

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДА РАСПРОСТРАНЕННОГО ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА

Беленюк В. Д.¹,

Савченко А. А.^{1,2},

Борисов А. Г.¹,

Кудрявцев И. В.³

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

²ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия;

³ФГБНУ «НИИ экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия (197376, Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12)

FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD B CELL SUBSET PHENOTYPE ARE ASSOCIATED WITH CLINICAL OUTCOME OF WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS

Belenjuk V. D.^a,

Savchenko A. A.^{a,b},

Borisov A. G.^a,

Kudryavcev I. V.^c

^a Laboratory of the Cellular Molecular Physiology and Pathology of the 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, Russia (660022, Krasnoyarsk, P. Geleznyaka street, 3G);

^b Department of Medical Biology of the Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia (660041, Krasnoyarsk, avenue Svobodniy, 79/10);

^c Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia (197376, St. Petersburg, Academician Pavlov Str., 12);

Резюме. Целью исследования явилось изучение фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных распространенным гнойным перитонитом (РГП) в динамике послеоперационного лечения в зависимости от исхода заболевания. Обследовано 52 пациента с острыми хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости, осложнившимися РГП. Забор крови производили перед операцией (дооперационный период), а также на 7-е, 14-е и 21-е сутки послеоперационного периода. В зависимости от исхода заболевания в послеоперационном периоде, все больные РГП были разделены на две группы: больные с благоприятным исходом заболевания (n=34), пациенты с неблагоприятным исходом (n=18). В качестве контроля обследовано 68 здоровых людей. Исследование фенотипа В-лимфоцитов крови проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с моноклональными антителами. Установлено, что в дооперационном периоде у больных РГП на фоне низкого абсолютного уровня В-лимфоцитов в крови выявляется понижение содержания В1-клеток относительно контрольных значений. При этом у больных с неблагоприятным исходом РГП наблюдается более высокое количество активированных (по CD23) В1-лимфоцитов в крови, чем у пациентов с благоприятным исходом заболевания. В наблюдаемом периоде после операции (7 – 21 сутки) динамика изменений содержания В-лимфоцитов значительно различается в зависимости от исхода заболевания. У больных с благоприятным исходом РГП в течение послеоперационного периода наблюдается снижение количества большинства субпопуляций В-лимфоцитов (в том числе, и активированные клетки), тогда как уровни содержания различных фракций В-клеток у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания в послеоперационном периоде практически не меняются. В течение всего послеоперационного периода количество общих

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

В-лимфоцитов, наивных В-клеток и В2-лимфоцитов, неэкспрессирующих и экспрессирующих CD23-рецептор, у больных с неблагоприятным исходом РГП выше, чем у лиц с благоприятным исходом заболевания. Содержание некоторых других фракций В-лимфоцитов у больных с неблагоприятным исходом также выше, чем при благоприятном исходе РГП, но только на отдельных стадиях послеоперационного лечения. Предполагается, установленные особенности в уровнях В-лимфоцитов в крови в зависимости от исхода определяются тем, что у больных с неблагоприятным исходом РГП нарушены процессы дифференцировки и миграции В-клеток в рамках развития иммунного ответа, что может быть тесно связано с общим пониженным уровнем чувствительности всего организма пациента к послеоперационной антибактериальной терапии.

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит, В-лимфоциты, CD23, послеоперационный период, исход заболевания, иммунофенотипирование.

Abstract. The aim of the study was to investigate the phenotypic features of peripheral blood B-lymphocytes in patients with widespread purulent peritonitis (WPP) during postoperative treatment depending on the disease outcome. 52 patients with acute surgical diseases and injuries of the abdominal organs complicated by WPP were examined. Blood sampling was performed before surgery (preoperative period), as well as on day 7, 14 and 21 of the postoperative period. All patients with WPP were divided into two groups in depending on the disease outcome during postoperative period: patients with favorable outcome (n = 34), patients with unfavorable outcome (n = 18). 68 healthy subjects were included into control group. Immunophenotyping of blood B-lymphocytes was assessed by flow cytometry and direct immunofluorescence of whole peripheral blood stained with monoclonal antibodies. It was found that patients with WPP in preoperative

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

period contained lowered B1 cell subset compared to control group that was paralleled with low absolute B-lymphocyte count. Moreover, a higher number of activated (based on upregulated CD23 expression) peripheral blood B1 lymphocytes was observed in the patients with an unfavorable vs. favorable WPP outcome. In addition, dynamics of changes in frequency of B-lymphocytes during postoperative period (day 7-21) varied profoundly depending on the disease outcome. In particular, patients with a favorable WPP outcome during postoperative period were found to contain decreased percentage of the most B cell subsets (including activated cells) examined, whereas patients with unfavorable disease outcome had virtually unaltered B cell composition in the postoperative period. Moreover, count of total B-cells, naive B-cells and B2-cells negative or positive for CD23 expression was higher in patients with unfavorable vs. favorable WPP outcome throughout entire postoperative period. Percentage of some other B cell subsets in patients with unfavorable vs. favorable outcome was also higher only at certain stages of postoperative treatment. It is assumed that such features in peripheral blood B cell subset composition were closely linked to the disease outcome so that patients with unfavorable WPP outcome turned out to have disturbed B cell maturation and migration in developing immune response that might be due to lowered total sensitivity of host body to postoperative antibiotic therapy.

Key words: widespread purulent peritonitis, B cell, CD23 expression, postoperative period, outcome of the disease, immunophenotyping.

1 Введение

2 Гнойно-септические заболевания, даже на фоне постоянно
3 совершенствующихся методов хирургического лечения, а также увеличения
4 количества антибактериальных средств и препаратов, купирующих
5 воспалительный процесс, продолжают каждый год уносить огромное
6 количество жизней [1, 5, 11]. Одним из наиболее проблемных заболеваний
7 абдоминальной хирургии в настоящее время является распространенный
8 гнойный перитонит (РГП), летальность при котором может варьироваться в
9 пределах от 10 до 30%, а при генерализации воспаления, развитии сепсиса и
10 полиорганной недостаточности (ПОН) летальность может достигать 80-90%
11 [12, 14, 19].

