

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(29)

2023 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 30.04.23
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 130 экз.
Усл. печ. л. 15,5. Уч.-изд. л. 9,7.
Зак. 165.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., профессор)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н., доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент), А.В. Воропаева (к.б.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), М.О. Досина (к.б.н., доцент), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., доцент, отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаяев (к.м.н., доцент), Д.В. Кравченко (к.м.н.), А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мишура (д.м.н., доцент), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент), А.П. Саивончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), И.О. Стома (д.м.н., профессор), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент)

Редакционный совет

А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Е.Л. Богдан (Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Е.Н. Кроткова (к.м.н., доцент, Минск), Н.Г. Кручинский (д.м.н., профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., чл.-кор. НАН, акад. НАМН Украины, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (д.м.н., профессор, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,

ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2023

№ 1(29)

2023

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи**Reviews and problem articles**

Д.А. Евсеенко, З.А. Дундаров, Ю.И. Галицкая

Патофизиологические аспекты свободнорадикальных механизмов формирования кожных рубцов

6

D. Evseenko, Z. Dundarov, Y. Galitskaya

Pathophysiological aspects of free radical mechanisms of formation of skin scars

Н.Д. Пузан, И.А. Чешик

Молекулярные механизмы действия ионизирующего излучения. Влияние облучения на белок (обзор литературы)

14

N.D. Puzan, I.A. Cheshik

Molecular mechanisms of effects of ionizing radiation action. Irradiation effect on protein (literary review)

Медико-биологические проблемы**Medical-biological problems**

Али Адиб Хуссейн Али, О.Е. Кузнецов
Элементный состав тканей в норме и при ожирении у крыс линии Wistar

27

A.A.H. Ali, O.E. Kuznetsov

Elemental composition of tissues in normal and obese Wistar rats

Е.К. Нилова, К.Н. Буздалькин

Методы экспресс-оценки радиационной обстановки с применением мобильной лаборатории в чрезвычайных ситуациях

35

E.K. Nilova, K.N. Buzdalkin

Methods for express assessment of the radiation situation using a mobile laboratory in emergency situations

О.В. Шаховская, М.Н. Стародубцева, Е.А. Медведева

Характеристика радиочувствительности организмов с помощью параметров редокс-свойств плазмы крови

43

O.V. Shakhovskaya, M.N. Starodubtseva, A.A. Miadzvedzeva

Characteristics of radiosensitivity of organisms using parameters of redox properties of blood plasma

Клиническая медицина**Clinical medicine**

А.Ю. Захарко, Т.В. Статкевич, А.С. Подгорная, О.В. Мурашко

Факторы риска артериальной гипертензии у женщин с абдоминальным ожирением и гипертензивными расстройствами беременности в анамнезе

49

A.Yu. Zaharko, T.V. Statkevich, A.S. Podgor-naya, O.V. Murashko

Risk factors for arterial hypertension in women with abdominal obesity and hypertensive disorders of pregnancy in the history

Ж.М. Козич, В.Н. Мартинков, И.В. Вейлкин, Ж.Н. Пугачева, Д.А. Близин, Н.Н. Климович
Анализ эпидемиологических показателей множественной миеломы и клинических факторов, влияющих на течение заболевания

55

Zh.M. Kozich, V.N. Martinkov, I.V. Veyalkin, J.N. Pugacheva, D.A. Blizin, N.N. Klimkovich

Analysis of the epidemiological characteristics of multiple myeloma and clinical factors affecting the course of the disease

- А.В. Коротаев, А.М. Пристром, Е.П. Науменко, С.Н. Коржева, Л.Ф. Ларенко, Я.Л. Навменова**
Изменения биомеханики контрактильности миокарда левого желудочка: результаты проспективного динамического наблюдения 62
- А.V. Korotaev, A.M. Pristrom, E.P. Naumenko, S.N. Korzheva, L.F. Larenko, Ya.L. Navmenova**
Changes in the biomechanics of contractility of the myocardium of the left ventricle: results of prospective follow-up
- Д.К. Новик, В.Н. Мартинков, И.В. Веялкин, И.А. Искров, А.Е. Силин, Т.А. Рачкова, Н.Ф. Василевская, М.А. Бобырев, Ж.Н. Меренкова, Л.Л. Наваро, А.С. Урюпин, А.Л. Усс**
Региональные особенности первичной заболеваемости хроническими Ph-негативными миелопролиферативными заболеваниями в Беларуси 67
- D. Novik, V. Martinkov, I. Veyalkin, I. Iskrov, A. Silin, T. Rachkova, N. Vasilevskaya, M. Bobyrev, Zh. Merenkova, L. Navaro, A. Uryupin, A. Uss**
Regional features of the incidence of chronic Ph-negative myeloproliferative neoplasms in Belarus
- О.Л. Никифорова, Н.В. Галиновская, Е.В. Воропаев**
Оценка качества жизни пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 в легкой и среднетяжелой формах 75
- O.L. Nikiforova, N.V. Galinovskaya, E.V. Voropaev**
Assessment of the quality of life of patients who have had COVID-19 infection, in mild and moderate forms
- А.С. Подгорная, А.Ю. Захарко, О.В. Мурашко, К.В. Бронская**
Миомэктомия: хирургическая тактика, репродуктивные исходы 82
- A.S. Podgornaya, A.Yu. Zaharko, O.V. Murashko, K.V. Bronskaya**
Myomectomy: surgical tactics, reproductive outcomes
- Ю.И. Ярец**
Показатели иммунного статуса у пациентов с хроническими ранами в зависимости от стадии инфекционного процесса и структуры микробиоты раны 89
- Y.I. Yarets**
Indicators of the immune status in patients with chronic wounds depending on the stage of the infectious process and the structure of the wound microbiota
- N.V. Kholupko, E.N. Vaschenko, Ya.L. Navmenova, M. Wisham, A.E. Filyustin, A.V. Korotaev, E.N. Kholupko, V.A. Zhuravlev, M.G. Rusalenko**
A clinical case of ectopic ACTH syndrome: diagnostic difficulties 99
- Н.В. Холупко, Е.Н. Ващенко, Я.Л. Навменова, М. Вишам, А.Е. Филюстин, А.В. Коротаев, Е.Н. Холупко, В.А. Журавлев, М.Г. Русаленко**
АКТГ-синдром: трудности диагностики

Обмен опытом**Experience exchange**

- Е.В. Дорофей**
Отношение подростков, проживающих в зоне наблюдения Белорусской АЭС, к радиационной безопасности 105
- E.V. Dorofei**
Attitude of teenagers living in the supervision zone of the Belarusian NPP to radiation safety

Н.Г. Кадочкина, Е.В. Родина, А.П. Саливончик, Д.И. Гавриленко

Клинический случай: кардиальный синкопе у пожилой пациентки

110

N.G. Kadochkina, E.V. Rodzina, A.P. Salivontchik, D.I. Haurilenka

Cardiac syncope in an elderly patient: a clinical case from practice

В.С. Смирнов, А.О. Жарикова, О.И. Ананченко, О.И. Дудузова, А.В. Жарикова

Энцефалит Расмуссена (обзор и клинический случай)

116

V.S. Smirnov, A.O. Zharikova, O.I. Ananchenko, O.I. Duduzova, A.V. Zharikova

Rasmussen's encephalitis (review and clinical case)

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ РАНАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА И СТРУКТУРЫ МИКРОБИОТЫ РАНЫ

ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Проанализированы результаты иммунофенотипирования лейкоцитов периферической крови 105 пациентов с хроническими ранами (основная группа, срок существования ран от 3-х недель) на различных стадиях инфекционного процесса: колонизация (n=39), критическая колонизация (n=37) и инфекция (n=29). Группу сравнения составили 22 пациента с острыми ранами (срок раны до 4-х суток), у которых в ранах не обнаруживались микроорганизмы. В основной группе выявлены изменения иммунологической реактивности в виде повышения относительного содержания Т-лимфоцитов и снижения НК-клеток, более низких показателей ранних маркеров активации на Т-хелперах и Т-цитотоксических лимфоцитах (CD4+/CD38+/CD3+, CD8+/CD38+/CD3+, CD3+/CD71+) и HLADR на В-лимфоцитах, высокого уровня экспрессии поздних маркеров активации Т-клеток (CD3+HLADR+). В группе сравнения уровни экспрессии интегринов (CD11a, CD11b, CD11c) на нейтрофилах и лимфоцитах, а также рецептора к трансферрину (CD71) на нейтрофилах, моноцитах и лимфоцитах были выше, чем в основной группе. Выявлено увеличение активности нейтрофилов в виде экспрессии молекул CD11a при прогрессировании инфекционного процесса в хронической ране, что может являться дополнительным диагностическим признаком перехода от стадии колонизации к стадии критической колонизации и инфекции. Наиболее высокие значения CD11a и CD11c на нейтрофилах регистрировались при наличии в хронических ранах монокультур *S. aureus*, наиболее низкие – при выделении из ран монокультур *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Ключевые слова: иммунофенотипирование лейкоцитов, ассоциативная микробиота, раневой процесс, инфекционный процесс

Введение

В настоящее время значительный объем исследований посвящен анализу взаимодействий возбудителя инфекции и иммунной системы хозяина. В медицинской микробиологии развивается направление, которое рассматривает инфекционный процесс на модели «ассоциативного симбиоза», функциональным вектором которого является «макосимбионт (хозяин)-ассоциативные микроорганизмы (патогены)» [1].

Репаративная регенерация ран мягких тканей представляет собой сложный процесс, нарушение которого препятствует нормальному восстановлению кожного покрова и приводит к формированию хро-

нических ран. Образовавшаяся в результате травмы или патологического процесса раневая поверхность служит входными воротами для проникновения патогенной ассоциативной микробиоты. Персистентные свойства микроорганизмов, их способность формировать биопленку являются факторами, которые создают дисбаланс в работе механизмов иммунной системы и нарушают нормальное течение воспалительной и пролиферативной фаз раневого процесса [2, 3]. Имунокомпетентные клетки реагируют на протекающий в организме воспалительный процесс путем изменения степени экспрессии, появления или исчезновения поверхностных или вну-

триклеточных функциональных молекул. В клинической практике для оценки иммунного статуса используют иммунофенотипирование лейкоцитов, с помощью метода проточной цитофлуориметрии, что имеет особое диагностическое значение при первичных и приобретенных иммунодефицитах, онкогематологических заболеваниях [4]. С другой стороны, исследование поверхностных маркеров лейкоцитов позволяет оценить патогенетические особенности воспалительного ответа макроорганизма в условиях протекания нормального и патологического раневого процесса, в том числе на разных стадиях течения инфекции.

Цель исследования: оценить иммунофенотипические показатели клеточного иммунного ответа у пациентов с хроническими ранами в зависимости от стадии инфекционного процесса и структуры микробиоты раны.

Материал и методы исследований

Проанализированы результаты иммунофенотипирования лейкоцитов периферической крови 105 пациентов с хроническими ранами (основная группа, срок существования ран от 3-х недель), которые находились на лечении в ожоговом отделении ГУ «Гомельская городская клиническая больница №1». В связи с наличием клинических признаков воспаления, присутствия признаков патологических изменений грануляционной ткани у пациентов выполнялось микробиологическое исследование раневого отделяемого согласно разработанных рекомендаций [5]. С учетом полученных положительных результатов посевов в ранах устанавливали основные состояния, определяющие стадии инфекционного процесса: колонизацию ($n=39$), критическую колонизацию ($n=37$) и инфекцию ($n=29$). Для дифференциации стадий инфекционного процесса использовали собственные клинико-микробиологические и морфологические критерии [6]. Группу сравнения составили 22 пациента с острыми ранами минимальных сроков существования (до 4-х суток), у которых отсутствовали клинические признаки вос-

паления. Из ран группы сравнения по результатам микробиологического посева не обнаруживались микроорганизмы.

Имунофенотипирование лейкоцитов периферической крови выполняли на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (Becton Dickinson, США), оснащенном тремя лазерами 488 нм, 633 нм, 405 нм, методом 8-цветной проточной цитометрии, анализ полученных данных проводился в приложении BD Facsdivia 6.1.3. Для идентификации Т-, В-клеток и их субпопуляций, фагоцитов и натуральных киллеров (НК-клеток), определения маркеров активации клеток, интегринов использовали соответствующие моноклональные антитела, меченные фикоэритрином (PE), флуоресцинизотиоцианатом (FITC), перидининхлорофилл протеином (Per-CP) алофикоцианином (APC), APC-Alexa Fluor 750, Pacific Blue (PB), Krome orange (KO). Оценку иммунного статуса в основной группе и в группе сравнения выполняли на момент поступления пациентов в стационар.

Лабораторные исследования выполняли в клинико-диагностической лаборатории и лаборатории клеточных технологий ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека».

В работе применены общепринятые методы выражения результатов с использованием встроенных графических модулей системы «STATISTICA 6.1» (StatSoft Inc., США регистрационный номер GS-35F-5899H). Распределение количественных признаков представлено методом описательной статистики в виде Me – медиана и Q_1 ; Q_3 квартили. Для сравнения показателей независимых выборок использовался ранговый U-критерий Манн-Уитни. Для проверки равенства медиан нескольких выборок применяли H-критерий Краскела-Уоллиса. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

По результатам микробиологического посева хронические раны были колонизированы *S. aureus* ($n=13$), *P. aeruginosa* ($n=6$), а

также ассоциациями бактерий (n=20). Ассоциации главным образом были представлены сочетаниями грамположительных и грамотрицательных бактерий: *E. faecalis*, коагулазонегативные стафилококки, *S. aureus*, *E. cloacae*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *Streptococcus gr. viridans*. У пациентов с критически колонизированными ранами также обнаруживались монокультуры *S. aureus* (n=11), неферментирующих грамотрицательных бактерий (НФБ): *P. aeruginosa* (n=7) и *A. baumannii* (n=2), бактериальные ассоциации (n=17) (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. faecalis*, коагулазонегативные стафилококки, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *E. cloacae*). Из хронических ран, имеющих признаки инфекции, были выделены *S. aureus* (n=4), НФБ (*P. aeruginosa* n=1, *A. baumannii* n=5). Видовой состав ассоциаций (n=19) был аналогичен таковому в критически колонизированных ранах.

В сравниваемых группах пациентов отсутствовали различия в абсолютных значениях общего количества лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, а также в относительном содержании лимфоцитов. Среди показателей клеточного звена иммунитета в основной группе выявлены более высокие относительные значения Т-лимфоцитов ($z=2,1$; $p=0,03$) и более низкие значения НК-клеток ($z=2,7$; $p=0,006$). По сравнению с показателями группы сравнения, в которой раневой процесс протекал без признаков инфекции, в основной группе регистрировались более низкие значения ранних маркеров активации на Т-хелперах и Т-цитотоксических лимфоцитах ($z=1,9$; $p=0,04$; $z=4,2$; $p<0,01$, соответственно). При этом поздние маркеры активации Т-клеток (CD3+HLADR+), связанные с хроническим воспалением, были в большей степени выражены в основной группе ($z=5,4$; $p<0,01$, по сравнению с группой сравнения). Экспрессия HLADR на В-лимфоцитах (CD19+) в основной группе характеризовалась широким разбросом результатов – от 0,9 до 26,4% и была ниже, чем в группе сравнения ($z=2,7$; $p=0,006$). Различия со стороны относительного содержания основных субпопуляций

лимфоцитов (В-лимфоциты, Т-хелперы, Т-цитотоксические, Т-регуляторные лимфоциты), ИРИ в сравниваемых группах пациентов не выявлены (таблица).

В основной группе обнаружены более низкие значения CD15+/CD18+/CD11a+ и CD15+/CD18+/CD11c+ клеток, чем в группе сравнения (таблица, рисунок 1).

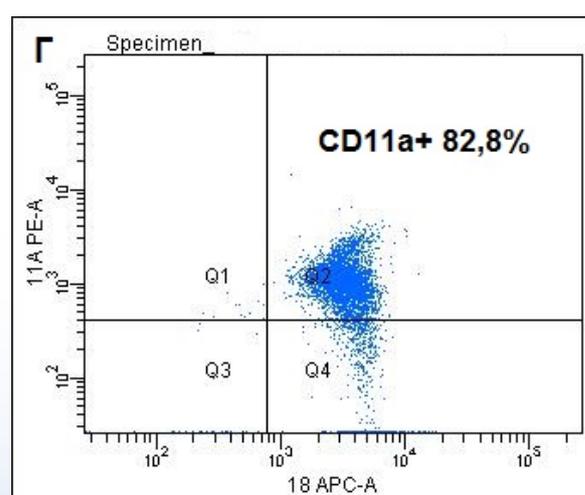
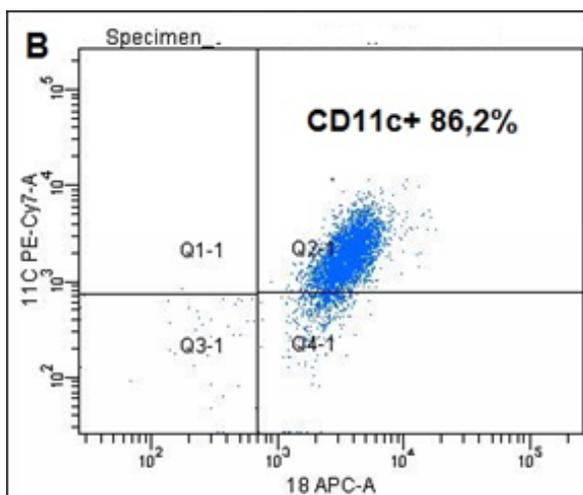
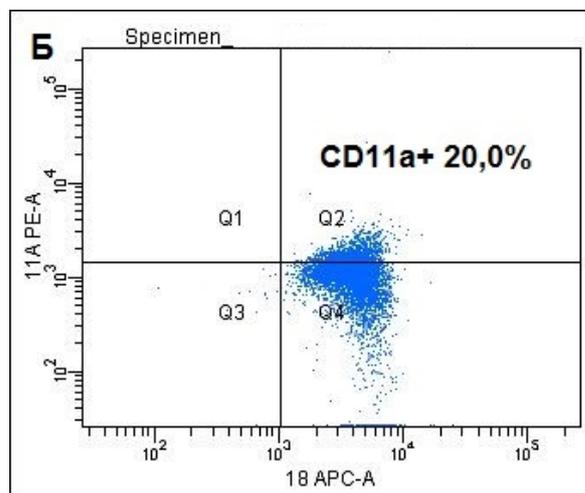
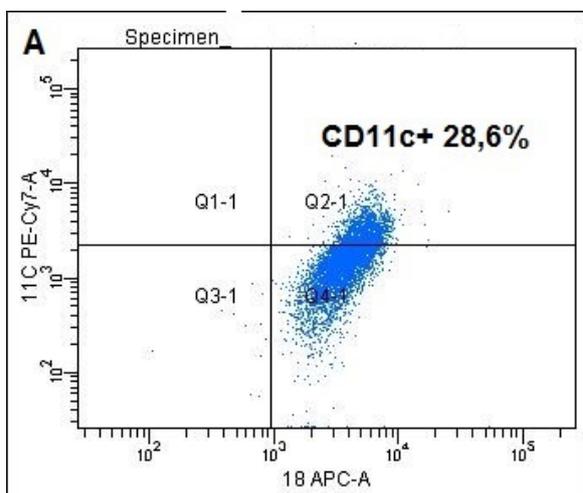
Также для пациентов с хроническими ранами были обнаружены и внутригрупповые различия. Наиболее высокими показателями CD15+/CD18+/CD11a+ нейтрофилов характеризовались пациенты с хроническими ранами, имеющими признаки инфекции, минимальными – с колонизированными ранами (Н-критерий Краскела-Уоллиса=83,4; $p<0,001$). Промежуточное положение занимали значения экспрессии CD11a на нейтрофилах у пациентов с критически колонизированными ранами. Показатели CD15+/CD18+/CD11c+ клеток в зависимости от стадий инфекционного процесса значимых различий не имели (H=2,36; $p=0,31$) (рисунок 2-А). Детальный анализ показал различия в показателях CD15+/CD18+/CD11a+ и CD15+/CD18+/CD11c+ клеток в зависимости от структуры микробиоты, выделенной из хронических ран. Наиболее высокие значения CD11a и CD11c на нейтрофилах регистрировались при наличии в ранах монокультуры *S. aureus*, наиболее низкие – при выделении из ран монокультур НФБ (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*). При этом указанные различия присутствовали как в случаях колонизированных ран (рисунок 2-Б), не имеющих явных клинических признаков воспаления, так и в случаях критически колонизированных ран (рисунок 2-В) и раневой инфекции (рисунок 2-Г). При выделении из ран ассоциаций на разных стадиях инфекционного процесса экспрессия CD11a и CD11c на нейтрофилах была значимо ниже, чем для случаев с *S. aureus*, и превышала таковые для ран, из которых выделялись НФБ (рисунки 2-Б, 2-В, 2-Г).

Необходимо отметить, что экспрессия HLADR на В-лимфоцитах (CD19+/HLADR+) также имела различия в зави-

Таблица – Показатели иммунного статуса у пациентов основной и контрольной групп

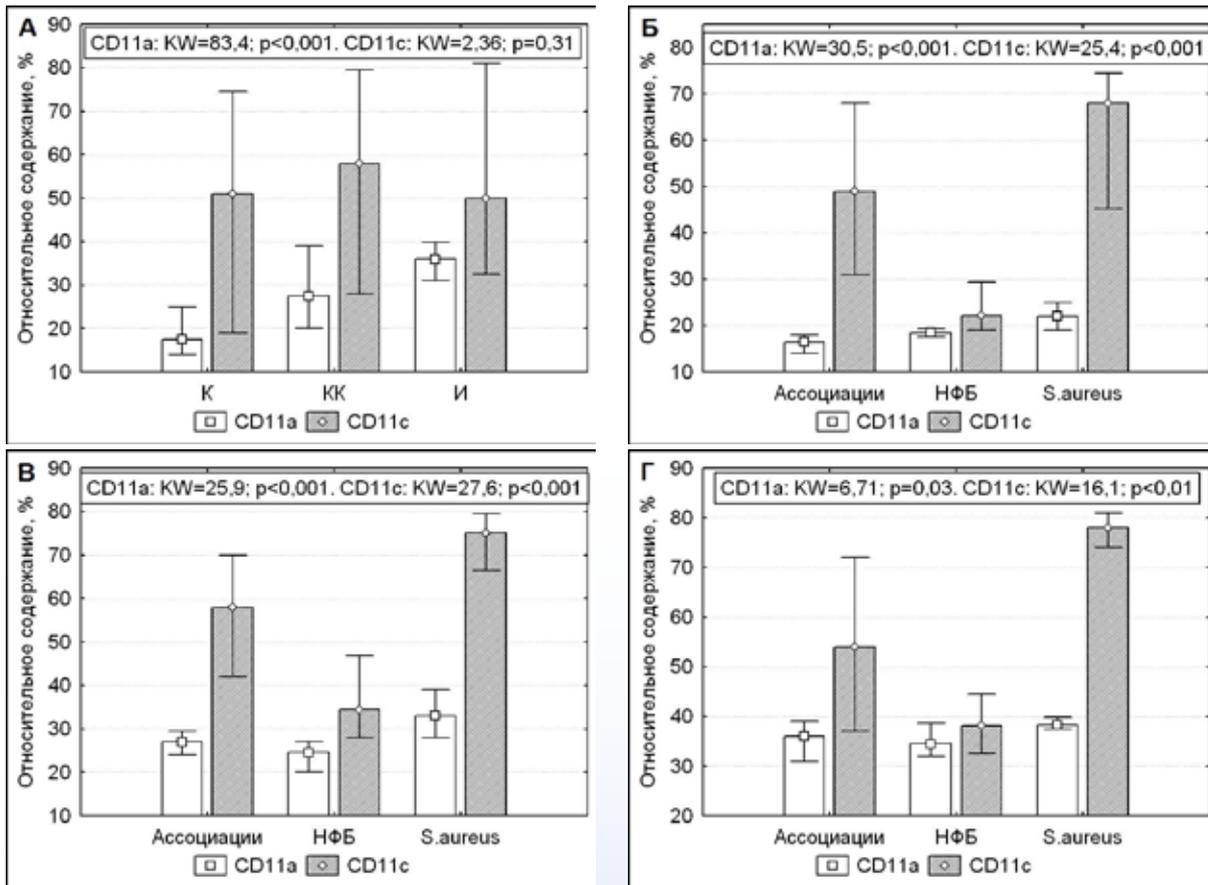
| Показатели/ фенотип | Трактовка | Основная группа (n=105) Ме (Q ₁ ; Q ₃) % | Контрольная группа (n=25) Ме (Q ₁ ; Q ₃) % | Значимость различий по тесту Манн- Уитни z; p |
|---|--|---|---|---|
| Общее количество лейкоцитов (×10 ³ /мкл) | | 6,8 (5,7; 8,9) | 6,1 (5,5; 6,4) | 1,8; 0,06 |
| Относительное содержание лимфоцитов, % | | 30,0 (23,0; 35,5) | 29,7 (23,5; 34,0) | 0,2; 0,8 |
| Количество Т-лимфоцитов (×10 ³ /мкл) | | 1,4 (1,2; 1,6) | 1,3 (1,0; 1,5) | 0,9; 0,4 |
| Количество В-лимфоцитов (×10 ³ /мкл) | | 0,2 (0,1; 0,3) | 0,18 (0,13; 0,3) | 0,2; 0,8 |
| Т-звено лимфоцитов | | | | |
| CD45+/CD3+ | Т-лимфоциты | 75,4 (69,4; 81,1) | 70,5 (67,9; 74,7) | 2,1; 0,03 |
| CD45+/CD3+/CD4+ | Т-хелперы/индукторы | 46,7 (39,1; 50,7) | 44,0 (39,7; 48,0) | 0,8; 0,4 |
| CD45+/CD3+/CD8+ | Т-цитотоксические лимфоциты | 25,0 (19,8; 29,3) | 26,8 (24,7; 28,4) | 1,2; 0,2 |
| CD3+/HLADR+ | Поздний маркер активации на Т-лимфоцитах | 5,4 (4,6; 7,9) | 2,3 (2,0; 2,5) | 5,4; p<0,01 |
| CD3+/CD4+CD25+ | Т-регуляторные клетки | 2,7 (2,0; 3,8) | 2,7 (2,1; 3,9) | 0,09; 0,9 |
| CD4+/CD38+/CD3+ | Ранний маркер активации на Т-хелперах | 12,0 (6,3; 15,0) | 21,5 (11,8; 24,0) | 1,9; 0,04 |
| CD4+/HLADR+/CD3+ | Поздний маркер активации на Т-хелперах | 2,3 (1,5; 3,8) | 2,0 (2,0; 2,5) | 1,4; 0,9 |
| CD4+/CD28+ | Маркер активации, пролиферации и продукции цитокинов на Т-хелперах | 40,1 (30,6; 44,9) | 31,8 (30,0; 38,0) | 1,4; 0,1 |
| CD8+/CD38+/CD3+ | Ранний маркер активации на Т-цитотоксических лимфоцитах | 1,8 (1,2; 2,7) | 13,2 (9,0; 20,0) | 4,2; p<0,01 |
| CD8+/HLADR+/CD3+ | Поздний маркер активации на Т-цитотоксических лимфоцитах | 3,4 (4,9; 2,7) | 2,9 (2,0; 3,6) | 1,5; 0,1 |
| CD8+/CD28+ | Маркер активации, пролиферации и продукции цитокинов на Т-цитотоксических лимфоцитах | 17,5 (13,6; 23,0) | 25,0 (17,3; 25,4) | 1,4; 0,1 |
| CD3+CD73+ | Маркер активации Т-клеток, обусловленной присутствием провоспалительных цитокинов | 10,2 (5,9; 12,2) | 6,3 (3,2; 9,5) | 1,8; 0,07 |
| CD3+CD38+ | Общий маркер активации Т-клеток | 18,5 (12,2; 23,1) | 21,3 (14,4; 34,2) | 1,2; 0,2 |
| ИРИ | Иммунорегуляторный индекс: отношение CD3+CD4+/CD3+CD8+ | 1,9 (1,4; 2,4) | 1,7 (1,4; 1,8) | 1,2; 0,3 |
| В-звено лимфоцитов | | | | |
| CD19+ | В-лимфоциты | 11,4 (8,2; 14,9) | 12,7 (10,1; 15,5) | 1,3; 0,2 |
| CD19+/HLADR+ | Экспрессия HLA-DR на В-лимфоцитах, поздний маркер активации | 9,5 (3,5; 14,2) | 10,9 (10,1; 12,0) | 2,7; 0,006 |
| Киллеры | | | | |
| CD3-CD16+CD56+ | Натуральные киллеры (НК)-цитотоксические | 10,3 (6,8; 14,7) | 16,8 (13,1; 19,2) | 2,7; 0,006 |
| CD3-/CD8+ | Натуральные киллеры-цитотоксические с экспрессией CD8 | 2,6 (1,6; 3,5) | 2,5 (1,8; 3,7) | 0,1; 0,9 |
| CD3+CD16+CD56+ | Натуральные киллеры Т-зависимые (Т-НК) | 1,9 (1,0; 4,9) | 1,0 (0,6; 1,7) | 1,8; 0,06 |
| Интегрины | | | | |
| CD15+/CD18+/CD11a+ | LFA-1 (функциональный лимфоцитарный антиген 1 типа) на нейтрофилах | 26,7 (19,3; 34,0) | 82,8 (76,6; 86,2) | 5,0; p<0,001 |

| Продолжение таблицы | | | | |
|-----------------------|---|-------------------|--------------------|-------------|
| CD15+CD18+/ CD11b+ | Mac-1 (β 2-интегрин на нейтрофилах, рецептор фагоцитоза) | 99,7 (99,4; 99,9) | 99,8 (98,9; 99,8) | 0,2; 0,8 |
| CD15+CD18+/ CD11c+ | p150,95 (β 2-интегрин на нейтрофилах) | 55,0 (42,0; 68,0) | 77,3 (73,4; 87,8) | 3,3; 0,001 |
| CD66b | Специфический регулятор адгезии нейтрофилов посредством CD11/CD18 | 99,8 (99,6; 100) | 99,8 (99,8; 100,0) | 1,0; 0,3 |
| CD3+/CD11a+ | LFA-1 на лимфоцитах | 68,7 (60,9; 79,8) | 79,4 (69,3; 87,3) | 1,3; 0,2 |
| CD3+/CD11b+ | β 2-интегрин на Т-лимфоцитах | 29,3 (23,8; 32,4) | 63,1 (54,2; 75,0) | 3,6; p<0,01 |
| CD14+/CD71+ | Рецептор к трансферрину – Маркер пролиферации на моноцитах | 4,9 (2,7; 6,7) | 17,0 (14,0; 19,0) | 3,0; p<0,01 |
| CD15+/CD18+/ CD71+ | Рецептор к трансферрину на нейтрофилах | 2,5 (1,35; 4,6) | 17,9 (15,0; 19,5) | 3,0; p<0,01 |
| CD3+/CD71+ | Рецептор к трансферрину на лимфоцитах | 2,9 (1,8; 5,8) | 7,8 (5,2; 10,1) | 2,0; 0,04 |



А, Б – экспрессия CD11c и CD11a на CD18+ нейтрофилах в образце крови пациента основной группы;
В, Г – экспрессия CD11c и CD11a на CD18+ нейтрофилах в образце крови пациента группы сравнения

Рисунок 1 – Экспрессия CD11c и CD11a на нейтрофилах крови в основной группе и группе сравнения



А – показатели экспрессии CD11a и CD11c на нейтрофилах у пациентов с колонизированными (К), критически колонизированными (КК) и инфицированными (И) хроническими ранами; Б, В, Г – показатели экспрессии CD11a и CD11c на нейтрофилах у пациентов с колонизированными, критически колонизированными и инфицированными ранами, соответственно, в зависимости от структуры микробиоты; НФБ – неферментирующие грамотрицательные бактерии.

Рисунок 2 – Показатели CD15+/CD18+/CD11a+ и CD15+/CD18+/CD11c+ клеток в основной группе в зависимости от стадии инфекционного процесса и структуры микробиоты раны

симости от структуры микробиоты ран и была выше в случаях обнаружения в ранах монокультур *S. aureus*, составляя в среднем 13,2 % (9; 16). Наличие в ранах монокультур НФБ (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*) сочеталось с более низкими относительными значениями CD19+/HLADR+ клеток: 1,9 % (1,1; 6) ($z=6,3$; $p<0,001$).

У пациентов основной группы регистрировались более низкие значения экспрессии CD11b на Т-лимфоцитах ($z=3,6$; $p<0,01$), а также CD71 (маркера пролиферативной активности) на нейтрофилах, лимфоцитах и моноцитах (таблица), однако различий в зависимости от стадии инфекционного процесса и видового состава микробиоты выявлено не было.

Обсуждение

Не вызывает сомнений роль дисбаланса иммунных реакций в патогенезе нарушений процесса заживления. Доказано также, что микроорганизмы играют перво-степенную роль в развитии иммунных нарушений и формировании хронической раны. При этом образование бактериями биопленки и способность к персистенции создают условия для развития патологического пролонгированного воспаления и нарушений пролиферативной фазы репарации. Основные клеточные изменения врожденных иммунных механизмов включают дополнительное привлечение и активацию нейтрофилов, а также других фагоцитирующих клеток. Роль адаптив-

ного иммунитета в патогенезе хронических ран исследована в меньшей степени [2, 3]. Однако известно, что Т-лимфоциты также играют роль в формировании провоспалительного профиля хронической раны за счет проявления нарушений как количественных, так и функциональных характеристик, вызванных персистирующими в ране бактериями [7, 8]. Отмечено повышение уровня Т-хелперов 1, 17 и 22 типов при длительно-незаживающих язвенных дефектах [6]. Некоторые исследования показали, что повышенный уровень Т-регуляторных клеток способствует поддержанию хронического воспаления [2, 9]. Нарушения со стороны Т-клеточного звена иммунитета приводит к развитию избыточного фиброза и нарушениям процесса васкуляризации. Длительное и повышенное присутствие Т-лимфоцитов и изменение иммунорегуляторного индекса, которое было зарегистрировано при трофических язвах, приводило к нарушению процесса эпителизации [10].

В-клетки в коже участвуют в местной продукции антител и других эффекторных функциях, связанных с кожным антиген-специфическим иммунным ответом. Однако точная роль субпопуляций В-клеток в заживлении хронических ран до конца еще не ясна. В эксперименте на модели кожной раны показано положительное влияние В-клеток на пролиферацию фибробластов, снижение интенсивности апоптоза [11].

В настоящем исследовании у пациентов с хроническими ранами, наряду с более высокими показателями Т-лимфоцитов, выявлены более высокие значения HLADR позитивных Т-лимфоцитов (таблица), что является показателем не только поздней, но и длительной активации клеток в условиях патологического пролонгированного воспаления. Ранним активационным маркером на поверхности зрелых клеток является CD38. Клетки с высоким уровнем экспрессии CD38 проявляют низкую пролиферативную активность, но обладают высоким потенциалом в отношении продукции цитокинов и дополнительно обеспечивают адгезию

лимфоцитов к эндотелию сосудов [12]. Экспрессия CD38+ на Т-лимфоцитах, в большей степени выраженная у пациентов с острыми ранами, указывает на процесс активации Т-клеточного звена в условиях нормального протекания воспалительного фазы раневого процесса. Косвенным маркером активации клеток и нормального протекания их пролиферации является CD71 – рецептор трансферрина, который, главным образом, присутствует на эритропоэтических клетках. Однако показано, что экспрессия CD71 имеет значение и на поверхности лимфоцитов и предназначена для связывания комплекса железо-трансферрин и поступления в активированную клетку ионов железа, необходимых для дальнейшего процесса пролиферации. Нарушение раневого заживления, наличие инфекционного процесса у пациентов с хроническими ранами сопровождалось более низкими значениями CD71 позитивных Т-лимфоцитов, а также нейтрофилов и моноцитов.

Интегрины являются наиболее изученными рецепторами адгезии лейкоцитов, среди которых основное значение имеют LFA-1 (функциональный лимфоцитарный антиген 1 типа), Mac-1 и p150,95. Эти гликопротеины представляют собой трансмембранные белки, имеющие общую бета субъединицу CD18, но разные альфа субъединицы, и, согласно классификации лейкоцитарных дифференцировочных антигенов, обозначаются как CD11a/CD18 (LFA-1), CD11b/CD18 (Mac-1), CD11c/CD18 (p150,95). CD11b/CD18 наиболее обильно представлен на поверхности зрелых нейтрофилов, чем можно объяснить его одинаково высокие значения у пациентов, как с острыми, так и с хроническими ранами (таблица). Наряду с присутствием на поверхности клетки, CD11c/CD18 запасается внутри специфических и желатиновых гранул нейтрофилов, откуда этот интегрин переносится на поверхность клеточной мембраны при стимуляции воспалительными медиаторами, при этом его экспрессия может возрастать во много раз. CD11a/CD18 не запасается в лейкоцитах,

и положительная регуляция осуществляется конформационными изменениями. В свою очередь, в покоящихся, циркулирующих нейтрофилах интегрины находятся в конформационно неактивном состоянии [13]. Учитывая полученные различия в относительном количестве CD15+/CD18+/CD11a+ и CD15+/CD18+/CD11c+ нейтрофилов у обследованных пациентов (таблица 1), можно утверждать, что наиболее активная стимуляция адгезивной активности нейтрофилов происходила на ранних сроках раневого процесса. Это является отражением вклада нейтрофилов в нормальный процесс репарации на стадии воспаления и его перехода в стадию пролиферации [14]. Нарушение раневого заживления, протекающее в условиях инфекционного процесса, сочеталось с более низкими значениями экспрессии CD11a и CD11c интегрinov на лейкоцитах. При этом значения CD11c на различных стадиях инфекционного процесса были практически одинаковыми. Экспрессия CD11a увеличивалась при прогрессировании инфекционного процесса (рисунок 2-А), что может быть дополнительным диагностическим признаком перехода от стадии колонизации к стадии критической колонизации и инфекции. Компоненты микроорганизмов могут по-разному влиять на уровень экспрессии интегрinov. Как известно, таргетными для иммунных клеток молекулами *S. aureus* являются пептидогликан, тейхоевые и липотейхоевые кислоты, компоненты капсулы, поверхностный протеин А, а также структуры биопленки [15]. Нейтрофилы представляют собой центральный клеточный компонент неспецифической защиты макроорганизма от инфекции *S. aureus*, чем можно объяснить наиболее высокие значения CD11a и CD11c на нейтрофилах крови пациентов, у которых из ран выделялись монокультуры *S. aureus* (рисунок 2-Б, В, Г). Значимо более низкие показатели CD15+/CD18+/CD11a+ и CD15+/CD18+/CD11c+ клеток в случаях наличия в ранах монокультур НФБ, по-видимому, является отражением способности *P. aeruginosa* ин-

гибировать эффекторные способности иммуноцитов или «ускользнуть» от действия иммунной системы, за счет антифагоцитарных свойств альгината, Psl экзополисахаридов, белков семейств Omp и Opr, пигмента и т.д. [16].

Выявленный дисбаланс функционирования иммунных клеток в крови является отражением нарушения воспалительной фазы раневого процесса в условиях инфекции.

Выводы:

1. У пациентов с хроническими ранами (срок существования более 3-х недель), по сравнению с пациентами с острыми ранами (срок существования до 4-х суток), выявлены изменения иммунологической реактивности в виде повышения относительного содержания Т-лимфоцитов и снижения НК-клеток, более низких показателей ранних маркеров активации на Т-хелперах и Т-цитотоксических лимфоцитах (CD4+/CD38+/CD3+, CD8+/CD38+/CD3+, CD3+/CD71+) и HLADR на В-лимфоцитах, высокого уровня экспрессии поздних маркеров активации Т-клеток (CD3+HLADR+).
2. В условиях нормально протекающей воспалительной фазы раневого процесса уровни экспрессии полифункциональных молекул миграции, адгезии, фагоцитоза – интегрinov (CD11a, CD11b, CD11c) на нейтрофилах и лимфоцитах, а также рецептора к трансферрину (CD71) на поверхности нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов, отражающего активность клеточной пролиферации, были выше, чем при хронических инфицированных ранах.
3. Выявлено увеличение активности нейтрофилов в виде экспрессии молекул CD11a при прогрессировании инфекционного процесса в хронической ране, что может являться дополнительным диагно-

стическим признаком перехода от стадии колонизации к стадии критической колонизации и инфекции. Наиболее высокие значения CD11a и CD11c на нейтрофилах регистрировались при наличии в хронических ранах монокультур *S. aureus*, наиболее низкие – при выделении из ран монокультур *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Исследование выполнено в рамках Гранта Президента Республики Беларусь в области здравоохранения (Распоряжение Президента Республики Беларусь от 19.01.2018 № 32рп «О предоставлении грантов Президента Республики Беларусь на 2018 год»; письмо Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 20.01.2018 № 14-12/896 «О направлении распоряжения Президента Республики Беларусь»).

Библиографический список

1. Бухарин, О.В. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекции / О.В. Бухарин // Журнал микробиологии. – 2013. – №1. – С. 93-97.
2. Immunology of acute and chronic wound healing / K. Raziyeva [et al.] // Biomolecules. – 2021. – No. 11, Vol. 700. <https://doi.org/10.3390/biom11050700>
3. Schilrreff, P. Chronic inflammation in non-healing skin wounds and promising natural bioactive compounds treatment. / P. Schilrreff, U. Alexiev // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, 4928. <https://doi.org/10.3390/ijms23094928>
4. Хайдуков, С.В. Современные подходы к оценке фенотипа различных субпопуляций лимфоцитов / С.В. Хайдуков // Лабораторная медицина. – 2013. – № 12. – С. 65-76.
5. Ярец Ю.И. Методология микробиологического посева раневого отделяемого в рамках современных представлений о диагностике инфекционного процесса / Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, В.Ф. Еремин // Лабораторная служба. – 2021. – Т. 10, №3. – С. 33-42. <https://doi.org/10.17116/labs20211003133>
6. Ярец, Ю.И. Колонизированные, критически колонизированные и инфицированные раны: дифференциация с использованием клинико-микробиологических и морфологических методов исследования / Ю.И. Ярец, И.А. Славников, З.А. Дундаров // Проблемы здоровья и экологии. – 2022. – Т. 19, №2. – С. 63-75. <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2022-19-2-08>
7. Immune regulation of skin wound healing: mechanisms and novel therapeutic targets. / J. Larouche [et al.] // Adv. Wound Care. – 2018. – Vol. 7, No.7. – P. 209-231. <https://doi.org/10.1089/wound.2017.0761>
8. Chapter 11-Role of cytokines and chemokines in wound healing / H. Strang [et al.] // In Wound Healing, Tissue Repair, and Regeneration in Diabetes; Bagchi, D., Das, A., Roy, S., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2020. – P. 197-235.
9. Kalekar, L.A. Regulatory T cells in inflammatory skin disease: From mice to humans. / L.A. Kalekar, M.D. Rosenblum // Int. Immunol. – 2019. – Vol. 31, No.7. – P. 457-463. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxz020>
10. Strbo, N. Innate and Adaptive Immune Responses in Wound Epithelialization / N. Strbo, N. Yin, O. Stojadinovic // Adv. Wound Care. – 2014. – Vol. 3, No.7. – P. 492-501. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0435>
11. Mature B cells accelerate wound healing after acute and chronic diabetic skin lesions / R.F. Sîrbulescu [et al.] // Wound Repair Regen. – 2017. – Vol. 25, No.5. – P. 774-791. <https://doi.org/10.1111/wrr.12584>
12. Sandoval-Montes, C. CD38 is expressed selectively during the activation of a subset of mature T-cells with reduced proliferation but improved potential to produce cytokines. / C. Sandoval-Montes, L. Santos-Argumedo // Leukocyte Biology. – 2005. – Vol. 77, No.4. – P. 513-521. <https://doi.org/doi:10.1189/jlb.0404262>
13. Галкин, А.А. Роль адгезии в активации нейтрофилов и цитотоксическом взаимодействии нейтрофилов с эндотелием / А.А. Галкин, В.С. Демидова // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, №1. – С. 62-78.
14. Долгушин, И.И. Нейтрофильные гранулоциты: участие в гомеостатических и репаративных процессах. Часть I / И.И. Долгушин, Е.А. Мезенцева // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т. 10, №4. – С. 609-624. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-NGP-1257>
15. van Kessel, K.P.M. Neutrophil-Mediated Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* / K.P.M. van Kessel, J. Bestebroer, J.A.G. van Strijp // Front Immunol. – 2014. – Vol. 26, No.5. – P. 467. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00467>
16. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология / А.В. Лазарева [и др.] // КМАХ. – 2015. – Т. 17, №3. – С.170-186.

Y.I. Yarets

INDICATORS OF THE IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH CHRONIC WOUNDS DEPENDING ON THE STAGE OF THE INFECTIOUS PROCESS AND THE STRUCTURE OF THE WOUND MICROBIOTA

The results of immunophenotyping of peripheral blood leukocytes were analyzed in 105 patients with chronic wounds (the main group, wound duration more than 3 weeks) at various stages of the infectious process: colonization (n=39), critical colonization (n=37) and infection (n=29). The comparison group consisted of 22 patients with acute wounds (wound duration up to 4 days), in which microorganisms were not detected in the wounds. In the main group, changes in immunological reactivity were revealed in the form of an increase in the relative content of T-lymphocytes and a decrease in NK cells, lower indicators of early activation markers on T-helpers and T-cytotoxic lymphocytes (CD4+/CD38+/CD3+, CD8+/CD38+/CD3+, CD3+/CD71+) and HLADR on B-lymphocytes, a high level of expression of late markers of T-cell activation (CD3+HLADR+). In the comparison group, the levels of expression of integrins (CD11a, CD11b, CD11c) on neutrophils and lymphocytes, as well as the transferrin receptor (CD71) on neutrophils, monocytes and lymphocytes were higher than in the main group. An increase in the activity of neutrophils in the form of expression of CD11a molecules was revealed with the progression of the infectious process in a chronic wound, which may be an additional diagnostic sign of the transition from the stage of colonization to the stage of critical colonization and infection. The highest values of CD11a and CD11c on neutrophils were recorded in the presence of *S. aureus* monocultures in chronic wounds, the lowest values were recorded when *P. aeruginosa* and *A. baumannii* monocultures were isolated from wounds.

Key words: leukocyte immunophenotyping, associative microbiota, wound process, infectious process

Поступила 14.12.22