

ФЕНОТИП НК-КЛЕТОК В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА У БОЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ

А.А. Савченко¹, А.Г. Борисов¹, И.В. Кудрявцев^{2,3}, В.Д. Беленюк¹

¹ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

² ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение фенотипа НК-клеток в крови у больных распространенным гнойным перитонитом (РГП) в динамике послеоперационного периода в зависимости от исхода заболевания. Обследовано 48 пациентов с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 30–63 лет. Забор крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 21 сутки послеоперационного периода. В качестве контроля обследовано 67 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона. Исследование фенотипа НК-клеток крови проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови. По средней интенсивности флуоресценции оценивались уровни экспрессии рецепторов на мембране НК-клеток. Обнаружено, что у больных с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде снижено содержание зрелых НК-клеток. Восстановление количества НК-клеток у данной категории больных к концу послеоперационного периода (21 сутки после операции) осуществляется за счет повышения уровней зрелых, цитотоксических и цитокин-продуцирующих клеток. При благоприятном исходе заболевания к концу послеоперационного периода среди всех исследуемых субпопуляциях НК-клеток крови повышается доля с экспрессией CD11b-рецептора и увеличивается количество CD57⁺ НК-клеток относительно дооперационного уровня. У больных с неблагоприятным исходом РГП в дооперационном и в течение всего послеоперационного периода выявляется снижение содержания зрелых НК-клеток как относительно показателей здоровых людей, так и пациентов с благоприятным исходом заболевания. При неблагоприятном исходе РГП к концу наблюдаемого периода повышается уровень цитотоксических НК-клеток в крови. У данной категории больных в дооперационном периоде и после операции доля зрелых НК-клеток с экспрессией CD11b снижается. В течение всего послеоперационного периода при неблагоприятном исходе заболевания понижено содержание CD57⁺ НК-клеток как относительно контрольного диапазона, так и количества в крови у больных с благоприятным исходом РГП. В то же время у больных с неблагоприятным исходом данного инфекционно-воспалительного заболевания на НК-клетках крови повышается уровень экспрессии CD28 и CD57. Выявленные особенности фенотипа НК-клеток крови при неблагоприятном исходе заболевания отражают нарушения в механизмах созревания и миграции НК-клеток, что, в свою очередь, определяет расстройство процессов регулирования острой воспалительной реакции при РГП.

Ключевые слова: перитонит, исход заболевания, НК-клетки, активационные маркеры, адгезионные рецепторы, дооперационный период, послеоперационное лечение.

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: 8 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12,
Scientific Research Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Библиографическое описание:

Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д. Фенотип НК-клеток в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 3–4. С. 539–548. doi: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-539-548

Citation:

Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavtsev I.V., Belenjuk V.D. The phenotype of NK-cells in the dynamics of the post-operative period in patients with peritonitis in depending on the outcome of the disease // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9, no. 3–4, pp. 539–548. doi: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-539-548

THE PHENOTYPE OF NK-CELLS IN THE DYNAMICS OF THE POST-OPERATIVE PERIOD IN PATIENTS WITH PERITONITIS IN DEPENDING ON THE OUTCOME OF THE DISEASE

Savchenko A.A.^a, Borisov A.G.^a, Kudryavcev I.V.^{b,c}, Belenjuk V.D.^a

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

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

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

Abstract. Our study was aimed at investigating dynamic phenotype pattern of peripheral blood NK cells in patients with widespread purulent peritonitis (WPP) during postoperative period depending on disease outcome. A total of 48 patients aged 30–63 with acute surgical diseases and abdominal injuries complicated by WPP were examined. Blood sampling was performed before surgery (preoperative period) as well as on day 7, 14 and 21 during postoperative period. 40 apparently healthy age-matched subjects were included in control group. Peripheral blood NK cell phenotyping was performed by using flow cytometry with directly immunofluorescently tagged antibodies. Mean fluorescence intensity was measured to estimate expression levels of NK cell surface receptors was measured. It was found that in patients with a favorable WPP outcome during preoperative period the percentage of mature NK cells was decreased that was restored by the end of the postoperative period (21 days post-surgery) due to elevated mature, cytotoxic and cytokine-producing NK cell subsets. In addition, percentage of CD11b-positive NK cell subsets was increased upon favorable outcome by the end of postoperative period as well as frequency of CD57-positive NK cells relative to the preoperative period. However, frequency of mature NK cells with unfavorable WPP outcome vs. control vs. favorable outcome was decreased during preoperative and entire postoperative period. Moreover, amount of cytotoxic NK cells was elevated during examination period upon unfavorable WPP outcome. Further, percentage of mature CD11b-positive NK cells in this patient cohort was decreased during preoperative period and post-surgery. Percentage of CD57-positive NK cells was decreased during entire postoperative period in patients with unfavorable vs. favorable outcome vs. control group. At the same time, patients with unfavorable outcome of this infectious-inflammatory disease were shown to display upregulated expression of CD28 and CD57 markers on NK cells. Such features identified in phenotype of peripheral blood NK cells in patients with unfavorable WPP outcome reflect abnormal mechanisms in NK cell maturation and migration, which, in turn, determines disturbance in events regulating acute inflammatory reaction in WPP.

Key words: peritonitis, outcome of the disease, NK-cells, activation markers, adhesion receptors, preoperative period, postoperative treatment.

