иммунитета в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита / Савченко А.А., Борисов А.Г., Здзитовецкий Д.Э., Кудрявцев И.В. // Инфекция и иммунитет. – 2015. – Т. 5. – № 1. – С. 63-70.
7. Varela ML. Acute Inflammation and Metabolism / Varela ML., Mogildea M., Moreno I., Lopes A. // Inflammation. – 2018. – № 41(4). – P. 1115-1127.
8. Wang W. Negative regulation of Nod-like receptor protein 3 inflammasome activation by T cell Ig mucin-3 protects against peritonitis / Wang W., Shi Q., Dou S. et al // Immunology. – 2018. – Vol. 153. – № 1. – P. 71-83.
9. Mikhalechik EV. Markery sistemnogo vospaleniia pri mestnom i rasprostranennom peritonite [Biomarkers of system inflammation in local and diffuse peritonitis] / Mikhalechik EV., Borodina IV., Vlasova IV. et al // Biomed Khim. – 2020. – № 66(5). – P. 411-418.
10. Brook A.C. Neutrophil-derived miR-223 as local biomarker of bacterial peritonitis / Brook A.C., Jenkins R.H., Clayton A. et al // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 10136.

11. Mustaffa-Kamal F. Characterization of antiviral T cell responses during primary and secondary challenge of laboratory cats with feline infectious peritonitis virus (FIPV) / Mustaffa-Kamal F., Liu H., Pedersen N.C., Sparger E.E. // BMC Vet. Res. – 2019. – Vol. 15. – № 1. – P. 165.
12. Kim J.W. The delta neutrophil index is a prognostic factor for postoperative mortality in patients with sepsis caused by peritonitis / Kim J.W., Park J.H., Kim D.J. et al // PLoS One. – 2017. – Vol. 12. – № 8.
13. Цитометрический способ прогнозирования исхода распространенного гнойного перитонита: пат. 2691742 С1 Рос. Федерация: МПК G01N 33/48 / Савченко А.А. и др.; заявитель и правообладатель ФИЦ КНЦ СО РАН. – №2018119060; заявл. 23.05.2018; опубл. 18.06.2019.
14. Šibíková M. Cell Membrane-Derived Microvesicles in Systemic Inflammatory Response / Šibíková M., Živný J., Janota J. // Folia Biol (Praha). – 2018. – № 64(4). – P. 113-124.
15. Capobianco A. The peritoneum: healing, immunity, and diseases / Capobianco A., Cottone L., Monno A. et al // J Pathol. – 2017. – № 243(2). – P. 137-147.
16. Cirocchi R. A historical review of surgery for peritonitis secondary to acute colonic diverticulitis: from Lockhart-Mummery to evidence-based medicine / Cirocchi R., Afshar S., Di Saverio S., et al // World J Emerg Surg. – 2017. – № 12. – P. 14.
17. Larichev AB. Priority of endovideosurgery in treatment of diffuse purulent peritonitis with subcompensated polyorgan dysfunction / Larichev AB., Pokrovskii EZh. // Vestn Khir Im I I Grek. – 2014. – № 173(1). – P. 89-92.
18. Zavyalkin VA. Treatment of diffuse peritonitis in children / Zavyalkin VA., Barskaya MA., Varlamov AV. et al // Khirurgiia (Mosk). – 2015. – № (7). – P. 65-68.
19. Rello J. Sepsis: A Review of Advances in Management / Rello J., Valenzuela-Sánchez F., Ruiz-Rodriguez M., Moyano S. // Adv Ther. – 2017. – № 34(11). – P. 2393-2411.
20. Vester H. HLA-DR expression on monocytes is decreased in polytraumatized patients / Vester H., Dargatz P., Huber-Wagner S. et al // Eur J Med Res. – 2015. – № 20. – P. 84.

