

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ

Борисов С.А.^{1,4}, Савченко А.А.¹, Каспаров Э.В.¹, Фокин В.А.⁴,
Маценко М.В.^{1,4}, Кудрявцев И.В.^{2,3}, Борисов А.Г.¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“, г. Красноярск, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

⁴ КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 имени И.С. Берзона», г. Красноярск, Россия

Резюме. Пролежни в структуре внутрибольничных осложнений являются наиболее частой хирургической патологией. Несмотря на ведущую роль эффекта сдавления и обездвиживания в развитии заболевания, до сих пор не установлен единый механизм, который бы приводил к развитию пролежней. В этой связи изучение иммунной системы как основной, поддерживающей целостность анатомических барьеров кожи и слизистых, является весьма перспективным с целью разработки новых методов профилактики и лечения пролежней. Целью исследования явилось изучение фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных пролежнями. Обследовано 67 больных хирургического отделения с осложнением в виде пролежней. Обследование пролежневых ран включало в себя определение локализации, исследование глубины (степени) и размера поражения (измерение площади раны), окраски кожных покровов с определением характера краев пролежня и их отечности, оценка дна, наличие полости, в которой могут быть видны сухожилия и/или костные образования, характеристика экссудата (наличие запаха, цвет), наличие боли. В качестве контроля был обследован 81 практически здоровый человек. Все группы обследуемых людей были сопоставимы по возрасту и полу. Фенотип В-лимфоцитов исследовали методом проточной цитометрии цельной периферической крови с использованием моноклональных антител. Установлено, что количество В-клеток на фоне увеличения общего числа лимфоцитов не изменяется, но выявляется снижение их активности (повышается содержание В-лимфоцитов, экспрессирующих CD23 и CD38). Кроме того, у больных пролежнями в периферической крови снижается содержание В1-клеток и наивных В2-лимфоцитов, что, по-видимому, связано с преморбидным фоном основного заболевания, отсутствием адекватного процесса заживления раны на фоне некроза тканей и повреждения капилляров кожи. Чем тяжелее клиническое течение пролежней (по площади и стадии развития), тем меньше количество В2-лимфоцитов (как наивных, так и В-клеток памяти) выявляется в периферической крови больных. При этом выявленные изменения фенотипического состава В-клеток у больных связаны с площадью повреждения,

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Академика Павлова, 12.
Тел.: 8 (812) 234-68-68.
Факс: 8 (812) 234-94-89.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Address for correspondence:

Kudryavtsev Igor V.
Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Acad. Pavlov str., 12.
Phone: 7 (812) 234-68-68.
Fax: 7 (812) 234-94-89.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Образец цитирования:

С.А. Борисов, А.А. Савченко, Э.В. Каспаров,
В.А. Фокин, М.В. Маценко, И.В. Кудрявцев,
А.Г. Борисов «Особенности фенотипа В-лимфоцитов
крови у больных с пролежнями» // Российский
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 4. С. 419-428.
doi: 10.46235/1028-7221-449-FOP
© Борисов С.А. и соавт., 2020

For citation:

S.A. Borisov, A.A. Savchenko, E.V. Kasparov, V.A. Fokin,
M.V. Matsenko, I.V. Kudryavtsev, A.G. Borisov "Features
of peripheral blood B cell phenotype in patients with pressure
ulcers", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 4, pp. 419-428.
doi: 10.46235/1028-7221-449-FOP
DOI: 10.46235/1028-7221-449-FOP

но не связаны со стадией развития пролежней, что свидетельствует о влиянии В-лимфоцитов на заживление пролежней. Особенности фенотипа В-лимфоцитов не влияют на неблагоприятный исход заболевания, о чем свидетельствует отсутствие различий в показателях как количественного состава, так и по уровню экспрессии активационных маркеров на поверхности В-клеток.

