

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОГРАММЫ ИММУНОТЕРАПИИ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ОСТРЫХ ПЕРИТОНИТОВ

**Нестерова И.В.^{1,2}, Чудилова Г.А.¹, Чапурина В.Н.¹, Ковалева С.В.¹,
Тетерин Ю.В.¹, Барова Н.К.^{1,3}, Лягуша Д.Э.³, Тараканов В.А.¹**

¹ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Краснодар, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

³ ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края,
г. Краснодар, Россия

Резюме. Одно из самых частых и тяжелых заболеваний в детской абдоминальной хирургии – острый перитонит (ОП). На фоне развития антибиотикоустойчивости и роста числа нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний (ИВЗ) все больше специалистов полагают, что лечение пациентов с данной патологией должно сочетать в себе не только хирургические и этиотропные методы, но и терапию, направленную на коррекцию дефектов функционирования иммунной системы. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) – уникальная популяция клеток первой линии противоинфекционной иммунной защиты. Дефекты функционирования НГ при ОП у детей являются определяющими факторами развития, распространенности, тяжести воспалительного процесса в брюшине и чувствительности к проводимой терапии. Особую роль играют функционально значимые субпопуляции НГ, отвечающие за запуск и реализацию фагоцитоза и микробицидных свойств НГ при гнойно-воспалительных процессах у детей. Прослеживается насущная необходимость в разработке новых программ таргетной иммуномодулирующей терапии, направленной на коррекцию дисфункций НГ. Цель исследования – разработать программы иммуномодулирующей терапии в послеоперационном лечении иммунокомпрометированных детей с различными формами острых перитонитов с последующей оценкой их клинико-иммунологической эффективности. В исследование вошло 12 иммунокомпрометированных детей 5-12 лет с ОП различного течения. 1-я группа исследования – пациенты с местным неотграниченным ОП, 2-я группа исследования – дети с разлитым ОП. Группы сравнения составили 6 детей, получавших стандартную терапию (клиническая группа сравнения 1, клиническая группа сравнения 2), сопоставимых по полу, возрасту и диагнозам. В контрольную группу сравнения вошли 18 условно здоровых детей того же возраста. Клиническое обследование включало в себя сбор анамнеза, жалоб, объективный осмотр и оценку клинического течения основного заболевания. Иммунологическое исследование включало: определение рецепторной, фагоцитарной и микробицид-

Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Владимовна
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»
117513, Россия, Москва, Ленинский пр., 123-1.
Тел.: 8 (916) 187-73-41.
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Address for correspondence:

Nesterova Irina Vadimovna
Peoples' Friendship University of Russia
117513, Russian Federation, Moscow, Leninsky ave., 123-1.
Phone: 7 (916) 187-73-41.
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Образец цитирования:

И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, В.Н. Чапурина, С.В. Ковалева, Ю.В. Тетерин, Н.К. Барова, Д.Э. Лягуша, В.А. Тараканов «Клинико-иммунологическая эффективность программы иммунотерапии в послеоперационном лечении детей с различными формами острых перитонитов» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 3. С. 553-572.
doi: 10.15789/1563-0625-CAI-2470
© Нестерова И.В. и соавт., 2022

For citation:

I.V. Nesterova, G.A. Chudilova, V.N. Chapurina, S.V. Kovaleva, Yu.V. Teterin, N.K. Barova, D.E. Lyagusha, V.A. Tarakanov "Clinical and immunological efficacy of immunotherapeutic program after surgical treatment of children with various forms of acute peritonitis", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 3, pp. 553-572.
doi: 10.15789/1563-0625-CAI-2470
DOI: 10.15789/1563-0625-CAI-2470

ной активности НГ, оценку методом проточной цитометрии количества и фенотипа субпопуляций НГ, одномоментно экспрессирующих CD64, CD16, CD32, CD11b с тестированием плотности данных мембранных рецепторов по MFI. Принимая во внимание выявленные в ходе исследования клинические особенности ОП, трансформацию количества и фенотипа субпопуляций НГ, нарушения их эффекторной функции, были разработаны программы таргетной иммуномодулирующей терапии для лечения детей с неотграниченными местными и разлитыми ОП. В стандарты послеоперационного лечения детей с различными формами ОП были включены разные по схеме и длительности курсы лечения препаратом Имунофан (Гексапептид – аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин; ГП). Показана высокая клинико-иммунологическая эффективность разработанных программ. Так, было получено восстановление адекватного функционирования НГ, в том числе показана позитивная реорганизация негативно трансформированных функционально значимых субпопуляций НГ. На этом фоне у детей с нетипично протекающими ОП различного течения отмечен позитивный клинический эффект: отсутствие послеоперационных осложнений, быстрая регрессия симптомов интоксикации и нормализация температуры, сокращение объема антибиотикотерапии и количества койко-дней пребывания в стационаре.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, дисфункции, острый перитонит, гексапептид, иммуномодулирующая терапия, дети

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL EFFICACY OF IMMUNOTHERAPEUTIC PROGRAM AFTER SURGICAL TREATMENT OF CHILDREN WITH VARIOUS FORMS OF ACUTE PERITONITIS

Nesterova I.V.^{a,b}, Chudilova G.A.^a, Chapurina V.N.^a, Kovaleva S.V.^a, Teterin Yu.V.^a, Barova N.K.^{a,c}, Lyagusha D.E.^c, Tarakanov V.A.^a

^a Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

^b Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^c Pediatric Regional Clinical Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. Acute peritonitis (AP) is among the most frequent and severe conditions in pediatric abdominal surgery. Due to development of antibiotic resistance and increasing number of atypical infectious and inflammatory diseases (IIDs), a lot of specialists suggest combined treatments for these patients which should include not only surgical and etiotropic approaches, as well as therapy aimed at correction of functional defects of immunity. Neutrophilic granulocytes (NGs) reepresent a unique population of cells of primary anti-infectious immune response. Functional NG defects in pediatric AP play a leading role in development, prevalence, severity of peritoneal inflammation, and response to the therapy. Special role is given to functionally significant NG subsets responsible for triggering and implementation of phagocytosis and microbicidal properties of NG in purulent lesions and inflammatory process in children. There is an urgent need for development of new approaches to targeted immunomodulatory therapy in order to correct the NG dysfunction. The aim of the present study was to arrange the programs of immunomodulatory therapy after surgical treatment of immunocompromised children with various forms of acute peritonitis followed by subsequent evaluation of its clinical and immunological efficacy. The study included 12 immunocompromised children aged 5-12 years with different clinical course of acute peritonitis. The study group 1 included patients with local non-restricted AP; study group 2 involved children with diffuse AP. The comparison groups consisted of 6 children who received standard therapy, i.e., clinical comparison groups 1 and 2, matched for sex, age and diagnosis. A control group consisted of 18 conditionally healthy children at similar age. Clinical examination included collection of the patient's history, complaints, objective examination and clinical course assessment of the underlying disease. Immunological study included determination of receptor, phagocytic and microbicidal activity of NCs; assessment of NC subpopulations by their numbers and phenotype using flow cytometry, i.e., the cells co-expressing CD64, CD16, CD32, CD11b, with testing density of these membrane receptors by the

MFI approach. Targeted immunomodulatory therapy programs were applied for treatment of children with unrestricted local and diffuse AP, taking into account clinical features of AP, as well as changes in number and phenotype of NC subpopulations, and impairment of their effector function. The standards of postsurgical treatment in the children with various forms of AP included different courses of treatment with Imunofan (Hexapeptide – arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine; HP) using different schedules and duration. We have shown high clinical and immunological efficiency of these therapeutic programs. Thus, reversal of adequate NG functioning was observed, including positive rearrangements of negatively transformed functional NG subpopulations. In this respect, a positive clinical effect was noted in children with atypical AP with various clinical courses, i.e., absence of postsurgical complications, rapid regression of intoxication signs, normalization of body temperature, reduced volume of antibiotic therapy and shorter hospitalization terms.

Keywords: neutrophilic granulocytes, dysfunction, acute peritonitis, hexapeptide, immunomodulatory therapy, children

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 121031000071-4.

Введение

В настоящее время проблема лечения иммунокомпрометированных детей с нетипично протекающими гнойно-воспалительными заболеваниями (ГВЗ), которые характеризуются тяжестью проявлений и неадекватным ответом на антибактериальную терапию, является актуальной и требует своего решения. Несмотря на определенные успехи в лечении острых перитонитов (ОП), как у взрослых, так и у детей, ОП остаются одними из самых сложных ГВЗ. По данным научной литературы смертность при разлитых перитонитах составляет от 30 до 50%, а при развитии полиорганной недостаточности и сепсиса – до 96-100% [3, 6, 14]. Согласно данным мировой статистики, у детей от 6,2 до 25,5% случаев разлитых перитонитов развиваются на фоне острого аппендицита, что связано как со сложностью диагностики нетипичных форм течения заболевания, так и с особенностями детского возраста [4, 16].

Тяжесть и характер течения ОП находятся в прямой зависимости от способности иммунной системы (ИС) реагировать развитием иммунного ответа на внедрение патогена и участвовать в формировании воспалительного процесса той или иной интенсивности. Доказано, что в патогенезе тяжелых ОП большую роль играют имеющиеся у детей нарушения противоинфекционной иммунной защиты, которые усугубляются на фоне нарастающих признаков системного воспаления и интоксикации под действием бактериальных эндотоксинов, нейромедиаторов и тканевых протеаз, а также гиповолемии и изменений активности различных окислительно-восстановительных ферментов [6, 11, 15]. Установлено, что в анамнезе иммунокомпрометированных детей отмечаются повторные ОРВИ с частотой 10-15 и более раз в год, нередко осложняющиеся вторичной бактериальной инфекцией, латентные и рецидивиру-

ющие моно- или микст-герпес-вирусные инфекции, частые обострения хронической патологии ЛОР-органов, тяжелые острые и рецидивирующие хронические бактериальные инфекции различных органов и систем, в том числе упорно рецидивирующие пиодермия и/или фурункулез, часто абсцедирующего характера. Кроме того, показано, что эти дети получают до 6-8 курсов антибактериальной терапии в год, в том числе и парентерально. Все вышеперечисленные особенности являются критериальными клиническими признаками иммунодефицита [8].

Ранее в проведенных нами исследованиях было показано, что в развитии нетипично протекающих ГВЗ решающую роль играют дефекты функционирования клеток первой линии антибактериальной защиты – нейтрофильных гранулоцитов (НГ). НГ осуществляют свои эффекторные функции путем фагоцитоза, дегрануляции, продукции активных форм кислорода (АФК), образования внеклеточных нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей (NET). В то же время секрета НГ эктосом, а также множества различных про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов и других медиаторов инициирует регуляцию клеток врожденного и адаптивного иммунитета. При этом НГ в зависимости от микроокружения проявляют свои как активирующие, так и супрессирующие свойства. НГ – популяция самых пластичных клеток ИС, на поверхностной мембране которых насчитывается более 100 видов рецепторов, что позволяет НГ быстро отвечать изменениями их экспрессии на малейшие изменения в их микроокружении. В зависимости от количества и фенотипических возможностей разные субпопуляции НГ могут проявлять различную эффекторную активность. Пластичность НГ позволяет разным субпопуляциям этих клеток под влиянием различных факторов микроокружения легко трансформировать свой фенотип из позитивного в негативный и наоборот. Парадоксально, но такая лабильность НГ может приводить к дефектному неполноценному эффекторному ответу или формированию «состо-

яния неотвечаемости» – блокаде эффекторного ответа, что ассоциировано с неспособностью полноценно осуществлять антибактериальную защиту вследствие несостоятельности фагоцитарной и микробицидной активности, способности формировать NET или запуском ускоренного апоптоза. С другой стороны, гиперактивация НГ может приводить к повреждению различных клеток, тканей и органов, развитию иммунотромбозов, системного васкулита и мультисистемного воспаления [9, 23, 24, 30]. Неадекватное включение НГ в иммунный ответ приводит к развитию нетипично протекающих инфекционно-воспалительных заболеваний, не отвечающих на стандартную терапию [13, 14, 23].

