

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПОСЛЕ ИЗОЛИРОВАННОГО ПЕРЕЛОМА БЕДРЕННОЙ КОСТИ В ДИНАМИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Давыдова Е.В., Осиков М.В., Абрамов К.С.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Резюме. Изолированные переломы бедренной кости составляют более 10% от всех дорожных травм. Травматическое повреждение бедренной кости на системном уровне запускает каскад взаимосвязанных реакций нейроэндокринной системы, прежде всего гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса, системных реакций иммунной системы, инициируемых поступлением в системный кровоток продуктов тканевой деградации, цитокинов и других медиаторов повреждения. К специфическим клеточным реакциям в ответ на травматическое повреждение костной ткани относят включение врожденных и адаптивных реакций иммунного реагирования. В этой связи востребованными являются сведения об изменении субпопуляционного состава лимфоцитов в крови у больных с ИПБК до и после оперативного вмешательства. Цель исследования – изучить субпопуляционный состав лимфоцитов в крови после закрытого изолированного перелома диафиза бедренной кости (ЗИПБК) средней трети со смещением в динамике хирургического вмешательства – востребована для изучения патогенеза, разработки диагностических критериев и создания инновационных методов лечения. Исследование выполнено с участием 20 условно здоровых мужчин и 36 мужчин с ЗИПБК 32А и 32В по клинической классификации АО/ASIF, шифр по МКБ-10 S72.3. Критериями исключения являлись обострение хронической сопутствующей патологии, заболевания лимфатической системы и органов кроветворения, онкологические заболевания, наличие остеопороза. Субпопуляционный спектр лимфоцитов крови оценивали на 5-е, 7-е сутки (сразу после оперативного вмешательства) и на 18-е сутки после ЗИПБК. Установлено, что на 5-е сутки после ЗИПБК на фоне лейкоцитоза в крови увеличивается количество Т-регуляторных клеток, клеток с маркерами ранней (CD25⁺) и поздней активации (HLA-DR⁺), снижается представительство НК-клеток. На 7-е сутки после ЗИПБК сразу после оперативного вмешательства в крови сохраняются лейкоцитоз, увеличенные количества Т-регуляторных клеток, CD3⁺ клеток с маркерами ранней и поздней активации. На 18-е сутки после ЗИПБК в крови восстанавливается общее количество лейкоцитов, Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-регуляторных клеток, Т-лимфоцитов клеток с маркером ранней активации, значительно увеличивается число Т-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы HLA-DR⁺.

Ключевые слова: изолированный перелом бедренной кости, хирургическое вмешательство, CD-типирование, лимфоциты

Адрес для переписки:

Давыдова Евгения Валерьевна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (908) 060-92-06.
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Address for correspondence:

Davydova Eugeniya V.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (908) 060-92-06.
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.В. Давыдова, М.В. Осиков, К.С. Абрамов
«Субпопуляционный состав лимфоцитов крови после
изолированного перелома бедренной кости в динамике
хирургического вмешательства» // Медицинская
иммунология, 2021. Т. 23, № 3. С. 569-576.
doi: 10.15789/1563-0625-TCO-2121

© Давыдова Е.В. и соавт., 2021

For citation:

E.V. Davydova, M.V. Osikov, K.S. Abramov
“Time course of lymphocyte profile after femoral bone
fracture”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 3, pp. 569-576.
doi: 10.15789/1563-0625-TCO-2121