Ключевые слова: В-лимфоциты, фенотип, пролежни, степень тяжести, площадь поражения, исход заболевания

FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD B CELL PHENOTYPE IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS

**Borisov S.A.^{a,d}, Savchenko A.A.^a, Kasparov E.V.^a, Fokin V.A.^d,
Matsenko M.V.^{a,d}, Kudryavtsev I.V.^{b,c}, Borisov A.G.^a**

^a *Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

^b *Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

^c *First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*

^d *I. Berzon Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No. 20, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Abstract. Pressure ulcers represent most common surgical pathology in the pattern of nosocomial complications. However, no unified mechanism leading to development of pressure ulcers has been proposed yet despite the lead role played by compression and immobilization. In this regard, examining immune system as the main component maintaining integrity of anatomical barriers in the skin and mucous membranes seems highly promising for creating new methods to prevent and treat pressure ulcers. Our study was aimed at investigating phenotypic profile of peripheral blood B cells in patients with pressure ulcers. There were enrolled 67 patients complicated with pressure ulcers at the Department of Surgery. Examination of pressure ulcers included determining anatomical localization, investigating depth (degree) and size of the lesion (by measuring wound area), skin color and assessing nature of pressure ulcer edges and edema, wound bottom, presence of cavity with tendons and/or bone formations may be recognized therein, characteristics of exudate (smell, color), pain sensation. In control group there were included 81 apparently healthy subjects. All groups contained age- and sex-matched subjects. Phenotyping of peripheral blood B cells was performed by using flow cytometry with panel of monoclonal antibodies. It was found that count of B cells in patients did not change in parallel with increased total lymphocyte count, but was associated with their functional activity (increased percentage of CD23- and CD38-positive B cells). Moreover, percentage of B1 and naive B2 cells declined in patients with pressure ulcers that seemed to be associated with the premorbid background of the main disease, lack of adequate wound healing process coupled to tissue necrosis and damage to skin capillaries. The more severe the clinical course of pressure ulcers (regarding area and stage of development), the smaller percentage of B2 cells (both naive and memory B cell subsets) was detected in the patient peripheral blood. At the same time, changes in the B cell phenotypic profile from patients are associated with the area of lesion, but not with the stage of developing pressure ulcers evidencing that B cells affect healing of pressure ulcers. The features of B cell phenotype promote unfavorable disease outcome evidenced by the lack of quantitative differences in B cell lineage composition or level of surface expression for activation markers.

Keywords: B lymphocytes, phenotype, pressure ulcers, severity, lesion area, disease outcome

Введение

Пролежни в структуре внутрибольничных осложнений являются наиболее частой хирургической патологией [2, 15]. Несмотря на ведущую роль эффекта сдавления и обездвиживания в развитии заболевания, нет единого механизма, который бы приводил к развитию пролежней [10]. В этой связи изучение иммунной системы как

основной, поддерживающей целостность анатомических барьеров кожи и слизистых, является весьма перспективным с целью разработки новых методов профилактики и лечения пролежней [1, 4, 5].

Важная роль в патогенезе пролежней принадлежит гуморальному звену иммунитета. В-лимфоциты и вырабатываемые ими антитела

являются основным механизмом адаптивного иммунитета, способного предотвратить внеклеточные инфекционные патогены и обеспечить поддержание нормальной микрофлоры. Нарушение синтеза антител, связанных с нарушением субпопуляционного состава, дифференцировки и созревание В-лимфоцитов не позволяет блокировать развитие бактериальных инфекций и, как следствие, способствуют развитию осложнений при пролежнях. Большая роль кожоассоциированной лимфоидной ткани принадлежит В1-лимфоцитам. Эти клетки представляют собой подкласс В-лимфоцитов находящиеся на периферии, действующих как антигенпрезентирующие и синтезирующие клетки. Они секретируют «естественный» Ig, в отсутствие специфической инфекции или вакцинации, обеспечивая быстрый адаптивный иммунный ответ и процессы регенерации [3, 6, 7].

Учитывая, что до конца не выяснены механизмы развития пролежней и при неблагоприятном развитии и исходе этого заболевания большое значение принадлежит бактериальной инфекции, целью исследования послужило изучение фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови больных пролежнями.