Введение

НК-клетки (Natural Killer) определяются как отдельная популяция лимфоцитов, осуществляющая функции врожденного иммунитета. Основной функцией НК-клеток, которая была первоначально определена, является цитолитическая активность без предшествующей стимуляции вирусинфицированных и некоторых опухолевых клеток [6, 7, 15]. Однако в настоящее время у НК-клеток также выделяют и функцию регуляции врожденного и адаптивного иммунитета за счет секреции широкого спектра цитокинов и хемокинов [12, 13, 16]. В частности, в исследовании Anuforo O.U.U. и соавт. (2018) показано, что при антигениндуцированном воспалении НК-клетки осуществляют поддержание апоптоза и регулируют функциональную активность нейтрофилов [9]. Кроме того, выявление различных субпопуляций НК-клеток позволяет расширить их роль в реализации иммунного ответа [2, 16, 24]. В связи с этим появляются исследования фенотипического состава и особенностей функциональной активности НК-клеток при различных воспалительных заболеваниях. Так, в работе Rasid O. и соавт. (2016) показано, что при системной воспалительной реакции из-

меняется уровень экспрессии маркеров активации (CD25 и CD69) и повышается синтез ряда эффекторных молекул (IFN γ , гранзим В и IL-10) [26]. Доказана регуляторная роль НК-клеток при инфекции *Salmonella Typhimurium* [22]. При снижении их количества активность воспалительного процесса в слизистой оболочке кишечника снижается.

Распространенный гнойный перитонит (РГП) является одним из проблемных вопросов современного здравоохранения. Несмотря на новые разработанные хирургические и медикаментозные методы лечения РГП, летальность при данном заболевании остается высокой, достигая 75,8–100% при развитии различных осложнений, например, сепсиса [1, 3, 20]. На сегодняшний день доказано, что характер течения РГП, а также механизм развития осложнений определяется не только применяемыми хирургическими методами и качеством послеоперационного лечения, но и зависит от состояния иммунной системы пациента [3, 5, 27]. Однако роль НК-клеток при РГП до сих пор изучена слабо.

Целью исследования явилось изучение фенотипа НК-клеток в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода в зависимости от исхода заболевания.

Материалы и методы

На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» обследовано 48 пациентов с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП, в возрасте 30–63 лет. Из исследования были исключены пациенты, у которых причиной РГП являлись: острый деструктивный панкреатит (панкреонекроз), тотальный мезентериальный тромбоз, онкологические заболевания, туберкулез. Объем оперативного вмешательства и количество санаций определялись лечащим врачом в зависимости от состояния больного. Забор крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7, 14 и 21 сутки послеоперационного периода. В качестве контроля обследовано 67 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Исследование фенотипа NK-клеток крови проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с моноклональными антителами (Beckman Coulter, США), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующих панелях: CD16-FITC/CD56-PE/CD45-ECD/CD11b-PC7 и CD57-FITC/CD28-PE/CD16+56-PC5/CD45-PC7. Дополнительно по средней интенсивности флуоресценции (MFI — Mean Fluorescence Intensity) оценивались уровни экспрессии поверхностных рецепторов. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [4]. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [33]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) центра коллективного пользования 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 (Q1 и Q3). Достоверность различий между показателя-

ми независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Достоверность различий в динамике лечения определяли по критерию Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

При исследовании фенотипа NK-клеток крови у больных с благоприятным исходом РГП обнаружено, что в дооперационном периоде у обследованных пациентов на фоне снижения абсолютного количества лимфоцитов понижается процентный уровень CD16⁺/56⁺- и CD16⁺CD56⁺-клеток (табл. 1). Количество лимфоцитов у пациентов данной группы относительно исходных значений повышается уже на 7 сутки послеоперационного периода, контрольных значений достигает на 21 сутки после операции. Процентное содержание CD16⁺/56⁺-клеток при благоприятном исходе остается сниженным относительно контрольных значений в течение двух недель послеоперационного периода и повышается до контрольных значений на 21 сутки после операции. В то же время количество CD16⁺CD56⁺-клеток у больных РГП с благоприятным исходом на 7 и 14 сутки послеоперационного лечения соответствуют контрольному уровню и более чем в 2 раза превышают его к концу наблюдаемого периода. Процентное содержание CD16⁺CD56⁻- и CD16⁻CD56⁺-клеток при благоприятном исходе заболевания повышены относительно контрольных значений на 7 и 21 сутки послеоперационного периода.

На 21 сутки послеоперационного периода в крови у больных РГП с благоприятным исходом повышается содержание CD16⁺CD56⁺CD11b⁺-клеток как относительно контрольного диапазона, так и исходных значений (табл. 2). Относительное содержание CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток также повышается к концу наблюдаемого периода, однако только в сравнении с исходным уровнем. Относительно контрольных значений у пациентов данной группы в период на 7 и 21 сутки после операции в крови увеличивается количество CD16⁺CD56⁻CD11b⁺- и CD16⁻CD56⁺CD11b⁺-клеток.

У больных РГП с неблагоприятным исходом РГП абсолютное содержание общих лимфоцитов в крови снижено относительно контрольных значений еще в дооперационном периоде и восстанавливается только к 21 суткам после операции (табл. 3). В течение всего периода обследования у пациентов данной группы понижено относительное количество CD16⁺/56⁺-

и CD16⁺CD56⁺-клеток. К концу периода наблюдения повышается относительно контрольного диапазона содержание CD16⁺CD56⁻-клеток.

Содержание CD16⁺CD56⁺CD11b⁺-клеток у больных с неблагоприятным исходом РГП снижено относительно контрольного диапазона в дооперационном периоде и до конца наблюдаемого периода (табл. 4). Кроме того, у лиц данной группы на 7 сутки послеоперационного периода снижается количество CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток и остается на пониженном уровне до конца наблюдаемого периода.