12 Характер течения РГП и особенности развития различных осложнений,
13 как правило, определяются не только тяжестью основного патологического
14 процесса и адекватностью проводимого лечения, но и во многом зависят от
15 изменений, происходящих в иммунной системе [3, 15, 17, 29]. Значительное
16 количество исследований, посвященных иммунопатогенезу РГП, направлено
17 на характеристику механизмов врожденного иммунитета [4, 5, 8, 18]. В тоже
18 время, не менее значимыми являются патогенетические изменения в
19 адаптивном иммунитете, важнейшими компонентами которого являются В-
20 лимфоциты. Однако исследования, посвященные функциональному и
21 фенотипическому составу В-лимфоцитов при перитонитах, весьма
22 немногочисленны. Так, в работе Tomasdottir V. et al. (2014) доказано, что
23 более эффективное восстановление иммунного гомеостаза при
24 экспериментальном перитоните наблюдается при повышении количества В1-
25 клеток [25]. В проведенных нами ранее исследованиях было выявлено, что
26 уровень В1-лимфоцитов в периферической крови повышается только у
27 больных с неблагоприятным исходом РГП, тогда как при благоприятном
28 исходе заболевания наблюдалось повышение Th2-клеток, но при отсутствии

29 изменений в субпопуляционном составе В-лимфоцитов [3]. Необходимо
30 отметить, что в рамках В1-лимфоцитов выделяют популяцию клеток,
31 которые способны синтезировать гранулоцитарно-макрофагальный
32 колониестимулирующий фактор, что способствует повышению
33 эффективности функционирования врожденного противобактериального
34 иммунитета [20]. В свою очередь, само созревание В-лимфоцитов при
35 развитии перитонита и его осложнений связывают с функциональной
36 активностью Т-фолликулярных хелперных клеток [21]. Следовательно,
37 содержание В-лимфоцитов в крови, а также их субпопуляционный состав,
38 характеризует, как эффекторные, так и регуляторные механизмы иммунного
39 ответа при перитоните. Именно поэтому целью исследования стало изучение
40 фенотипического состава В-лимфоцитов периферической крови у больных
41 РГП в динамике послеоперационного лечения в зависимости от исхода
42 заболевания.

43

44

Материалы и методы

45 На базе Красноярского краевого гнойно-септического центра КГБУЗ
46 «Краевая клиническая больница» обследовано 52 пациента в возрасте 25-65
47 лет (средний возраст пациентов составил 49,6 лет) с острыми
48 хирургическими заболеваниями и травмами органов брюшной полости,
49 осложнившимися РГП. Из исследования были исключены пациенты, у
50 которых причиной РГП являлись: острый деструктивный панкреатит
51 (панкреонекроз), тотальный мезентериальный тромбоз, онкологические
52 заболевания, туберкулез. Объем оперативного вмешательства и количество
53 санаций определялись лечащим врачом в зависимости от состояния
54 больного. Забор крови производили перед операцией (дооперационный
55 период), а также на 7-е, 14-е и 21-е сутки послеоперационного периода. В
56 зависимости от исхода заболевания в послеоперационном периоде, все

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

57 больные РГП были разделены на две группы: группа 1 – больные с
58 благоприятным исходом заболевания (n=34), группа 2 – больные с
59 неблагоприятным исходом (n=18). В качестве контроля обследовано 68
60 относительно здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

61 Исследование фенотипа В-лимфоцитов крови проводили методом
62 проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции
63 цельной периферической крови с моноклональными антителами (Beckman
64 Coulter, USA), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1
65 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5)
66 и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующей панели: CD5-FITC/CD23-
67 PE/CD19-ECD/CD27-PC5/CD45-PC7. Распределение антител по каналам
68 флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования
69 панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [2].
70 Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [24]. Анализ
71 окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios
72 (Beckman Coulter, USA) Красноярского регионального центра коллективного
73 пользования ФИЦ КНЦ СО РАН. В каждой пробе анализировали не менее
74 50000 лимфоцитов.

75 Все исследования выполнены с информированного согласия
76 испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной
77 ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с
78 участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2008 г. и
79 «Правилами клинической практики в Российской Федерации»,
80 утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

81 Выборку описывали с помощью подсчета медианы (Me) и
82 интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (Q_1 и Q_3).
83 Достоверность различий между показателями независимых выборок
84 оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни (Mann-Whitney U

85 test). Достоверность различий в динамике лечения определяли по критерию
86 Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Для оценки изменений исследуемых
87 показателей в динамике послеоперационного лечения также применялся
88 ранговый дисперсионный анализ Фридмана (Friedman ANOVA by Ranks).
89 Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ
90 Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

91

92

Результаты исследований

93 Показано, что абсолютное содержание лимфоцитов периферической
94 крови у больных РГП снижено относительно контрольных значений уже в
95 дооперационном периоде, не зависит от исхода заболевания и
96 восстанавливается лишь к 21-м суткам послеоперационного лечения (табл.
97 1). При исследовании фенотипа В-лимфоцитов крови у больных РГП
98 обнаружено, что в дооперационном периоде процентное содержание CD19⁺-
99 клеток у обследованных пациентов соответствует контрольным значениям и
100 также не зависит от исхода заболевания. В послеоперационном периоде при
101 благоприятном исходе РГП (группа 1) наблюдается последовательное
102 снижение доли В-клеток относительно как контрольного диапазона, так и
103 исходных значений ($\chi^2=11,10$, $p=0,011$). При неблагоприятном исходе
104 заболевания (группа 2) уже на 7-е сутки послеоперационного периода
105 наблюдается увеличение уровня В-клеток относительно контроля с
106 последующей нормализацией их содержания к 14-м суткам. Следует
107 отметить, что в течение всего послеоперационного периода при
108 неблагоприятном исходе РГП наблюдается повышение CD19⁺-клеток
109 относительно значений, выявленных у больных с благоприятным исходом
110 (табл. 1). В дальнейшем нами был проведен анализ субпопуляционного
111 состава В-лимфоцитов в указанных группах больных, результаты которого
112 приведены в таблице 1. Так, динамика изменений уровней «наивных» CD27-

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

113 негативных В-клеток у больных РГП соответствует выявленным по CD19⁺-
114 лимфоцитам в группах с благоприятным ($\chi^2=11,96$, $p=0,010$) и
115 неблагоприятным исходом заболевания. Доля В-клеток памяти, несущих
116 CD27 на своей мембране, при неблагоприятном исходе РГП на протяжении
117 всех сроков наблюдения соответствует контрольному диапазону, тогда как у
118 лиц с благоприятным исходом РГП – понижается на 21-е сутки
119 послеоперационного лечения. Что же касается CD5⁺ В-лимфоцитов, то у
120 больных с благоприятным исходом РГП их содержание снижено
121 относительно контрольных величин в течение всего периода обследования. В
122 то же время, у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания
123 сниженное содержание данной популяции клеток нормализуется в период 2-х
124 недель послеоперационного периода, а затем снова значительно понижается,
125 в том числе и относительно уровня, выявленного при благоприятном исходе.
126 Уровень CD19⁺CD5⁻-лимфоцитов в крови у больных с благоприятным
127 исходом РГП в дооперационном и в первую неделю послеоперационного
128 периода соответствует контрольным значениям, к концу периода наблюдения
129 снижается до минимума ($\chi^2=8,90$, $p=0,019$). При неблагоприятном исходе
130 заболевания процентное содержание CD19⁺CD5⁻-клеток в течение всего
131 периода наблюдения соответствует контрольному диапазону, но, начиная с 7-
132 х суток, значительно превышает уровень, выявленный у пациентов с
133 благоприятным исходом (табл. 1).