DOI: 10.15789/1563-0625-TCO-2121

TIME COURSE OF LYMPHOCYTE PROFILE AFTER FEMORAL BONE FRACTURE

Davydova E.V., Osikov M.V., Abramov K.S.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Isolated fractures of femur account for more than 10% of all road traffic injuries. Traumatic injury of femoral bone triggers a cascade of interrelated neuroendocrine reactions at systemic level, primarily at the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, systemic response of immune system, initiated by release of tissue degradation products, cytokines and other mediators of damage into systemic blood circulation. Specific cellular reactions in response to traumatic injury to bone tissue include both innate and adaptive immune responses. In this regard, there is still scarce information on changes in blood lymphocyte subpopulations observed after closed isolated fracture of the femoral diaphysis at the middle third, before and after surgery. The aim of the present study was to evaluate the subpopulations of peripheral blood lymphocytes following closed isolated fracture of the femoral diaphysis with bone displacement in the course dynamics of surgical treatment, thus being required for studies in pathogenesis, development of diagnostic criteria and creating innovative treatment approaches. The study included 20 apparently healthy men and 36 men with closed isolated fracture of the femoral diaphysis of the middle third (32A and 32B, by AO/ASIF clinical classification, coded according to ICD-10 S72.3). The exclusion criteria were as follows: exacerbation of chronic comorbidities, diseases of lymphatic system and haematopoietic organs, oncological diseases, and evidence of osteoporosis. The spectrum of blood lymphocyte subsets was assessed on days 5, 7 (immediately after surgery) and on day 18 after closed isolated fracture of femoral diaphysis. We have found that, on the day 5 after IPBC along with leukocytosis in peripheral blood, the number of T-regulatory cells, cells with markers of early (CD25⁺) and late activation (HLA-DR⁺) proved to be increased, whereas representation of NK cells was decreased. On the day 7 after IPBC and immediately after surgery, leukocytosis persisted in blood, along with increased number of T-regulatory cells, CD3⁺ cells with early and late activation markers. On the day 18 after closed isolated fracture of the femoral diaphysis, the total numbers of leukocytes, T-lymphocytes, T-helpers, T-regulatory cells, T cells with an early activation marker are restored in peripheral blood, whereas the number of T-lymphocytes expressing HLA-DR⁺ molecules showed a significant increase.

Keywords: femoral fracture, surgical intervention, CD typing, lymphocytes

Введение

Изолированные переломы бедренной кости (ИПБК) составляют более 10% от всех дорожных травм [1]. Многочисленные исследования свидетельствуют о сопряженности этапов травматической болезни и изменений иммунного статуса. В первые минуты после травмы развивается синдром системного воспалительного ответа (SIRS) преимущественно как результат высвобождения эндогенных факторов DAMPs (damage-associated molecular patterns), именно с ним связывают раннюю активацию врожденных механизмов иммунного реагирования [8]. Травматическое повреждение бедренной кости на системном уровне запускает каскад взаимосвязанных реакций нейроэндокринной системы, прежде всего гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса, системных реакций иммунной системы, острофазового ответа, миелопоэза, инициируемых поступлением в системный кровоток продуктов тканевой деградации, цитокинов и других

медиаторов повреждения [10, 11]. Некоторые микробные и эндогенные паттерны могут непосредственно активировать систему компонента и гемостаза [2]. В контексте рассматриваемой проблемы в литературе описана депрессия адаптивного иммунитета с количественными изменениями популяционного состава лимфоцитов, дисбалансом экспрессии активационных маркеров при травматических повреждениях тканей, в том числе костной, на ранних этапах формирования синдрома CARS (синдром компенсаторного противовоспалительного ответа) [9, 12]. К специфическим клеточным реакциям в ответ на травматическое повреждение костной ткани относят включение врожденных (фагоцитоз, активация системы компонента) и адаптивных (клеточный и антительный ответ) реакций иммунного реагирования. В настоящее время недостаточное понимание функциональной интеграции комплексного ответа на травматическое повреждение тканей при переломах длинных трубчатых

костей, включая клеточные факторы адаптивного иммунитета, является основным препятствием для создания инновационных методов лечения. В этой связи востребованными являются сведения об изменении субпопуляционного состава лимфоцитов в крови у больных с ИПБК до и после оперативного вмешательства.

Цель исследования – изучить субпопуляционный состав лимфоцитов крови после закрытого изолированного перелома бедренной кости средней трети со смещением в динамике хирургического вмешательства.