При сравнении фенотипического состава NK-клеток у больных в зависимости от исхода РГП обнаружено, что уже в дооперационном периоде при неблагоприятном исходе заболевания в крови снижено относительное количество CD16⁺/56⁺- ($p = 0,031$), CD16⁺CD56⁺- ($p = 0,045$), CD16⁻CD56⁺- ($p = 0,028$), CD16⁺CD56⁺CD11b⁺- ($p = 0,036$) и CD16⁻CD56⁺CD11b⁺-клетки ($p = 0,048$) (см. табл. 1, 2, 3 и 4). На 7 сутки послеоперационного периода у больных с неблагоприятным исходом РГП по сравнению с благоприятным исходом заболевания сохраняется пониженное содержание CD16⁺CD56⁺- ($p = 0,028$), CD16⁻

CD56⁺- ($p = 0,047$), CD16⁺CD56⁺CD11b⁺- ($p = 0,007$) и CD16⁻CD56⁺CD11b⁺-клеток ($p = 0,024$). Также в этот период наблюдения при неблагоприятном исходе снижены уровни CD16⁺CD56⁻CD11b⁺- ($p = 0,027$) и CD16⁺/56⁺CD57⁺- ($p = 0,042$). На 14 сутки послеоперационного периода при неблагоприятном исходе РГП в крови снижено количество CD16⁺/56⁺- ($p = 0,037$), CD16⁺CD56⁺- ($p = 0,040$), CD16⁺CD56⁺CD11b⁺- ($p = 0,041$) и CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток ($p = 0,038$). На 21 сутки послеоперационного периода у больных с неблагоприятным исходом РГП по сравнению с благоприятным исходом заболевания CD16⁺/56⁺- ($p = 0,025$), CD16⁺CD56⁺- ($p = 0,046$), CD16⁺CD56⁺CD11b⁺- ($p = 0,041$), CD16⁺CD56⁻CD11b⁺- ($p = 0,044$) и CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток ($p = 0,027$).

По сравнению с контрольными значениями NK-клетки больных с неблагоприятным исходом РГП интенсивнее экспрессируют CD28-рецептор на 7 и 14 сутки и CD57-маркер на 7 и 21 сутки послеоперационного периода (табл. 5). При этом выявляются различия по уровням экспрессии активационных маркеров в зависимости от исхода заболевания.

Таблица 1. Содержание NK-клеток в крови у больных с благоприятным исходом РГП в динамике послеоперационного периода (Me, Q1 – Q3)

Table 1. The content of blood NK-cells in patients with a favorable outcome of WPP in the dynamics of the postoperative period (Me, Q1 – Q3)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 67	Дооперационный период Preoperative period n = 27	7 сутки после операции 7 days after surgery n = 27	14 сутки после операции 14 days after surgery n = 27	21 сутки после операции 21 days after surgery n = 27
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /L	2,05 1,56–2,60	1,06 0,78–1,33	1,32 0,83–2,53	1,34 0,90–2,08	2,15 1,35–3,89
		$p_1 < 0,001$	$p_1 = 0,007$ $p_2 = 0,017$	$p_1 = 0,007$ $p_2 = 0,042$	$p_2 = 0,005$
CD16/56 ⁺ , %	16,2 11,0–21,0	6,3 3,6–11,6	9,4 5,6–13,7	10,5 6,2–12,5	17,3 7,3–22,5
		$p_1 < 0,001$	$p_1 < 0,001$	$p_1 = 0,048$	$p_2 = 0,038$ $p_3 = 0,045$
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	7,9 5,6–14,9	5,6 2,9–10,0	8,8 5,1–13,0	9,8 3,3–22,9	16,6 7,6–22,4
		$p_1 = 0,041$			$p_1 = 0,045$ $p_2 = 0,018$ $p_3 = 0,046$
CD16 ⁺ CD56 ⁻ , %	0,33 0,21–0,57	0,53 0,17–0,83	0,67 0,51–1,16	0,48 0,25–1,29	0,89 0,59–1,20
			$p_1 < 0,001$		$p_1 = 0,019$
CD16 ⁻ CD56 ⁺ , %	0,28 0,17–0,53	0,33 0,22–0,45	0,52 0,27–1,10	0,43 0,23–0,92	0,49 0,26–0,72
			$p_1 = 0,007$ $p_2 = 0,016$		$p_1 = 0,044$

Примечание. p_1 — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p_2 — статистически значимые различия с показателями больных, находящихся в дооперационном периоде; p_3 — статистически значимые различия с показателями больных на 7 сутки после операции.

Note. p_1 — statistically significant differences versus controls; p_2 — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p_3 — statistically significant differences versus 7 days after surgery patients.

Таблица 2. Содержание NK-клеток, экспрессирующих активационные и адгезионные маркеры, у больных с благоприятным исходом РГП в динамике послеоперационного периода (Me, Q1 – Q3)

Table 2. The content of NK-cells expressing activation and adhesion markers in patients with a favorable outcome of WPP in the dynamics of the postoperative period (Me, Q1 – Q3)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 67	Дооперационный период Preoperative period n = 27	7 сутки после операции 7 days after surgery n = 27	14 сутки после операции 14 days after surgery n = 27	21 сутки после операции 21 days after surgery n = 27
CD16⁺CD56⁺CD11b⁺, %	7,4 5,5–14,0	5,4 3,6–10,0	8,5 5,0–12,7	9,7 3,2–22,4	16,2 7,6–21,5
					p ₁ = 0,040 p ₂ = 0,022 p ₃ = 0,047
CD16⁺CD56⁻CD11b⁺, %	0,25 0,16–0,43	0,39 0,07–0,77	0,48 0,38–0,78	0,25 0,17–0,64	0,79 0,47–1,12
			p ₁ = 0,002		p ₁ = 0,012
CD16⁻CD56⁺CD11b⁺, %	0,26 0,16–0,47	0,30 0,19–0,43	0,48 0,24–1,09	0,29 0,22–0,51	0,42 0,26–0,64
			p ₁ = 0,008		p ₁ = 0,041
CD16/56⁺CD28⁺, %	0,58 0,21–1,82	0,66 0,09–1,07	0,57 0,17–1,30	0,49 0,13–0,91	0,46 0,19–0,59
CD16/56⁺CD57⁺, %	2,79 1,52–4,18	2,09 1,44–3,49	2,74 1,37–5,27	2,25 1,13–5,37	3,65 2,01–7,52
					p ₂ = 0,039 p ₃ = 0,047 p ₄ = 0,042