21. Das U. HLA-DR expression, cytokines and bioactive lipids in sepsis / Das U. // Arch Med Sci. – 2014. – № 10(2). – P. 325-35.
22. Balk RA. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? / Balk RA. // Virulence. – 2014. – № 5(1). – P. 20-26.
23. Cherry JW. Endotoxin shock / Cherry JW. // Surg Clin North Am. – 1970. – № 50(2). – P. 403-408.
24. Cecconi M. Sepsis and septic shock / Cecconi M., Evans L., Levy M., Rhodes A. // Lancet. – 2018. – № 392(10141). – P. 75-87.
25. Riché F. Local and systemic innate immune response to secondary human peritonitis / Riché F., Gayat E., Collet C. et al // Crit Care. – 2013. – № 17(5). – P. 201.
26. Kaur BP. Innate Immunity / Kaur BP., Secord E // Pediatr Clin North Am. – 2019. – №66(5). – P.905-911.
27. Козлов В.А. Клиническая иммунология: Практическое пособие для инфекционистов / Козлов В.А., Тихонова Е.П., Савченко А.А. и др. – Красноярск: Поликор. – 2021. – 563 с.
28. Roh JS. Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases / Roh JS, Sohn DH. // Immune Netw – 2018. – №18(4). – P. 27.
29. Черных Е.Р. Иммунопатогенетические аспекты ишемического инсульта / Черных Е.Р., Шевела Е.Я., Морозов С.А., Останин А.А. // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 19-34.
30. Castanheira FVS. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation / Castanheira FVS., Kubes P. // Blood. – 2019. – № 133(20). – P. 2178-2185.
31. Silvestre-Roig C. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation / Silvestre-Roig C., Braster Q, Ortega-Gomez A., Soehnlein O. // Nat Rev Cardiol. – 2020. – № 17(6). – P. 327-340.
32. Kapoor S. The role of neutrophils in thrombosis / Kapoor S., Opneja A., Nayak L. // Thromb Res. – 2018. – № 170. – P. 87-96.
33. Coffelt SB. Neutrophils in cancer: neutral no more / Coffelt SB., Wellenstein MD., de Visser KE. // Nat Rev Cancer. – 2016. – № 16(7). – P. 431-46.

34. Shaul ME. Tumour-associated neutrophils in patients with cancer / Shaul ME., Fridlender ZG. // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2019. – №16(10). – P. 601-620.
35. Ocana A. Neutrophils in cancer: prognostic role and therapeutic strategies / Ocana A., Nieto-Jiménez C., Pandiella A., Templeton AJ. // *Mol Cancer.* – 2017. – № 16(1). – P. 137.
36. Garré JM. Contributions of monocytes to nervous system disorders / Garré JM., Yang G. // *J Mol Med (Berl).* – 2018. – № 96(9). – P. 873-883.
37. Guillems M. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes / Guillems M., Mildner A., Yona S. // *Immunity.* – 2018. – №49(4). – P. 595-613.
38. Wong ME. The HIV Reservoir in Monocytes and Macrophages / Wong ME., Jaworowski A., Hearps AC. // *Front Immunol.* – 2019. – № 10. – P. 1435.
39. Cronk JM. Licensing Natural Killers for Antiviral Immunity / Cronk JM, Fafoutis E, Brown MG. // *Pathogens.* – 2021. – №10(7). – P. 908
40. Serti E. Monocytes activate natural killer cells via inflammasome-induced interleukin 18 in response to hepatitis C virus replication / Serti E, Werner JM, Chattergoon M, Cox AL, Lohmann V, Rehermann B. // *Gastroenterology.* – 2014. – №147(1). – P. 209-220.
41. Jeyaraman M. Bracing NK cell based therapy to relegate pulmonary inflammation in COVID-19 / Jeyaraman M, Muthu S, Bapat A, Jain R, Sushmitha ES, et al // *Heliyon.* – 2021. – №7(7). P. 07635.
42. Hodgins JJ. Killers 2.0: NK cell therapies at the forefront of cancer control / Hodgins JJ., Khan ST., Park MM. et al // *J Clin Invest.* – 2019. – № 129(9). – P. 3499-3510.
43. Bi J. NK Cell Dysfunction and Checkpoint Immunotherapy / Bi J., Tian Z. // *Front Immunol.* – 2019. – № 10. – P. 1999.
44. Terrén I. NK Cell Metabolism and Tumor Microenvironment / Terrén I., Orrantia A., Vitallé J. et al // *Front Immunol.* 2019. – № 10. – P. 2278.
45. Godfrey DI. NKT cells: facts, functions and fallacies / Godfrey DI., Hammond KJ., Poulton LD. et al // *Immunol Today.* – 2000. – № 21(11). – P. 573-583.

46. Hammond KJ. NKT cells are phenotypically and functionally diverse / Hammond KJ., Pelikan SB., Crowe NY. et al // Eur J Immunol. – 1999. – № 29(11). – P. 3768-3781.
47. Chan WL. NKT cell subsets in infection and inflammation / Chan WL., Pejnovic N., Liew TV. et al // Immunol Lett. – 2003. – № 85(2). – P. 159-163.
48. Mocchegiani E. NK and NKT cell functions in immunosenescence / Mocchegiani E., Malavolta M. // Aging Cell. – 2004. – № 3(4). – P. 177-184.
49. Gerth E. The Role of Adaptor Proteins in the Biology of Natural Killer T (NKT) Cells / Gerth E., Mattner J. // Front Immunol. – 2019. – № 10. – P. 1449.
50. Heller NM. Natural Killer T (NKT) Cells in Mice and Men. In: Soboloff J, Kappes DJ, editors. Signaling Mechanisms Regulating T Cell Diversity and Function / Heller NM., Berga-Bolanos R., Naler L., Sen JM. // Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis. – 2018.
51. Nishioka Y. CD1d-Restricted Type II NKT Cells Reactive With Endogenous Hydrophobic Peptides / Nishioka Y., Masuda S., Tomaru U., Ishizu A. // Front Immunol. – 2018. – № 9. – P. 548.
52. Singh AK. Type II NKT Cells: An Elusive Population With Immunoregulatory Properties / Singh AK., Tripathi P., Cardell SL. // Front Immunol. – 2018. – № 9. – P. 1969.
53. Van Puijvelde GHM. NKT cells in cardiovascular diseases / Van Puijvelde GHM., Kuiper J. // Eur J Pharmacol. – 2017. – № 816. – P. 47-57.
54. Terabe M. Tissue-Specific Roles of NKT Cells in Tumor Immunity / Terabe M., Berzofsky JA. // Front Immunol. – 2018. – № 9. – P. 1838.
55. Kriegsmann K. NKT cells - New players in CAR cell immunotherapy? / Kriegsmann K., Kriegsmann M., von Bergwelt-Baildon M. et al // Eur J Haematol. – 2018. – № 101(6). – P. 750-757.
56. Sette A. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19 / Sette A, Crotty S. // Cell. – 2021. – №184(4). – P. 861-880.
57. Bonilla FA. Adaptive immunity / Bonilla FA, Oettgen HC. // J Allergy Clin Immunol. – 2010. – №125(2). – P. 33-40.

58. Wang W. T Helper (Th) Cell Profiles in Pregnancy and Recurrent Pregnancy Losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh Cells / Wang W., Sung N., Gilman-Sachs A., Kwak-Kim J. // *Front Immunol.* – 2020. – № 11:2025.
59. Romagnani S. Th1/Th2 cells / Romagnani S. // *Inflamm Bowel Dis.* – 1999. – № 5(4). – P. 285-294.
60. Hirahara K. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases: beyond the Th1/Th2 paradigm / Hirahara K., Nakayama T. // *Int Immunol.* – 2016. – № 28(4). – P. 163-171.
61. Watanabe S. Expression of Th1/Th2 cell-related chemokine receptors on CD4+ lymphocytes under physiological conditions / Watanabe S., Yamada Y., Murakami H. // *Int J Lab Hematol.* – 2020. – № 42(1). – P. 68-76.
62. Goldberg MF. Salmonella Persist in Activated Macrophages in T Cell-Sparse Granulomas but Are Contained by Surrounding CXCR3 Ligand-Positioned Th1 Cells / Goldberg MF., Roeske EK., Ward LN. et al // *Immunity.* – 2018. – № 49(6). – P. 1090-1102.
63. Giusti C. The Th1 chemokine MIG in Graves' Disease: a narrative review of the literature / Giusti C. // *Clin Ter.* – 2019. – № 170(4).
64. Gonnella D. The Th1 chemokine MIG in Graves' ophthalmopathy / Gonnella D. // *Clin Ter.* – 2019. – № 170(5).
65. Емануйлов В. И. Содержание интерлейкина-4 при системной Красной волчанке: связь с аутоиммунным воспалением и нарушениями гемокоагуляции / Емануйлов В. И., Емануйлова Н. В., Аршинов А. В. // *Вестник Ивановской медицинской академии.* – 2021. – Т. 26. – № 2. – С. 25-29.
66. Muhammad Yusoff F. Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus / Muhammad Yusoff F., Wong KK., Mohd Redzwan N. // *Autoimmunity.* – 2020. – № 53(1). – P. 8-20.
67. Stark JM. The Metabolic Requirements of Th2 Cell Differentiation / Stark JM., Tibbitt CA., Coquet JM. // *Front Immunol.* – 2019. – № 10. – P. 2318.
68. Nakayama T. Th2 Cells in Health and Disease / Nakayama T., Hirahara K., Onodera A. et al // *Annu Rev Immunol.* – 2017. – № 35. – P. 53-84.

69. Gurram RK. Orchestration between ILC2s and Th2 cells in shaping type 2 immune responses / Gurram RK., Zhu J. // *Cell Mol Immunol.* – 2019. – № 16(3). – P. 225-235.
70. Kumar S. Dendritic Cell-Mediated Th2 Immunity and Immune Disorders / Kumar S., Jeong Y., Ashraf MU., Bae YS. // *Int J Mol Sci.* – 2019. – № 20(9). – P. 2159.
71. Lamiable O. Dendritic cells in Th2 immune responses and allergic sensitization / Lamiable O., Mayer JU., Munoz-Erazo L., Ronchese F. // *Immunol Cell Biol.* – 2020. – № 98(10). – P. 807-818.
72. Ellenbogen Y. The Initiation of Th2 Immunity Towards Food Allergens / Ellenbogen Y., Jiménez-Saiz R., Spill P. et al // *Int J Mol Sci.* – 2018. – № 19(5). – P. 1447.
73. Mitson-Salazar A. Pathogenic Effector Th2 Cells in Allergic Eosinophilic Inflammatory Disease / Mitson-Salazar A., Prussin C. // *Front Med (Lausanne).* – 2017. – № 4. – P. 165.
74. Mitson-Salazar A. Hematopoietic prostaglandin D synthase defines a proeosinophilic pathogenic effector human T(H)2 cell subpopulation with enhanced function / Mitson-Salazar A., Yin Y., Wansley DL. et al // *J Allergy Clin Immunol.* – 2016. – № 137(3). – P. 907-918.
75. Rahimi RA. Distinct functions of tissue-resident and circulating memory Th2 cells in allergic airway disease / Rahimi RA., Nepal K., Cetinbas M. et al // *J Exp Med.* – 2020. – № 217(9).
76. Mikami N. New Treg cell-based therapies of autoimmune diseases: towards antigen-specific immune suppression / Mikami N., Kawakami R., Sakaguchi S. // *Curr Opin Immunol.* – 2020. – № 67. – P. 36-41.
77. Shi H. Metabolic Control of Treg Cell Stability, Plasticity, and Tissue-Specific Heterogeneity / Shi H., Chi H. // *Front Immunol.* – 2019. – № 10. – P. 2716.
78. Ohue Y. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target? / Ohue Y., Nishikawa H. // *Cancer Sci.* – 2019. – № 110(7). – P. 2080-2089.

79. Ohkura N. Transcriptional and epigenetic basis of Treg cell development and function: its genetic anomalies or variations in autoimmune diseases / Ohkura N., Sakaguchi S. // *Cell Res.* – 2020. – № 30(6). – P. 465-474.
80. Mikami N. Epigenetic conversion of conventional T cells into regulatory T cells by CD28 signal deprivation / Mikami N., Kawakami R., Chen KY. et al // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2020. – № 117(22) . – P. 12258-12268.
81. Scheinecker C. Treg cells in health and autoimmune diseases: New insights from single cell analysis / Scheinecker C., Göschl L., Bonelli M. // *J Autoimmun.* – 2020 . – № 110. – P. 102376.
82. Herrnsstadt GR. The role of Treg subtypes in glomerulonephritis / Herrnsstadt GR., Steinmetz OM. // *Cell Tissue Res.* – 2020.
83. Krebs CF. CD4+ T Cell Fate in Glomerulonephritis: A Tale of Th1, Th17, and Novel Treg Subtypes / Krebs CF., Steinmetz OM. // *Mediators Inflamm.* – 2016.
84. Chorny A. The soluble pattern recognition receptor PTX3 links humoral innate and adaptive immune responses by helping marginal zone B cells / Chorny A., Casas-Recasens S., Sintès J. et al // *J Exp Med.* – 2016. – № 213(10). – P. 2167-2185.
85. Prieto JMB. Development, phenotype, and function of non-conventional B cells / Prieto JMB., Felipe MJB. // *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* – 2017. – № 54. – P. 38-44.
86. Sabatino JJ Jr. B cells in autoimmune and neurodegenerative central nervous system diseases / Sabatino JJ Jr., Pröbstel AK., Zamvil SS. // *Nat Rev Neurosci.* – 2019. – № 20(12). – P. 728-745.
87. Wang Y. B Cell Development and Maturation / Wang Y., Liu J., Burrows PD., Wang JY. // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – № 1254. – P. 1-22.
88. Nemazee D. Mechanisms of central tolerance for B cells / Nemazee D. // *Nat Rev Immunol.* – 2017. – № 17(5). – P. 281-294.
89. Hendricks J. Heterogeneity of Memory Marginal Zone B Cells / Hendricks J., Bos NA., Kroese FGM. // *Crit Rev Immunol.* – 2018 – № 38(2). – P. 145-158.
90. Matsushita T. Regulatory and effector B cells: Friends or foes? / Matsushita T. // *J Dermatol Sci.* – 2019. – № 93(1). – P. 2-7.

91. Appelgren D. Marginal-Zone B-Cells Are Main Producers of IgM in Humans, and Are Reduced in Patients With Autoimmune Vasculitis / Appelgren D., Eriksson P., Ernerudh J., Segelmark M. // *Front Immunol.* – 2018. – № 9.
92. Barátki BL. Inflammatory signal induced IL-10 production of marginal zone B-cells depends on CREB / Barátki BL., Huber K., Sármay G. et al // *Immunol Lett.* – 2019. – № 212. – P. 14-21.
93. Marinkovic D. Putative role of marginal zone B cells in pathophysiological processes / Marinkovic D., Marinkovic T. // *Scand J Immunol.* – 2020. – № 92(3).
94. Baumgarth N. B-1 and B-2 cell-derived immunoglobulin M antibodies are nonredundant components of the protective response to influenza virus infection / Baumgarth N., Herman OC., Jager GC. et al // *J Exp Med.* – 2000. – № 192(2). – P. 271-280.
95. Smith FL. B-1 cell responses to infections / Smith FL., Baumgarth N. // *Curr Opin Immunol.* – 2019. – № 57. – P. 23-31.
96. Panda S. Natural IgG antibodies provide innate protection against ficolin-opsonized bacteria / Panda S., Zhang J., Tan NS. et al // *EMBO J.* – 2013. – № 32(22). – P. 2905-2919.
97. Martin RK. B1 Cell IgE Impedes Mast Cell-Mediated Enhancement of Parasite Expulsion through B2 IgE Blockade / Martin RK., Damle SR., Valentine YA., et al // *Cell Rep.* – 2018. – № 22(7). – P. 1824-1834.
98. Novaes E. B-1 cell response in immunity against parasites / Novaes E., Brito RR., Dos Santos Toledo M. et al // *Parasitol Res.* – 2019. – № 118(5). – P. 1343-1352.
99. Gonzaga WF. B-1 cells contribute to susceptibility in experimental infection with *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* / Gonzaga WF., Xavier V., Vivanco BC. et al // *Parasitology.* – 2015 – № 142(12). – P. 1506-1515.
100. Seifert M. Human memory B cells / Seifert M., Küppers R. // *Leukemia.* – 2016. – № 30(12). – P. 2283-2292.
101. Inoue T. Generation of memory B cells and their reactivation / Inoue T., Moran I., Shinnakasu R. et al // *Immunol Rev.* – 2018. – № 283(1). – P. 138-149.

102. Weisel F. Memory B Cells of Mice and Humans / Weisel F., Shlomchik M. // *Annu Rev Immunol.* – 2017. – № 35. – P. 255-284.
103. Khoder A. Regulatory B cells are enriched within the IgM memory and transitional subsets in healthy donors but are deficient in chronic GVHD / Khoder A., Sarvaria A., Alsuliman A. et al // *Blood.* – 2014. – № 124(13). – P. 2034-2045.
104. Alhabbab RY. Regulatory B cells / Alhabbab RY., Nova-Lamperti E., Aravena O. et al // *Development, phenotypes, functions, and role in transplantation. Immunol Rev.* – 2019. – № 292(1). – P. 164-179.
105. Godinjak A. Predictive value of SAPS II and APACHE II scoring systems for patient outcome in a medical intensive care unit / Godinjak A., Iglica A., Rama A. et al // *Acta Med Acad.* – 2016. – № 45(2). – P. 97-103.
106. Bone RC. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee / Bone RC., Balk RA., Cerra FB. et al // *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest.* – 1992. – № 101(6). – P. 1644-55.
107. Karki OB. Effectiveness of Mannheim Peritonitis Index in Predicting the Morbidity and Mortality of Patients with Hollow Viscus Perforation / Karki OB., Hazra NK., Timilsina B., Kunwar D. // *Kathmandu Univ Med J (KUMJ).* – 2018. – № 16(64). – P. 296-300.
108. Napolitano LM. Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes / Napolitano LM. // *Surg Infect (Larchmt).* – 2018. – № 19(2). – P. 117-125.
109. Хельсинкская декларация всемирной медицинской ассоциации – «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта» [Принята на 18-ой Генеральной Ассамблее ВМА, Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г.]: офиц. текст: по состоянию на октябрь 2013 г.
110. Приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 N 266 "Об утверждении Правил клинической практики в Российской Федерации" (Зарегистрировано в Минюсте РФ 20.06.2003 N 4808)

111. Трусов Г.А. Применение проточной цитометрии для оценки качества биомедицинских клеточных продуктов / Трусов Г.А., Чапленко А.А., Семенова И.С., Мельникова Е.В., Олефир Ю.В. // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. – Т.18. – №1 (65). – С. 16-24.
112. Кудрявцев И.В. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием мшестецветного цитофлуориметрического анализа / Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – № 1. – С. 19-26.
113. Байдун Л.А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» / Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А., Хайдуков С.В. (проект) // Медицинская иммунология. – 2012. – Т.14. – №3. – С.255-268.
114. Зурочка А.В. Проточная цитометрия в медицине и биологии / А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев, В.А. Черешнев. – Екатеринбург: РИО УрО РАН. – 2013. – 552 с.
115. Зурочка А.В. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях / А.В. Зурочка, С.В. Хайдуков, И.В. Кудрявцев, В.А. Черешнев. – Екатеринбург: РИО УрО РАН. – 2018. – 720 с.
116. Савченко А.А. Регуляторное влияние моноцитов крови на популяционный состав гранулоцитарных лейкоцитов и состояние их респираторного взрыва при распространенном гнойном перитоните / Савченко А.А., Борисов А.Г., Черданцев Д.В., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д. // Инфекция и иммунитет. – 2018. – Т. 8. – № 2. – С. 201-210.
117. Mahnke K. Down-Regulation of CD62L Shedding in T Cells by CD39(+) Regulatory T Cells Leads to Defective Sensitization in Contact Hypersensitivity Reactions / Mahnke K., Useliene J., Ring S. et al // J. Invest. Dermatol. – 2017. – Vol. 137. – № 1. – P. 106-114.
118. Sopper S. Expression on T Cells and Increased Soluble CD62L Levels Predict Molecular Response to Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Early Chronic-Phase

Chronic Myelogenous Leukemia / Sopper S., Mustjoki S., White D. et al // J. Clin. Oncol. – 2017. – Vol. 35. – № 2. – P. 175-184.

119. Wu E.K. TNF-Induced Interstitial Lung Disease in a Murine Arthritis Model: Accumulation of Activated Monocytes, Conventional Dendritic Cells, and CD21(+)/CD23(-) B Cell Follicles Is Prevented with Anti-TNF Therapy / Wu E.K., Henkes Z.I., McGowan B. et al // J. Immunol. – 2019. – Vol. 203. – № 11. – P. 2837-2849.

120. Juskewitch JE. Monocyte HLA-DR expression and neutrophil CD64 expression as biomarkers of infection in critically ill neonates and infants / Juskewitch JE., Abraham RS., League SC. et al // Pediatr Res. – 2015. – № 78(6). – P. 683-690.

121. Deng X., Cytochrome c modulates the mitochondrial signaling pathway and polymorphonuclear neutrophil apoptosis in bile duct-ligated rats / Deng X., Deng T., Ni Y. et al // Exp. Ther. Med. – 2016. – Vol. 12. – № 1. – P. 333-342.

122. Jong E. Neutrophil CD64 expression as a longitudinal biomarker for severe disease and acute infection in critically ill patients / Jong E., de Lange D.W., Beishuizen A. et al // Int. J. Lab. Hematol. – 2016. – Vol. 38. – № 5. – P. 576-584.

123. Qian W. Neutrophil CD64 as a Marker of Bacterial Infection in Acute Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease / Qian W., Huang G.Z. // Immunol. Invest. – 2016. – Vol. 45. – № 6. – P. 490-503.

124. Mao Y. Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin to Monocytes/Macrophages Inhibits Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction by Inhibiting Monocyte-Mediated Inflammation / Mao Y., Koga J.I., Tokutome M. et al // Int. Heart J. – 2017. – Vol. 58. – № 4. – P. 615-623.

125. Peng H. NK cells in liver homeostasis and viral hepatitis / Peng H., Tian Z. // Sci. China Life Sci. – 2018. – Vol. 61. – № 12. – P. 1477-1485.

126. Tahrali I. Dysfunction of CD3–CD16+CD56dim and CD3–CD16–CD56bright NK cell subsets in RR-MS patients / Tahrali I., Kucuksezer U.C., Altintas A. et al // Clinical Immunology. – 2018. – Vol. 193. – P. 88-97.

127. Oboshi W. The influence of NK cell-mediated ADCC: Structure and expression of the CD16 molecule differ among FcγRIIIa-V158F genotypes in healthy Japanese

- subjects / Oboshi W., Watanabe T., Matsuyama Yu. et al // Human Immunology. – 2016. – Vol. 77. – № 2. – P. 165-171.
128. Melsen J.E. Human Circulating and Tissue-Resident CD56(bright) Natural Killer Cell Populations / Melsen J.E., Lugthart G., Lankester A.C., Schilham M.W. // Front. Immunol. – 2016. – Vol. 7 –P. 262.
129. Van Acker H.H. CD56 in the Immune System: More Than a Marker for Cytotoxicity? / Van Acker H.H., Capsomidis A., Smits E.L., Van Tendeloo V.F. // Front. Immunol. – 2017. – Vol. 8. –P. 892.
130. Савченко А.А. Фенотип НК-клеток в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания / Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д. // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9. – № 3-4. – С. 539-548.
131. Adib H. Evaluation of peripheral blood NK cell subsets and cytokines in unexplained recurrent miscarriage / Adib H., Basirat Z., Mostafazadeh A., et al // J. Chin. Med. Assoc. – 2018. – Vol. 81. – № 12. – P. 1065-1070.
132. Jabir N.R. Reduction in CD16/CD56 and CD16/CD3/CD56 Natural Killer Cells in Coronary Artery Disease / Jabir N.R., Firoz C.K., Ahmed F. et al // Immunol. Invest. – 2017. – Vol. 46. –№ 5. – P. 526-535.
133. Parodi M. Hypoxia Modifies the Transcriptome of Human NK Cells, Modulates Their Immunoregulatory Profile, and Influences NK Cell Subset Migration / Parodi M., Raggi F., Cangelosi D. et al // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 2358.
134. Shindo Y. Anti-PD-L1 peptide improves survival in sepsis / Shindo Y., McDonough J.S., Chang K.C. et al // J. Surg. Res. – 2017. – Vol. 208. – P. 33-39.
135. Schmid Integrin CD11b activation drives anti-tumor innate immunity / Schmid M.C., Khan S.Q., Kaneda M.M. et al // Nat. Commun. – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 5379.
136. Lin W. NK cells are negatively regulated by sCD83 in experimental autoimmune uveitis / Lin W., Man X., Li P. et al // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 12895.

137. Trojan K. Association of peripheral NK cell counts with Helios(+) IFN- γ (-) T(regs) in patients with good long-term renal allograft function / Trojan K., Zhu L., Aly M. et al // Clin. Exp. Immunol. – 2017. – Vol. 188. – № 3. – P. 467-479.
138. Kared H. CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes / Kared H., Martelli S., Ng T.P. et al // Cancer Immunol Immunother. – 2016. – Vol. 65. – № 4. – P. 441-452.
139. Damele L. Effect of Tyrosin Kinase Inhibitors on NK Cell and ILC3 Development and Function / Damele L., Montaldo E., Moretta L. et al // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 2433.
140. Han Y. Pathogen-expanded CD11b⁺ invariant NKT cells feedback inhibit T cell proliferation via membrane-bound TGF- β 1 / Han Y., Jiang Z., Chen Z. et al // J Autoimmun. – 2015. – Vol. 58. – P. 21-35.
141. Беленюк В.Д. Зависимость фенотипа Т-лимфоцитов крови от исхода распространенного гнойного перитонита / Беленюк В.Д., Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В. // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 13(22). – № 4. – С. 1385-1393.
142. Черных Е. Р. Феномен Т-клеточной анергии при хирургическом сепсисе / Е. Р. Черных, О. Ю. Леплина, М. А. Тихонова и др. // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5. – № 5-6.
143. Velasquez M.P. CD28 and 41BB Costimulation Enhances the Effector Function of CD19-Specific Engager T Cells / Velasquez M.P., Szoor A., Vaidya A. et al // Cancer Immunol. Res. – 2017. – Vol. 5. – № 10. – P. 860-870.
144. Zumerle S. Membrane Rafts in T Cell Activation: A Spotlight on CD28 Costimulation / Zumerle S., Molon B., Viola A. // Front Immunol. – 2017. – Vol. 8. – P. 1467.
145. Gonzalez-Serna A. Increased CD127⁺ and decreased CD57⁺ T cell expression levels in HIV-infected patients on NRTI-sparing regimens / Gonzalez-Serna A., Ferrando-Martinez S., Tarancon-Diez L. et al // J. Transl. Med. – 2017. – Vol. 15. – № 1. – P. 259.

146. Verma K. Human CD8⁺ CD57⁻ TEMRA cells: Too young to be called «old» / Verma K., Ogonek J., Varanasi P.R. et al // PLoS One. – 2017. – Vol. 12. – № 5.
147. Савченко А.А. Особенности фенотипа Т-лимфоцитов в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания / Савченко А.А., Борисов А.Г., Черданцев Д.В., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д. // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9. – № 1. – С. 115-127.
148. Long A.E. A novel and rapid method to quantify Treg mediated suppression of CD4 T cells / Long A.E., Tatum M., Mikacenic C., Buckner J.H. // J. Immunol. Methods. – 2017. – Vol. 449. – P. 15-22.
149. Курганова Е.В. Регуляторные т-клетки с супрессорной активностью при хирургическом сепсисе / Курганова Е.В., Тихонова М.А., Стрельцова Е.И. и др. // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8. – № 1. – С. 51-60.
150. Lee GR. The Balance of Th17 versus Treg Cells in Autoimmunity / Lee GR. // Int J Mol Sci. – 2018. – № 19(3). – P. 730.
151. Do J. $\gamma\delta$ T cells support gut Ag-reactive colitogenic effector T-cell generation by enhancing Ag presentation by CD11b(+) DCs in the mesenteric LN. Eur J Immunol. / Do J., Visperas A., Freeman M.L. et al // J. Immunol. – 2016. – Vol. 146. – № 2. – P. 340-246.
152. Shiokawa A. Mesenteric lymph node CD11b(-) CD103(+) PD-L1(High) dendritic cells highly induce regulatory T cells / Shiokawa A., Kotaki R., Takano T. et al // Immunology. – 2017. – Vol. 152. – № 1. – P. 52-64.
153. Беленюк В.Д. Особенности фенотипа В-лимфоцитов крови в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита / Беленюк В.Д., Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В. // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т. 11. – № 3. – С. 454-462.
154. Nevalainen T. CD27⁻ IgD⁻ B cell memory subset associates with inflammation and frailty in elderly individuals but only in males / Nevalainen T., Autio A., Kummola L. et al // Immun Ageing. – 2019. – Vol. 16. – № 19.

155. Sun H. IgM+CD27+ B cells possessed regulatory function and represented the main source of B cell-derived IL-10 in the synovial fluid of osteoarthritis patients / Sun H., Zhang Y., Song W. et al // *Hum Immunol.* – 2019. – Vol. 80. – № 4. – P. 263-269.
156. Bisht N. Cystatin from Filarial Parasites Suppress the Clinical Symptoms and Pathology of Experimentally Induced Colitis in Mice by Inducing T-Regulatory Cells, B1-Cells, and Alternatively Activated Macrophages / Bisht N., Khatri V., Chauhan N., Kalyanasundaram R. // *Biomedicines.* – 2019. – Vol. 7. – № 4.
157. Morris G. Emerging role of innate B1 cells in the pathophysiology of autoimmune and neuroimmune diseases: Association with inflammation, oxidative and nitrosative stress and autoimmune responses / Morris G., Puri B.K., Olive L., Carvalho A.F., Berk M., Maes M. // *Pharmacol. Res.* – 2019. – Vol. 148. – P. 104408.
158. Yong L. B1 cells protect against *Schistosoma japonicum*-induced liver inflammation and fibrosis by controlling monocyte infiltration / Yong L., Tang Y., Ren C. et al // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2019. – Vol. 13. – № 6.
159. Чулкова С.В. Ключевая роль популяций B1-лимфоцитов в иммунном ответе у больных раком желудка / Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Грищенко Н.В., Рябчиков Д.А., Гривцова Л.Ю., Базин И.С., Тупицын Н.Н. // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2018. – Т. 17. – № 4. – С. 64-70.
160. Soares R.R. What do we know about the role of regulatory B cells (Breg) during the course of infection of two major parasitic diseases, malaria and leishmaniasis? / Soares R.R., Antinarelli L.M.R., Abramo C. et al // *Pathog. Glob. Health.* – 2017. – Vol. 111. – № 3. – P. 107-115.
161. Yesillik S. Phenotypic Analysis of CD4+ Treg, CD8+ Treg, and Breg Cells in Adult Common Variable Immunodeficiency Patients / Yesillik S., Agrawal S., Gollapudi S.V., Gupta S. // *Int. Arch. Allergy. Immunol.* – 2019. – Vol. 180. – № 2. – P. 150-158.
162. Chen L. Commensal Microbe-specific Activation of B2 Cell Subsets Contributes to Atherosclerosis Development Independently of Lipid Metabolism / Chen L., Ishigami T., Nakashima-Sasaki R., et al // *EBioMedicine.* – 2016. – Vol. 13. – P. 237-247.