134 В ходе дальнейших исследований нами оценивался уровень
135 «активированных» CD23-позитивных клеток в рамках указанных выше
136 популяций В-лимфоцитов (табл. 2). Показано, что содержание CD23⁺ В-
137 клеток в крови при РГП в дооперационном периоде соответствует
138 контрольному диапазону и не зависит от исхода заболевания. При
139 благоприятном исходе РГП уровень В-лимфоцитов с данным фенотипом
140 последовательно снижается относительно контрольных значений с 7-х суток

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

141 послеоперационного периода и до минимума – к концу периода
142 обследования ($\chi^2=11,50$, $p=0,010$). У больных с неблагоприятным исходом
143 РГП на 7-е сутки наблюдается повышение содержания «активированных» В-
144 клеток относительно контрольных значений с последующим их снижением
145 до исходного уровня. Более того, что у больных с неблагоприятным исходом
146 РГП на всем протяжении послеоперационного периода уровень этих клеток
147 превышает значения, полученные для пациентов с благоприятным исходом
148 данного заболевания.

149 Значения, полученные для $CD27^-CD23^+$ В-лимфоцитов у РГП до
150 операции соответствуют контролю и не зависят от исхода заболевания (табл.
151 2). Так, в послеоперационном периоде у пациентов с благоприятным исходом
152 содержание данной популяции В-клеток снижается, достигая минимума к
153 концу наблюдаемого периода, тогда как у больных с неблагоприятным
154 исходом – повышается. Что же касается В-клеток памяти, то у больных с
155 благоприятным исходом РГП до операции снижено содержание $CD27^+CD23^+$
156 В-клеток относительно контрольного уровня, в послеоперационном периоде
157 – достигает контрольного диапазона. При неблагоприятном исходе уровень
158 этих клеток в циркуляции в течение всего наблюдаемого периода находится в
159 пределах контрольного диапазона.

160 У больных с благоприятным исходом РГП процентное содержание
161 $CD5^+CD23^+$ В-клеток до операции и на первой недели послеоперационного
162 периода ниже контрольного уровня и значений, выявляемых при
163 неблагоприятном исходе, но к 21-м суткам лечения достигает контрольного
164 диапазона (табл. 2). У больных с неблагоприятным исходом к концу
165 наблюдаемого периода наблюдается значительное снижение В-лимфоцитов
166 данной популяции относительно контроля. В рамках общего пула $CD5^-$
167 негативных В-лимфоцитов содержание же $CD23^+$ клеток в циркуляции у
168 больных РГП до операции соответствует контрольному диапазону. При

169 благоприятном исходе в послеоперационном периоде выявляется
170 последовательное снижение количества В-лимфоцитов данного фенотипа
171 ($\chi^2=9,90$, $p=0,019$). Однако, у пациентов с неблагоприятным исходом на
172 протяжении всего послеоперационного периода установлено повышенное
173 содержание CD19⁺CD5⁻CD23⁺-лимфоцитов как относительно контрольного
174 диапазона, так и уровней, выявленных у больных с благоприятным исходом
175 РГП.

176

177

Обсуждение

178 Значительную роль в развитии РГП играет не только фактор
179 инфицирования, но и не способность иммунной системы к локализации очага
180 бактериальной агрессии и эффективной элиминации патогена [4, 15]. Как
181 следствие, реактивность организма при иммуновоспалительной реакции на
182 бактериальную инфекцию (основной этиологический фактор при РГП) будет
183 обусловлена механизмами гуморального иммунитета и, соответственно,
184 функциональной активностью В-лимфоцитов.

185 В зависимости от исхода заболевания у больных РГП в до и
186 послеоперационном периоде различается содержание В-лимфоцитов в
187 периферической крови. Так, при благоприятном исходе РГП уровень В-
188 клеток был снижен в течение всего периода обследования. Относительное
189 содержание В-лимфоцитов в крови у больных данной группы в
190 дооперационном периоде и через 7 суток после операции соответствовало
191 контрольному диапазону, но с 14-х суток послеоперационного лечения –
192 последовательно снижалось. При неблагоприятном исходе РГП у
193 обследованных пациентов в дооперационном периоде выявляется понижение
194 абсолютного содержания В-клеток, после операции их количество
195 повышается до контрольного уровня. На 21-е сутки послеоперационного
196 лечения у больных с неблагоприятным исходом заболевания наблюдается

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

197 относительно высокий абсолютный уровень В-лимфоцитов относительно
198 значений, выявленных у пациентов с благоприятным исходом РГП. Только
199 на 7-е сутки послеоперационного лечения у больных с неблагоприятным
200 исходом РГП наблюдается высокое процентное содержание В-лимфоцитов в
201 крови относительно контрольных значений, но в течение всего
202 послеоперационного периода – повышенное относительно значений,
203 выявленных у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

204 Для оценки активации В-лимфоцитов периферической крови на их
205 поверхностной мембране определялся уровень экспрессии CD23, который
206 является низкоаффинным рецептором к IgE и экспрессируется на мембране
207 функционально-активированных В-клеток [13, 26]. У больных с
208 благоприятным исходом РГП уже на 7-е сутки после операции содержание
209 активированных В-лимфоцитов снижено относительно контрольных
210 значений и продолжает понижаться к 21-м суткам лечения. У пациентов с
211 неблагоприятным исходом заболевания на 7-е сутки после операции
212 количество CD23⁺В-клеток повышено как относительно контрольного
213 диапазона, так и значений, выявленных при благоприятном исходе РГП. В
214 дальнейшем у больных с неблагоприятным исходом РГП уровень
215 активированных В-лимфоцитов остается повышенным относительно
216 обнаруженного при благоприятном исходе заболевания.