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных, находящихся в дооперационном периоде; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных на 7 сутки после операции; p₄ — статистически значимые различия с показателями больных на 14 сутки после операции.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 7 days after surgery patients; p₄ — statistically significant differences versus 14 days after surgery patients.

Таблица 3. Количество NK-клеток в крови у больных с неблагоприятным исходом РГП в динамике послеоперационного периода (Me, Q1 – Q3)

Table 1. The number of blood NK-cells in patients with an unfavorable outcome of WPP in the dynamics of the postoperative period (Me, Q1 – Q3)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 67	Дооперационный период Preoperative period n = 21	7 сутки после операции 7 days after surgery n = 17	14 сутки после операции 14 days after surgery n = 15	21 сутки после операции 21 days after surgery n = 12
Лимфоциты, 10⁹/л Lymphocytes, 10⁹/L	2,05 1,56–2,60	0,92 0,51–1,25	0,87 0,70–1,81	1,06 0,65–1,11	2,06 1,27–2,85
		p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,014 p ₄ = 0,041
CD16/56⁺, %	16,2 11,0–21,0	3,9 3,1–4,9	6,8 2,01–16,8	4,3 2,7–5,1	6,1 2,2–12,9
		p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,006	p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,017
CD16⁺CD56⁺, %	7,9 5,6–14,9	2,8 1,6–6,8	3,4 0,8–7,0	4,7 1,4–7,4	4,9 2,6–7,4
		p ₁ = 0,004	p ₁ = 0,010	p ₁ = 0,047	p ₁ = 0,048
CD16⁺CD56⁻, %	0,33 0,20–0,56	0,49 0,36–0,84	0,54 0,20–0,97	0,53 0,44–1,17	0,90 0,49–2,38
					p ₁ = 0,046
CD16⁻CD56⁺, %	0,28 0,165–0,53	0,17 0,08–0,23	0,18 0,08–0,90	0,26 0,25–0,99	0,63 0,44–1,53

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных, находящихся в дооперационном периоде; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных на 7 сутки после операции; p₄ — статистически значимые различия с показателями больных на 14 сутки после операции.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 7 days after surgery patients; p₄ — statistically significant differences versus 14 days after surgery patients.

Уровень MFI CD28 более выражен на НК-клетках больных с неблагоприятным исходом в до- и в первые 2 недели послеоперационного периода. Более высокий уровень MFI CD57 также выявляется при неблагоприятном исходе на 7 и 21 сутки после операции.

Обсуждение

НК-клетки представляют собой гетерогенную популяцию, обладают естественной цитотоксической активностью и способны продуцировать цитокины и хемокины [6, 25, 34]. Иммунофенотипирование общей фракции НК-клеток и их основных субпопуляций осуществляли по маркерам CD16 и CD56. CD16 является низкоаффинным рецептором иммуноглобулинов G III типа (FcγRIII), с помощью которого осуществляется механизм клеточной цитотоксичности [2, 10, 23]. Маркер CD56 (NCAM, Leu-19, NKH-1) является гликопротеином, принадлежащим к суперсемейству иммуноглобулинов, и принимает участие в реализации межклеточных контактов [2, 21, 37]. При этом НК-клетки, активно экспрессирующие CD16 и CD56, определяются как зрелые. НК-клетки с фенотипом CD16⁻CD56⁺ проявляют цитотоксическую активность. НК-клетки с фенотипом CD16⁺CD56⁻ в ответ на стимуляцию IL-2 начинают секретировать широкий спектр цитокинов, но проявляют слабую цитолитическую активность (цитокинпродуцирующие) [2, 8, 17].

У больных РПП независимо от исхода заболевания относительное количество общих НК-клеток (CD16/56⁺) в крови снижено уже в дооперационном периоде, что проявляется на фоне понижения абсолютного уровня лимфоцитов в крови. К концу наблюдаемого периода содержание лимфоцитов нормализуется. В то же время количество НК-клеток до уровня контрольного диапазона восстанавливается только у больных с благоприятным исходом РПП к 21 суткам послеоперационного лечения. Более того, в течение всего периода обследования у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания наблюдается низкий уровень НК-клеток по сравнению с выявленным у лиц с благоприятным исходом перитонита. Низкое содержание НК-клеток при перитоните может определяться двумя основными причинами. Во-первых, это миграция клеток в зону воспаления. В частности, на примере экспериментального перитонита показано, что уже через 48 ч развития заболевания количество мигрирующих в брюшную полость НК-клеток достигает максимума [35]. И, во-вторых, в работе Shindo Y. и соавт. (2017) показано, что на фоне развития экспериментальных острых воспалительных процессов НК-клетки интенсивнее экспрессируют рецептор PD-1 (programmed cell death-1) [29]. Высокий уровень экспрессии PD-1 авторы связывают со снижением количества НК-клеток и других лимфоцитов в крови. Причем блокирование экспрессии данного рецептора приводило к повышению выживаемости животных.