Материалы и методы

Исследование проведено с участием 36 пациентов мужского пола с ЗИПБК (группа 2), находящихся на лечении в отделении травматологии и ортопедии №2 ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница. Средний возраст больных составил $44,2 \pm 2,4$ года. Согласно клинической классификации переломов АО/ASIF, все переломы классифицированы как 32А, 32В, шифр по МКБ-10 S72.3 [5]. Критериями исключения являлись обострение хронической сопутствующей патологии, заболевания лимфатической системы и органов кроветворения, онкологические заболевания, наличие остеопороза. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 15.03.2019 г). Контрольную группу составили условно здоровые мужчины, средний возраст $47,5 \pm 4,2$ года (группа 1, $n = 20$). Иммунологическое исследование у пациентов с ЗИПБК проводили в динамике на 5-е сутки после травмы до начала хирургического лечения, на 7-е сутки сразу после оперативного вмешательства в виде закрытой репозиции отломков с последующим блокируемым интрамедуллярным остеосинтезом на 18-е сутки после травмы. Забор венозной крови производили натощак, в утренние часы вакуумными пробирками с ЭДТА. Субпопуляционный спектр лимфоцитов крови исследовали на проточном цитофлуориметре FACSCanto 10 (Becton Dickinson, США) с использованием одно-, двух- или трехпараметрических реагентов линии IOTest: CD3-FITC/CD19-PE, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD16+56+-PE, CD3-FITC/CD25-PE, CD127-PE, CD3-FITC/-HLA-DR-PE, cytBcl-2 PE/CD45 PerCP/CD3 APC, cytBcl-2 PE/CD45 PerCP/CD19 PE-Cy7 и подсчетом клеток и частиц Flow-Count в полученной суспензии. Цитофлуориметрическое определение CD95⁺-лимфоцитов осуществляли на проточном цитометре FACSCalibur™ System (Becton Dickinson, США), регистрировали суммарно не менее 10 000 событий. Полученные данные анализировали с использованием

программы CellQuest (Becton Dickinson, США). Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 19. Характеристика выборок представлена в формате “Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})”, где Me – медиана, Q_{0,25}-Q_{0,75} – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрических критериев (Краскела–Уоллиса, Вилкоксона для связанных групп). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При ИПБК на 5-е сутки наблюдения, до оперативного вмешательства системные изменения клеточного иммунитета в крови включали лейкоцитоз, в относительных величинах снижение общего количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), количество Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), НК-клеток, увеличение общего количества лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD25⁺), преимущественно за счет популяции Т-лимфоцитов и рост численности Т-лимфоцитов с маркерами поздней позитивной активации HLA-DR⁺. Пересчет показателей субпопуляционного состава лимфоцитов в крови в абсолютные величины позволил установить, что общее количество лимфоцитов, общее количество Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), количество Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺) значимо не отличается от значений в контрольной группе (табл. 1). Обнаружено статистически значимое снижение количества в крови НК-клеток без изменения количества субпопуляции НК-клеток из Т-лимфоцитов, увеличение на этом фоне популяции Т-регуляторных клеток, общего числа лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD25⁺), преимущественно за счет популяции Т-лимфоцитов и Т-клеток с маркерами поздней позитивной активации HLA-DR⁺.

На 7-е сутки после ИПБК, сразу после оперативного вмешательства изменения субпопуляционного состава лимфоцитов в крови зафиксированы лейкоцитоз, в относительных величинах снижение общего количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), увеличение количества Т-лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD25⁺). В расчете на 10⁹/л крови выявлено увеличение Т-регуляторных клеток, количества лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD25⁺), в том числе Т-лимфоцитов, а также Т-лимфоцитов с марке-

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ И СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ В ДИНАМИКЕ ИПБК, Ме (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. QUANTITATIVE COMPOSITION OF LEUKOCYTES AND SUBPOPULATIONS OF LYMPHOCYTES IN THE BLOOD IN THE DYNAMICS OF AN ISOLATED FEMORAL FRACTURE, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Группа 1 Здоровые Group 1 Healthy n = 20	Группа 2 ИПБК (5-е сутки после травмы) Group 2 IPBC (5 days after injury) n = 36	Группа 3 ИПБК (7-е сутки после травмы) Group 3 IPBC (7 days after injury) n = 36	Группа 4 ИПБК (18-е сутки после травмы) Group 4 IPBC (18 days after injury) n = 36
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leukocytes, 10 ⁹ /l	6,7 (3,5-7,1)	12,0 (7,8-14,3)	14,0 (9,1-15,8)	8,2 (6,7-8,9)
p ₁₋₂ < 0,01; p ₁₋₃ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	29,8 (27,2-34,2)	23,4 (21,8-24,7)	22,7 (20,3-23,6)	32,8 (29,4-34,6)
p ₁₋₂ < 0,01; p ₁₋₃ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /l	2,18 (1,7-2,3)	2,6 (2,3-3,1)	2,9 (2,4-3,1)	3,5 (2,6-3,5)
p ₁₋₄ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁻), % T-lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻), %	74,6 (65,4-78,5)	64,2 (60,1-69,4)	62,5 (58,8-64,6)	76,7 (68,6-79,3)
p ₁₋₂ < 0,01; p ₁₋₃ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁻), 10 ⁹ /л T-lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻), 10 ⁹ /l	2,9 (1,8-3,2)	2,6 (2,1-3,4)	2,7 (2,3-3,2)	4,3 (3,3-5,1)
p ₁₋₄ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺), % T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺), %	42,86 (38,4-44,5)	35,24 (32,4-37,8)	36,7 (34,6-39,8)	44,3 (42,6-47,8)
p ₁₋₂ < 0,01; p ₁₋₃ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Т-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺), 10 ⁹ /л T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺), 10 ⁹ /l	1,98 (1,56-2,10)	1,2 (1,1-1,5)	1,6 (1,3-1,8)	3,8 (3,2-4,1)
p ₁₋₄ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Т-цитотоксические (CD3 ⁺ CD8 ⁺), % T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺), %	29,8 (28,10-32,20)	23,5 (21,1-25,6)	24,7 (22,1-26,3)	31,9 (28,2-33,2)
p ₁₋₂ < 0,01; p ₁₋₃ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01; p ₃₋₄ < 0,01				
Т-цитотоксические (CD3 ⁺ CD8 ⁺), 10 ⁹ /л T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺), 10 ⁹ /l	0,94 (0,83-1,20)	0,76 (0,64-0,82)	0,65 (0,56-0,68)	0,91 (0,76-1,20)
Соотношение CD4 ⁺ /CD8 ⁺ Ratio CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,64 (1,23-1,67)	1,57 (1,34-1,62)	1,4 (1,32-1,50)	1,6 (1,4-1,8)
Т-НК-лимфоциты (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD45 ⁺), % T-NK lymphocytes (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD45 ⁺), %	2,92 (2,87-3,20)	2,87 (2,67-2,90)	2,76 (2,6-2,8)	3,78 (3,65-3,90)
Т-НК-лимфоциты (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD45 ⁺), 10 ⁹ /л T-NK lymphocytes (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD45 ⁺), 10 ⁹ /l	0,33 (0,31-0,34)	0,34 (0,32-0,36)	0,32 (0,2-0,5)	0,37 (0,34-0,39)
НК-лимфоциты (CD56 ^{dim} CD16 ^{bright}), % NK lymphocytes (CD56 ^{dim} CD16 ^{bright}), %	6,3 (6,1-6,5)	3,4 (3,2-3,5)	4,9 (4,6-5,2)	7,5 (7,2-7,7)
p ₁₋₂ < 0,01; p ₂₋₄ < 0,01				