Нами были получены данные, демонстрирующие неадекватное функционирование субпопуляций НГ CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ и CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, сопряженное с нарушением их эффекторных функций, у детей с нетипично протекающими неотграниченными местными и разлитыми ОП [15].

Немногочисленные литературные данные подтверждают, что применение иммуностропных препаратов, модулирующих активность дефектного противобактериального иммунитета, при ГВЗ оказывает позитивный клинический эффект и улучшает исход заболеваний [2, 5, 12]. Описано позитивное влияние Имунофана на систему фагоцитов при экссудативном среднем отите у детей [7]. Действующей иммуностропной субстанцией препарата Имунофан является гексапептидом (ГП): аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин. ГП – синтетический аналог активного центра гормона тимуса – тимопозитина, который обладает всеми биологическими функциями нативного гормона тимуса. Кроме влияния ГП на индукцию ранней дифференцировки Т-клеток, описаны его дезинтоксикационные, гепатопротекторные, антиоксидантные и иммунорегуляторные свойства, а также способность усиливать эффективность антибактериальной терапии [1, 17]. Также нами было проведено экспериментальное исследование в системе *in vitro*, в котором показаны возможности перепрограммирования под влиянием субстанции ГП трансформированного при бактериальных процессах фенотипа функционально значимых субпопуляций НГ [26]. Это исследование позволило выявить новые иммуномодулирующие эффекты ГП. Полученные данные являются основанием для создания программ иммуномодулирующей терапии с применением ГП для пациентов с различными ГВЗ.

Принимая во внимание изложенное, прослеживается насущная необходимость в разработке новых программ таргетной иммуномодули-

рующей терапии, направленной на коррекцию дисфункций НГ, что должно позволить оптимизировать послеоперационное лечение иммунокомпрометированных детей с различными формами ОП и профилактировать возникновение осложнений.

Цель исследования – разработать программы иммуномодулирующей терапии в послеоперационном лечении иммунокомпрометированных детей с различными формами острых перитонитов с последующей оценкой их клинико-иммунологической эффективности.

Материалы и методы

Проведено проспективное нерандомизированное контролируемое сравнительное исследование. Под нашим наблюдением на базе хирургического отделения № 1 ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» МЗ Краснодарского края находилось 12 детей 5-12 лет (8 мальчиков, 4 девочки) с нетипично протекающими неотграниченными местными ОП (n = 7, группа исследования 1) и нетипично протекающими разлитыми ОП (n = 5, группа исследования 2). В лечении детей, вошедших в группы исследования 1 и 2, использовались стандартные терапевтические подходы к проведению послеоперационной терапии (антибактериальная, инфузионная и дезинтоксикационная терапия, обезболивание и стимуляция кишечника по показаниям), а также дополнительно применялись различные программы иммуномодулирующей терапии, включающие ГП. При разработке программ иммуномодулирующей терапии ГП учитывались возраст пациентов, форма и тяжесть ОП. В клиническую группу сравнения вошли 6 детей того же возраста (3 мальчика и 3 девочки) с ОП, получавшие только традиционную терапию: с диагнозом неотграниченный местный ОП – клиническая группа сравнения 1 (n = 3), с диагнозом разлитой ОП – клиническая группа сравнения 2 (n = 3). Контрольную группу сравнения составили 18 условно здоровых детей (9 мальчиков, 9 девочек) сопоставимых по полу и возрасту. У всех детей, находившихся под нашим наблюдением, был собран анамнез для выявления признаков иммунокомпрометированности по Программе «Иммунологический анамнез», разработанной Нестеровой И.В. (1992).

Иммунологическое исследование периферической крови (ПК) пациентов осуществляли дважды, до и после проводимых курсов комбинированной послеоперационной терапии, оно включало в себя: 1) определение методом проточной цитометрии (FC 500 Beckman Coulter, США) фенотипического профиля функционально значимых субпопуляций НГ с фиксацией количества и плотности экспрессии (MFI) CD64, CD32,

CD16, CD11b рецепторов, с применением конъюгатов соответствующих моноклональных антител (Beckman Coulter International S.A., Франция); 2) оценку поглотительной, киллинговой и переваривающей активности НГ: содержание активно фагоцитирующих клеток (%ФАН); фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный индекс (ФИ), процент переваривания (%П), индекс переваривания (ИП); 3) анализ кислородзависимой микробицидной активности (NADPH-оксидаза) НГ в спонтанном и стимулированном в системе *in vitro* NBT-тесте (индукция *S.aureus*, штамм 209) с расчетом % формазан-позитивных клеток (%ФПК), среднего цитохимического индекса – СЦИ, коэффициента мобилизации – КМ: %ФПКст./%ФПКсп.» [10].

Для определения субпопуляций НГ, одновременно экспрессирующих CD16, CD64, CD32 и CD11b рецепторы, использован метод последовательного гейтирования. Для этого на гистограмме FSC-A (прямое светорассеяние) против SSC-A (боковое светорассеяние) выделяют гейт, в котором расположены гранулоциты (первый гейт). Из этого гейта на гистограмме определяют %НГ, несущих CD16⁺CD64⁻ – рецепторы (второй гейт) и CD16⁺CD64⁺ (третий гейт), и регистрируют MFI исследуемых рецепторов. По второму и третьему гейтам гейтируются гистограммы, отражающие содержание НГ, оснащенные CD32 и CD11b ре-

цепторами и их MFI. Шкалы выставлены по изотипическим контролям (рис. 1).

Исследования одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ России, в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации с правками от 2013 года и со статьями 20, 22, 23 ФЗ № 323 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 г. (ред. от 22.12.2020).

Добровольное информированное согласие на сбор анамнеза, обработку данных истории болезни, забор ПК пациентов, проведение лабораторных исследований и использование иммунотропных препаратов было получено в письменном виде у родителей всех детей, участвовавших в исследовании.

Обработка статистических данных проводилась с помощью компьютерных программ Microsoft Exel 2016 и StatPlus 2017. Проверка на нормальность распределения осуществлялась по количественным показателям с использованием критерия Шапиро–Уилка. Результаты оценивали методами непараметрической статистики, представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q_{0,25}–Q_{0,75}). Значимость различий между количественными показателями независимых групп определяли по непараметрическим U-критерия Манна–Уитни. Достоверность раз-

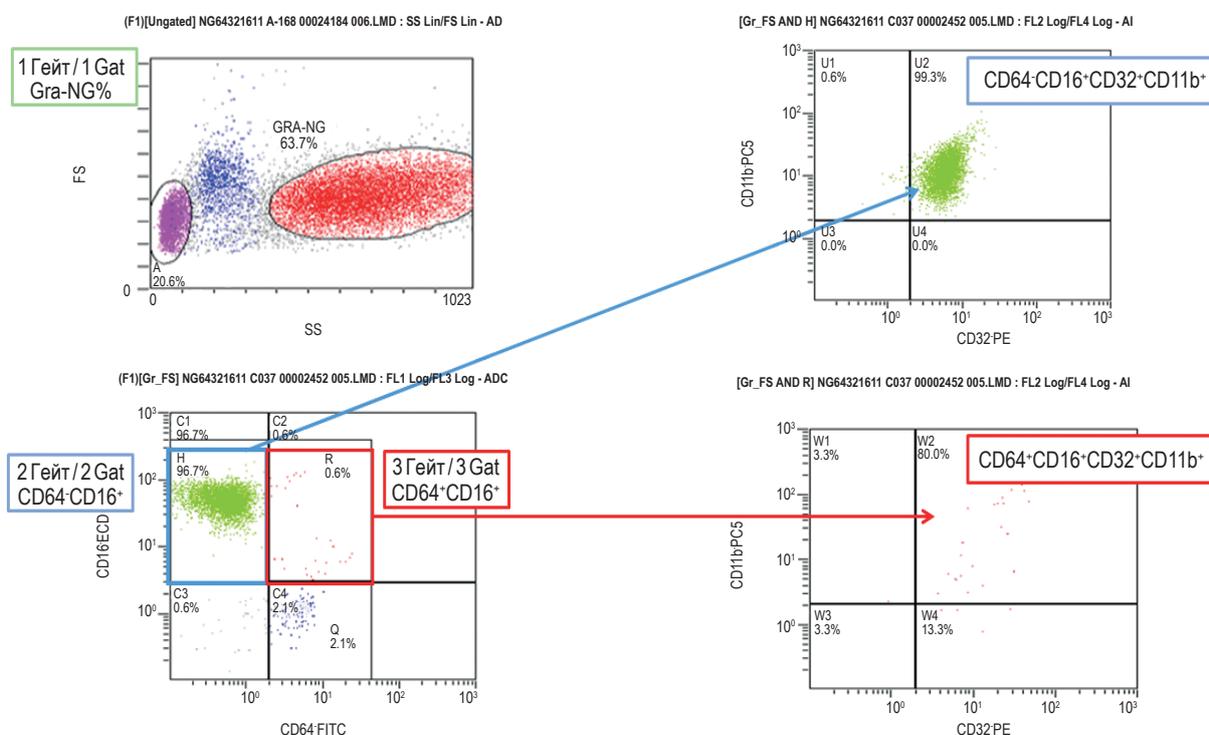


Рисунок 1. Метод последовательного гейтирования определения субпопуляций CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ и CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ

Figure 1. Sequential gating method for determining subsets CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG and CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG

личии считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При анализе анамнестических и клинических данных у детей выявлены признаки иммунокомпрометированности, отражающие несостоятельность работы ИС. Дети группы исследования 1 и клинической группы сравнения 1 переносили более 10 эпизодов ОРВИ в год, длительностью 10 и более дней, осложняющиеся присоединением бактериальных инфекций ЛОР-органов и респираторного тракта до 6 и более раз в год, и нуждались в проведении антибактериальной терапии до 6 и более раз в год. При развитии ОП отмечалась также «плохая отвечаемость» на проводимое хирургическое пособие и стандартную терапию в послеоперационном периоде.

В группе исследования 2 и в клинической группе сравнения 2 у детей с разлитым ОП вирусные инфекции отличались более продолжительным течением острого периода – 14 и более дней, с частотой более 12 эпизодов в год, с присоединением вторичной бактериальной инфекции носоглоточной области с последующим развитием инфекций нижних дыхательных путей более 8 раз в год, с частыми обострениями хронических заболеваний ЛОР-органов, что сопровождалось использованием более 8 раз в год препаратов антибактериальной направленности, в том числе и парентерально. При этом выявлена резистентность на стандартную терапию ОП, проводимую в стационаре.

Иммунологическое исследование ПК детей с разными формами ОП позволило выявить различные дефекты функционирования НГ.

При оценке исследуемых субпопуляций $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+НГ$ и $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+НГ$ выявлено изменение их содержания в ПК и различные варианты трансформации фенотипа у детей с ОП различного течения, ассоциированные с негативными изменениями функциональной активности НГ различной степени выраженности.

Так, установлено, что в группе детей с неотграниченным ОП имелось снижение в 1,3 раза количества субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+НГ$ ($p < 0,05$), увеличение в 42 раза субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+НГ$ ($p < 0,05$) с измененным фенотипом, характеризующимся высоким MFI по CD16 и CD11b ($p_1 > 0,05$, $p_2 < 0,05$), на фоне нейтрофилии и незначительного лейкоцитоза ($p_{1,2} < 0,05$) (табл. 1). При этом имели место дефекты фагоцитарной и микробицидной NADPH-оксидазной активности. Также выявлено повышение %ФАН ($p < 0,05$), без изменений в процессах захвата бактерий (ФЧ, ФИ, $p_{1,2} > 0,05$),

но с угнетением переваривающей активности НГ (%П, ИП, $p_{1,2} < 0,05$) за счет снижения активации кислородзависимых механизмов (%ФПКсп., СЦИсп., $p_{1,2} > 0,05$), но в то же время с сохранением ответа NADPH-оксидазной активности НГ в нагрузочном NBT-тесте *in vitro* (%ФПКст., СЦИст., $p_{1,2} > 0,05$) в сравнении с соответствующими показателями контрольной группы сравнения (табл. 1).

В группе детей с разлитым ОП зафиксировано незначительное повышение уровня лейкоцитов ($p > 0,05$) и абсолютного количества НГ ($p < 0,05$), неадекватное для тяжелого гнойно-воспалительного процесса. Субпопуляции НГ ПК детей с разлитым ОП отличались более масштабными трансформациями, что выразилось в снижении содержания субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+НГ$ в 3 раза по сравнению с показателями условно здоровых детей ($p < 0,05$) и в 2,5 раза по отношению к показателям детей группы с неотграниченным ОП ($p < 0,05$). Фенотип данной субпопуляции переопределял ее низкую активность и дискордантность функций, связанные со снижением MFI CD16 ($p < 0,05$), CD32 ($p < 0,05$), CD11b рецепторов ($p_1 > 0,05$). Субпопуляция $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+НГ$ детей с разлитым ОП возрастала в 100 раз по сравнению с группой условно здоровых детей ($p < 0,05$) и в 2,4 раза относительно группы детей с неотграниченным ОП ($p < 0,05$), также характеризовалась низкой плотностью экспрессии молекул CD16 и CD11b ($p_1 < 0,05$, $p_2 > 0,05$) (табл. 1).

Фагоцитарная активность НГ в этой группе проявлялась отсутствием адекватного увеличения количества активно фагоцитирующих НГ (%ФАН, $p > 0,05$), усилением процессов поглощения (ФЧ, $p > 0,05$), но депрессией процессов переваривания (%П, $p_1 > 0,05$; ИП, $p_2 < 0,05$). При этом отмечалась повышенная микробицидная активность НГ в спонтанном NBT-тесте (%ФПКсп., СЦИсп., $p_{1,2} > 0,05$) с нарушениями активации NADPH-оксидаз в нагрузочном тесте (%ФПКст., СЦИст., $p_{1,2} > 0,05$), что демонстрировало истощение резервных возможностей клетки (табл. 1). У детей с разлитым ОП отмечалась более значимая негативная трансформация функционально значимых субпопуляций НГ и дефектность фагоцитарной и микробицидной функций НГ, что, по-видимому, обуславливало отсутствие адекватного ответа НГ на гнойную инфекцию и способствовало формированию тяжелого разлитого гнойно-воспалительного инфекционного процесса, с потерей возможностей его отграничения.

На основе анализа клинико-анамнестических данных пациентов и с учетом выявленных дефектов в системе НГ у детей с различными ва-

ТАБЛИЦА 1. ОСОБЕННОСТИ НЕГАТИВНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ФЕНОТИПА СУБПОПУЛЯЦИЙ CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ И CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ И АССОЦИИРОВАННЫЕ С НИМИ ДЕФЕКТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ОСТРЫХ ПЕРИТОНИТОВ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. FEATURES OF THE NEGATIVE TRANSFORMATION OF THE PHENOTYPE OF SUBSET CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG AND CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG AND ASSOCIATED DEFECTS IN FUNCTIONAL ACTIVITY NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN CHILDREN WITH VARIOUS FORMS OF ACUTE PERITONITIS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Группы Groups	Условно здоровые дети Healthy children	Группа детей с неограниченным местным перитонитом Group of children with unrestricted local peritonitis	Группа детей с разлитым перитонитом Group of children with diffuse peritonitis
L	6,4 (5,2-7,4)	12,5 (10,8-19,9)*	8,9 (7,1-9,5)
%НГ / %NG	57,0 (46,0-58,5)	73,0 (61,0-80,0)*	82,0 (75,5-92,3)*
НГабс. / NG abs.	3,6 (2,5-4,3)	9,2 (6,6-15,9)*	7,3 (5,4-8,8)*
CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ / CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG			
%НГ / %NG	93,3 (91,3-95,2)	74,2 (54,6-84,5)*	29,6 (18,1-45,2)*
MFI CD16	83,7 (79,0-99,3)	99,8 (85,6-105,0)	43,7 (33,5-63,9)*
MFI CD32	6,1 (5,6-9,9)	4,8 (3,8-7,0)	4,6 (4,4-5,5)*
MFI CD11b	17,5 (14,7-21,0)	22,7 (18,3-32,0)	14,5 (11,3-22,3)
CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ / CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG			
%НГ / %NG	0,6 (0,2-0,7)	25,2 (20,6-31,0)*	60,7 (39,5-81,0)*
MFI CD64	6,1 (4,3-7,0)	2,8 (2,6-3,2)*	2,9 (2,6-3,3)*
MFI CD16	83,4 (70,2-99,3)	98,2 (78,1-125,0)	41,4 (31,4-60,8)*
MFI CD32	9,54 (7,8-15,4)	5,7 (4,6-7,0)*	4,8 (4,2-5,8)*
MFI CD11b	13,3 (8,8-23,5)	29,1 (27,8-39,0)*	16,0 (12,6-24,3)
Оценка фагоцитарной и микробицидной активности НГ Evaluation of phagocytic and microbicidal activity of NG			
%ФАН / %PAN	55,0 (50,0-57,0)	60,0 (62,0-86,0)*	62,0 (51,0-9,0)
ФЧ / PN	4,1 (3,7-5,7)	4,4 (3,0-4,5)	7,5 (4,9-9,6)
ФИ / PI	2,5 (1,9-3,3)	1,8 (1,2-2,1)	2,04 (1,7-2,7)
%П / %D	62,6 (57,9-62,9)	45,3 (39,8-63,8)	44,8 (39,8-50,0)*
ИП / ID	1,6 (1,3-1,9)	0,96 (0,7-1,2)*	1,3 (0,7-1,9)
%ФПК сп / %FPCsp	2,0 (1,0-3,7)	1,4 (1,0-2,8)	12,5 (3,8-1,0)*
СЦИ сп / MCIsp	0,09 (0,06-0,11)	0,05 (0,03-0,16)	0,37 (0,12-0,62)*
%ФПК ст / %FPC st	4,3 (2,5-10,0)	7,5 (5,5-14,0)	4,0 (1,5-14,0)
СЦИ ст / MCI st	0,16 (0,08-0,29)	0,46 (0,14-0,75)	0,12 (0,06-0,40)
КМ / MR	1,9 (1,5-2,5)	2,0 (0,1-2,2)	0,1 (0,03-0,90)*

Примечание. * – различия показателей по сравнению с условно здоровыми детьми (контрольная группа сравнения), p < 0,05.

Note. *, differences in indicators compared with conditionally healthy children (control group of comparison), p < 0.05.

риантами течения ОП, разработаны 2 программы иммуномодулирующей терапии ГП, включенные в комплексное лечение в послеоперационном периоде в соответствии со стандартами (рис. 2).

При оценке эффективности включения иммуномодулирующей терапии с применением ГП в комплексное лечение детей с нетипично протека-

ющими ОП различного течения были выявлены следующие клинические эффекты. У детей группы исследования 1 на фоне стандартного курса антибактериальной терапии через 2 (1,0-2,5) дня после начала использования иммуномодулирующей терапии наблюдались нормализация температурной реакции и регрессия симптомов ин-

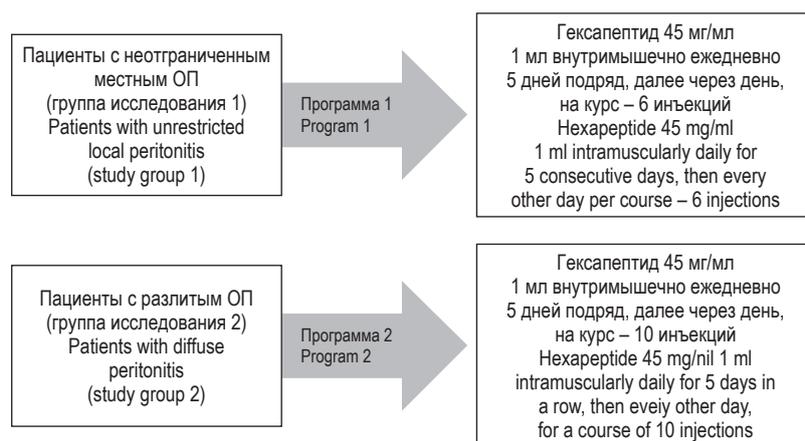


Рисунок 2. Программы иммуномодулирующей терапии с применением Гексапептида в лечении детей с нетипично протекающими острыми перитонитами

Figure 2. Programs of immunomodulatory therapy using Hexapeptide in the treatment of children with atypical acute peritonitis

токсикации в 100% случаев, также отсутствовало нагноение швов, в отличие от клинической группы сравнения 1, в которой отмечались более длительные проявления интоксикации до 5 (4,5-5,0) дней ($p < 0,05$) и выделения гнойного характера из послеоперационной раны до 4 (3,5-4,0) дней ($p < 0,05$).

В группе исследования 2 детей с разлитым ОП отмечалось восстановление температурной реакции и регрессия интоксикации к 4 (3,0-4,5) дню в 100% случаев, тогда как в клинической группе сравнения 2 только к 6 (5,5-6,5) дню пребывания в стационаре ($p < 0,05$). Кроме этого, сокращалось время пребывания детей в реанимационном отделении в 2 раза – с 4 (3,5-4,0) дней (группа сравнения 2, $p < 0,05$) до 2 (1,0-2,5) дней (группа исследования 2). Удаление дренажей было произведено на 3 (2-3) день применения иммуномодулирующей терапии у детей с разлитым ОП в группе исследования 2, что меньше в 1,6 раза сроков удаления дренажей в клинической группе сравнения 2 (5 (4,5-5,0), ($p < 0,05$)). В клинической группе сравнения 2 в 80% случаев наблюдался парез кишечника и его регрессия к 6-м суткам ($p < 0,05$), тогда как в группе исследования 2 парез кишечника не был зарегистрирован.

Позитивные клинические эффекты иммуномодулирующей терапии с включением ГП произошли на фоне позитивной динамики изменений в ИС. Так, иммуномодулирующие эффекты ГП проявились в группе исследования 1 восстановлением содержания НГ субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+$ (93,68 (92,23-94,9) % до уровня таковых у условно здоровых детей – 93,9 (91,3-95,2) %, ($p > 0,05$) против 74,2 (54,6-84,5) % до лечения ($p < 0,05$). В то время как в группе, на-

ходящейся на стандартной терапии, наблюдалась лишь тенденция к увеличению субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+$ НГ до 80,1 (51,8-82,8) % после лечения ($p > 0,05$). Фенотип данной субпопуляции после лечения ГП в группе исследования 1 характеризовался увеличением в 1,3 раза плотности экспрессии $CD16$ ($p < 0,05$), снижением MFI $CD32$ ($p < 0,05$) и MFI $CD11b$ ($p > 0,05$) относительно показателей до лечения, тогда как в клинической группе сравнения 1 не отмечалось достоверных изменений экспрессии данных рецепторов (рис. 3А).