217 Значительные различия в зависимости от исхода заболевания
218 наблюдаются не только в уровне активации В-клеток, но и в их
219 субпопуляционном составе. Так, у больных РГП с благоприятным исходом
220 содержание «наивных» В-клеток уже на 7-е сутки послеоперационного
221 периода понижено относительно контрольных значений и продолжает
222 понижаться к концу наблюдаемого периода. Через неделю относительно
223 понижения уровня «наивных» В-клеток у лиц данной группы снижается еще
224 и содержание активированных «наивных» В-лимфоцитов

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

225 (CD19⁺CD27⁻CD23⁺), которое остается на низком уровне уже до конца
226 наблюдаемого периода. У пациентов с неблагоприятным исходом на 7-е
227 сутки после операции отмечается повышенный уровень «наивных» В-
228 лимфоцитов как относительно контрольных значений, так и показателей
229 больных с благоприятным исходом. На 2-ой и 3-ей недели лечения
230 количество «наивных» В-лимфоцитов и активированных «наивных» В-
231 клеток у лиц с неблагоприятным исходом РГП соответствует контрольному
232 диапазону, но остается повышенной относительно показателей больных с
233 благоприятным исходом заболевания.

234 Только на 21-е сутки послеоперационного лечения у больных с
235 благоприятным исходом РГП выявляется понижение В-клеток памяти
236 (CD19⁺CD27⁺) относительно контрольных значений. Изменения в
237 содержании активированных В-лимфоцитов памяти (CD19⁺CD27⁺CD23⁺) у
238 больных данной группы практически обратно фракции CD19⁺CD27⁺-клеток:
239 снижено относительно контрольных значений в дооперационном периоде и
240 полностью соответствует контрольному уровню в течение всего
241 послеоперационного периода. В то же время, у пациентов при
242 неблагоприятном исходе заболевания в течение всего наблюдаемого периода
243 содержание В-клеток памяти и активированных В-лимфоцитов памяти
244 соответствует контрольному диапазону.

245 В настоящее время возрастает количество исследований по роли В1-
246 лимфоцитов при различных иммуновоспалительных процессах [7, 16, 23]. В
247 работе Yong L. et al. (2019) показано, что при шистосомной инфекции низкое
248 количество общих В-лимфоцитов коррелирует с активацией формирования
249 гранулем, уровнем воспаления и фиброза в печени [28]. В то же время,
250 увеличение содержания В1-клеток в печени сопровождалось снижением
251 уровней экспрессии хемокинов и провоспалительных цитокинов, что
252 приводило к ингибированию воспалительной реакции и фиброза в печени.

В-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

253 Кроме того, в настоящее время в составе В1-лимфоцитов выделяют фракцию
254 В-регуляторных клеток [6, 22, 27]. При благоприятном исходе РГП
255 содержание В1-лимфоцитов снижено до и во время всего
256 послеоперационного лечения. Уровень активированных В1-клеток также
257 понижен в до и в течение 14 суток послеоперационного периода, но к 21-м
258 суткам лечения повышается до контрольных значений. При неблагоприятном
259 исходе РГП содержание В1-клеток также понижено в дооперационном
260 периоде. Затем, в течение 2-х недель послеоперационного лечения
261 повышается до контрольного диапазона, превышая показатели пациентов с
262 благоприятным исходом заболевания, но на 21-е сутки наблюдается
263 значительное снижение их количества. Активированные В1-клетки при
264 неблагоприятном исходе повышены в начале наблюдаемого периода и
265 снижаются относительно контрольных значений во второй половине
266 послеоперационного лечения.

267 Динамика В2-лимфоцитов у больных с благоприятным исходом РГП в
268 до и послеоперационный период полностью повторяет изменения в общей
269 популяции В-клеток периферической крови. Это определяется тем, что В2-
270 клетки составляют основную фракцию В-лимфоцитов крови [9, 25]. В
271 частности, у пациентов с благоприятным исходом РГП доля В2-клеток в
272 составе общих В-лимфоцитов находится в диапазоне от 96,3% (в
273 дооперационном периоде) до 80,4% (на 21-е сутки послеоперационного
274 лечения). Соответственно, динамика изменения количества активированных
275 В2-клеток в до и послеоперационном периоде у лиц с благоприятным
276 исходом заболевания также повторяет изменения в содержании общих В2-
277 лимфоцитов. При неблагоприятном исходе заболевания наблюдается
278 повышение содержания В2-лимфоцитов в течение всего послеоперационного
279 периода относительно показателей, выявленных у пациентов с
280 благоприятным исходом, что не соответствует динамике изменений

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

281 содержания общих В-клеток. В то же время динамика изменений количества
282 активированных В2-лимфоцитов полностью соответствует динамике уровней
283 активированных В-лимфоцитов.

284 В целом, сравнение особенностей динамики фенотипического состава
285 В-лимфоцитов периферической крови у больных РГП с разным вариантом
286 исхода заболевания позволяет выделить некоторые закономерности. Во-
287 первых, у больных с благоприятным исходом РГП в послеоперационном
288 периоде выявляется последовательное изменение содержания В-лимфоцитов
289 в крови (процентное содержание общих В-лимфоцитов, активированных В-
290 клеток, «наивных» В-клеток, количество В2- и активированных В2-
291 лимфоцитов), что доказано с помощью рангового дисперсионного анализа
292 Фридмана, комплексно характеризующего индивидуальные изменения
293 показателей в динамике. Причем содержание В-клеток к концу наблюдений
294 только снижается. Подобные изменения указывают на отсутствие усиленного
295 выхода при индукции воспаления «наивных» CD19⁺ клеток из красного
296 костного мозга, способного нарушить эффективность антиген-независимой
297 дифференцировки этих клеток, и избыточной активации В-клеточного звена
298 специфического иммунитета, что, возможно, и определяет благоприятный
299 исход заболевания. В частности, на примере миграции нейтрофилов в очаг
300 воспаления доказана эффективность воспалительной реакции при перитоните
301 [10]. Во-вторых, у больных с благоприятным исходом заболевания РГП в
302 процессе послеоперационного лечения большинство исследуемых
303 показателей ниже, чем у пациентов с неблагоприятным исходом (общие В-
304 лимфоциты, «наивные» В-клетки, В1- и В2-лимфоциты, активированные В-
305 лимфоциты, CD23⁺ активированные «наивные» В-клетки, активированные
306 В1- и В2-лимфоциты). По-видимому, такое соотношение содержания В-
307 лимфоцитов в крови при РГП подтверждает недостаточный уровень

308 миграции для реализации иммунного ответа при неблагоприятном исходе
309 заболевания.