Материалы и методы

На базе КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им И.С. Берзона» обследовано 67 больных хирургического отделения с осложнением в виде пролежней (33 мужчи-

ны и 34 женщины). Средний возраст пациентов составил 62 года (54-70 лет). Обследование пролежневых ран включало в себя определение локализации, исследование глубины (степени) и размера поражения (измерение площади раны), окраски кожных покровов с определением характера краев пролежня и их отечности, оценку дна, наличие полости, в которой могут быть видны сухожилия и/или костные образования, характеристику экссудата (наличие запаха, цвет), наличие боли. Оценка развития пролежневого процесса проводили согласно ГОСТ Р 56819-2015, с определением стадий пролежней согласно международным рекомендациям NPUAP/ EPUAP [11, 20]. Обобщая данные площади (до и более 5 см) и степени тяжести пролежней (1-2-я и 3-4-я степени) были выделены 4 группы больных: группа А – площадь до 5 см, степень тяжести 1-2; группа В – площадь более 5 см, степень тяжести 1-2, группа С – площадь до 5 см, степень тяжести 3-4, группа D – площадь более 5 см, степень тяжести 3-4. Степень тяжести больных определяли по шкале SAPSII [18]. Наличие и степень полиорганной недостаточности по шкале SOFA [25]. Оценка синдрома системной воспалительной реакции (SIRS) по критериям ACCP/SCCM [9].

В качестве контроля был обследован 81 практически здоровый человек. Все группы обследуемых людей были сопоставимы по возрасту и полу.

Фенотип В-лимфоцитов исследовали методом проточной цитометрии из цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA), меченных

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. PHENOTYPE OF BLOOD B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS (Me, Q_{0,25}- Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81	Больные Patients n = 67	p
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	2,02 1,51-2,55	2,91 1,76-4,73	< 0,001
CD19 ⁺ , %	12,9 9,6-16,1	8,6 6,0-12,4	
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	11,4 7,3-14,9	5,6 3,4-8,4	< 0,001
CD19 ⁺ CD38 ⁺ , %	7,5 6,1-8,1	2,4 0,6-7,0	< 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,3-1,2	< 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁻	11,1 8,6-19,3	7,5 4,3-9,3	< 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁻	10,4 7,7-18,1	6,6 4,9-8,5	< 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	2,9 2,1-5,4	1,1 0,5-2,8	< 0,001

ТАБЛИЦА 2. ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ПЛОЩАДЬЮ ПРОЛЕЖНЕЙ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. FEATURES OF THE B LYMPHOCYTE PHENOTYPE IN PATIENTS WITH DIFFERENT AREA OF PRESSURE ULCERS (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81 1	Площадь пролежней до 5 см ² Pressure ulcers are to 5 cm ² n = 51 2	Площадь пролежней более 5 см ² Pressure ulcers are more than 5 cm ² n = 16 3
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	2,02 1,51-2,55	3,54 2,17-4,82 p ₁ < 0,001	1,78 1,30-2,41 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ , %	12,9 9,6-16,1	9,1 7,1-13,6	6,0 3,8-10,1 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,008
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	11,4 7,3-14,9	6,9 4,3-9,3 p ₁ < 0,001	4,5 2,5-7,6 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD38 ⁺ , %	7,5 6,1-8,1	5,2 1,5-11,2 p ₁ = 0,004	1,5 0,5-2,4 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,049
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,2-1,4 p ₁ < 0,001	0,5 0,3-1,2 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁻	11,1 8,6-19,3	8,8 4,1-10,7 p ₁ = 0,004	5,7 1,5-7,7 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁻	10,4 7,7-18,1	8,9 6,8-10,8	4,5 2,0-6,9 p _{1,2} < 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	2,9 2,1-5,4	1,5 0,5-3,9	0,6 0,6-0,9 p ₁ < 0,001

Примечание. p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – -/- с показателями больных с размерами пролежней до 5 см².

Note. p₁, statistically significant differences with the control group; p₂, -/- with indicators of patients with pressure injuries up to 5 cm².

FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующей панели: CD5-FITC/CD23-PE/CD19-ECD/CD45-PC5/CD27-PC7. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике в соответствии с рекомендациями Хайдукова С.В. и соавт. [8]. Анализ окрашенных клеток проведен на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США) на базе ФИЦ КНЦ СО РАН. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с

Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (Q_{0,25} и Q_{0,75}). Достоверность различий между показателями оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществ-

ТАБЛИЦА 3. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ РАЗЛИЧНОЙ СТАДИИ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. PHENOTYPE OF BLOOD B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS OF VARIOUS STAGES (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81 1	Стадия 12 Stage 2 n = 51 2	Стадия 34 Stage 3 n = 16 3
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	2,02 1,51-2,55	3,44 2,40-4,75 p ₁ < 0,001	1,83 1,44-3,72 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,022
CD19 ⁺ , %	12,9 9,6-16,1	9,1 6,4-14,0	8,4 5,9-10,3 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	11,4 7,3-14,9	6,4 4,3-9,9 p ₁ < 0,001	5,6 3,5-9,0 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD38 ⁺ , %	7,5 6,1-8,1	5,2 2,5-14,7 p ₁ = 0,004	2,2 0,9-5,1 p ₁ = 0,007
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,2-1,2 p ₁ = 0,003	0,5 0,3-1,2 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁻	11,1 8,6-19,3	7,1 5,08-10,85 p ₁ = 0,011	7,8 5,5-10,8 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁻	10,4 7,7-18,1	6,3 3,8-8,9 p ₁ = 0,010	6,9 4,0-9,2 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	2,9 2,1-5,4	1,3 0,5-2,2 p ₁ = 0,023	0,9 0,6-3,4 p ₁ = 0,012

Примечание. p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – -/- с показателями больных со стадией пролежни 12.

Note. p₁, statistically significant differences with the control group; p₂, -/- with indicators of patients with a stage of pressure injuries 12.

вляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

При исследовании содержания В-лимфоцитов у больных с пролежнями выявлено снижение относительного числа В-клеток (табл. 1). Однако при перерасчете абсолютного числа В-лимфоцитов статистически значимые изменения отсутствуют (у больных с пролежнями число В-клеток составляет $0,25 \times 10^9$ клеток/л, в контрольной группе – $0,26 \times 10^9$ клеток/л). Активность В-лимфоцитов у больных с пролежнями понижена, о чем свидетельствует снижение числа клеток, экспрессирующих рецептор CD23 и CD38. Обнаружено понижение количества В1- (CD19⁺CD5⁺) и В2- (CD19⁺CD5⁻) лимфоцитов, а

также наивных (CD19⁺CD27⁻) и В-клеток памяти (CD19⁺CD27⁺).

Значительный интерес представляет определение особенностей фенотипа В-лимфоцитов у больных с различными клиническими вариантами. Так, в зависимости от площади пролежневой раны, показатели В-клеток имеют большие различия (табл. 2). Если по сравнению с контролем показатели В-лимфоцитов у больных с малой площадью повреждения практически не отличаются, то у больных с раневой поверхностью 5 см² и выше выявлены выраженные изменения. Определяется снижение общего количества В-лимфоцитов за счет популяции В2-клеток, наивных В-лимфоцитов и В-клеток памяти. Кроме того, установлено понижение содержания В-лимфоцитов, экспрессирующих активацион-

ТАБЛИЦА 4. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 4. PHENOTYPE OF BLOOD B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS OF VARIOUS GROUPS

(Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатель Parameters	Контроль Control n = 81 1	Группа А Group A n = 35 2	Группа В Group B n = 16 3	Группа С Group C n = 8 4	Группа D Group D n = 8 4
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	2,02 1,51-2,55	3,89 2,84-4,95 p ₁ < 0,001	2,37 1,75-4,77 p ₁ = 0,049	2,32 1,57-2,54 p ₂ = 0,006	1,32 1,30-1,90 p ₁ = 0,048 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,011
CD19 ⁺ , %	12,9 9,6-16,1	9,8 7,4-16,4 p ₁ = 0,011	8,6 7,0-10,1 p ₁ < 0,001	6,2 3,8-9,3 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,028	5,9 4,3-10,7 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,048
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	11,4 7,3-14,9	7,4 5,3-8,1 p ₁ < 0,001	7,0 4,5-9,2 p ₁ < 0,001	4,5 1,2-6,9 p ₁ < 0,001	3,5 1,5-6,6 p ₁ = 0,004
CD19 ⁺ CD38 ⁺ , %	7,5 6,1-8,1	8,2 5,9-15,6	6,2 3,5-9,0 p ₁ = 0,032	4,5 2,5-7,3 p ₁ = 0,021 p ₂ = 0,004	1,1 0,7-1,9 p ₁ = 0,029 p ₂ < 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,2-1,5 p ₁ = 0,038	0,6 0,3-1,0 p ₁ = 0,011	0,7 0,2-4,2	0,5 0,3-1,2 p ₁ = 0,022
CD19 ⁺ CD5 ⁻	11,1 8,6-19,3	8,1 5,1-15,5	7,8 4,2-10,2 p ₁ = 0,009	4,9 1,9-6,9 p ₁ = 0,023	4,7 1,7-5,3 p ₁ = 0,005 p ₂ = 0,007
CD19 ⁺ CD27 ⁻	10,4 7,7-18,1	7,3 5,8-14,4	5,3 2,7-7,7 p ₁ = 0,002	4,3 1,8-6,9 p ₁ = 0,019	4,0 0,3-5,2 p ₁ = 0,006 p ₂ = 0,003
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	2,9 2,1-5,4	1,3 0,5-3,9	2,5 0,8-4,6	1,2 0,3-3,2	0,6 0,6-2,9 p ₁ = 0,005