Таблица 4. Содержание НК-клеток, экспрессирующих активационные и адгезионные маркеры, у больных с неблагоприятным исходом РПП в динамике послеоперационного периода (Me, Q1 — Q3)

Table 4. The content of NK-cells expressing activation and adhesion markers in patients with an unfavorable outcome of WPP in the dynamics of the postoperative period (Me, Q1 — Q3)

Показатели Parameters	Контроль Control n = 67	Дооперационный период Preoperative period n = 21	7 сутки после операции 7 days after surgery n = 17	14 сутки после операции 14 days after surgery n = 15	21 сутки после операции 21 days after surgery n = 12
CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	7,4 5,5–14,0	2,7 1,6–6,4	3,4 0,7–6,8	4,4 1,2–6,6	4,3 0,6–6,5
		p ₁ = 0,005	p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,048	p ₁ = 0,011
CD16 ⁺ CD56 ⁻ CD11b ⁺ , %	0,25 0,16–0,43	0,39 0,16–0,80	0,36 0,05–0,61	0,38 0,27–0,58	0,38 0,19–0,84
CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	0,26 0,16–0,47	0,17 0,10–0,36	0,14 0,08–0,76	0,25 0,21–1,55	0,34 0,03–1,93
CD16/56 ⁺ CD28 ⁺ , %	0,58 0,21–1,82	0,44 0,27–1,17	0,50 0,20–2,31	0,62 0,24–0,85	0,61 0,03–6,19
CD16/56 ⁺ CD57 ⁺ , %	2,79 1,52–4,18	1,93 1,55–2,91	0,99 0,41–2,61	1,12 1,04–1,95	0,52 0,47–1,83
			p ₁ = 0,048	p ₁ = 0,048	p ₁ = 0,037 p ₂ = 0,040

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p₂ — статистически значимые различия с показателями больных, находящихся в дооперационном периоде; p₃ — статистически значимые различия с показателями больных на 7 сутки после операции; p₄ — статистически значимые различия с показателями больных на 14 сутки после операции.

Note. p₁ — statistically significant differences versus controls; p₂ — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery; p₃ — statistically significant differences versus 7 days after surgery patients; p₄ — statistically significant differences versus 14 days after surgery patients.

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

Способность к реализации функции NK-клетками охарактеризована через определение количества лимфоцитов, экспрессирующих активационные и адгезионные маркеры.

CD11b представляет собой α M цепь интегрина Mac-1, экспрессия данного рецептора на поверхности NK-клеток увеличивает их миграционные и эффекторные возможности [28, 31]. Так, в работе Lin W. и соавт. (2017) показано, что снижение уровня экспрессии CD11b приводило к понижению функциональной активности NK-клеток и, соответственно, к снижению интенсивности воспалительной реакции [19]. У больных с благоприятным исходом РГП количество зрелых NK-клеток с экспрессией CD11b в дооперационном периоде и в первые 2 недели послеоперационного лечения соответствует контрольному уровню и значительно повышается на 21 сутки наблюдения. Содержание цитотоксических и цитокинпродуцирующих NK-клеток, экспрессирующих CD11b, имеет 2 пика повышения: на 7 и 21 сутки послеоперационного периода. При неблагоприятном исходе РГП наблюдается снижение количества зрелых NK-клеток, экспрессирующих CD11b, в дооперационном периоде и в течение всего периода послеоперационного наблюдения. Содержание цитотоксических и цитокинпродуцирующих NK-клеток с экспрессией CD11b у лиц данной категории соответствует контрольному уровню. Однако по сравнению с количеством, выявленным при благоприятном исходе РГП, у пациентов с неблагоприятным исходом определяется пониженный уровень основных субпопуляций NK-клеток, экспрессирующих данный рецептор.

Таблица 5. Уровень экспрессии (по MFI) CD28 и CD57 на поверхности NK-клеток у больных с различными исходами РГП в динамике послеоперационного периода (Me, Q1 – Q3)

Table 5. The expression level (by MFI) of CD28 and CD57 on the surface of NK-cells in patients with different outcomes of WPP in the dynamics of the postoperative period (Me, Q1 – Q3)

Показатели Parameters	Контроль Control	Дооперационный период Preoperative period	7 сутки после операции 7 days after surgery	14 сутки после операции 14 days after surgery	21 сутки после операции 21 days after surgery
Благоприятный исход РГП/Favorable outcome of WPP					
MFI CD28⁺, о.е.	3,14 2,85–3,56	3,13 2,88–3,72	3,70 2,62–5,62	3,46 3,09–4,47	3,22 2,95–3,40
MFI CD57⁺, о.е.	29,35 13,01–44,30	30,31 19,70–50,30	25,70 14,00–67,10	30,80 23,85–44,50	20,75 12,28–36,15
Неблагоприятный исход РГП/Unfavorable outcome of WPP					
MFI CD28⁺, о.е.	3,14 2,85–3,56	4,11* 3,26–5,84	6,38* 5,85–8,62	4,80* 4,59–5,39	4,35 2,99–5,70
			$p_1 = 0,002$	$p_1 = 0,005$	
MFI CD57⁺, о.е.	29,35 13,01–44,30	32,20 30,30–48,10	75,10** 25,31–123,01	39,60 26,50–72,10	69,35** 44,90–93,80
			$p_1 = 0,015$ $p_2 = 0,041$		$p_1 = 0,045$

Примечание. p_1 — статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p_2 — статистически значимые различия с показателями больных, находящихся в дооперационном периоде. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ — статистически значимые различия с соответствующими показателями больных с благоприятным исходом РГП.