310

311 **Заключение**

312 Установлены особенности в фенотипическом составе В-лимфоцитов
313 периферической крови у больных РГП в зависимости от исхода заболевания.
314 В дооперационном периоде у больных РГП на фоне низкого абсолютного
315 уровня В-лимфоцитов в крови выявляется понижение содержания В1-клеток
316 относительно контрольных значений. При этом у больных с
317 неблагоприятным исходом РГП наблюдается более высокое количество
318 активированных (по CD23) В1-лимфоцитов в крови, чем у пациентов с
319 благоприятным исходом заболевания. В наблюдаемом периоде после
320 операции (7 – 21 сутки) динамика изменений содержания В-лимфоцитов
321 значительно различается в зависимости от исхода заболевания. У больных с
322 благоприятным исходом РГП в течение послеоперационного периода
323 наблюдается снижение количества большинства субпопуляций В-
324 лимфоцитов (в том числе, и активированные клетки), тогда как уровни
325 содержания различных фракций В-клеток у пациентов с неблагоприятным
326 исходом заболевания в послеоперационном периоде практически не
327 меняются. Кроме того, в течение всего послеоперационного периода
328 количество общих В-лимфоцитов, «наивных» В-клеток и В2-лимфоцитов,
329 неэкспрессирующих и экспрессирующих CD23-рецептор, у больных с
330 неблагоприятным исходом РГП выше, чем у лиц с благоприятным исходом
331 заболевания. Содержание некоторых других фракций В-лимфоцитов у
332 больных с неблагоприятным исходом также выше, чем при благоприятном
333 исходе РГП, но только на отдельных стадиях послеоперационного лечения.
334 Предполагается, что установленные особенности в уровнях В-лимфоцитов в
335 крови в зависимости от исхода определяются тем, что у больных с

336 неблагоприятным исходом РГП нарушены процессы дифференцировки и
337 миграции В-клеток в рамках развития иммунного ответа, что может быть
338 тесно связано с общим пониженным уровнем чувствительности всего
339 организма пациента к послеоперационной антибактериальной терапии.
340 Следовательно, исследование механизмов миграции клеток иммунной
341 системы при развитии РГП (в том числе, и фоне антибактериальной терапии)
342 позволит разработать новые иммунотерапевтические методы, направленные
343 на повышение эффективности иммунного ответа и, соответственно,
344 послеоперационного лечения.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Содержание В-лимфоцитов в крови у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, (Q₁ – Q₃))

Table 1. Composition of peripheral blood B-lymphocytes in patients with WPP during postoperative period (Me, (Q₁ – Q₃))

Показатели Parameters	Гр. Gr.	Контроль Control	Дооперационный период Preoperative period	7 сутки после операции Day 7 after surgery	14 сутки после операции Day 14 after surgery	21 сутки после операции Day 21 after surgery
Лимфоциты, 10 ⁹ /л Lymphocytes, 10 ⁹ /L	1	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)
	2		0,92 (0,51 – 1,25)***	0,87 (0,70 – 1,81)***	1,06 (0,65 – 1,11)***	2,06 (1,27 – 2,85)
CD19 ⁺ , %	1	12,0 (9,4 – 14,6)	10,8 (7,2 – 17,4)	9,0 (5,9 – 14,3)	7,7 (5,3 – 11,3)**	4,6 (2,0 – 7,9)**
	2		12,4 (8,1 – 22,5)	21,7 (16,0 – 21,4)**#	17,7 (10,0 – 20,0)#	10,5 (7,5 – 13,4)#
CD19 ⁺ CD27 ⁻ , %	1	11,0 (8,1 – 14,5)	8,9 (5,2 – 12,1)	7,0 (4,8 – 8,0)***	5,5 (4,2 – 9,1)**	3,2 (1,8 – 5,2)**
	2		9,0 (5,9 – 18,4)	20,2 (10,9 – 28,9)**#	15,2 (9,4 – 15,8)**#	8,0 (4,2 – 11,9)**#
CD19 ⁺ CD27 ⁺ , %	1	2,5 (1,7 – 5,2)	2,1 (1,2 – 5,3)	2,2 (1,2 – 2,7)	1,7 (0,8 – 2,7)	0,8 (0,2 – 1,7)*
	2		3,1 (1,3 – 3,9)	2,0 (1,5 – 4,2)	2,1 (1,3 – 2,3)	2,5 (1,6 – 3,6)
CD19 ⁺ CD5 ⁺ , %	1	1,7 (1,3 – 3,8)	0,6 (0,4 – 1,7)***	0,8 (0,5 – 1,5)***	0,5 (0,4 – 0,9)***	0,8 (0,3 – 1,7)**

	2		0,8 (0,4 – 2,4)*	1,8 (1,1 – 2,5) [#]	1,5 (0,8 – 2,7) [#]	0,4 (0,2 – 0,5)* [#]
CD19 ⁺ CD5 ⁻ , %	1	10,9 (8,6 – 15,3)	10,4 (6,6 – 16,0)	8,5 (5,3 – 13,2)	7,9 (4,7 – 10,7)*	3,7 (1,8 – 6,2)**
	2		10,7 (7,6 – 20,8)	18,2 (14,8 – 29,9) ^{##}	15,7 (8,8 – 17,1) [#]	10,0 (7,0 – 13,0) ^{##}

Примечание: Гр. – группа: 1 – больные с благоприятным исходом РГП, 2 – больные с неблагоприятным исходом РГП; * – статистически значимые различия с показателями контрольной группы (* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001); [#] – статистически значимые различия между показателями больных с благоприятным и неблагоприятным исходом РГП ([#] – p<0,05, ^{##} – p<0,01, ^{###} – p<0,001).

Note: Gr. – group: 1 – patients with favorable Day outcome, 2 – patients with unfavorable WPP outcome; * – significant differences compared to control group (* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001); [#] – significant differences between compared parameters in patients with favorable vs. unfavorable WPP outcome ([#] – p<0,05, ^{##} – p<0,01, ^{###} – p<0,001).

Таблица 2. Содержание В-лимфоцитов с экспрессией CD23 у больных РГП в динамике послеоперационного периода (Me, (Q₁ – Q₃))

Table 2. Frequency of CD23-positive peripheral blood B-lymphocytes in patients with WPP during postoperative period (Me, (Q₁ – Q₃))

Показатели Parameters	Гр. Gr.	Контроль Control	Дооперационный период Preoperative period	7 сутки после операции Day 7 after surgery	14 сутки после операции Day 14 after surgery	21 сутки после операции Day 21 after surgery
CD19 ⁺ , 10 ⁹ /L	1	0,23 (0,17 – 0,30)	0,12 (0,07 – 0,22)**	0,12 (0,08 – 0,20)***	0,09 (0,07 – 0,18)**	0,09 (0,07 – 0,14)**
	2		0,12 (0,08 – 0,16)**	0,18 (0,12 – 0,24)	0,15 (0,10 – 0,20)	0,17 (0,13 – 0,20) [#]
CD19 ⁺ CD23 ⁺ , %	1	12,6 (10,4 – 17,9)	8,2 (5,7 – 16,2)	7,4 (5,2 – 8,7)**	5,1 (3,7 – 8,0)**	4,3 (1,9 – 7,4)**
	2		11,1 (3,2 – 26,8)	24,7 (13,3 – 33,7)* ^{##}	10,7 (7,1 – 14,8) [#]	13,3 (10,4 – 17,3) ^{##}
CD19 ⁺ CD27 ⁻ CD23 ⁺ , %	1	10,6 (7,1 – 12,2)	8,4 (5,7 – 14,3)	6,6 (5,1-7,4)*	4,1 (3,2 – 5,3)**	2,9 (1,6 – 4,9)**
	2		9,5 (5,4 – 22,8)	22,8 (18,7 – 27,9)* ^{###}	12,0 (4,7 – 15,3) [#]	11,8 (7,3 – 13,4) ^{##}
CD19 ⁺ CD27 ⁺ CD23 ⁺ , %	1	2,0 (1,4 – 4,6)	1,0 (0,4 – 1,4)**	1,2 (0,7 – 2,1)	1,0 (0,4 – 2,4)	1,2 (0,3 – 2,6)
	2		2,1 (0,6 – 3,1)	2,0 (1,1 – 2,8)	1,5 (1,1 – 2,0)	1,5 (1,0 – 2,1)

CD19 ⁺ CD5 ⁺	1	1,6 (1,0-3,8)	0,6 (0,3 – 1,7)*	0,5 (0,4 – 1,5)*	0,6 (0,4 – 0,9)**	1,0 (0,4 – 1,7)
CD23 ⁺ , %	2		1,5 (0,1 – 3,2) [#]	1,9 (1,0 – 2,4) [#]	0,6 (0,1 – 1,0)*	0,3 (0,2 – 0,9)**
CD19 ⁺ CD5 ⁻	1	10,2 (8,0-13,4)	7,6 (5,4 – 14,1)	5,0 (3,1 – 8,3)**	4,5 (3,2 – 7,2)**	3,6 (1,7 – 5,8)**
CD23 ⁺ , %	2		9,6 (3,1 – 22,6)	22,6 (12,0 – 31,3)* ^{###}	10,1 (6,5 – 13,5) ^{##}	13,0 (9,0 – 15,8) ^{###}

Примечание: то же, что и для табл. 1.

Note: Footnotes are similar to those shown by Table 1.

МЕТАДАННЫЕ**Ответственный за переписку:**

Кудрявцев Игорь Владимирович, к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия; Kudryavtsev Igor Vladimirovich, PhD (Biology), Senior Research Associate, department of immunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine" (FSBSI "IEM"), St.Petersburg, Russian Federation.

Почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках) – 197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, St. Petersburg, acad. Pavlov str., 12, Scientific Research Institute of Experimental Medicine

Телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail. –
+7-812-234-29-29, igorek1981@yandex.ru

Соавторы:

Беленюк Василий Дмитриевич, младший научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера».

Belenjuk Vasilij Dmitrievich, Jr. researcher of the cellular-molecular physiology and pathology laboratory of the 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.

B-LYMPHOCYTES AT THE PERITONITIS

Адрес: 660022, Россия, Красноярский край, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г. Институт медицинских проблем Севера.

660022, Russia, Krasnoyarsk region, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznjaka str., 3G. Scientific Research Institute of medical problems of the North.

Савченко Андрей Анатольевич, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», профессор кафедры медицинской биологии ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет».

Savchenko Andrei Anatyevich, doctor of medicine, professor, head of the cellular-molecular physiology and pathology laboratory of the 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, professor of the medical biology department of the Siberian Federal University.

Адрес: 660022, Россия, Красноярский край, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г. Институт медицинских проблем Севера.

660022, Russia, Krasnoyarsk region, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznjaka str., 3G. Scientific Research Institute of medical problems of the North.

Борисов Александр Геннадьевич, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера».

Borisov Alexandr Gennadyevich, PhD, leading researcher of the cellular-molecular physiology and pathology laboratory of the 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.

Адрес: 660022, Россия, Красноярский край, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г. Институт медицинских проблем Севера.

660022, Russia, Krasnoyarsk region, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznjaka str., 3G. Scientific Research Institute of medical problems of the North.

Название статьи: Особенности фенотипа В-лимфоцитов крови в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита.

12 л., 2 табл.

Раздел: Оригинальная статья

Дата отправки:

Авторы:

Беленюк Василий Дмитриевич

Савченко Андрей Анатольевич

Борисов Александр Геннадьевич

Кудрявцев Игорь Владимирович

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

**ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА В-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДА РАСПРОСТРАНЕННОГО ГНОЙНОГО
ПЕРИТОНИТА**

**CIRCULATING B CELL SUBSETS PHENOTYPES ARE ASSOCIATED
WITH CLINICAL OUTCOME OF WIDESPREAD PURULENT
PERITONITIS**

¹Беленюк Василий Дмитриевич (м.н.с.), ^{1,2}Савченко Андрей Анатольевич (д.м.н., профессор, руководитель лаборатории), ¹Борисов Александр Геннадьевич (к.м.н., в.н.с.), ³Кудрявцев Игорь Владимирович (к.б.н., с.н.с.)

¹Belenjuk Vasilij Dmitrievich (junior researcher), ^{1,2}Savchenko Andrei Anatolyevich (doctor of medicine, professor, head of the laboratory), ¹Borisov Alexandr Gennadyevich (PhD, leading researcher), ³Kudryavcev Igor Vladimirovich (PhD, senior researcher)

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

²ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия;

³ФГБНУ «НИИ экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия (197376, Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12);

¹Laboratory of the Cellular Molecular Physiology and Pathology of the 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, Russia (660022, Krasnoyarsk, P. Geleznyaka street, 3G);

²Department of Medical Biology of the Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia (660041, Krasnoyarsk, avenue Svobodniy, 79/10);

³Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia (197376, St. Petersburg, Academician Pavlov Str., 12);

Сокращенное название: В-лимфоциты при перитоните

B-lymphocytes at the peritonitis

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит; В-лимфоциты; CD23; послеоперационный период; исход заболевания; иммунофенотипирование.

Key words: widespread purulent peritonitis; B cell; CD23 expression; postoperative period; outcome of the disease; immunophenotyping.

Адрес для переписки: 197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Кудрявцеву И.В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
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. <i>Pirogov Russian Journal of Surgery</i> , 2015, no. 1, pp. 54-57.	https://doi.org/10.17116/hirurgia2015154-57
2	Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шести-цветного 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. <i>Medical Immunology</i> , 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 19-26.	http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2015-1-19-26
3	Савченко А.А., Борисов А.Г., Здзитовецкий Д.Э., Кудрявцев И.В. Состояние клеточного и гуморального иммунитета в зависимости от исхода распространенного гнойного перитонита // Инфекция и иммунитет. 2015, Т. 5, № 1, С. 63-70.	Savchenko A.A., Borisov A.G., Zdzitoveckij D.E., Kudryavtsev I.V. The cellular and humoral immunity state depending on the outcome of a widespread purulent peritonitis. <i>Russian Journal of Infection and Immunity</i> , 2015, Vol. 5, no. 1, pp. 63-70.	https://doi.org/10.15789/2220-7619-2015-1-63-70
4	Савченко А.А., Гвоздев И.И., Борисов	Savchenko A.A., Gvozdev I.I., Borisov	https://doi.org/

	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. <i>Инфекция и иммунитет</i> 2017, Т. 7, № 1, С. 51–60.	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. <i>Russian Journal of Infection and Immunity</i> , 2017, Vol. 7, no. 1, pp. 51-60.	10.15789/2220-7619-2017-1-51-60
5	Савченко А.А., Здзитовецкий А.Г., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания // <i>Вестник Российской академии медицинских наук</i> , 2014, № 4-5, С. 23-28.	Savchenko A.A., Zdzitovetskiy D.E., Borisov A.G., Luzan N.A. Chemiluminescent and Enzyme Activity of Neutrophils in Patients with Widespread Purulent Peritonitis Depending on the Outcome of Disease. <i>Annals of the Russian academy of medical sciences</i> , 2014, no. 4-5, pp. 23-28.	doi: 10.15690/vramn.v69i5-6.1039
6	Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Грищенко Н.В., Рябчиков Д.А., Гривцова Л.Ю., Базин И.С., Тупицын Н.Н. Ключевая роль популяций В1-лимфоцитов в иммунном ответе у больных раком желудка // <i>Российский</i>	Chulkova S.V., Sholokhova E.N., Grishchenko N.V., Ryabchikov D.A., Gritsova L.Y., Bazin I.S., Tupitsyn N.N. The role of B-1 lymphocytes in antitumor immunity in patients with gastric cancer. <i>Rossiysky</i>	doi: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-64-70

	биотерапевтический журнал, 2018, Т. 17, № 4, С. 64-70.	<i>Bioterapevtichesky Zhurnal, Vol. 17, no. 4, pp. 64-70.</i>	
7		Bisht N., Khatri V., Chauhan N., Kalyanasundaram R. Cystatin from Filarial Parasites Suppress the Clinical Symptoms and Pathology of Experimentally Induced Colitis in Mice by Inducing T-Regulatory Cells, B1-Cells, and Alternatively Activated Macrophages. <i>Biomedicines, 2019, Vol. 7, no. 4, pii: E85.</i>	doi: 10.3390/biomedicines7040085
8		Brook A.C., Jenkins R.H., Clayton A., Kift-Morgan A., Raby A.C., Shephard A.P., Mariotti B., Cuff S.M., Bazzoni F., Bowen T., Fraser D.J., Eberl M. Neutrophil-derived miR-223 as local biomarker of bacterial peritonitis. <i>Sci. Rep., 2019, Vol. 9, no. 1, pp. 10136.</i>	doi: 10.1038/s41598-019-46585-y
9		Chen L., Ishigami T., Nakashima-Sasaki R., Kino T., Doi H., Minegishi S., Umemura S. Commensal Microbe-specific Activation of B2 Cell Subsets Contributes to Atherosclerosis Development Independently of Lipid Metabolism. <i>EBioMedicine, 2016, Vol. 13, pp. 237-247.</i>	doi: 10.1016/j.ebiom.2016.10.030

10		de Souza Costa M., Teles R.H.G., Dutra Y.M., Neto J.C.R.M., de Brito T.V., de Sousa Nunes Queiroz F.F., do Vale D.B.N., de Souza L.K.M., Silva I.S., Dos Reis Barbosa A.L., Medeiros J.R., Parizotto N.A., de Carvalho Filgueiras M. Photobiomodulation reduces neutrophil migration and oxidative stress in mice with carrageenan-induced peritonitis. <i>Lasers Med. Sci.</i> , 2018, Vol. 33, no. 9, pp. 1983-1990.	doi: 10.1007/s10103-018-2569-7
11		Ding W., Wang K., Liu B., Fan X., Wang S., Cao J., Wu X., Li J. Open Abdomen Improves Survival in Patients With Peritonitis Secondary to Acute Superior Mesenteric Artery Occlusion. <i>J. Clin. Gastroenterol.</i> , 2017, Vol. 51, no. 9, pp. e77-e82.	doi: 10.1097/MCG.0000000000000799
12		Elfessi Z., Liu E., Dukarevich Y., Caniff K., Marquez K., Shabbir Z. Sepsis induced bacterial peritonitis caused by <i>Granulicatella adiacens</i> . <i>Am. J. Emerg. Med.</i> , 2019, Vol. 37, no. 12, pp. 2263.e1-2263.e3.	doi: 10.1016/j.ajem.2019.158428
13		Jégouzo S.A.F., Feinberg H., Morrison	doi: 10.1074/jbc.

		A.G., Holder A., May A., Huang Z., Jiang L., Lasanajak Y., Smith D.F., Werling D., Drickamer K., Weis W.I., Taylor M.E. CD23 is a glycan-binding receptor in some mammalian species. <i>J. Biol. Chem.</i> , Vol. 294, no. 41, pp. 14845-14859.	RA119.010572
14		Mačiulienė A., Maleckas A., Kriščiukaitis A., Mačiulis V., Vencius J., Macas A. Predictors of 30-Day In-Hospital Mortality in Patients Undergoing Urgent Abdominal Surgery Due to Acute Peritonitis Complicated with Sepsis. <i>Med. Sci. Monit.</i> , 2019, Vol. 25, pp. 6331-6340.	doi: 10.12659/MSM.915435
15		Mai M., Stengel S., Al-Herwi E., Peter J., Schmidt C., Rubio I., Stallmach A., Bruns T. Genetic variants of TRAF6 modulate peritoneal immunity and the risk of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: A combined prospective-retrospective study. <i>Sci. Rep.</i> , 2017, Vol. 7, no. 1, pp. 4914.	doi: 10.1038/s41598-017-04895-z
16		Morris G., Puri B.K., Olive L., Carvalho A.F., Berk M., Maes M. Emerging role of innate B1 cells in the	doi: 10.1016/j.phrs.2019.104408

		pathophysiology of autoimmune and neuroimmune diseases: Association with inflammation, oxidative and nitrosative stress and autoimmune responses. <i>Pharmacol. Res.</i> , 2019, Vol. 148, 104408.	
17		Mustaffa-Kamal F., Liu H., Pedersen N.C., Sparger E.E. Characterization of antiviral T cell responses during primary and secondary challenge of laboratory cats with feline infectious peritonitis virus (FIPV). <i>BMC Vet. Res.</i> , 2019, Vol. 15, no. 1, pp. 165.	doi: 10.1186/s12917-019-1909-6
18		Nieto J.C., Sánchez E., Romero C., Román E., Poca M., Guarner C., Juárez C., Soriano G., Vidal S. Impaired innate immune response of leukocytes from ascitic fluid of patients with spontaneous bacterial peritonitis. <i>J. Leukoc. Biol.</i> , 2015, Vol. 98, no. 5, pp. 819-825.	doi: 10.1189/jlb.3AB0315-106R
19		Obi Y., Streja E., Mehrotra R., Rivara M.B., Rhee C.M., Soohoo M., Gillen D.L., Lau W.L., Kovesdy C.P., Kalantar-Zadeh K. Impact of Obesity on Modality Longevity, Residual	doi:10.1053/j.ajkd.2017.09.010

		Kidney Function, Peritonitis, and Survival Among Incident Peritoneal Dialysis Patients. <i>Am. J. Kidney Dis.</i> , 2018, Vol. 71, no. 6, pp. 802-813.	
20		Rauch P.J., Chudnovskiy A., Robbins C.S., Weber G.F., Etzrodt M., Hilgendorf I., Tiglao E., Figueiredo J.L., Iwamoto Y., Theurl I., Gorbatov R., Waring M.T., Chicoine A.T., Mouded M., Pittet M.J., Nahrendorf M., Weissleder R., Swirski F.K. Innate response activator B cells protect against microbial sepsis. <i>Science</i> , Vol. 335, no. 6068, pp. 597-601.	doi: 10.1126/science.1215173
21		Sjaastad F.V., Condotta S.A., Kotov J.A., Pape K.A., Dail C., Danahy D.B., Kucaba T.A., Tygrett L.T., Murphy K.A., Cabrera-Perez J., Waldschmidt T.J., Badovinac V.P., Griffith T.S. Polymicrobial Sepsis Chronic Immunoparalysis Is Defined by Diminished Ag-Specific T Cell-Dependent B Cell Responses. <i>Front Immunol.</i> , 2018, Vol. 9, pp. 2532.	doi: 10.3389/fimmu.2018.02532
22		Soares R.R., Antinarelli L.M.R., Abramo C., Macedo G.C., Coimbra	doi: 10.1080/20477724.2017.1308902

		E.S., Scopel K.K.G. What do we know about the role of regulatory B cells (Breg) during the course of infection of two major parasitic diseases, malaria and leishmaniasis? <i>Pathog. Glob. Health, 2017, Vol. 111, no. 3, pp. 107-115.</i>	
23		Soriano F.G., Barbeiro H.V., Barbeiro D.F. Inflammatory response: role of B1 cells. <i>Shock, 2013, Vol. 39, Suppl. 1, pp. 5-9.</i>	doi: 10.1097/SHK.0b013e31828fad82
24		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. <i>Cytometry B. Clin. Cytom., 2018, Vol. 94, no. 1, pp. 1-15.</i>	doi: 10.1002/cyto.b.21626
25		Tomasdottir V., Thorleifsdottir S., Vikingsson A., Hardardottir I., Freysdottir J. Dietary omega-3 fatty acids enhance the B1 but not the B2 cell immune response in mice with antigen-induced peritonitis. <i>J. Nutr. Biochem., 2014, Vol. 25, no. 2, pp. 111-117.</i>	doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.09.010

26		Wu E.K., Henkes Z.I., McGowan B., Bell R.D., Velez M.J., Livingstone A.M., Ritchlin C.T., Schwarz E.M., Rahimi H. TNF-Induced Interstitial Lung Disease in a Murine Arthritis Model: Accumulation of Activated Monocytes, Conventional Dendritic Cells, and CD21(+)/CD23(-) B Cell Follicles Is Prevented with Anti-TNF Therapy. <i>J. Immunol.</i> , 2019, Vol. 203, no. 11, pp. 2837-2849.	doi: 10.4049/jimmunol.1900473
27		Yesillik S., Agrawal S., Gollapudi S.V., Gupta S. Phenotypic Analysis of CD4+ Treg, CD8+ Treg, and Breg Cells in Adult Common Variable Immunodeficiency Patients. <i>Int. Arch. Allergy. Immunol.</i> , 2019, Vol. 180, no. 2, pp. 150-158.	doi: 10.1159/000501457
28		Yong L., Tang Y., Ren C., Liu M., Shen J., Hou X. B1 cells protect against <i>Schistosoma japonicum</i> -induced liver inflammation and fibrosis by controlling monocyte infiltration. <i>PLoS Negl. Trop. Dis.</i> , 2019, Vol. 13, no. 6, pp. e0007474.	doi: 10.1371/journal.pntd.0007474
29		Yu W., Yao D., Yu S., Wang X., Li X.,	doi: 10.1038/s41598-018-

		Wang M., Liu S., Feng Z., Chen X., Li W., Wang L., Liu W., Ma J., Yu L., Tong C., Song B., Cui Y. Protective humoral and CD4(+) T cellular immune responses of Staphylococcus aureus vaccine MntC in a murine peritonitis model. <i>Sci. Rep.</i> , 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 3580.	22044-y
--	--	--	---------