На фоне терапии с включением ГП количество НГ субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+$ в группе исследования 1 значительно уменьшилось в 18 раз относительно показателей до лечения – с 25,2 (20,6-31,0) % до 1,4 (1,17-2,5) % ($p < 0,05$), приблизившись к показателям условно здоровых детей ($p > 0,05$). При этом отмечалось значимое повышение MFI $CD16$ ($p < 0,05$), в 1,8 раза выше показателей условно здоровых детей; увеличение MFI $CD64$ ($p < 0,05$), MFI $CD32$ ($p > 0,05$), снижение MFI $CD11b$ ($p < 0,05$) по сравнению с показателями до лечения. В то же время следует подчеркнуть, что плотность экспрессии по MFI рецепторов $CD64$, $CD16$, $CD11b$ не достигла значений контрольной группы сравнения. В группе, находящейся на стандартной терапии, содержание субпопуляции $CD64^+CD16^+CD32^+CD11b^+$ НГ снизилось лишь в 1,8 раза до 14,0 (12,9-27,9) % ($p > 0,05$), оставаясь значительно выше показателей условно здоровых детей, а фенотипический профиль данной субпопуляции не изменился относительно показателей до лечения ($p > 0,05$) (рис. 3Б).

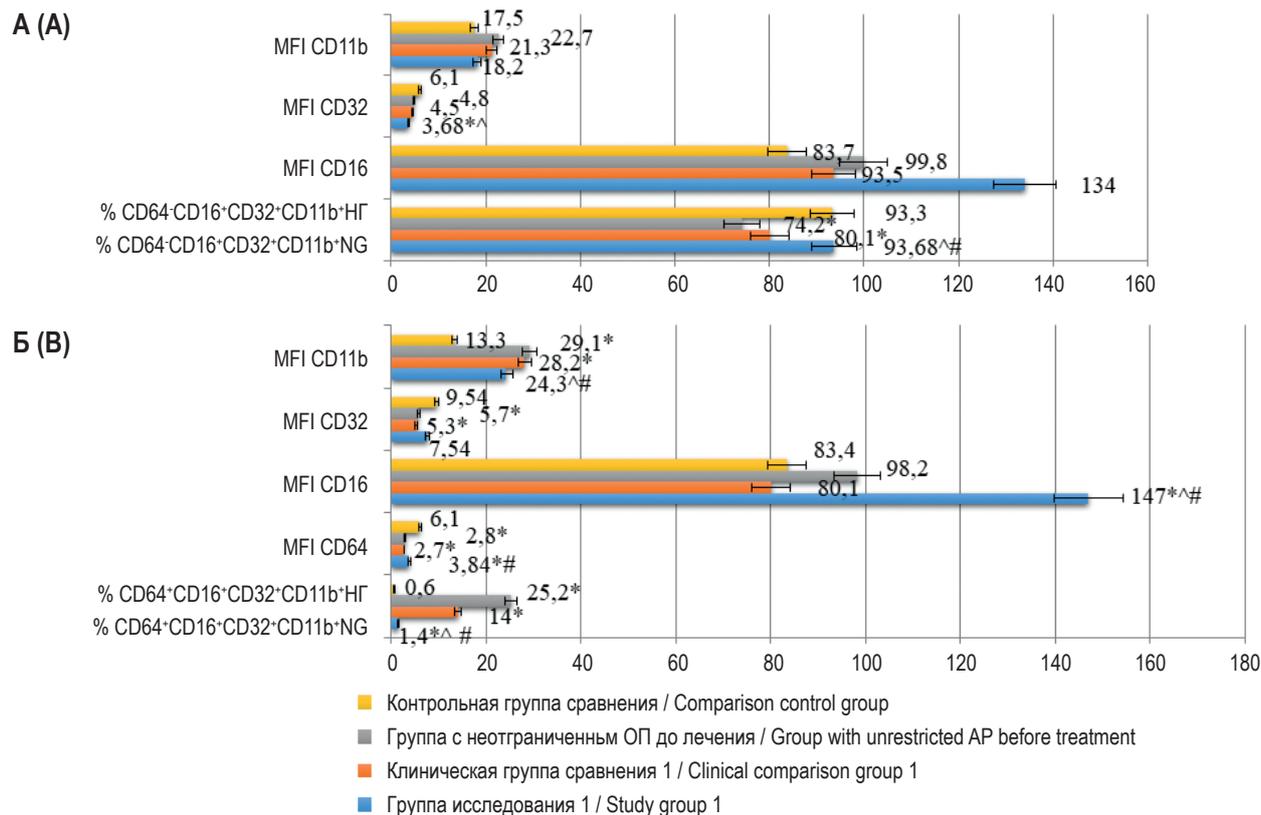


Рисунок 3. Эффекты влияния курса иммуномодулирующей терапии с применением Гексапептида на количество и фенотип субпопуляций CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG (А) и CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG (Б) детей с неограниченным местным острым перитонитом

Примечание. * – различия показателей по сравнению с условно здоровыми детьми, $p < 0,05$; ^ – различия показателей до курса иммунотерапии по сравнению с показателями после курса иммунотерапии, $p < 0,05$; # – различия показателей клинической группы сравнения по сравнению с показателями группы исследования, $p < 0,05$.

Figure 3. Effects of the influence of a course of immunomodulatory therapy using Hexapeptide on the number and phenotype of subsets CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG (A) and CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG (B) in children with unlimited local acute peritonitis
Note. *, differences in indicators compared with conditionally healthy children, $p < 0,05$; ^, differences in indicators before the course of immunotherapy compared with those after the course of immunotherapy, $p < 0,05$; #, differences in the indicators of the clinical comparison group compared with the indicators of the study group, $p < 0,05$.

В группе исследования 2 с глубокими дефектами функционирования НГ модулирующие эффекты ГП проявились более ярко. Как и в группе исследования 1, количество НГ субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ значительно возросло с 29,6 (18,1–45,2) % до лечения и составило 95,97 (91,94–96,76) % ($p < 0,05$) после лечения, восстановившись до показателей условно здоровых детей – 93,3 (91,3–95,2) %. Установлена переориентация фенотипа этой субпопуляции относительно показателей до лечения: достоверно возросла плотность экспрессии CD11b и CD16 ($p_{1,2} < 0,05$). Количество НГ субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ на фоне стандартной терапии увеличилось в 3,2 раза – до 40,1 (20,9–46,9) % ($p < 0,05$), но оставалось значительно ниже показателей условно здоровых детей ($p < 0,05$). При этом уровень экспрессии функционально значимых рецепторов существенно

не менялся по отношению к показателям до лечения (рис. 4А).

Содержание субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG в ПК детей группы исследования 2 снизилось в 80 раз с 60,7 (39,5–81,0) % до 0,74 (0,48–1,66) % ($p < 0,05$) после лечения, что достигло пределов значений, выявленных у условно здоровых детей. Одновременно на НГ данной субпопуляции увеличилась плотность экспрессии CD16 в 3 раза и CD11b в 1,8 ($p_{1,2} < 0,05$), в то время как плотность экспрессии CD32 оставалась на уровне значений до лечения. Отмечено восстановление до уровня контрольной группы сравнения только MFI CD16. В клинической группе сравнения 2 содержание субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG и ее фенотипический профиль на фоне стандартного лечения остались в пределах значений этих показателей до лечения ($p > 0,05$) (рис. 4Б).

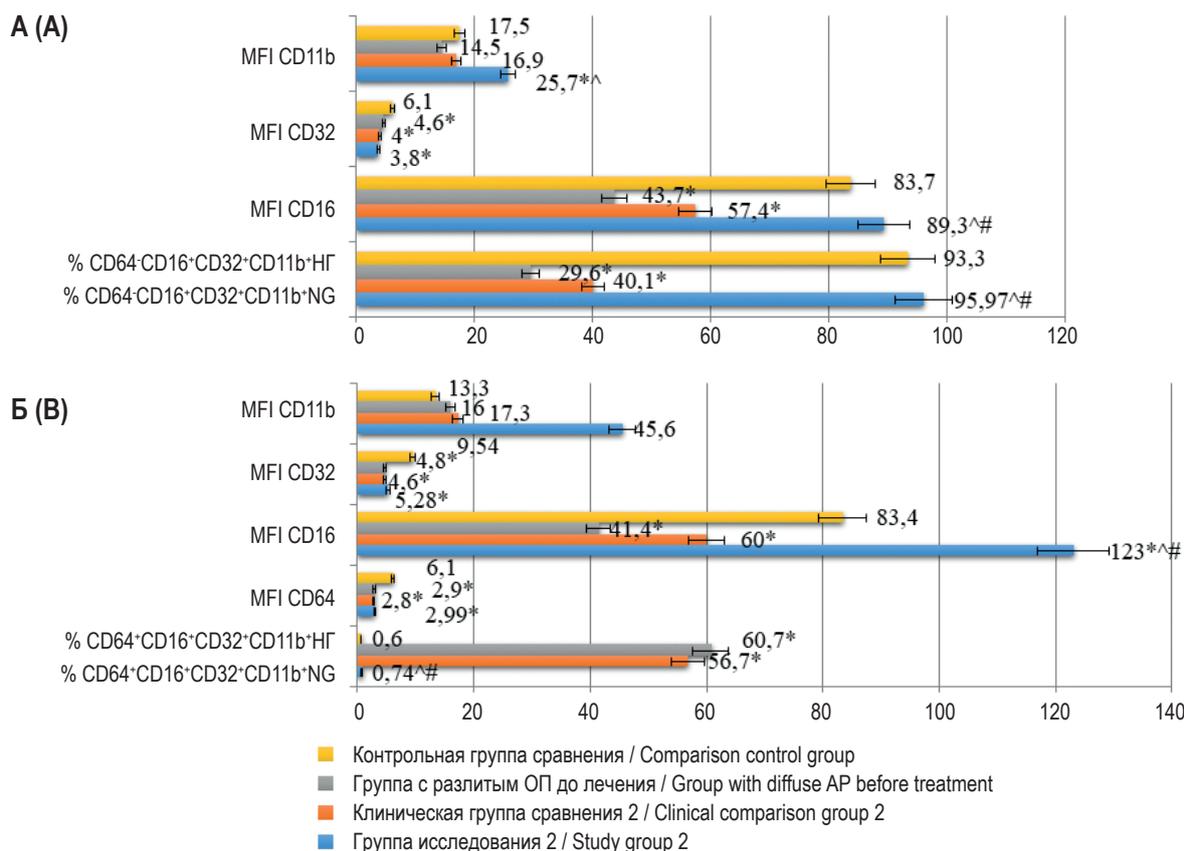


Рисунок 4. Эффекты влияния курса иммуномодулирующей терапии с применением Гексапептида на количество и фенотип субпопуляций CD64+CD16+CD32+CD11b+NG (А) и CD64+CD16+CD32+CD11b+NG (Б) детей с разлитым острым перитонитом

Примечание. * – различия показателей по сравнению с условно здоровыми детьми, $p < 0,05$; ^ – различия показателей до лечения по сравнению с показателями после лечения, $p < 0,05$; # – различия показателей клинической группы сравнения по сравнению с показателями группы исследования, $p < 0,05$.

Figure 4. Effects of the influence of a course of immunomodulatory therapy using Hexapeptide on the number and phenotype of subsets CD64+CD16+CD32+CD11b+NG (A) and CD64+CD16+CD32+CD11b+NG (B) in children with generalized acute peritonitis
Note. *, differences in indicators compared with conditionally healthy children, $p < 0.05$; ^, differences in indicators before the course of immunotherapy compared with those after the course of immunotherapy, $p < 0.05$; #, differences in the indicators of the clinical comparison group compared with the indicators of the study group, $p < 0.05$.

Оценка фагоцитарной и микробицидной NADPH-оксидазной активности НГ пациентов групп исследования после проведенного лечения ГП позволила выявить и эффекты восстановления функций НГ. В группе исследования 1 после курса иммуномодулирующей терапии отмечалось восстановление процента активно фагоцитирующих НГ, %ФАН – 56,0 (54,0–60,0) %, с 60,0 (62,0–86,0) % в группе с неотграниченным ОП до лечения ($p > 0,05$), что соответствовало показателям условно здоровых детей; усиление процессов переваривания с 45,3 (39,8–63,8) до лечения против 51,26 (49,08–61,43) (%П, $p > 0,05$) и при этом процессы захвата оставались на прежнем уровне и не отличались от значений до лечения (ФЧ, ФИ, $p_{1,2} > 0,05$). Микробицидная активность в группе исследования 1 характеризовалась значимой активацией NADPH-оксидаз как в спон-

танном (%ФПКсп. – 5 (3,75–7,5) %, %ФПКсп. до лечения – 1,4 (1,0–2,8), $p < 0,05$; СЦИсп. – 0,18 (0,12–0,25), СЦИсп. до лечения – 0,05 (0,03–0,16), $p > 0,05$), так и в стимулированном (%ФПКст. – 17,0 (15,5–18,8) %, %ФПКст. до лечения – 7,5 (5,5–14,0), $p < 0,05$; СЦИст. – 0,49 (0,46–0,53), СЦИст. до лечения – 0,46 (0,14–0,75), $p > 0,05$) НВТ-тестах с восстановлением резервных возможностей НГ – КМ 3,25 (2,58–4,375) в сравнении с показателями до лечения – КМ 2,0 (0,1–2,2) ($p < 0,05$).

На фоне традиционной терапии в клинической группе сравнения 1 отмечалось значимое снижение %ФАН до 39,5 (39,0–42,9) % после лечения против 60,0 (62,0–86,0) % до лечения с неизменяющимися показателями, характеризующими процессы поглощения (ФЧ, ФИ) как по отношению к значениям до лечения ($p_{1,2} > 0,05$),

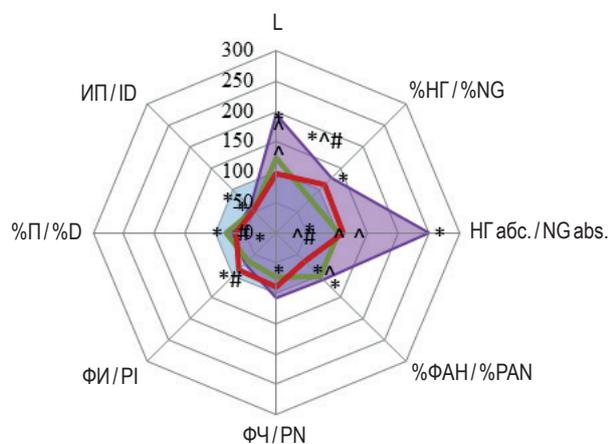
так и условно здоровых детей ($p_{1,2} > 0,05$). В то же время киллинговая активность (%П, ИП) не восстанавливалась и была в 1,5-1,9 раза, соответственно, ниже показателей контрольной группы сравнения. Кроме того, нормализации резервных возможностей НГ к мобилизации NADPH-оксидазной активности не произошло (КМ – 1,0 (0,54-1,2) против 2,0 (0,1-2,2) до лечения и 1,9 (1,5-2,5) в контрольной группе сравнения, $p_{1,2} < 0,05$) (рис. 5)

В группе исследования 2 после проведенного лечения наблюдалось увеличение активно фагоцитирующих НГ (%ФАН – 71,0 (70,0-72,0%) по отношению к показателям до лечения (%ФАН – 62,0 (51,0-69,0) %, $p < 0,05$) и условно здоровых детей (%ФАН – 55,0 (50,0-57,0) %, $p < 0,05$) с тенденцией улучшения процессов захвата (ФЧ, ФИ, $p_{1,2} > 0,05$). Также отмечалось увеличение переваривающей активности НГ, %П – 52,17 (48,72-52,83); ИП – 1,12 (0,76-1,42), по отношению к показателям до лечения (%П – 44,8 (39,8-50,0), $p > 0,05$; ИП – 1,3 (0,7-1,9), $p > 0,05$), не достигающее значений контрольной группы сравнения (%П – 62,6 (57,9-62,9), $p < 0,05$; ИП – 1,6 (1,3-1,9), $p > 0,05$). Нормализовалась до значений

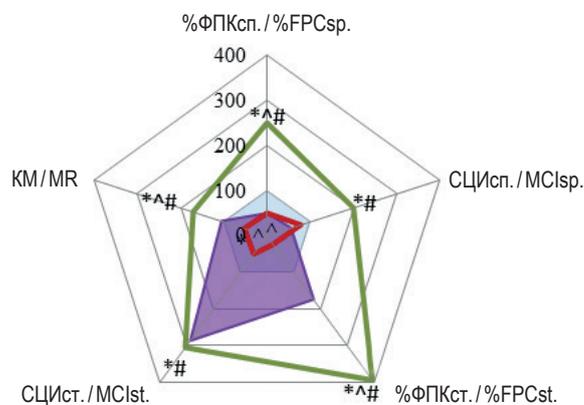
условно здоровых детей чрезмерно повышенная изначально спонтанная NADPH-оксидазная активность (%ФПКсп., СЦИсп., $p_1 < 0,05$, $p_2 > 0,05$) с восстановлением стимулированной продукции NADPH-оксидаз (%ФПКст., СЦИст., $p_{1,2} > 0,05$) и резервных возможностей клетки (КМ – 3,5 (2,00-7,00), КМ – 0,1 (0,03-0,9), $p < 0,05$ до лечения; 1,9 (1,5-2,5) в группе условно здоровых детей, $p > 0,05$).

После проведения стандартной терапии в клинической группе сравнения 2 отмечались однонаправленные изменения, выявленные при анализе показателей фагоцитарной и микробицидной активности клинической группы сравнения 1: снижение %ФАН в 1,5 раза ($p < 0,05$) и отсутствие положительной динамики по восстановлению переваривающей способности НГ в сравнении с показателями до лечения (%П, ИП, $p_{1,2} > 0,05$). Активность NADPH-оксидаз в стимулированном NBT-тесте демонстрировала истощение резервной микробицидной активности (КМ – 1,05 (0,84-1,3) против 0,1 (0,03-0,9) до лечения и 1,9 (1,5-2,5) в контрольной группе сравнения, $p_{1,2} < 0,05$) (рис. 6).

А (А)



Б (Б)



- Контрольная группа сравнения / Comparison control group
- Группа с неограниченным ОП до лечения / Group with unrestricted AP before treatment
- Группа исследования 1 / Study group 1
- Клиническая группа сравнения 1 / Clinical comparison group 1

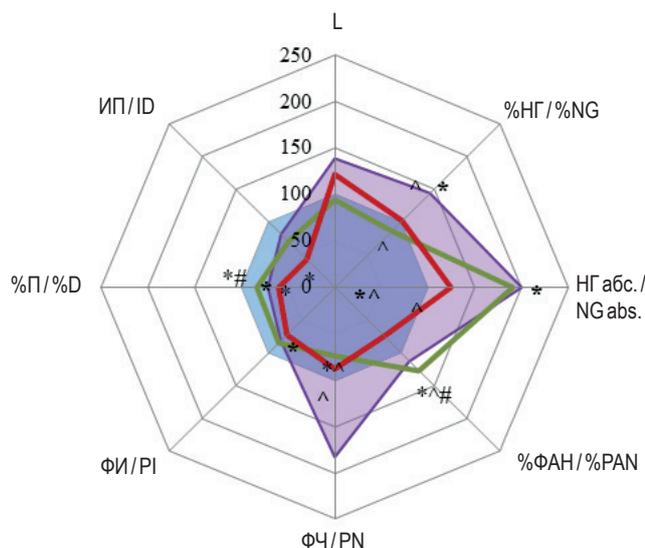
Рисунок 5. Особенности фагоцитарной (А) и микробицидной активности НГ (Б) у детей с неограниченным местным острым перитонитом на фоне комплексного лечения (процент от контрольной группы сравнения)

Примечание. См. примечание к рисунку 4.

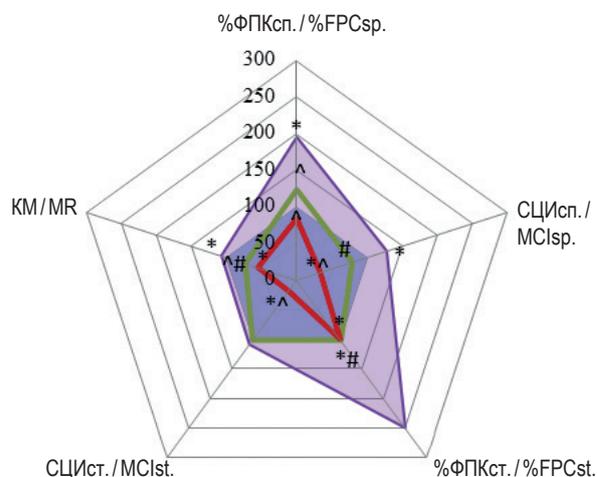
Figure 5. Features of phagocytic (A) and microbicidal activity of NG (B) in children with unrestricted local acute peritonitis against the background of complex treatment (percentage of the control comparison group)

Note. As for Figure 4.

А (А)



Б (В)



- Контрольная группа сравнения / Comparison control group
- Группа с разлитым ОП до лечения / Group with diffuse AP before treatment
- Группа исследования 2 / Study group 2
- Клиническая группа сравнения 2 / Clinical comparison group 2

Рисунок 6. Особенности фагоцитарной (А) и микробицидной активности НГ (Б) у детей с разлитым острым перитонитом на фоне комплексного лечения с включением иммуномодулирующей терапии (процент от контрольной группы сравнения)

Примечание. См. примечание к рисунку 4.

Figure 6. Features of phagocytic (A) and microbicidal activity of NG (B) in children with generalized acute peritonitis on the background of complex treatment with the inclusion of immunomodulatory therapy (percentage of the control comparison group)

Note. As for Figure 4.

Клинический пример: ребенок М., 8 лет, поступил в хирургическое отделение № 1 ГБУЗ ДККБ МЗ КК 28.09.20 г. с диагнозом «острый аппендицит». Перитонит? Общее состояние средней тяжести. Т – 38,2 °С. Отмечался выраженный интоксикационный синдром. По данным анамнеза имели место критериальные признаки иммунодефицита в течение последних 5 лет: частые ОРВИ до 10 раз в год продолжительностью более 14 дней, осложняющиеся присоединением бактериальной инфекции нижних дыхательных путей, обострения в 1-2 месяца ВПГ1/2 типа инфекции, лабиальной локализации. Имело место частое использование антибактериальной терапии – до 6-8 курсов в год.

Диагноз: гангренозно-перфорированный аппендицит. Разлитой фибринозно-гнойный перитонит. Проведена аппендэктомия, ревизия брюшной полости.

Послеоперационная терапия включала антибиотикотерапию энтапеном 1,0 × 1 р. в/в, ванкомицин 500 мг 3 раза в день внутривенно – 16 дней, инфузионная терапия, имунофан 45 мг/мл

1 мл в/м ежедневно 5 дней подряд, далее через день, на курс 10 инъекций.

Получена позитивная клинко-иммунологическая эффективность комплексного послеоперационного лечения: Нормализация температурной реакции и регрессия симптомов интоксикации произошла к 4-му дню. В реанимационном отделении ребенок находился 3 суток, дренажи удалены на 3-и сутки. Послеоперационных осложнений не наблюдалось.

Характеристика функционально значимых субпопуляций НГ при поступлении пациента: уровень CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ – 25,5%, MFI CD16 – 51, MFI CD32 – 5,31, MFI CD11b – 15,6. CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ – 72,1%, что в 90 раз выше показателей условно здорового ребенка, MFI CD64 – 5,76, MFI CD16 – 60,8, MFI CD32 – 4,74, MFI CD11b – 17,5 (рис. 7А, Б.)

Характеристика функционально значимых субпопуляций НГ после лечения: уровень CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ – 97,4%, восстановился до уровня условно здоровых детей, MFI CD16 – 90,6 и MFI CD11b – 25,5, увеличились относи-

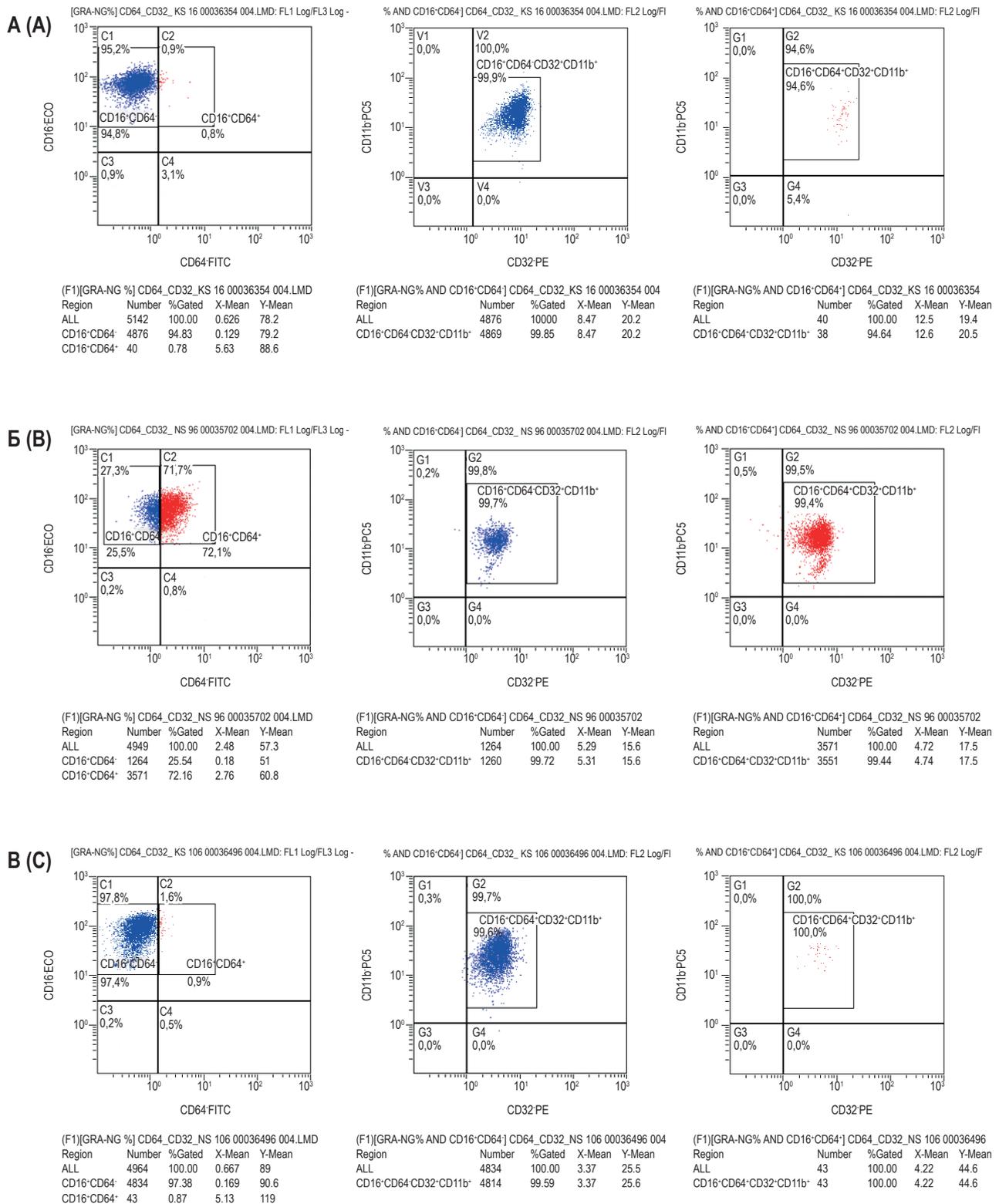


Рисунок 7. Гистограммы, выявленные особенности функционально значимых субпопуляций CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ и CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ и плотность экспрессии рецепторов (MFI) условно здорового ребенка (А), пациента М. до лечения (Б) и после курса таргетной иммуномодулирующей терапии (В)

Figure 7. Histograms, identified features of functionally significant subsets of CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ and CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺NG and receptor expression density (MFI) of a conditionally healthy child (A), patient M. before treatment (B) and after a course of targeted immunomodulatory therapy (C)

тельно показателей до лечения и условно здоровых детей, MFI CD32 – 3,4, снизился в сравнении с показателями условно здоровых детей и показателями до лечения. CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ – 0,9%, уровень НГ данной субпопуляции снизился до показателей условно здоровых детей, при этом MFI CD64 – 5,13, MFI CD16 – 119 и MFI CD11b – 44,6 увеличилась, MFI CD32 – 4,22 не менялась (рис. 7).

Таким образом, в результате исследования выявлены позитивные клинико-иммунологические эффекты разработанных программ иммуномодулирующей терапии, включенных в комплексное лечение детей с различными формами нетипично протекающих ОП. Показано, что включение различных программ ГП в комплексное послеоперационное лечение позволило восстановить адекватность работы НГ за счет позитивного ремоделирования трансформированных функционально значимых субпопуляций НГ и восстановления их функциональной активности, что привело к уменьшению длительности лихорадочного периода, проявлений интоксикации, продолжительности интенсивной терапии, способствовало предотвращению развития ранних послеоперационных осложнений – нагноения швов или сокращения длительности дренирования брюшной полости. В то же время только стандартная терапия не приводила к восстановлению нормального функционирования НГ. В соответствии с полученными данными сохранялась дефектность функционирования НГ, что в дальнейшем может приводить к существенному снижению противоинфекционной иммунной защиты, прежде всего при гнойных бактериальных инфекциях. Выявленные иммуномодулирующие эффекты ГП обуславливают целесообразность использования разработанных программ таргетной иммуномодулирующей терапии, направленной на ремодулирование негативно трансформированных функционально значимых субпопуляций НГ, восстановление их функциональной активности, а следовательно, и эффекторных функций в комплексном послеоперационном лечении различных форм ОП.

Обсуждение

Активация НГ представляет собой важный механизм, посредством которого НГ опосредуют свою противоинфекционную активность *in vivo* в отношении вторгающихся патогенов. В реализации эффекторных функций и регуляторных влияний функционально значимых субпопуляций НГ CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, большую роль играет количество экспрессируемых мембранных рецепторов FcγRs и CD11b и их кооперация.

CD64 (FcγRI) является единственным рецептором FcγR человека с высокой аффинностью к моновалентному IgG. CD64 конститутивно экспрессируется на ранних стадиях гранулоцитопоза, а на зрелых и неактивированных НГ он представлен на очень низком уровне. В то же время CD64 хранится внутри НГ и мобилизуется на поверхность при праймировании, в частности под влиянием провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, G-CSF, IFNγ. Количество НГ, экспрессирующих CD64 повышается при острых бактериальных процессах, являясь их маркером. CD64 считается цитоактивирующим рецептором, при его связывании с моновалентным IgG, опсонизирующим бактерии, индуцируются фагоцитоз, высвобождение медиаторов воспаления, активация NADPH-оксидаз и образование АФК, синтез и секреция провоспалительных цитокинов, запуск АЗКЦ НГ, а также сложного набора активирующих и ингибирующих эффектов [18, 20, 33].

CD32 (FcγRIIa) низкоаффинный рецептор для IgG на мембранной поверхности НГ в CD32 опосредует эндоцитоз, стимуляцию секреторной активности, цитотоксических механизмов и иммуномодулирующих функций НГ, в ответ на патогены или цитокины запускает активацию сборки NADPH-оксидазного комплекса [28].

CD16 (FcγRIIIb) – низкоаффинный рецептор с низким сродством к IgG, отвечающий за цитотоксическую функцию НГ. Связывание CD32 и CD16, а также соединение CD16 с IgG инициирует сигнальные каскады, которые продуцируют разнообразные ответы, включая АЗКЦ, фагоцитоз, дегрануляцию, кислородный взрыв и пролиферацию [19]. Высокая экспрессия молекул CD16, свидетельствует о повышенной функциональной активности НГ. Снижение или отсутствие CD16 на мембранной поверхности НГ может указывать на незрелость НГ и/или на «обратную дифференцировку» НГ, приводящую к возникновению бактериальной инфекции [19]. В то же время показано, что рецептор CD16 способен функционировать совместно с CD11b/CD18 рецептором и усиливать FcγRII-опосредованную интернализацию.

CD11b (Mac-1, CR3b) – α-субъединица молекулы адгезии β2-интегрина, трансмембранный гетеродимерный рецептор для CR3b компонента комплемента. CD11b способствует устойчивому прикреплению НГ к эндотелию, их трансэндотелиальной миграции в локусы воспаления. Повышение уровня экспрессии молекул CD11b НГ наблюдается при различных инфекциях и является свидетельством активации НГ [31]. CD11b – сигнальный партнер для FcγRs. Он связан с актиновым цитоскелетом НГ и сигнальными белками, способен регулировать хемотаксис, миграцию,

адгезию, фагоцитоз, респираторный взрыв и дегрануляцию НГ. Нарушение экспрессии CD11b на НГ нарушает регуляторные механизмы ИС. Блокирование CD11b приводит к дефекту активации FcγRs и нарушению фагоцитарной функции НГ [27].

Сравнительный анализ трансформации функционально значимых субпопуляций НГ при неотграниченном местном и разлитом ОП выявил существенные различия. Так, %НГ «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ у детей с неотграниченным местным ОП уменьшился в 1,28 раза (на 19,1%), а при разлитом ОП %НГ снизился более значительно – в 3,15 раза (на 63,7%) по сравнению с показателями условно здоровых детей. Показано, что при более тяжелой форме ОП % субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ уменьшился более существенно по сравнению с более легкой формой – в 2,5 раза. При этом при разлитом ОП отмечено значительное снижение плотности экспрессии активационного рецептора CD16 по сравнению с условно здоровыми детьми и с детьми с неотграниченным местным ОП, соответственно в 1,99 и в 2,37 раза и плотности экспрессии рецептора CD32, соответственно, в 1,67 и 1,99 раза. Полученные данные свидетельствуют о дефиците «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ и негативной трансформации ее фенотипа при различных формах ОП у детей, более выраженных при разлитом ОП.

При различных формах ОП у детей статистически значимо увеличивалось содержание субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, позитивной по CD64-рецептору. У условно здоровых детей он составляла лишь 0,6 (0,2-0,7) %. При неотграниченном местном ОП уровень этой субпопуляции достоверно увеличивался в 42 раза до 25,2 (20,6-31,0) %, а при разлитом ОП – в 101,2 раза до 60,7 (39,5-81,0) %. Плотность экспрессии CD64-рецептора по MFI на мембране CD64-позитивных НГ, достоверно снижена, как при местном неотграниченном ОП, так и при разлитом перитоните по сравнению с условно здоровыми детьми в 2,18 и в 2,10, соответственно. Плотность экспрессии активационного рецептора CD16 по MFI не изменялась при местном неотграниченном ОП и снижалась более чем в 2 раза – при разлитом ОП по сравнению с группой условно здоровых детей. Плотность экспрессии мембранного CD32 по MFI достоверно снижена, как при местном неотграниченном, так и при разлитом ОП, соответственно, в 1,7 и в 1,99 раза по сравнению с группой сравнения. Уровень плотности активационного рецептора CD11b значительно, в 2,19 раза, увеличился при местном неотграниченном ОП и практически не

менялся при разлитом ОП по сравнению с условно здоровыми детьми.

С нашей точки зрения, появление в ПК «незрелой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ является свидетельством присутствия большого количества еще одной дефектной негативно трансформированной субпопуляции со сниженным эффекторным потенциалом. При этом при более тяжелой форме ОП – разлитом ОП наблюдается более значительное увеличение количества «незрелой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, дефицит «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺НГ, что ассоциировано с более выраженным нарушением экспрессии активационных маркеров и значительными нарушениями фагоцитарной, киллинговой и микробицидной оксидазной функциями НГ.

Выбор ГП для проведения таргетной иммуномодулирующей терапии был связан с несколькими причинами. Во-первых, в настоящее время показано, что субстанция, входящая, как основное действующее вещество в состав Иммунофана, ГП – это синтетический аналог активного центра гормона тимуса тимопозтина. Ранее полагали, что тимопэтин способен связываться с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (NACHR) нейронального типа и оказывать физиологические эффекты влияния на клетки ИС, в первую очередь на Т-лимфоциты и клетки нейронального типа [32]. Позднее NACHR, представляющие собой пентамерные катионные каналы, были также обнаружены на трех типах лейкоцитарных гранулоцитарных клеток: НГ, базофилах и эозинофилах [25]. При воздействии на NACHR НГ мышей в условиях эксперимента показано модулирование функциональной активности НГ [29]. Второй вариант воздействия ГП на НГ – связывание с молекулами ГКГС II типа – HLA-DR. Кроме того, получены убедительные данные, свидетельствующие о прямом связывании пентапептида гормона тимуса тимопозтина – Тимопентина (TP5) – синтетического аналога активного центра тимопозтина, с молекулами ГКГС II типа – HLA-DR. Возможность такого связывания доказана в экспериментальном исследовании свойств TP5, когда было продемонстрировано прямое связывание флуоресцентно меченого TP5 с HLA-DR, а специфичность связывания подтверждена ингибированием немеченым TP5. Молекулярный анализ дополнил это открытие об изменении сайта связывания в бороздке HLA-DR с валином (Val), который играет роль якоря 1-го типа, необходимого для связывания TP5 с HLA-DR [22]. При этом следует подчеркнуть молекулярное сходство Гексапептида – Arginyl-alpha-Aspartyl-Lysyl-Valyl-Tyrosyl-Arginine и Тимопентина – Arginyl-Lysyl-

Asptyl-Valyl-Tyrosil, которые имеют в своих молекулах Valyl. Приведенные выше доказательства, свидетельствуют о существовании двух путей рецепторного связывания ГП и НГ: связывания с HLA-DR и с NACH. Во-вторых, при проведении экспериментальных исследований *in vitro* нами ранее была показана возможность перепрограммирования под влиянием субстанции ГП трансформированного при бактериальных процессах фенотипа функционально значимых субпопуляций НГ CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ [26]. Все вышеизложенное явилось основанием для создания программ иммуномодулирующей терапии с применением ГП для детей с различными формами ОП.

Применение у детей с неотграниченной местной формой ОП созданной нами программы 1 таргетной иммуномодулирующей терапии ГП продемонстрировало позитивную иммунологическую эффективность: восстановилось до уровня условно здоровых детей количество НГ «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, значительно повысилась плотность экспрессии активационного маркера CD16, достоверно превысив уровень такового не только до лечения, но и относительно контрольной группы сравнения, соответственно, 134 (96,3-145) против 99,8 (85,6-105,0) до лечения и против 83,7 (79,0-99,3) в группе условно здоровых детей, наблюдались тенденции к снижению MFI CD32 ($p > 0,05$), при этом уровень MFI CD11b не менялся.

При разлитом ОП применение программы иммунотерапии 2 с использованием ГП продемонстрировало полное достоверное восстановление количества НГ «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺, которое увеличилось в 3,24 раза и достигло уровня условно здоровых детей. При этом достоверно восстановилась до уровня контрольной группы сравнения плотность экспрессии активационного маркера CD16, уровень которого вырос в 2,04 раза, а плотность экспрессии активационного рецептора CD11b достоверно увеличилась до 25,70 (22,5-28,40) против 14,5 (11,3-22,3) до лечения и 17,5 (14,7-21,0) в контрольной группе сравнения.

Применение у детей с неотграниченной местной формой ОП созданной нами программы 1 таргетной иммуномодулирующей терапии ГП продемонстрировало позитивную иммунологическую эффективность относительно «незрелой» дефектной субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺: ее количество достоверно снизилось в 18 раз, практически достигнув уровня условно здоровых детей. Повысилась плотность экспрессии активационного маркера CD16, достоверно превысив уровень такового

не только до лечения, но и в контрольной группе сравнения, соответственно, 147 (124,5-165,5) против 99,2 (78,1-124,0) до лечения и против 83,4 (70,2-99,3) в группе условно здоровых детей. Наблюдалась тенденция к повышению плотности экспрессии CD32 ($p > 0,05$), при этом уровень MFI CD11b, практически не изменился.

При разлитом ОП применение программы иммунотерапии 2 с использованием ГП продемонстрировало достоверное уменьшение количества НГ «незрелой» дефектной субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺. Количество CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ значительно снизилось в 82,0 раза с 60,7 (39,5-81,0) % до 0,74 (0,48-1,66) % и практически достигло уровня условно здоровых детей. При этом достоверно восстановилась до уровня контрольной группы сравнения плотность экспрессии активационного маркера CD16, уровень которого вырос на фоне лечения ГП – в 2,98 раза, а MFI активационного рецептора CD11b достоверно увеличилась до 45,60 (21,9-47) против 16,0 (12,6-24,3) до лечения и 17,5 (14,7-21,0) в группе сравнения.

Полученные результаты применения 2 программ иммуномодулирующей терапии с применением разных по длительности курсов ГП при местном неотграниченном и разлитом ОП, продемонстрировали позитивную клиническую и иммунологическую эффективность, обусловленную таргетным влиянием ГП, восстановившим не только количество активной зрелой мажорной «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ и плотность экспрессии активационных маркеров CD16 и CD11b, но и способствовавшим значительному уменьшению количества незрелой дефектной субпопуляции CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ с параллельным восстановлением плотности экспрессии активационных маркеров CD16 и CD11b. Позитивное ремодулирование 2 функционально значимых субпопуляций способствовало восстановлению противомикробной защиты против грамотрицательных бактерий, о чем свидетельствует восстановление адекватности функционирования фагоцитарной и микробицидной функций.

Не вызывает сомнения, что важную роль в реализации эффекторных функций и регуляторных влияний функционально значимых субпопуляций НГ CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ играет кооперация рецепторов FcγRs и CD11b, разнонаправленное повышение, нарушение или понижение экспрессии которых может активировать или нарушать их взаимодействие и в то же время усиливать или ослаблять действие друг друга, что происходит при развитии различных форм ОП у детей. При этом количественный дефи-

цит и фенотипические нарушения «сторожевой» субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и гиперпродукция «незрелой» субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, позитивной по CD64, с дисрегуляцией экспрессии активационных маркеров CD16 и CD11b, обуславливали нарушение эффекторных функций НГ и тяжесть течения острого перитонита, более выраженные при ОП. Применение различных по длительности 2 программ иммуномодулирующей терапии с включением ГП при разных формах ОП позволило восстановить количество субпопуляций CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и их фенотип, плотность экспрессии активационных рецепторов CD16 и CD11b в обеих субпопуляциях, оптимизировать фагоцитарную и микробицидную оксидазную активность и на этом фоне улучшить клиническую эффективность проводимого в послеоперационном периоде лечения.

Заключение

Нетипично протекающие гнойно-воспалительные заболевания получают все большую распространенность среди населения, в связи с ростом дефектов функционирования ИС, самые частые из которых приходится на дисфункции НГ. Выявление вариантов трансформации фенотипов субпопуляций НГ при нетипично протекающих ГВЗ, с определением плотности экспрессии каждого рецептора, представляет новый подход к определению функциональной активности НГ, позволяющий оценить адекватность или дефектность их участия в процессе воспаления. При этом возможности переориентации трансформированных фенотипов клетки – новое

иммунотерапевтическое направление в лечении детей с нетипично протекающими ГВЗ.

Разработанные программы таргетной иммуномодулирующей терапии для лечения детей с неотграниченными местными и разлитыми ОП, не отвечающие на традиционную терапию, показали положительную клинико-иммунологическую эффективность. Включение в послеоперационное лечение детей групп исследования таргетной иммуномодулирующей терапии с применением Гексапептида привело к реорганизации негативно трансформированного рецепторного аппарата функционально значимых субпопуляций НГ и восстановлению способности НГ адекватно выполнять свои функции. Компенсация иммунологических нарушений позитивно повлияла на клинические проявления различных форм ОП: отсутствовали осложнения в послеоперационном периоде, отмечалась быстрая нормализация Т и регрессия симптомов интоксикации, уменьшился объем антибактериальной терапии, сократилось количество койко-дней, а, следовательно, и снизилась длительность пребывания детей с различными формами острых ОП в стационаре.

Мы полагаем, что для достижения более стойких позитивных клинических и иммунологических эффектов при различных формах ОП, в частности при выраженной негативной трансформации фенотипа функционально значимых субпопуляций НГ и дефектах их эффекторных функций на фоне дисбаланса функциональной фагоцитарной и микробицидной активности оправдано использование различных программ таргетной иммуномодулирующей терапии ГП, являющегося активной субстанцией препарата Имунофан.

Список литературы / References

1. Безруков С.Г., Балабанцева А.Н., Григорьева Т.С., Яковенко В.В. Клинико-термографическая оценка эффективности периоперационной терапии раневого процесса у хирургических стоматологических больных с использованием препаратов Вобензим и Имунофан // Таврический медико-биологический вестник, 2017. Т. 20, № 4. С. 10-15. [Bezrukov S.G., Balabantseva A.N., Grigoreva T.S., Iakovenko V.V. Clinical and thermographical evaluation of the efficiency of treating the wound process in surgical stomatology with use of Wobenzym and Imunofan. *Tavrisheskiy mediko-biologicheskiy vestnik = Tauride Medical and Biological Bulletin*, 2017, Vol. 20, no. 4, pp. 10-15. (In Russ.)]
2. Бурков И.В., Царегородцев А.Д., Коренькова С.И. Эффективность препарата галавит при внутримышечном введении у детей старше 6 лет с гнойными хирургическими заболеваниями // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2008. Т. 4. С. 78-83. [Burkov I.V., Tsaregorodtsev A.D., Korenkova S.I. Efficacy of intramuscular galavit in children aged above 6 years who have purulent surgical diseases. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2008, Vol. 4, pp. 78-83. (In Russ.)]
3. Власов А.П., Аль-Кубайси Ш., Власова Т.И., Лещанкина Н.Ю., Окунев Н.А., Шейранов Н.С., Полозова Э.И. Состояние системы гемостаза при остром тяжелом перитоните на фоне терапии Ремаксом // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2019. Т. 2. С. 65-71. [Vlasov A.P., Al-Kubaysi Sh., Vlasova T.I., Leshchankina N.Yu., Okunev N.A., Sheyranov N.S., Polozova E.I. The condition of the hemostatic system in acute severe peritonitis during remaxol therapy (in Russian only). *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova = Surgery. N. Pirogov Journal*. 2019, Vol. 2, pp. 65-71. (In Russ.)]

4. Гисак С.Н., Склярлова Е.А., Вечеркин В.А., Черных А.В., Малеев Ю.В., Птицын В.А., Лунев Б.В., Баранов Д.А., Шестаков А.А., Коряшкин П.В. Современные возбудители гнойного перитонита при перфорации желудка или тонкого и толстого кишечника у детей и оптимизация дифференцированного лечения больных // *Детская хирургия*, 2018. Т. 22, № 2. С. 65-72. [Gisak S.N., Sklyarova E.A., Vecherkin V.A., Chernykh A.V., Maleev Yu.V., Ptitsyn V.A., Lunev B.V., Baranov D.A., Shestakov A.A., Koryashkin P.V. Modern causative pathogens of peritonitis in cases of the perforation of the stomach, small intestine or colon in children and optimization of the differentiated treatment of patients. *Detskaya khirurgiya = Russian Journal of Pediatric Surgery*, 2018, Vol. 22, no. 2, pp. 65-72. (In Russ.)]
5. Карсонова М.И., Пинегин Б.В., Хаитов Р.М. Иммунокорректирующая терапия при хирургической инфекции // *Анналы хирургической гепатологии*, 1999. Т. 4, № 1. С. 88-96. [Karsonova M.I., Pinegin B.V., Khaitov R.M. Immunocorrecting therapy in surgical infection. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery*, 1999, Vol. 4, no. 1, pp. 88-96. (In Russ.)]
6. Киселевский М.В., Громова Е.Г., Фомин А.М. Сепсис: этиология, патогенез, экстракорпоральная детоксикация. М.: Особая книга, 2021. 176 с. [Kiselevsky M., Gromova E., Fomin A. Sepsis: etiology, pathogenesis, extracorporeal detoxification]. Moscow: Osobaya kniga, 2021. 176 p.
7. Кологривова Е.Н., Плешко Р.И., Щербик Н.В., Староха А.В., Чичинскас Э. Влияние интраназального применения Имунофана на активность фагоцитов при комплексной терапии экссудативного среднего отита у детей // *Медицинская иммунология*, 2020. Т. 22, № 4. С. 741-750. [Kologrivova E.N., Pleshko R.I., Scherbik N.V., Starokha A.V., Chichinskask E. Effects of intranasal Immunofan administration upon phagocytic activity in treatment of exudative otitis media in children. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 2, no. 4, pp. 741-750. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-EOI-1720.
8. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Малиновская В.В. Интерфероно- и иммунотерапия в реабилитации иммунокомпрометированных детей с возвратными респираторными инфекциями. В кн.: *Иммунотерапия в практике ЛОР-врача и терапевта*. А.С. Симбирцев, Г.В. Лавренова, ред. СПб.: Диалог, 2018. С. 167-189. [Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Chudilova G., Malinovskaya V.V. Interferon and immunotherapy in the rehabilitation of immunocompromised children with recurrent respiratory infections. In: *Immunotherapy in the practice of an ENT doctor and therapist*. Edit. A.S. Simbirtsev, G.V. Lavrenova]. St. Petersburg: Dialog, 2018, pp. 167-189.
9. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 // *Инфекция и иммунитет*, 2018. Т. 8, № 1. С. 7-18. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.L. The new look at neutrophilic granulocytes: Rethinking old dogmas. Part 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 7-18. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
10. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В., Ломтатидзе Л.В., Колесникова Н.В., Евглевский А.А. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии. Методические рекомендации. Краснодар, 2017. 52 с. [Nesterova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Lomtadidze L.V., Kolesnikova N.V., Yevlevsky A.A. Methods for comprehensive assessment of the functional activity of neutrophil granulocytes in health and disease (guidelines)]. Krasnodar, 2017. 52 p.
11. Окунев Н.А., Окунева А.И., Солдатов О.М., Буданова М.А. Перитонит или дебют сахарного диабета // *Детская хирургия*, 2018. Т. 22, № 3. С. 127-129. [Okunev N.A., Okuneva A.I., Soldatov O.M., Budanova M.A. Peritonite or debut of diabetes mellitus. *Detskaya khirurgiya = Russian Journal of Pediatric Surgery*, 2018, Vol. 22, no. 3, pp. 127-129. (In Russ.)]
12. Примбеков С.Ш. Опыт лечения хирургической инфекции с использованием полиоксидония // *Медицина и экология*, 2012. № 2 (63). С. 10-15. [Primbekov S.Sh. Experience of treatment of the surgical infection with use of Polyoxidonium. *Meditsina i ekologiya = Medicine and Ecology*, 2012, no. 2 (63), pp. 10-15. (In Russ.)]
13. Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Гвоздев И.И., Мошев А.В., Черданцев Д.В., Первова О.В. Взаимосвязь фенотипа и метаболизма нейтрофилов крови у больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода // *Инфекция и иммунитет*, 2017. Т. 7, № 3. С. 259-270. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavcev I.V., Gvozdev I.I., Moshev A.V., Cherdancev D.V., Pervova O.V. The phenotype and metabolism relationship of blood neutrophils in patients with widespread purulent peritonitis in the postoperative period dynamics. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, Vol. 7, no. 3, pp. 259-270. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-259-270.
14. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г. Иммунометаболические нарушения при распространенном гнойном перитоните. Новосибирск: Наука, 2013. 142 с. [Savchenko A.A., Zdzitovetsky D.E., Borisov A.G. Immunometabolic disorders in advanced purulent peritonitis]. Novosibirsk: Nauka, 2013. 142 p.
15. Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Павленко В.Н., Тетерин Ю.В., Барова Н.К., Тараканов В.А. Вариации фенотипа субпопуляций CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ нейтрофильных гранулоцитов, ассоциированные с нарушениями фагоцитарной и микробицидной активности при различных формах перитонита у детей // *Аллергология и иммунология*, 2021. Т. 22, № 1. С. 28-35. [Chudilova G.A., Nesterova I.V., Pavlenko V.N., Barova N.K., Tarakanov V.A. Variations in the phenotype of subpopulations CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ and CD64⁺CD16⁺CD32⁺CD11b⁺ neutrophilic granulocytes associated with disorders of phagocytic and microbicidal

activity at various forms of peritonitis in children. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology*, 2021, Vol. 22, no. 1, pp. 28-35. (In Russ.)]

16. Akhmedov I.Yu., Rafikov B.R., Azizov Sh.F., Dalerov A.D. Early diagnostics of postoperative purulus complications with disseminated appendicular peritonitis in children // Вопросы науки и образования, 2019. T. 2, № 45. С. 129-133. [Akhmedov I.Yu., Rafikov B.R., Azizov Sh.F., Dalerov A.D. Early diagnostics of postoperative purulus complications with disseminated appendicular peritonitis in children. *Voprosy nauki i obrazovaniya = Issues of Science and Education*, 2019, Vol. 2 (45), pp. 129-133. (In Russ.)]

17. Bobrysheva I.V. Immunomodulator Imunofan affects cell profile of morphofunctional zones of rat thymus and delays its age-related involution. *Bulletin of Russian State Medical University*, 2016, no. 3, pp. 34-38.

18. Bournazos S., Wang T.T., Ravetch J.V. The role and function of Fcγ receptors on myeloid cells. *Microbiol. Spectr.*, 2016, Vol. 4, no. 6, 10.1128/microbiolspec.MCHD-0045-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0045-2016.

19. Coxon A., Cullere X., Knight S., Sethi S., Wakelin M.W., Stavrakis G., Luscinskas F.W., Mayadas T.N. Fc gamma RIII mediates neutrophil recruitment to immune complexes. A mechanism for neutrophil accumulation in immune-mediated inflammation. *Immunity*, 2001, Vol. 14, no. 6, pp. 693-704.

20. El-Benna J., Dang P.M.-C., Gougerot-Pocidalo M.-A. Priming of the neutrophil NADPH oxidase activation: role of p47phox phosphorylation and NOX2 mobilization to the plasma membrane. *Semin. Immunopathol.*, 2008, Vol. 30, pp. 279-289.

21. Koval L.M., Zverkova A.S., Grailhe R., Utkin Y.N., Tsetlin V.I., Komisarenko S.V., Skok M.V. Nicotinic acetylcholine receptors alpha4beta2 and alpha7 regulate myelo- and erythropoiesis within the bone marrow. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2008, Vol. 40, no. 5, pp. 980-990.

22. Liu Z., Zheng X., Wang J., Wang E. Molecular analysis of thymopentin binding to HLA-DR molecules. *PLoS One*, 2007, Vol. 2, no. 12, e1348. doi: 10.1371/journal.pone.0001348.

23. Malech H.L., de Leo F.R., Quinn M.T. The Role of Neutrophils in the immune system: An overview. *Methods Mol. Biol.*, 2020, Vol. 2087, pp. 3-10.

24. Mortaz E., Alipoor S.D., Adcock I.M., Mumby S., Koenderman L. Update on neutrophil function in severe inflammation. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2171. doi: 10.3389/fimmu.2018.02171.

25. Mulcahy M.J., Lester H.A. Granulocytes as models for human protein maker identification following nicotine exposure. *J. Neurochem.*, 2017, Vol. 142, no. 2, pp. 151-161.

26. Nesterova I.V., Chudilova G.A., Pavlenko V.N., Tarakanov V.A. *In vitro* experimental rewiring of 4 neutrophilic granulocyte subsets from the pro-inflammatory to the anti-inflammatory phenotype in children with surgical purulent infection of soft tissue. *Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 4, pp. 819-824. doi: 10.15789/1563-0625-IVE-2311.

27. Nimmerjahn F., Ravetch J.V. Fcγ receptors as regulators of immune responses. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 8, no. 1, pp. 34-47.

28. Rollet-Labelle E., Gilbert C., Naccache P.H. Modulation of human neutrophil responses to CD32 cross-linking by serine/threonine phosphatase inhibitors: cross-talk between serine/threonine and tyrosine phosphorylation. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 164, no. 2, pp. 1020-1028.

29. Serov D., Tikhonova I., Safronova V., Astashev M. Calcium activity in response to nAChR ligands in murine bone marrow granulocytes with different Gr-1 expression. *Cell Biol. Int.*, 2021, Vol. 45, no. 7, pp. 1533-1545.

30. Silvestre-Roig C., Fridlender Z.G., Glogauer M., Scapini P. Neutrophil diversity in health and disease. *Trends Immunol.*, 2019, Vol. 40, no. 7, pp. 565-583.

31. van Spruiel A.B., Leusen J.H., van Egmond M., Dijkman H.B., Assmann K.J., Mayadas T.N., van de Winkel J.G. Mac-1 (CD11b/CD18) is essential for Fc receptor-mediated neutrophil cytotoxicity and immunologic synapse formation. *Blood*, 2001, Vol. 97, no. 8, pp. 2478-2486.

32. Venkatasubramanian K., Audhya T., Goldstein G. Binding of thymopoietin to the acetylcholine receptor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1986, Vol. 83, no. 10, pp. 3171-3174.

33. Wang Y., Jönsson F. Expression, role, and regulation of neutrophil Fcγ receptors. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1958. doi: 10.3389/fimmu.2019.01958.

Авторы:

Нестерова И.В. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар; профессор кафедры аллергологии и иммунологии факультета непрерывного медицинского образования Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Authors:

Nesterova I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology, and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar; Professor, Department of Allergology and Immunology, Faculty of Postgraduate Medical Education, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Чудилова Г.А. — д.б.н., доцент, заведующая отделом клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Чапурина В.Н. — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Ковалева С.В. — к.м.н., старший научный сотрудник отдела клинической и экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Тетерин Ю.В. — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Барова Н.К. — к.м.н., доцент кафедры хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующая хирургическим отделением № 1 ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия

Лягуша Д.Э. — врач-педиатр хирургического отделения № 1 ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия

Тараканов В.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Chudilova G.A., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Department of Clinical and Experimental Immunology, and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Chapurina V.N., Postgraduate Student, Department of Clinical and Experimental Immunology, and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Kovaleva S.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Clinical and Experimental Immunology, and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Teterin Yu.V., Postgraduate Student, Department of Clinical and Experimental Immunology, and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Barova N.K., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pediatric Surgery, Kuban State Medical University; Head, Surgical Department No. 1, Pediatric Regional Clinical Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Lyagusha D.E., Pediatrician, Surgical Department No. 1, Pediatric Regional Clinical Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Tarakanov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pediatric Surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Поступила 20.01.2022

Отправлена на доработку 13.02.2022

Принята к печати 06.03.2022

Received 20.01.2022

Revision received 13.02.2022

Accepted 06.03.2022