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

Показатели Indicators	Группа 1 Здоровые Group 1 Healthy n = 20	Группа 2 ИПБК (5-е сутки после травмы) Group 2 IPBC (5 days after injury) n = 36	Группа 3 ИПБК (7-е сутки после травмы) Group 3 IPBC (7 days after injury) n = 36	Группа 4 ИПБК (18-е сутки после травмы) Group 4 IPBC (18 days after injury) n = 36
НК-лимфоциты (CD56 ^{dim} CD16 ^{bright}), 10 ⁹ /л NK lymphocytes (CD56 ^{dim} CD16 ^{bright}), 10 ⁹ /л	0,64 (0,35-0,78)	0,35 (0,24-0,43)	0,45 (0,2-0,6)	0,63 (0,54-0,74)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{2-4} < 0,01$			
В-лимфоциты (CD19⁺), % B-lymphocytes (CD19 ⁺), %	13,8 (12,3-15,3)	12,7 (11,2-14,3)	12,5 (11,3-14,3)	13,7 (12,2-14,6)
В-лимфоциты (CD19⁺), 10⁹/л B-lymphocytes (CD19 ⁺), 10 ⁹ /л	0,12 (0,1-0,3)	0,13 (0,1-0,2)	0,17 (0,15-0,20)	0,16 (0,14-0,18)
Т-регуляторные лимфоциты (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{dim-to-neg}), % T-regulatory lymphocytes (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{dim-to-neg}), %	2,23 (2,1-2,5)	1,98 (1,5-2,2)	2,16 (2,1-2,3)	2,21 (2,1-2,5)
Т-регуляторные лимфоциты (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{dim-to-neg}), 10 ⁹ /л T-regulatory lymphocytes (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{dim-to-neg}), 10 ⁹ /л	0,47 (0,42-0,49)	1,2 (1,1-1,6)	1,1 (0,95-1,30)	1,56 (1,20-1,89)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{1-3} < 0,01; p_{1-4} < 0,01$			
CD25⁺ лимфоциты, % CD25 ⁺ lymphocytes, %	23,9 (21,3-25,3)	37,6 (34,2-39,6)	35,5 (32,3-36,9)	31,3 (29,6-34,3)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{1-3} < 0,01; p_{1-4} < 0,01$			
CD25⁺ лимфоциты, 10⁹/л CD25 ⁺ lymphocytes, 10 ⁹ /л	0,45 (0,42-0,47)	0,95 (0,85-1,20)	0,78 (0,67-0,95)	0,72 (0,68-0,89)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{1-3} < 0,01; p_{1-4} < 0,01$			
CD3⁺CD25⁺ лимфоциты, % CD3 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, %	15,6 (0,12-0,17)	23,4 (0,18-0,25)	24,7 (22,2-26,7)	23,6 (0,21-25,10)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{1-3} < 0,01; p_{1-4} < 0,01$			
CD3⁺CD25⁺ лимфоциты, 10⁹/л CD3 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, 10 ⁹ /л	0,2 (0,1-0,4)	0,3 (0,2-0,5)	0,45 (0,32-0,56)	0,42 (0,34-0,54)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{1-3} < 0,01; p_{1-4} < 0,01$			
CD19⁺CD25⁺ лимфоциты, % CD19 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, %	2,4 (2,1-2,7)	3,1 (2,8-3,8)	2,6 (2,3-2,9)	2,7 (2,4-3,1)
CD19⁺CD25⁺ лимфоциты, 10⁹/л CD19 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes, 10 ⁹ /л	0,07 (0,04-0,09)	0,12 (0,09-0,14)	0,10 (0,07-0,12)	0,11 (0,08-0,13)
CD3⁺HLA-DR⁺ лимфоциты, % CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ lymphocytes, %	13,07 (12,4-14,3)	15,7 (15,2-16,4)	16,5 (14,6-17,8)	18,6 (16,4-19,6)
	$p_{1-4} = 0,02$			
CD3⁺HLA-DR⁺ лимфоциты, 10⁹/л CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ lymphocytes, 10 ⁹ /л	0,21 (0,18-0,23)	0,54 (0,52-0,56)	0,65 (0,62-0,66)	0,87 (0,78-0,89)
	$p_{1-2} < 0,01; p_{1-3} < 0,01; p_{1-4} < 0,01$			

Примечание. p – достоверность различий показателей между группами пациентов до и в динамике хирургического лечения рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Note. p, significance of differences in indicators between groups of patients before and in the dynamics of surgical treatment was calculated according to the nonparametric Wilcoxon test, the differences are considered significant and statistically significant at $p < 0.05$.

рами поздней позитивной активации (HLA-DR⁺). Таким образом, на 7-е сутки после ИПБК изменения субпопуляционного спектра лимфоцитов в крови, за исключением количества NK-клеток, не отличались от значений на 5-е сутки, а процедура оперативного вмешательства не оказывала существенного влияния на исследуемые параметры в течение первых 1-2 часов.

На отдаленных этапах после травматического повреждения бедренной кости и проведенного оперативного лечения, на 18-е сутки наблюдения установлено восстановление общего количества лейкоцитов, относительного содержания общего количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), NK-клеток, а также увеличение в относительных величинах лимфоцитов, в том числе CD3⁺, с маркерами ранней активации (табл. 1). Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов в крови в абсолютных величинах выявила увеличение общего количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), Т-регуляторных клеток, общего числа лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD25⁺), в том числе популяции Т-лимфоцитов и лимфоцитов с маркером поздней позитивной активации HLA-DR⁺ за счет повышения экспрессии данных молекулярных продуктов на Т-клетках.

Примечательно, что количество В-лимфоцитов как абсолютных, так и относительных величинах значимо не изменялось на протяжении всего периода динамического наблюдения, однако, тенденция к снижению зафиксирована на 5-е и 7-е сутки наблюдения, внося определенный вклад в развитие относительной лимфопении.

Обсуждение

В динамике травмы в ранний посттравматический период (5-7-е сутки после ИПБК) нами отмечены характерные для данного периода травмы изменения состава лейкоцитов, а именно наличие лейкоцитоза, перераспределительные изменения количества отдельных субпопуляций лимфоцитов. Авторами [3] показано, что уже через 3 часа после травмы в плазме повышается число нейтрофильных гранулоцитов и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), положительно коррелирующее с уровнем адреналина и цАМФ, что отражает зависимость от адренергической стимуляции костного мозга.

В то же время обнаруженное нами отсутствие изменений абсолютных значений основных популяций лимфоцитов на 5-7-е сутки после перелома согласуется с данными, представленными в работе [3], однако имеются отдельные исследова-

ния, демонстрирующие снижение общего числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов на 7-е сутки при неосложненном течении травматической болезни, с восстановлением уровня последних к 10-м суткам, а при наличии инфекционных осложнений в ранний посттравматический период авторы отмечают более выраженную и длительную (более 10 суток) депрессию уровня Т-хелперов [3].

На наш взгляд, наблюдаемое на 5-е сутки снижение количества NK-лимфоцитов с высокой экспрессией CD16⁺ (80-90%), обладающих выраженной цитолитической активностью, свойственной клеткам врожденных механизмов защиты, с одной стороны, предотвращает раннюю высокую цитолитическую активность, препятствуя массивным повреждениям тканей, с другой, по мнению, — может способствовать пролонгации воспалительного процесса в тканях [7]. Имеются данные о снижении субпопуляции NK-лимфоцитов при использовании для анестезии препаратов фентанила, изофлюрана, тиопентала в ранний послеоперационный период [6]. В то же время наблюдаемое нами увеличение количества субпопуляции NK-лимфоцитов к 18-м суткам после ИПБК может отражать непосредственное участие последних в процессах метаболизма и репарации костной ткани. Продуцируемые активированными лимфоцитами, в том числе NK-клетками, провоспалительные цитокины, в частности TNF α , способны стимулировать образование и дифференцировку остеокластов посредством усиления экспрессии c-fms и RANK и, как следствие, усиливать синтез RANKL и M-CSF стромальными клетками, Т- и В-лимфоцитами, эндотелиоцитами, способствуя активации остеокластогенеза [4]. Данный факт объясняет особый интерес исследователей к анти-TNF-альфа терапии в контроле патологической костной резорбции.

Зафиксированное на 5-е, 7-е и 18-е сутки после травмы повышение в кровяном количестве минорной субпопуляции Т-лимфоцитов — Т-регуляторных клеток, выполняющих надзорную функцию за регуляцией Т-клеточного гомеостаза, формирует общий иммуносупрессивный фон, на котором, с одной стороны, возможно развитие инфекционных осложнений после травмы, с другой — Т-регуляторные клетки за счет наличия на мембране рецептора CD25⁺ выполняют надзорную роль за избыточной активацией Т-лимфоцитов, сорбируя IL-2. Снижая концентрацию IL-2, Т-регуляторные лимфоциты индуцируют апоптоз IL-2-зависимых клеток, а экспрессия на мембране Т-регуляторных лимфоцитов транскрипционного фактора подавления FoxP3 опосредует ингибирование клеточной активности. Иммунодепрессивные реакции опосредованы также вли-

янием секреторных продуктов Т-регуляторных лимфоцитов (TGF- β , IL-10), которые проявляют супрессорную активность не только в отношении Т-лимфоцитов, но и эффекторов врожденного иммунитета [13]. Также именно Т-регуляторным клеткам, и в меньшей степени миелоидным супрессорным клеткам (MDSCs) отводят ключевую роль в подавлении адаптивного иммунитета при травме [14]. В литературе описано, что после травмы в кровотоке снижается общее количество CD3⁺ лимфоцитов, в том числе в связи с Treg-опосредованной сменой фенотипа от Th1 к Th2 [14]. Известно, что при травме соотношения Th1/Th2 и Th17/Treg снижаются в динамике от 1-го к 21-му дню исследования [15]. Снижение Th1-хелперов и активация Th2-субпопуляции хелперных клеток при неосложненном течении травматической болезни приводит к уменьшению концентрации провоспалительных цитокинов, следовательно, предупреждает развитие септического шока [3]. Между тем некоторые исследователи не отмечают достоверных различий в соотношении Th1/Th2-лимфоцитов в сравнении со здоровыми донорами в течение первых 7-ми суток наблюдения [3].

На эскалацию ранних и поздних активационных процессов в лимфоцитах указывает повышение на 5-е, 7-е и 18-е сутки общего числа лимфоцитов с маркерами ранней позитивной

активации (CD25⁺), за счет преимущественно активированных Т-лимфоцитов, а также Т-лимфоцитов с экспрессией молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-DR⁺, что, с одной стороны, обусловлено необходимостью обеспечения этапов воспалительной реакции в поврежденных тканях, с другой – демонстрирует потребность в перманентной антигенной презентации в условиях репарации костной ткани. В то же время доказано, что наличие на мембране иммуноцитов антигенов главного комплекса гистосовместимости HLA-DR демонстрирует не только способность клеток к антигенпрезентации, но при пролонгированной экспрессии (более 3 недель с момента травмы) данных молекулярных продуктов может свидетельствовать об избыточной стимуляции иммунных клеток антигенами с истощением функционального резерва последних, снижении качества презентации антигенного материала и потенциальном риске инфекционных осложнений. Исследования последних лет доказали регуляторную роль активированных Т-лимфоцитов в реализации остеокластогенной активности за счет секреции ими интермедиата SOFAT (секретируемый остеокластогенный фактор активированных Т-лимфоцитов), усиливающего продукцию IL-6 остеобластами и функциональную активность остеокластов [4].

Список литературы / References

1. Губайдуллин М.И., Зарков С.И. Медико-социальная оценка случаев с благоприятными исходами дорожно-транспортных травм на госпитальном этапе // *Современные проблемы науки и образования*, 2012, № 1. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5513>. [Gubaydullin M.I., Zarkov S.I. Medico-social assessment of cases with favorable outcomes of road traffic injuries at the hospital stage. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2012, no. 1. [Electronic resource] (In Russ.)] Access mode: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5513>.
2. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. Эволюция воспаления // *Цитокины и воспаление*, 2012. Т. 11, № 4. С. 5-13. [Gusev E.Yu., Chereshev V.A. Evolution of inflammation. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2012, Vol. 11, no. 4, pp. 5-13. (In Russ.)]
3. Калинина Н.М., Сосюкин А.Е., Вологжанин Д.А., Кузин А.А., Князев П.С. Травма: воспаление и иммунитет // *Цитокины и воспаление*, 2005. Т. 4, № 1. С. 28-35. [Kalinina N.M., Sosyukin A.E., Vologzhanin D.A., Kuzin A.A., Knyazev P.S. Trauma: inflammation and immunity. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, Vol. 4, no. 1, pp. 28-35. (In Russ.)]
4. Коршунова Е.Ю., Дмитриева Л.А., Лебедев В.Ф. Цитокиновая регуляция метаболизма костной ткани // *Политравма*, 2012. № 3. С. 82-86. [Korshunova E.Yu., Dmitrieva L.A., Lebedev V.F. Cytokine regulation of bone tissue metabolism. *Politravma = Polytrauma*, 2012, no. 3, pp. 82-86. (In Russ.)]
5. Помогаева Е.В. Современные классификации переломов костей нижней конечности: учеб. пособие / под ред. Помогаевой Е.В.; ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2016. 56 с. [Pomogaeva E.V. Modern classifications of fractures of the bones of the lower extremity: textbook. allowance. Ed. Pomogaeva E.V.; Ural State Medical University]. Yekaterinburg: Publishing house of Ural State Medical University, 2016. 56 p.
6. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Изменение иммунитета при хирургических вмешательствах // *Анналы хирургической гепатологии*, 1998. Т. 3, № 2. С. 100-110. [Khaitov R.M., Pinegin B.V. Changes in immunity during surgical interventions. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of Surgical Hepatology*, 1998, Vol. 3, no. 2, pp. 100-110. (In Russ.)]
7. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Вопросы современной проточной цитометрии: клиническое применение. Челябинск: Бумажный двор, 2008. 195 с. [Khaidukov S.V., Zurochka A.V. Questions of modern flow cytometry: clinical application]. Chelyabinsk: Bumazhnyy dvor, 2008. 195 p.

8. Amarante-Mendes G.P., Adjemian S., Branco L.M. Pattern recognition receptors and the host cell death molecular machinery. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2379. doi: 10.3389/fimmu.2018.02379.
9. Erin L., Lopez M., Ozrazgat-Baslanti T., Ungaro R., Davis R., Cuenca A., Gentile L. Persistent Inflammation, Immunosuppression and Catabolism Syndrome after Severe Blunt Trauma. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2014, Vol. 76, no. 1, pp. 21-30.
10. Huber-Lang M., Lambris J. D., Ward P.A. Innate immune responses to trauma. *Nat. Immunol.*, 2018, Vol. 19, no. 4, pp. 327-341.
11. Lord J.M., Midwinter M.J., Chen Y.F., Belli A., Brohi K., Kovacs E.J., Koenderman L., Kubes P., Lilford R.J. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *Lancet*, 2014, Vol. 384, no. 9952, pp. 1455-1465.
12. Mira J.C., Brakenridge S.C., Moldawer L.L., Moore F.A. Persistent Inflammation, Immunosuppression and Catabolism Syndrome (PICS). *Crit. Care Clin.*, 2017, Vol. 33, no. 2, pp. 245-258.
13. Osuka A., Ogura H., Ueyama M. Immune response to traumatic injury: harmony and discordance of immune system homeostasis. *Acute Med. Surg.*, 2014, Vol. 1, no. 2, pp. 63-69.
14. Serve R., Sturm R., Schimunek L. Comparative analysis of the regulatory T Cells dynamics in peripheral blood in human and porcine polytrauma. *Front Immunol.*, 2018, Vol. 9, 435. doi: 10.3389/fimmu.2018.00435.
15. Zhang Y., Li X.F., Wu W., Chen Y. Dynamic changes of circulating T-helper cell subsets following severe thoracic trauma. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015, Vol. 8, no. 11, pp. 21106-21113.

Авторы:

Давыдова Е.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая отделением реабилитации ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Осиков М.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; руководитель отдела научной работы ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Абрамов К.С. — старший лаборант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующий отделением травматологии и ортопедии № 2 ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

Authors:

Davydova E.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Head, Rehabilitation Department, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Osikov M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Head, Research Department, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Abramov K.S., Senior Laboratory Assistant, Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Head, Department of Traumatology and Orthopedics No. 2, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 19.08.2020
Отправлена на доработку 09.01.2021
Принята к печати 20.04.2021

Received 19.08.2020
Revision received 09.01.2021
Accepted 20.04.2021