Note. p_1 — statistically significant differences versus controls; p_2 — statistically significant differences versus patients with WPP before surgery. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ — statistically significant differences with the corresponding indexes in patients with a favorable outcome of WPP.

Молекула CD28 (Тр44) является гликопротеином, относящимся к суперсемейству иммуноглобулинов, и участвует в формировании второго активационного сигнала, что приводит к стимуляции пролиферации клеток и синтезу цитокинов [32, 36]. Обнаружено, что у больных РГП независимо от исхода заболевания количество НК-клеток, экспрессирующих CD28-рецептор, в течение всего периода наблюдения соответствует контрольным значениям. Однако при неблагоприятном исходе в дооперационном периоде и в течение 2 недель послеоперационного лечения наблюдается повышение экспрессии CD28 НК-клетками как относительно контрольных значений, так и уровней, выявляемых у пациентов с благоприятным исходом РГП.

CD57 (HNK-1, NK-1, Leu-7) представляет собой олигосахаридную антигенную детерминанту, экспрессируемую на различных белках, липидах и протеогликанах [18, 30]. Доказано, что НК-клетки, экспрессирующие рецептор CD57, способны более активно синтезировать IFN γ , но обладают сниженным уровнем пролиферации, что позволяет определить CD57⁺ НК-лимфоциты как зрелые эффекторные клетки [6, 11, 14]. Установлено, что у больных с благоприятным исходом РГП к 21 суткам послеоперационного лечения повышается количество CD57⁺ НК-клеток относительно исходного уровня. У больных с неблагоприятным исходом заболевания в послеоперационном периоде наблюдается последовательное снижение содержания НК-клеток с экспрессией CD57-рецептора относительно контрольных значений и уровней, выявленных при благоприятном исходе РГП. В то же время уровень экспрессии CD57 у данной категории в послеоперационном периоде выше, чем у здоровых людей и пациентов с благоприятным исходом заболевания.

В целом можно заключить, что при неблагоприятном исходе РГП в крови снижается количество НК-клеток с высоким уровнем миграционного и активационного потенциала.

Заключение

Таким образом, у больных РГП в зависимости от исхода заболевания обнаружены выраженные различия в фенотипе НК-клеток крови. У пациентов с благоприятным исходом РГП в дооперационном периоде снижено содержание зрелых НК-клеток. Восстановление количества НК-клеток у данной категории больных к концу послеоперационного периода (21 сутки после операции) осуществляется за счет повышения уровней зрелых, цитотоксических и цитокинпродуцирующих клеток. При благоприятном исходе заболевания к концу послеоперационного периода во всех исследуемых субпопуляциях НК-клеток крови повышается доля с экспрессией CD11b-рецептора и увеличивается количество CD57⁺ НК-клеток относительно дооперационного уровня. У больных с неблагоприятным исходом РГП в дооперационном и в течение всего послеоперационного периода выявляется снижение содержания зрелых НК-клеток, как относительно показателей здоровых людей, так и пациентов с благоприятным исходом заболевания. При неблагоприятном исходе РГП к концу наблюдаемого периода повышается уровень цитотоксических НК-клеток в крови. У данной категории больных в дооперационном периоде и после операции доля зрелых НК-клеток с экспрессией CD11b снижается. В течение всего послеоперационного периода при неблагоприятном исходе заболевания понижено содержание CD57⁺ НК-клеток, как относительно контрольного диапазона, так и количества в крови у больных с благоприятным исходом РГП. В то же время у больных с неблагоприятным исходом заболевания на НК-клетках повышается уровень экспрессии CD28 и CD57. Выявленные особенности фенотипа НК-клеток крови при неблагоприятном исходе заболевания отражают нарушения в механизмах созревания и миграции НК-клеток, что, в свою очередь, определяет расстройство процессов регулирования острой воспалительной реакции при РГП.

Список литературы/References

1. Гасанов М.Дж. Формирование алгоритмов для определения степени тяжести эндотоксикоза при перитонитах // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2015. № 1. С. 54–57. [Gasanov M.Dzh. Formation of algorithms to determine the severity of endotoxemia in peritonitis. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova = Pirogov Russian Journal of Surgery*, 2015, no. 1, pp. 54–57. doi: 10.17116/hirurgia2015154-57 (In Russ.)]
2. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: Уральское отделение РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshnev V.A. Flow cytometry in biomedical research. *Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2018. 720 p. (In Russ.)]
3. Косинец В.А. Иммунорегулирующие свойства реамберина в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2013. № 7. С. 29–32. [Kosinets V.A. The immunoregulating action of reamberine and its use in the treatment of diffuse peritonitis. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova = Pirogov Russian Journal of Surgery*, 2013, no. 7, pp. 29–32. (In Russ.)]
4. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестицветного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 1. С. 19–26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 1, pp. 19–26. doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26 (In Russ.)]

5. Савченко А.А., Гвоздев И.И., Борисов А.Г., Черданцев Д.В., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Особенности фагоцитарной активности и состояния респираторного взрыва нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 51–60. [Savchenko A.A., Gvozdev I.I., Borisov A.G., Cherdancev D.V., Pervova O.V., Kudryavcev I.V., Moshev A.V. Phagocytic activity and blood neutrophils respiratory burst state features amongst widespread purulent peritonitis patients in the postoperative period dynamics. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 51–60. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-51-60 (In Russ.)]
6. Савченко А.А., Модестов А.А., Мошев А.В., Тоначева О.Г., Борисов А.Г. Цитометрический анализ NK- и NKT-клеток у больных почечноклеточным раком // Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 1012–1018. [Savchenko A.A., Modestov A.A., Moshev A.V., Tonacheva O.G., Borisov A.G. Cytometric analysis of NK- and NKT-cells in patients with renal cell carcinoma. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2014, vol. 8 (17), no. 4, pp. 1012–1018. (In Russ.)]
7. Селькова М.С., Никитина О.Е., Селютин А.В., Михайлова В.А., Эсауленко Е.В. Особенности содержания NK-клеток у больных хроническим гепатитом С // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 4–5. С. 439–444. [Selkova M.S., Nikitina O.V., Mikhailova V.A., Esaulenko E.V., Seliutin A. Features of NK-cell contents in patients with chronic hepatitis C. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, vol. 14, no. 4–5, pp. 439–444. doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-439-444 (In Russ.)]
8. Adib Rad H., Basirat Z., Mostafazadeh A., Faramarzi M., Bijani A., Nouri H.R., Soleimani Amiri S. Evaluation of peripheral blood NK cell subsets and cytokines in unexplained recurrent miscarriage. *J. Chin. Med. Assoc.*, 2018, vol. 81, no. 12, pp. 1065–1070. doi: 10.1016/j.jcma.2018.05.005
9. Anuforo O.U.U., Bjarnarson S.P., Jonasdottir H.S., Giera M., Hardardottir I., Freysdottir J. Natural killer cells play an essential role in resolution of antigen-induced inflammation in mice. *Mol. Immunol.*, 2018, vol. 93, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.molimm.2017.10.019
10. Ben Mkaddem S., Aloulou M., Benhamou M., Monteiro R.C. Role of FcγRIIIA (CD16) in IVIg-mediated anti-inflammatory function. *J. Clin. Immunol.*, 2014, vol. 34, suppl. 1, S46–50. doi: 10.1007/s10875-014-0031-6
11. Björkström N.K., Riese P., Heuts F., Andersson S., Fauriat C., Ivarsson M.A., Björklund A.T., Flodström-Tullberg M., Michaëlsson J., Rottenberg M.E., Guzmán C.A., Ljunggren H.G., Malmberg K.J. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56dim NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education. *Blood*, 2010, vol. 116, no. 19, pp. 3853–3864. doi: 10.1182/blood-2010-04-281675
12. Chen C., Ai Q.D., Chu S.F., Zhang Z., Chen N.H. NK cells in cerebral ischemia. *Biomed. Pharmacother.*, 2019, vol. 109, pp. 547–554. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.103
13. Crinier A., Milpied P., Escalière B., Piperoglou C., Galluso J., Balsamo A., Spinelli L., Cervera-Marzal I., Ebbo M., Girard-Madoux M., Jaeger S., Bollon E., Hamed S., Hardwigsen J., Ugolini S., Vély F., Narni-Mancinelli E., Vivier E. High-dimensional single-cell analysis identifies organ-specific signatures and conserved NK cell subsets in humans and mice. *Immunity*, 2018, vol. 49, no. 5, pp. 971–986. doi: 10.1016/j.immuni.2018.09.009
14. Damele L., Montaldo E., Moretta L., Vitale C., Mingari M.C. Effect of tyrosin kinase inhibitors on NK cell and ILC3 development and function. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9, pp. 2433. doi: 10.3389/fimmu.2018.02433
15. Gardiner C.M. NK cell function and receptor diversity in the context of HCV infection. *Front. Microbiol.*, 2015, vol. 6, pp. 1061. doi: 10.3389/fmicb.2015.01061
16. Giancchetti E., Delfino D.V., Fierabracci A. NK cells in autoimmune diseases: Linking innate and adaptive immune responses. *Autoimmun. Rev.*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 142–154. doi: 10.1016/j.autrev.2017.11.018
17. Jabir N.R., Firoz C.K., Ahmed F., Kamal M.A., Hindawi S., Damanhoury G.A., Almehdar H.A., Tabrez S. Reduction in CD16/CD56 and CD16/CD3/CD56 natural killer cells in coronary artery disease. *Immunol. Invest.*, 2017, vol. 46, no. 5, pp. 526–535. doi: 10.1080/08820139.2017.1306866
18. Kared H., Martelli S., Ng T.P., Pender S.L., Larbi A. CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2016, vol. 65, no. 4, pp. 441–452. doi: 10.1007/s00262-016-1803-z
19. Lin W., Man X., Li P., Song N., Yue Y., Li B., Li Y., Sun Y., Fu Q. NK cells are negatively regulated by sCD83 in experimental autoimmune uveitis. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 12895. doi: 10.1038/s41598-017-13412-1
20. Mariage M., Sabbagh C., Yzet T., Dupont H., NTouba A., Regimbeau J.M. Distinguishing fecal appendicular peritonitis from purulent appendicular peritonitis. *Am. J. Emerg. Med.*, 2018, vol. 36, no. 12, pp. 2232–2235. doi: 10.1016/j.ajem.2018.04.014
21. Melsen J.E., Lugthart G., Lankester A.C., Schilham M.W. Human circulating and tissue-resident CD56(bright) natural killer cell populations. *Front. Immunol.*, 2016, vol. 7, pp. 262. doi: 10.3389/fimmu.2016.00262
22. Müller A.A., Dolowschiak T., Sellin M.E., Felmy B., Verbree C., Gadiant S., Westermann A.J., Vogel J., LeibundGut-Landmann S., Hardt W.D. An NK cell perforin response elicited via IL-18 controls mucosal inflammation kinetics during salmonella gut infection. *PLoS Pathog.*, 2016, vol. 12, no. 6: e1005723. doi: 10.1371/journal.ppat.1005723
23. Oboshi W., Watanabe T., Matsuyama Yu., Kobara A., Yukimasa N., Ueno I., Aki K., Tada T., Hosoi E. The influence of NK cell-mediated ADCC: Structure and expression of the CD16 molecule differ among FcγRIIIa-V158F genotypes in healthy Japanese subjects. *Human Immunol.*, 2016, vol. 77, iss. 2, pp. 165–171. doi: 10.1016/j.humimm.2015.11.001
24. Parodi M., Raggi F., Cangelosi D., Manzini C., Balsamo M., Blengio F., Eva A., Varesio L., Pietra G., Moretta L., Mingari M.C., Vitale M., Bosco M.C. Hypoxia modifies the transcriptome of human NK cells, modulates their immunoregulatory profile, and influences NK cell subset migration. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9, pp. 2358. doi: 10.3389/fimmu.2018.02358
25. Peng H., Tian Z. NK cells in liver homeostasis and viral hepatitis. *Sci. China Life Sci.* 2018, vol. 61, no. 12, pp. 1477–1485. doi: 10.1007/s11427-018-9407-2
26. Rasid O., Ciulean I.S., Fitting C., Doyen N., Cavaillon J.M. Local Microenvironment controls the compartmentalization of NK cell responses during systemic inflammation in mice. *J. Immunol.*, 2016, vol. 197, no. 6, pp. 2444–2454. doi: 10.4049/jimmunol.1601040

27. Ren Y., Hua L., Meng X., Xiao Y., Hao X., Guo S., Zhao P., Wang L., Dong B., Yu Y., Wang L. Correlation of surface toll-like receptor 9 expression with IL-17 production in neutrophils during septic peritonitis in mice induced by *E. coli*. *Mediators Inflamm.*, 2016; 3296307. doi: 10.1155/2016/3296307
28. Schmid M.C., Khan S.Q., Kaneda M.M., Pathria P., Shepard R., Louis T.L., Anand S., Woo G., Leem C., Faridi M.H., Geraghty T., Rajagopalan A., Gupta S., Ahmed M., Vazquez-Padron R.I., Cheresch D.A., Gupta V., Varner J.A. Integrin CD11b activation drives anti-tumor innate immunity. *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 5379. doi: 10.1038/s41467-018-07387-4
29. Shindo Y., McDonough J.S., Chang K.C., Ramachandra M., Sasikumar P.G., Hotchkiss R.S. Anti-PD-L1 peptide improves survival in sepsis. *J. Surg. Res.*, 2017, vol. 208, pp. 33–39. doi: 10.1016/j.jss.2016.08.099
30. Solana R., Campos C., Pera A., Tarazona R. Shaping of NK cell subsets by aging. *Curr. Opin. Immunol.*, 2014, vol. 29, pp. 56–61. doi: 10.1016/j.coi.2014.04.002
31. Song P., Zhang J., Zhang Y., Shu Z., Xu P., He L., Yang C., Zhang J., Wang H., Li Y., Li Q. Hepatic recruitment of CD11b+Ly6C+ inflammatory monocytes promotes hepatic ischemia/reperfusion injury. *Int. J. Mol. Med.*, 2018, vol. 41, no. 2, pp. 935–945. doi: 10.3892/ijmm.2017.3315
32. Stojanovic A., Fiegler N., Brunner-Weinzierl M., Cerwenka A. CTLA-4 is expressed by activated mouse NK cells and inhibits NK Cell IFN- γ production in response to mature dendritic cells. *J. Immunol.*, 2014, vol. 192, no. 9, pp. 4184–4191. doi: 10.4049/jimmunol.1302091
33. Sutherland D.R., Ortiz F., Quest G., Illingworth A., Benko M., Nayyar R., Marinov I. High-sensitivity 5-, 6-, and 7-color PNH WBC assays for both Canto II and Navios platforms. *Cytometry B. Clin. Cytom.*, 2018, vol. 94, no. 1, pp. 1–15. doi: 10.1002/cyto.b.21626
34. Tahrali I., Kucuksezer U.C., Altintas A., Uygunoglu U., Akdeniz N., Aktas-Cetin E., Deniz G. Dysfunction of CD3–CD16+CD56dim and CD3–CD16–CD56bright NK cell subsets in RR-MS patients. *Clin. Immunol.*, 2018, vol. 193, pp. 88–97. doi: 10.1016/j.clim.2018.02.005
35. Tomasdottir V., Vikingsson A., Hardardottir I., Freysdottir J. Murine antigen-induced inflammation — a model for studying induction, resolution and the adaptive phase of inflammation. *J. Immunol. Methods*, 2014, vol. 415, pp. 36–45. doi: 10.1016/j.jim.2014.09.004
36. Trojan K., Zhu L., Aly M., Weimer R., Bulut N., Morath C., Opelz G., Daniel V. Association of peripheral NK cell counts with Helios(+) IFN- γ (-) T(regs) in patients with good long-term renal allograft function. *Clin. Exp. Immunol.*, 2017, vol. 188, no. 3, pp. 467–479. doi: 10.1111/cei.12945
37. Van Acker H.H., Capsomidis A., Smits E.L., Van Tendeloo V.F. CD56 in the immune system: more than a marker for cytotoxicity? *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8, pp. 892. doi: 10.3389/fimmu.2017.00892

Авторы:

Савченко А.А., д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия;

Борисов А.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия;

Кудрявцев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории общей иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Беленюк В.Д., младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия.

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Cellular-Molecular Physiology and Pathology Laboratory, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, Cellular-Molecular Physiology and Pathology Laboratory, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation;

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

Belenyuk V.D., Junior Researcher, Cellular-Molecular Physiology and Pathology Laboratory, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation.