

УДК 616.381-002

ФЕНОТИП НКТ-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТОМ

В.Д. Беленюк

Одной из наиболее тяжелых инфекционно-воспалительных патологий является распространенный гнойный перитонит (РГП), иммунопатогенез которой до конца не ясен. В рамках работы было обследовано 35 пациентов с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, средний возраст 49,6 лет. В качестве контроля обследовано 38 относительно здоровых людей, средний возраст 45,3 года. Иммунофенотипирование образцов осуществляли методом проточной цитометрии. Количество зрелых $CD3^+CD16^+CD56^+$ -клеток, пониженное у больных с благоприятным исходом РГП, восстанавливалось до нормы после операции за счет увеличения числа $CD3^+CD16^+CD56^+$ - и $CD3^+CD8^+CD16^+CD56^+$ -клеток, что свидетельствует о влиянии послеоперационного лечения на субпопуляции НКТ-клеток и отсутствии этого влияния на сниженное содержание зрелых НКТ-клеток у больных с неблагоприятным исходом заболевания.

Ключевые слова: перитонит; проточная цитометрия; НКТ-клетки

PHENOTYPE OF NKT-CELLS IN PATIENTS WITH PERITONITIS

V.D. Beleniuk

One of the most severe infectious and inflammatory pathologies is widespread purulent peritonitis (RPP), the immunopathogenesis of which is not completely clear. As part of the work, 35 patients with acute surgical diseases and injuries of the abdominal organs complicated by RGP were examined, the average age was 49.6 years. As a control, 38 relatively healthy people were examined, the average age was 45.3 years. Immuno-

phenotyping of the samples was carried out by flow cytometry. The number of mature CD3⁺CD16⁺CD56⁺-cells, reduced in patients with a favorable outcome of RGP, was restored to normal after surgery due to an increase in the number of CD3⁺CD16⁺CD56⁺- and CD3⁺CD8⁺CD16⁺CD56⁺-cells, which indicates the effect of postoperative treatment on subpopulations of NKT-cells and the absence of this effect on the reduced content of mature NKT-cells in patients with poor outcome.

Keywords: *peritonitis; flow cytometry; NKT cells*

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]. Было показано, что при РГП значительную роль в формировании характера течения заболевания играют процессы, развивающиеся в системе иммунитета [2]. На фоне перитонита формируется ярко выраженная активация врожденного иммунитета представленного основными популяциями фагоцитов [3, 7]. При этом часто отмечается угнетение адаптивного звена иммунной системы, обусловленное совокупностью многих факторов [4]. Есть сведения, что состояние иммунной системы при развитии тяжелой инфекции характеризуется снижением количества 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 поглощательной функции нейтрофилов [5]. Таким образом, неоднозначность представлений о взаиморегуляции различных звеньев иммунитета при РГП требуют изучения.

Материалы и методы исследования

Обследовано 35 пациентов с РГП, средний возраст 49,6 лет. В качестве контроля обследовано 38 относительно здоровых людей, средний возраст 45,3 года. Образцы крови забирались утром натощак, 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). Иммунофенотипирование образцов осуществляли по стандартной методике с применением готовых моноклональных антител. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, USA) [6].

Результаты исследования

У больных РГП независимо от исхода заболевания в первые две недели после операции снижается абсолютное число лимфоцитов. В обеих группа пациентов с РГП в дооперационном периоде, количество общих НКТ-клеток снижено относительно контрольных значений (рис. 1). В послеоперационном периоде число НКТ-клеток восстанавливается уже на 7-е сутки после операции, при этом абсолютное число данных клеток достоверно снижено в ходе всего периода наблюдения.

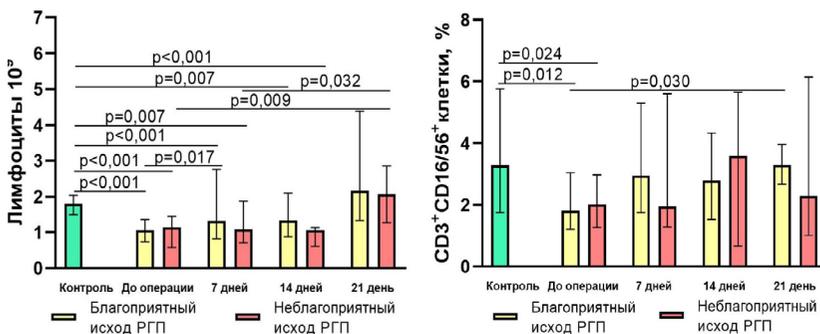


Рис. 1. Содержание NK- и НКТ-клеток в периферической крови пациентов с РГП в динамике лечения

В дооперационном периоде и две недели послеоперационного периода в крови у больных РГП с благоприятным исходом повышается содержание $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток как относительно контрольного диапазона ($p=0,034/p=0,027$). В группе с неблагоприятным исходом РГП содержание $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток

не изменялось. У пациентов с благоприятным течением РГП относительно значений контроля и группы с неблагоприятным исходом заболевания на 7-е ($p=0,022/p=0,008$) и 14-е ($p=0,028/p=0,041$) сутки после операции в крови увеличивается количество $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток. У пациентов с неблагоприятным течением РГП число $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток достоверно повышено относительно контрольной группы ($p=0,019$) в ходе всего периода наблюдения. При этом у данных пациентов в дооперационном периоде количество $CD3^+CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток было достоверно выше относительно аналогичного показателя пациентов с благоприятным исходом РГП ($p<0,001$). Обнаружено, что у больных с неблагоприятным исходом РГП $CD28^+$ НК-клеток достоверно снижено, в течение всего периода наблюдения ($p=0,005$). При этом у этих пациентов на 21-е сутки отмечается снижение уровня MFI CD28, как относительно контрольных значений, так и уровней, выявляемых у пациентов с благоприятным исходом РГП (рис. 2).

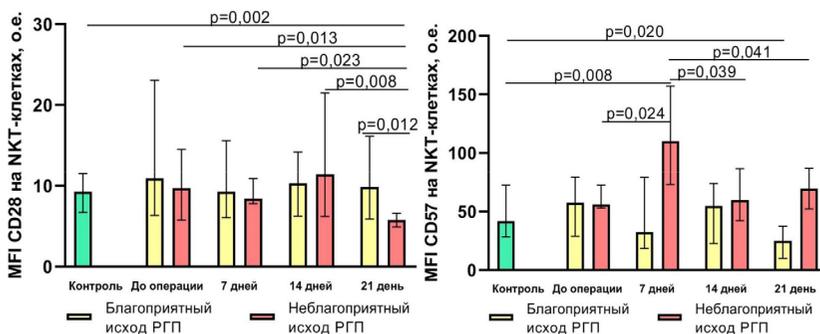


Рис. 2. MFI CD28 и CD57 на НК-клетках в периферической крови пациентов с РГП в динамике лечения

У больных с неблагоприятным исходом заболевания в послеоперационном периоде наблюдается последовательное снижение содержания $CD57^+$ НК-клеток относительно контрольных значений (Friedman ANOVA by Ranks: $c^2=12,60$, $p=0,006$). В то же время, MFI CD57 у данной категории в послеоперационном периоде выше, чем у здоровых людей и пациентов с благоприятным исходом заболевания.

Обсуждение

У пациентов с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде снижено содержание НКТ-клеток, восстановление количества которых осуществляется к концу послеоперационного периода за счет повышения уровней, цитотоксических и цитокин-продуцирующих клеток. При благоприятном исходе заболевания к концу послеоперационного периода среди исследуемых субпопуляций НКТ-клеток повышается доля с экспрессией CD11b-рецептора и увеличивается количество CD57⁺НКТ-клеток относительно дооперационного уровня. У больных с неблагоприятным исходом РГП в дооперационном и в течение всего послеоперационного периода выявляется снижение содержания CD11b⁺НКТ-клеток как относительно показателей здоровых людей, так и пациентов с благоприятным исходом заболевания. В то же время, у больных с неблагоприятным исходом заболевания на НКТ-клетках снижается уровень экспрессии CD28 и повышается CD57. Выявленные особенности свидетельствуют о влиянии послеоперационного лечения на субпопуляции НКТ-клеток у пациентов с благоприятным исходом РГП и отсутствии этого влияния на сниженное содержание зрелых НКТ-клеток у больных с неблагоприятным исходом заболевания.

Заключение

Выявлены особенности фенотипа НКТ-клеток в крови при неблагоприятном исходе заболевания, отражающие нарушения в механизмах созревания и миграции данных клеток, что выражается снижением содержания зрелых НКТ-клеток, а также понижением числа CD11b⁺ и CD57⁺НКТ-клеток, при повышении уровня экспрессии на этих клетках рецепторов CD28 и CD57.

Список литературы

1. Черданцев Д.В. Концепция комплексного подхода в ведении пациентов с тяжелыми формами распространенного гнойного перитонита / Д.В. Черданцев, О.В. Первова, В.А. Шапкина [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 12-3. С. 498-503. – EDN XENYNH.

2. Борисов А.Г. Изменение фенотипа клеток врожденного иммунитета у больных с политравмой в динамике использования вакцины для профилактики синегнойной палочки / А.Г. Борисов, А.А. Савченко, И.В. Кудрявцев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016. Т. 21. № 3. С. 124-129. EDN WBGJGZ.
3. Савченко А.А. Изменение субпопуляционного состава и фагоцитарной активности моноцитов у больных раком почки при воздействии метаболитов *in vitro* / А.А. Савченко, А.Г. Борисов, В.Д. Беленюк, А.В. Мошев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2021. Т. 171. № 3. С. 344-348. EDN DXFMLM.
4. Беленюк В.Д. Особенности фенотипа В-лимфоцитов крови в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита / В.Д. Беленюк, А.А. Савченко, А.Г. Борисов, И.В. Кудрявцев // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11. № 3. С. 454-462. EDN YINYGC.
5. Savchenko A.A. TREC/KREC Levels and T and B Lymphocyte Subpopulations in COVID-19 Patients at Different Stages of the Disease / A.A. Savchenko, V. Beleniuk, A. Borisov [et al.] // Viruses. 2022. Vol. 14. No 3. P. 646. EDN OFHFVJ.
6. Савченко А.А. Фенотип НК-клеток в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания / А.А. Савченко, А.Г. Борисов, И.В. Кудрявцев, В.Д. Беленюк // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9. № 3-4. С. 539-548. EDN ZLVPCT.
7. Савченко А.А. Регуляторное влияние моноцитов крови на популяционный состав гранулоцитарных лейкоцитов и состояние их респираторного взрыва при распространенном гнойном перитоните / А.А. Савченко, А.Г. Борисов, Д.В. Черданцев, О.В. Перлова и др. Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8. № 2. С. 201-210.

References

1. Cherdantsev D.V., Pervova O.V., V.A. Shapkina [et al.]. Kontseptsiya kompleksnogo podkhoda v vedenii patsientov s tyazhelymi formami rasprostanennogo gnoynogo peritonita [The concept of an integrated approach in the management of patients with severe forms of widespread purulent peritonitis]. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i

- fundamental'nykh issledovaniy [International Journal of Applied and Fundamental Research]. 2016. No. 12-3. pp. 498-503. EDN XENYNH.
2. Borisov A.G., Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V. [et al.] Izmenenie fenotipa kletok vrozhdennogo immuniteta u bol'nykh s politrav moy v dinamike ispol'zovaniya vaksiny dlya profilaktiki sinegnoynoy palochki [Changes in the phenotype of innate immunity cells in patients with polytrauma in the dynamics of the use of a vaccine for the prevention of *Pseudomonas aeruginosa*]. Epidemiologiya i infektsionnye bolezni [Epidemiology and infectious diseases]. 2016. V. 21. No. 3. S. 124-129. EDN WBGJGZ.
 3. Savchenko A.A., Borisov A.G., Beleniuk V.D., Moshev A.V. Izmenenie subpopulyatsionnogo sostava i fagotsitarnoy aktivnosti monotsitov u bol'nykh rakom pochki pri vozdeystvii metabolitov in vitro [Changes in the subpopulation composition and phagocytic activity of monocytes in patients with kidney cancer under the influence of metabolites in vitro]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny [Bulletin of experimental biology and medicine]. 2021. V. 171. No. 3. S. 344-348. EDN DXFMLM.
 4. Beleniuk V.D., Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V. Oso-bennosti fenotipa V-limfotsitov krovi v zavisimosti ot iskhoda rasprostranennogo gnoynogo peritonita [Features of the phenotype of B-lymphocytes depending on the outcome of widespread purulent peritonitis]. Infektsiya i immunitet [Infection and immunity]. 2021. V. 11. No. 3. S. 454-462. EDN YINYGC.
 5. Savchenko A.A. TREC/KREC Levels and T and B Lymphocyte Subpopulations in COVID-19 Patients at Different Stages of the Disease / A.A. Savchenko, V. Beleniuk, A. Borisov [et al.] // Viruses. 2022. Vol. 14. No 3. P. 646. EDN OFHFVJ.
 6. Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Beleniuk V.D. Fenotip NK-kletok v dinamike posleoperatsionnogo perioda u bol'nykh peritonitom v zavisimosti ot iskhoda zabolevaniya [Phenotype of NK cells in the dynamics of the postoperative period in patients with peritonitis depending on the outcome of the disease]. Infektsiya i immunitet. [Infection and immunity]. 2019. Vol. 9. No. 3-4. pp. 539-548. EDN ZLVPCT.

7. Savchenko A.A., Borisov A.G., Cherdantsev D.V., Pervova O.V. i dr. Reguljatornoe vliyanie monotsitov krovi na populyatsionnyy sostav granulotsitarnykh leykotsitov i sostoyanie ikh respiratornogo vzryva pri rasprostranennom gnoynom peritonite [Regulatory effect of blood monocytes on the population composition of granulocytic leukocytes and the state of their respiratory burst in case of widespread purulent peritonitis]. *Infektsiya i immunitet* [Infection and immunity]. 2018. T. 8. № 2. S. 201-210.

ДАНИЕ ОБ АВТОРАХ

Беленюк Василий Дмитриевич, к.б.н., м.н.с.

*Научно-исследовательский институт медицинских проблем
Севера ФИЦ КНЦ СО РАН*

*ул. Партизана Железняка, 3г, г. Красноярск, 660022, Россий-
ская Федерация*

Dyh88@mail.ru

DATA ABOUT THE AUTHOR

Vasily D. Beleniuk, PhD, junior researcher

*Scientific Research Institute for Medical Problems of the North
FRC KSC SB RAS*

*3g, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Fe-
deration*

Dyh88@mail.ru

ORCID: 0000-0003-2848-0846