Примечание. p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – -/- с показателями больных с пролежнями группы А; p₃ – -/- с показателями больных с пролежнями группы В.

Note. p₁, statistically significant differences with the control group; p₂, -/- with indicators of patients with pressure ulcers of group A; p₃, -/- with indicators of patients with pressure ulcers of group B.

ные маркеры (CD23 и CD38), что свидетельствует о неадекватной работе В-клеточного звена иммунитета.

В зависимости от стадии развития пролежней, несмотря на резкое снижение общего пула лимфоцитов, различий показателей В-клеточного иммунитета не обнаружено (табл. 3).

При распределении больных пролежнями с учетом площади и степени тяжести параметры В-клеток обнаружены значительные изменения (табл. 4). При тяжелом течении пролежней (большая площадь и степень тяжести 3 и более) выявляется снижение как общего числа лимфоцитов,

так и относительного уровня В-лимфоцитов. При этом снижение происходит за счет популяции В2-клеток (CD19⁺CD5⁻) и их наивных форм (CD19⁺CD27⁻). Следует отметить, что в этой группе также установлено резкое снижение функциональной активности В-лимфоцитов. В группе больных с наименьшей тяжестью течения пролежней (площадь пролежней менее 5 см² и степень тяжести 2 и менее) количественные показатели В-лимфоцитов практически не отличались от показателей контрольной группы. Относительное снижение количества В-лимфоцитов компенсировалось увеличением в этой группе

ТАБЛИЦА 5. ФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПРОЛЕЖНЯМИ С РАЗЛИЧНЫМ ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 5. PHENOTYPE OF B LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PRESSURE ULCERS WITH DIFFERENT OUTCOMES (Me, Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 81 1	Благоприятный исход Favorable outcome n = 60 2	Неблагоприятный исход Adverse outcome n = 7 3
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	2,02 1,51-2,55	3,24 2,01-4,74 p ₁ < 0,001	0,99 0,30-1,75 p ₁ = 0,016 p ₂ = 0,002
CD19 ⁺ , %	12,9 9,6-16,1	8,6 6,2-12,6	8,2 5,7-12,3 p ₁ = 0,014
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	11,4 7,3-14,9	6,6 0,4-7,0 p ₁ < 0,001	4,6 0,3-6,2 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD38 ⁺ , %	7,5 6,1-8,1	3,5 0,6-7,3 p ₁ < 0,001	2,4 1,2-4,5 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1,8 1,3-4,7	0,5 0,3-1,2 p ₁ < 0,001	0,6 0,3-1,4 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD5 ⁻	11,1 8,6-19,3	7,5 5,3-9,3 p ₁ < 0,001	7,6 6,0-10,0 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁻	10,4 7,7-18,1	6,6 4,9-8,5 p ₁ = 0,008	5,9 4,5-9,4 p ₁ < 0,001
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	2,9 2,1-5,4	1,1 0,5-2,8 p ₁ < 0,001	1,0 0,5-2,5 p ₁ < 0,001

Примечание. p₁ – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ – -/- с показателями больных с пролежнями с благоприятным исходом.

Note. p₁, statistically significant differences with the control group; p₂, -/- with indicators of patients with pressure ulcers with a favorable outcome.

абсолютным числом лимфоцитов. Однако функциональная активность В-лимфоцитов была нарушена, о чем свидетельствует снижение активированных В-лимфоцитов (CD19⁺CD23⁺).

Важным является оценка влияния содержания В-лимфоцитов на неблагоприятный исход у больных с пролежнями. Проведенное сравнение показателей В-лимфоцитов больных с пролежнями с благоприятным и неблагоприятным исходом не выявил статистически значимых отличий (табл. 5).

Обсуждение

С патофизиологической точки зрения пролежни являются заболеваниями, этиопатогенез которых определяется нарушением кожного по-

крова под воздействием механического воздействия [4, 10, 15]. Однако не у всех больных развиваются пролежни, поэтому выявление факторов, влияющих на развитие пролежней, является актуальным. Одной из функций иммунной системы является поддержка целостности анатомических барьеров кожи и слизистых. В-лимфоциты – одна из ведущих популяций клеток, помимо продукции антител они продуцируют цитокины и экзосомы, являются антигенпрезентирующими клетками, в некоторых случаях обладают супрессивным действием [7, 16, 26]. Поэтому, учитывая отсутствие исследований этой популяции клеток при пролежнях, мы исследовали особенности фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных пролежнями.

Роль В-лимфоцитов в воспалительных заболеваниях кожи хорошо известна. При инфекционно-воспалительных заболеваниях количество их обычно повышается, и это связано со стимуляцией выработки IgM, IgE и IgG [13, 17, 22]. В1-лимфоциты продуцируют аллерген-специфические антитела уже в первый день после повреждения на структуры кожи с образованием иммунных комплексов и активацией каскадных механизмов комплемента. Это в итоге приводит к привлечению Т-клеток к пораженному участку и формированию гиперчувствительности замедленного типа в коже [23, 24]. Наши исследования популяции В-лимфоцитов при пролежнях показали, что количество В-клеток на фоне увеличения общего числа лимфоцитов не изменяется, однако выявлено снижение их активности. Такие выводы нам позволило сделать изучение экспрессии на В-лимфоцитах CD23- и CD38-антигенов. CD23-антиген является лектином С-типа, низкоаффинным рецептором IgE, а также участвует в процессе регуляции антительной обратной связи [19]. CD38 циклическая ридозо-гидролаза АДФ, катализирует синтез цАДФ-рибозы, обеспечивающий энергетический обмен клетки [21]. Обнаружено снижение популяций В1- и наивных В2-лимфоцитов. Это, вероятно, связано с преморбидным фоном основного заболевания, отсутствием адекватного процесса

заживления раны на фоне некроза тканей и повреждения капилляров [12, 14, 27]. Нами установлено, что чем тяжелее клиническое течение пролежней (по площади и стадии развития), тем меньшее количество В2-лимфоцитов (как наивных, так и В-клеток памяти) выявляется в периферической крови больных. При этом данные изменения в количестве В-клеток у больных связаны с площадью повреждения, но не связаны со стадией развития пролежней, что свидетельствует о влиянии В-лимфоцитов на заживление пролежней. Это подтверждает и изучение популяций В-лимфоцитов в группах с различным исходом заболевания. Нами не выявлено статистически значимых изменений в группах с благоприятным и неблагоприятным исходом.

Таким образом, проведенные исследования В-лимфоцитов у больных пролежнями свидетельствуют об активной роли этих клеток в формировании развития пролежней именно на стадии заживления. При этом формирование фенотипического состава В-лимфоцитов не влияет на неблагоприятный исход заболевания, о чем свидетельствует отсутствие различий в показателях как количественного состава, так и по уровню экспрессии активационных маркеров на поверхности В-клеток.

Список литературы / References

1. Борисов А.Г. Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 1. С. 45-50. [Borisov A.G. Clinical characterization of functional disorders affecting immune system. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2013, Vol. 15, no. 1, pp. 45-50. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-1-45-50.
2. Борисов А.Г., Савченко А.А., Соколовская В.К. Заболеваемость, связанная с нарушениями функции иммунной системы (на примере Красноярского края) // Здравоохранение Российской Федерации, 2014. Т. 58, № 6. С. 38-41. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Sokolovskaya V.K. Morbidity associated with dysfunctions of the immune system (on the example of the Krasnoyarsk Territory). *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii = Health Care of the Russian Federation*, 2014, Vol. 58, no. 6, pp. 38-41. (In Russ.)]
3. Борисов А.Г., Савченко А.А., Черданцев Д.В., Здзитовецкий Д.Э., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д., Шапкина В.А. Типы иммунного реагирования при распространенном гнойном перитоните // Хирургия им. Н.И. Пирогова, 2016. № 9. С. 28-34. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Cherdantsev D.V., Zdzitovetsky D.E., Pervova O.V., Kudryavtsev I.V., Belenyuk V.D., Shapkina V.A. Types of immune response in advanced suppurative peritonitis. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova = Pirogov Russian Journal of Surgery*, 2016, no. 9, pp. 28-34. (In Russ.)]
4. Борисов С.А., Савченко А.А., Каспаров Э.В., Маценко М.В., Кудрявцев И.В. Типы иммунного реагирования при пролежнях // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 4. С. 1432-1434. [Borisov S.A., Savchenko A.A., Kasparov E.V., Matsenko M.V., Kudryavtsev I.V. Types of immune response in pressure ulcers. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 4, pp. 1432-1434. (In Russ.)]
5. Борисов С.А., Каспаров Э.В., Маценко М.В. Клинико-иммунологические аспекты развития пролежней // Современные проблемы науки и образования, 2017. № 5. С. 111-121. [Borisov S.A., Kasparov E.V., Matsenko M.V. Clinical and immunological aspects of the development of pressure ulcers. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2017, no. 5, pp. 111-121. (In Russ.)]
6. Савченко А.А., Борисов А.Г., Здзитовецкий Д.Э., Лузан Н.А. Особенности состояния клеточного и гуморального иммунитета у больных распространенным гнойным перитонитом // Бюллетень Восточно-сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 2012. № 3

(85). Ч. 2. С.159-163. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Zdzitovetsky D.E., Luzan N.A. Features of the state of cellular and humoral immunity in patients with widespread purulent peritonitis. *Byulleten Vostochno-sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* = *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2012, no. 3 (85), Pt. 2, pp. 159-163. (In Russ.)]

7. Савченко А.А., Каспаров Э.В., Арутюнян С.С., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Фенотипический состав В-лимфоцитов у женщин с хроническим эндометритом и аднекситом // *Медицинская иммунология*, 2016, Т. 18, № 4. С. 379-384. [Savchenko A.A., Kasparov E.V., Arutyunyan S.S., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Moshev A.V. Phenotypic profile of B-lymphocytes in women with chronic endometritis and adnexitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, Vol. 18, no. 4, pp. 379-384. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-379-384.

8. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // *Медицинская иммунология*, 2012, Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology “Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers” (Draft). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

9. Bone R.S., Balk R.A.B., Cerra F.B. American college of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guide lines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.*, 1992, Vol. 20, no. 6, pp. 864-874.

10. Coleman S., Nixon J., Keen J., Wilson L., McGinnis E., Dealey C., Stubbs N., Farrin A., Dowding D., Schols J.M., Cuddigan J., Berlowitz D., Jude E., Vowden P., Schoonhoven L., Bader D.L., Gefen A., Oomens C.W., Nelson E.A. A new pressure ulcer conceptual framework. *J. Adv. Nurs.*, 2014, Vol. 70, no. 10, pp. 2222-2234.

11. Edsberg L.E., Black J.M., Goldberg M., McNichol L., Moore L., Sieggreen M. Revised national pressure ulcer advisory panel pressure injury staging system: revised pressure injury staging system. *J. Wound Ostomy Continence Nurs.*, 2016, Vol. 43, no. 6, pp. 585-597.

12. Fonder M.A., Lazarus G.S., Cowan D.A., Aronson-Cook B., Kohli A.R., Mamelak A.J. Treating the chronic wound: a practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2008, Vol. 58, pp. 185-206.

13. Geiger B., Wenzel J., Hantschke M., Haase I., Stander S., von Stebut E. Resolving lesions in human cutaneous leishmaniasis predominantly harbour chemokine receptor CXCR3-positive T helper 1/T cytotoxic type 1 cells. *Br. J. Dermatol.*, 2010, Vol. 162, pp. 870-874.

14. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv. Skin Wound Care*, 2004, Vol. 17, pp. 24-35.

15. Jaul E., Barron J., Rosenzweig J.P., Menczel J. An overview of co-morbidities and the development of pressure ulcers among older adults. *BMC Geriatr.*, 2018, Vol. 18, no. 1, pp. 305.

16. Kato T., Fahrman J.F., Hanash S.M., Vykoukal J. Extracellular vesicles mediate B cell immune response and are a potential target for cancer therapy. *Cells*, 2020, Vol. 9, no. 6, 1518. doi: 10.3390/cells9061518.

17. Lafyatis R., Kissin E., York M., Farina G., Viger K., Fritzler M.J., Merkel P.A., Simms R.W. B cell depletion with rituximab in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.*, 2009, Vol. 60, pp. 578-583.

18. le Gall J.-R., Lemeshow S., Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA*, 1993, Vol. 270, pp. 2957-2963.

19. Lima J., Cambridge G., Vilas-Boas A., Martins C., Borrego L.M., Leandro M. Serum markers of B-cell activation in pregnancy during late gestation, delivery, and the postpartum period. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2019, Vol. 81, no. 3, e13090. doi: 10.1111/aji.13090.

20. National Pressure Ulcer Advisory Panel 2019 Award Recipients. *Adv. Skin Wound Care*, 2019, Vol. 32, Iss. 6, p. 252.

21. Romero-Ramírez H., Morales-Guadarrama M.T., Pelayo R., López-Santiago R., Santos-Argumedo L. CD38 expression in early B-cell precursors contributes to extracellular signal-regulated kinase-mediated apoptosis. *Immunology*, 2015, Vol. 144, no. 2, pp. 271-281.

22. Simon D., Hosli S., Kostylina G., Yawalkar N., Simon H.U. Anti-CD20 (rituximab) treatment improves atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 121, pp. 122-128.

23. Szczepanik M., Akahira-Azuma M., Bryniarski K., Tsuji R.F., Kawikova I., Ptak W., Kiener C., Campos R.A., Askenase P.W. B-1 B cells mediate required early T cell recruitment to elicit protein-induced delayed-type hypersensitivity. *J. Immunol.*, 2003, Vol. 171, pp. 6225-6235.

24. Tsuji R.F., Szczepanik M., Kawikova I., Paliwal V., Campos R.A., Itakura A., Akahira-Azuma M., Baumgarth N., Herzenberg L.A., Askenase P.W. B cell-dependent T cell responses: IgM antibodies are required to elicit contact sensitivity. *J. Exp. Med.*, 2002, Vol. 196, 1277-1290.

25. Vincent J.L., Moreno R., Takala J., Willatts S., De Mendonça A., Bruining H., Reinhart C.K., Suter P.M., Thijs L.G. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.*, 1996, Vol. 22, no. 7, pp. 707-710.

26. Wang Y., Liu J., Burrows P.D., Wang J.Y. B cell development and maturation. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2020, Vol. 1254, pp. 1-22.

27. Zhao R., Liang H., Clarke E., Jackson C., Xue M.J. Inflammation in chronic wounds. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, 2085. doi: 10.3390/ijms17122085.

Авторы:

Борисов С.А. — аспирант лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“»; КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 имени И.С. Берзона», г. Красноярск, Россия

Савченко А.А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Каспаров Э.В. — д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Фокин В.А. — врач КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 имени И.С. Берзона», г. Красноярск, Россия

Маценко М.В. — аспирант лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Кудрявцев И.В. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург; доцент кафедры иммунологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Борисов А.Г. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Authors:

Borisov S.A., Postgraduate Student, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; I. Berzon Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No. 20, Krasnoyarsk, Russian Federation

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Kasparov E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Fokin V.A., Physician, I. Berzon Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital No. 20, Krasnoyarsk, Russian Federation

Matsenko M.V., Postgraduate Student, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation