

УДК 616-001.1

DOI 10.34014/2227-1848-2025-4-106-117

ДИНАМИКА ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПОСЛЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ БЕДРА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.Х. Ланичева ¹, В.В. Семченко ², Л.В. Вихарева ³, Р.Р. Валеева ¹

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа, Россия;

² ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»,
г. Омск, Россия;

³ ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Тюмень, Россия

Механическая травма мягких тканей сопровождается изменениями в иммунной системе, что проявляется сдвигами в лимфоцитарном профиле крови. В остром периоде после высококинетического механического повреждения отмечается снижение относительного содержания CD4⁺-лимфоцитов-хелперов, CD8⁺-цитотоксических лимфоцитов и NK-лимфоцитов. Далее относительное содержание Т-лимфоцитов частично восстанавливается, но остается ниже контрольных значений, в то время как относительное содержание В-лимфоцитов восстанавливается до контрольных цифр. Это свидетельствует об угнетении Т-клеточного звена иммунитета и частичной компенсации В-клеточного звена.

Цель исследования. Изучить влияние механической травмы бедра белых крыс на относительное содержание лимфоцитов в крови, а также корреляцию между их типами и субпопуляциями в динамике.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 18 белых крысах-самцах с моделированной механической травмой бедра. Животных разделили на контрольную (n=6) и опытную (n=12) группы. Через 3 и 14 сут после травмы проводили забор крови и иммуноцитохимический анализ субпопуляций лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD56⁺) с использованием моноклональных антител. Статистическую обработку данных выполняли методами непараметрической статистики с представлением результатов в виде медианы и квартилей.

Результаты. Установлено, что через 3 сут после механической травмы бедра в крови белых крыс происходило снижение относительного содержания Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-хелперов, NK-лимфоцитов и В-лимфоцитов. Через 14 сут после травмы наблюдалось увеличение содержания Т-хелперов, NK-лимфоцитов и Т-цитотоксических лимфоцитов по сравнению с данными, полученными на 3-и сут, но значения оставались ниже контрольных, в то время как В-клеточное звено восстанавливалось до контрольного уровня. Изменение относительного содержания иммунокомпетентных клеток лимфоцитарного профиля (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD56⁺) сопровождалось реорганизацией стохастических связей между ними: формировались новые положительные связи между относительным содержанием В-лимфоцитов, Т-цитотоксических лимфоцитов и NK-лимфоцитов, не наблюдавшиеся в контрольной группе.

Выводы. Обнаруженные нами сдвиги в лимфоцитарном профиле крови отражают системные реактивные изменения иммунной системы в ответ на механическое повреждение мягких тканей бедра у экспериментальных животных. Увеличение Т-лимфоцитопении свидетельствует о нарушении взаимодействия иммунорегуляторных клеток, а зафиксированное резкое уменьшение относительного содержания субпопуляции лимфоцитов с цитотоксическим действием (NK-клеток) в остром периоде (по прошествии 3 сут) после механической травмы может стать патогенетическим основанием для снижения иммунологической резистентности.

Ключевые слова: механическая травма, кровь, CD4⁺-лимфоциты хелперы, CD8⁺-цитотоксические лимфоциты, CD19⁺-В-лимфоциты, CD56⁺-NK-лимфоциты.

Введение. Механическая травма приводит к нарушению регуляции как врожденных,

так и адаптивных иммунных реакций, что подвергает раненых людей риску развития отсро-

ченных нарушений, включая замедленное заживление ран, развитие воспаления, сепсис, синдром полиорганной дисфункции и острый респираторный дистресс-синдром, которые определяют повышенную заболеваемость, инвалидизацию и смертность [1–3]. Механизмы, с помощью которых развиваются эти осложнения, сложны и включают дисбаланс иммунной системы, приводящий к выраженному системному воспалению, вызванному интенсивным образованием иммуномодифицирующих агентов при повреждении мягких тканей [4–6].

Общим маркером для всех Т-лимфоцитов является молекулярный комплекс TCR-CD3⁺. Клетки, несущие этот комплекс, составляют в норме 60–80 % лимфоцитов крови. Среди них примерно 30–45 % – это CD4⁺-Т-хелперы, 40–75 % – CD8⁺-цитотоксические Т-клетки [7]. Субпопуляция CD4⁺CD8⁺ (DN-Т-лимфоциты) составляет лишь 1–3 % всех CD3⁺-Т-клеток [8, 9]. Кроме этого, около 5–20 % лимфоцитов крови – это NK-клетки, являющиеся важной частью врожденного иммунитета. Таким образом, TCR-CD3⁺-клетки доминируют среди всех лимфоцитов, но внутри этой популяции наблюдаются значительные вариации по субтипам; NK-лимфоциты также вносят значительный вклад в иммунологический профиль крови [10, 11].

Цель исследования. Изучить влияние механической травмы бедра белых крыс на относительное содержание лимфоцитов в крови, а также корреляцию между их типами и субпопуляциями в динамике.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на 18 белых половозрелых самцах беспородных крыс массой 180–200 г. Для моделирования механического повреждения бедра применяли усовершенствованную установку с падающим грузом, позволяющую воспроизводить высококинетическую травму мягких тканей [12]. Травму наносили в область правой задней конечности. Воздействие осуществлялось с помощью ударника с бойком, имеющим круглый наконечник диаметром 3 мм, по которому груз массой 10 кг падал с высоты 430 мм. Дополнительная ки-

нетическая энергия не прикладывалась. В результате формировалась открытая сквозная травма с нарушением целостности кожных покровов и мягких тканей, сопровождающаяся наружным кровоизлиянием; костная ткань при этом не травмировалась.

Все манипуляции с лабораторными животными проводились под эфирным наркозом и в соответствии с требованиями приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и санитарно-эпидемиологическими нормами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (утверждены постановлением главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51).

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 3 от 18.03.2021).

Распределение животных осуществлялось методом рандомизации с использованием генерации случайных чисел. Было сформировано 2 группы: контрольная (n=6) и опытная (крысы с индуцированной механической травмой, n=12). Животных содержали в идентичных условиях вивария с обеспечением стандартного рациона и свободного доступа к воде и корму. Летальных исходов в ходе эксперимента не наблюдалось.

Забор крови осуществляли из хвостовой вены в утренние часы через 3 и 14 сут после травмирования. Количество лейкоцитов в 1 л крови определяли по методу Шиллинга (четырёхпольная схема). Далее рассчитывали относительные показатели содержания отдельных типов и субпопуляций лимфоцитов. Для этого кровь, собранную в пробирки с антикоагулянтном, разбавляли физиологическим раствором и наслаивали на разделительную среду Ficoll P, после чего центрифугировали. Полученную фракцию лимфоцитов отмывали буфером PBS.

Типовой и субпопуляционный состав лимфоцитов оценивали с использованием панели моноклональных антител. Определяли экспрессию CD3⁺ (общие Т-лимфоциты), CD4⁺ (Т-хелперы), CD8⁺ (Т-цитотоксические лимфоциты), CD19⁺ (В-лимфоциты) и CD56⁺ (NK-клетки).

Для фиксации клеток предметные стекла с лунками предварительно обрабатывали 0,1 % раствором поли-L-лизина (Serva, Германия). На каждую лунку наносили 20 мкл клеточной суспензии (5×10^6 кл./мл) и инкубировали во влажной камере, фиксировали 70 % этанолом, после чего трехкратно промывали в фосфатном буфере PBS (по 5 мин). На подготовленные клетки наносили специфические моноклональные антитела к CD-маркерам (Dako, Дания) в разведении 1:100 (по 20 мкл на лунку), проводили инкубацию при комнатной температуре в течение 30 мин. После трехкратного промывания в PBS добавляли вторичные антитела (20 мкл, экспозиция 10 мин), затем – стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой (20 мкл, 10 мин). Окрашивание осуществляли с использованием 3-диаминобензидаина тетрагидрохлорида, приготовленного *ex tempore*, после чего образцы промывали дистиллированной водой и высушивали. Визуализацию CD-позитивных клеток выполняли с применением светового бинокулярного микроскопа Axio-scop (Carl Zeiss, Германия). Иммунопозитивные лимфоциты имели характерное коричневое окрашивание. Подсчет проводили в 20 полях зрения, определяя долю (%) CD-экспрессирующих клеток в контрольной группе, а также через 3 и 14 сут после травмы.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного пакета Statistica v.7.0 (StatSoft Inc., США).

Для подбора критериев проверки гипотез анализировали распределение переменных (критерии Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка) и их дисперсию. Ввиду огра-

ниченного объема выборки и отклонения распределений от нормального закона применяли методы непараметрической статистики. Сравнение независимых выборок (контроль, 3-и и 14-е сут после травмы) проводили по критерию Манна – Уитни. Корреляционные связи оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена ($R, p < 0,05$).

Для анализа взаимосвязей между параметрами использовались кластерный анализ и метод многомерного шкалирования, позволившие визуализировать многомерные данные и выявить структуру связей между переменными. Проверку адекватности моделей предсказания осуществляли посредством построения диаграммы Шепарда: расположение точек вдоль прямой указывало на корректность модели. Совмещение кластерного анализа с многомерным шкалированием позволило установить множественные зависимости между исследуемыми параметрами. Влияние независимых переменных (например, содержания В-лимфоцитов) на зависимую (Т-лимфоциты) оценивали методом линейной регрессии. Статистические показатели представлены в виде Me (Q1–Q3), где Me – медиана (Q2, 50 %), Q1 – нижний (25 %), Q3 – верхний (75 %) квартили. Критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Нами установлено, что через 3 сут после травмы в крови экспериментальных животных относительное содержание Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и NK-лимфоцитов статистически значимо уменьшалось (в разной степени) в сравнении с контрольными животными. Через 14 сут после травмы происходило полное восстановление относительного содержания В-лимфоцитов и частичное – остальных (рис. 1). То есть сохранялся выраженный дефицит всех изученных субпопуляций Т-лимфоцитов и NK-лимфоцитов, что свидетельствовало о признаках иммунодефицита после травмы.

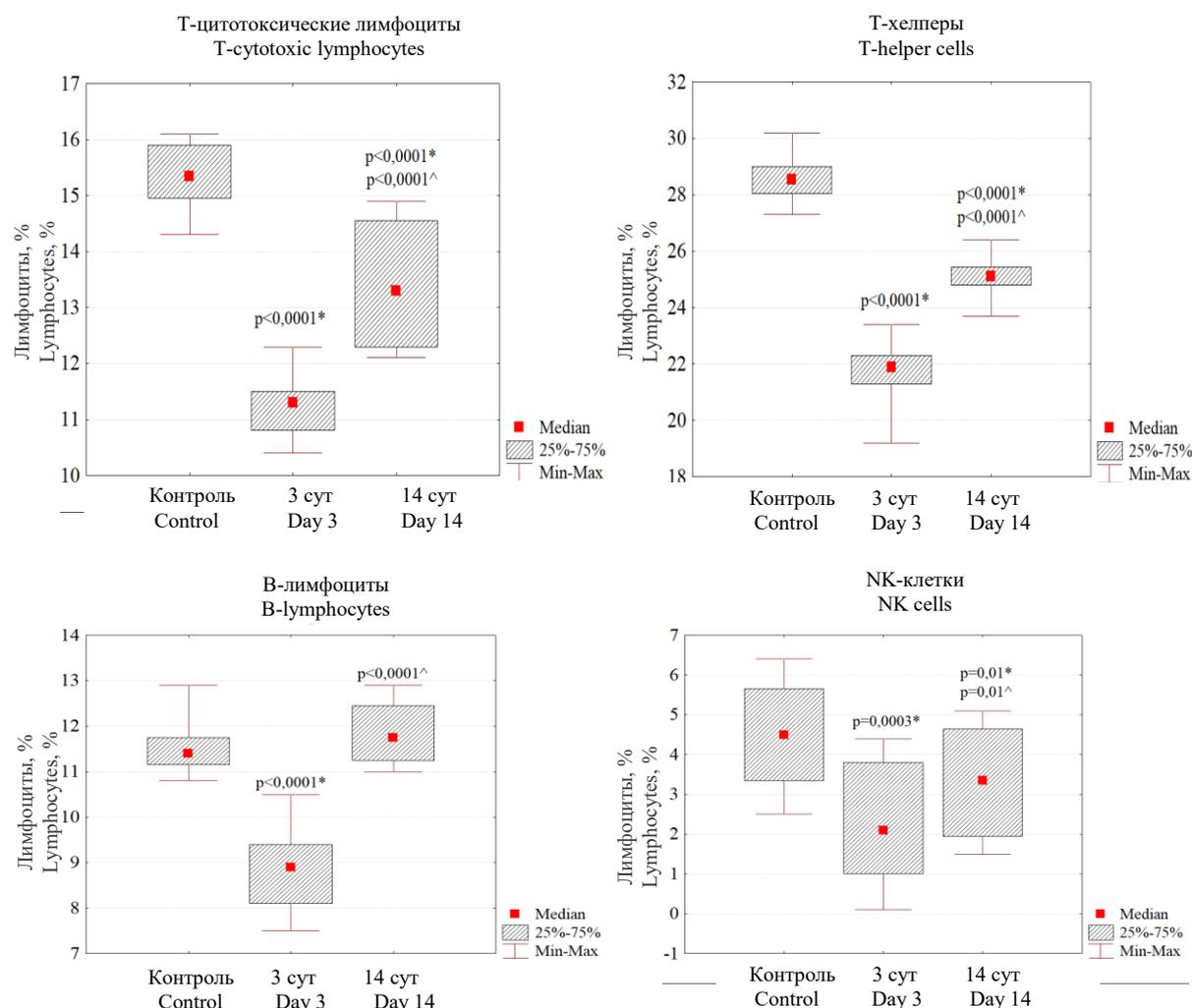


Рис. 1. Относительное содержание лимфоцитов (%) в крови белых крыс в контроле, через 3 и 14 сут после травмы (различия достоверны по сравнению с: * – контролем, ^ – показателями через 3 сут (критерий Манна – Уитни))

Fig. 1. Relative lymphocyte content (%) in the blood of white rats in the control, 3 and 14 days after injury (* – the differences are significant compared with the control, ^ – the differences are significant compared with the parameters 3 days after injury (Mann-Whitney test))

При анализе характера изменения пула иммунокомпетентных клеток крови большое значение имеет не только определение их абсолютного и относительного содержания, но и выявление парных и многомерных корреляционных связей. Нами установлено, что экспериментальная травма бедра изменяла структуру последних. Так, в контроле и через 3 сут после воздействия выявлено по одной паре разных связей между относительным содер-

жением В- и Т-лимфоцитов крови. Через 14 сут было обнаружено уже три пары сильных положительных связей между Т-, В- и NK-лимфоцитами (табл. 1). Это свидетельствует о посттравматической перестройке в системе клеточного и гуморального иммунитета организма к этому сроку. Увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов сопровождалось увеличением относительного содержания В- и NK-лимфоцитов.

Таблица 1
Table 1

Результаты парного корреляционного анализа независимых переменных, характеризующих относительное содержание лимфоцитов крови у крыс в посттравматическом периоде

Results of paired correlation analysis of independent variables characterizing the relative content of blood lymphocytes in rats in the post-traumatic period

Пары Pair	Valid	Spearman	t(N-2)	p-level
Контроль Control group				
Т-лимфоциты хелперы и В-лимфоциты T-helper lymphocytes & B-lymphocytes	20	-0,46	-2,18	0,043
3-и сут Day 3				
Т-цитотоксические лимфоциты и В-лимфоциты T-cytotoxic lymphocytes & B-lymphocytes	20	0,75	4,87	0,0001
14-е сут Day 14				
Т-цитотоксические лимфоциты и В-лимфоциты T-cytotoxic lymphocytes & B-lymphocytes	20	0,85	6,80	0,0000
Т-цитотоксические лимфоциты и NK-лимфоциты T-cytotoxic lymphocytes & NK-lymphocytes	20	0,88	7,69	0,0000
В-лимфоциты & NK-лимфоциты B-lymphocytes & NK-lymphocytes	20	0,83	6,27	0,0000

Более глубокий анализ взаимоотношений изученных независимых переменных проведен с помощью кластерного анализа и многомерного шкалирования (рис. 2).

На рис. 2 видно, что кластерные деревья и пространственное распределение точек при многомерном шкалировании в контроле и после травмы различаются. При этом полученные при кластерном анализе результаты подтверждались многомерным шкалированием (рис. 2), адекватность моделей которого подтверждена с помощью диаграммы Шепарда. Точки графика распределялись на ступенчатой линии (рис. 3).

Следовательно, парный корреляционный и кластерный анализы, а также метод многомерного шкалирования подтвердили предположение о влиянии травмы бедра на стохастические связи изученных переменных. Наибольшие изменения происходили через 14 сут

после травмы бедра. Объяснить данные результаты можно неравномерным изменением содержания разных типов и субпопуляций лимфоцитов.

По данным, полученным с помощью метода линейной регрессии, у животных через 3 сут после травмы увеличение относительного содержания В-лимфоцитов на 1,0 % сопровождалось ростом относительного содержания Т-цитотоксических лимфоцитов на 0,5 % ($p=0,0002$). Через 14 сут после травмы увеличение относительного содержания В-лимфоцитов на 1,0 % сопровождалось ростом относительного содержания Т-цитотоксических лимфоцитов на 1,5 % ($p=0,0000$), а NK-лимфоцитов – на 1,8 % ($p=0,0000$). Кроме этого, изменение относительного содержания NK-лимфоцитов на 1,0 % сопровождалось изменением относительного содержания Т-цитотоксических лимфоцитов на 0,82 % ($p=0,0000$).

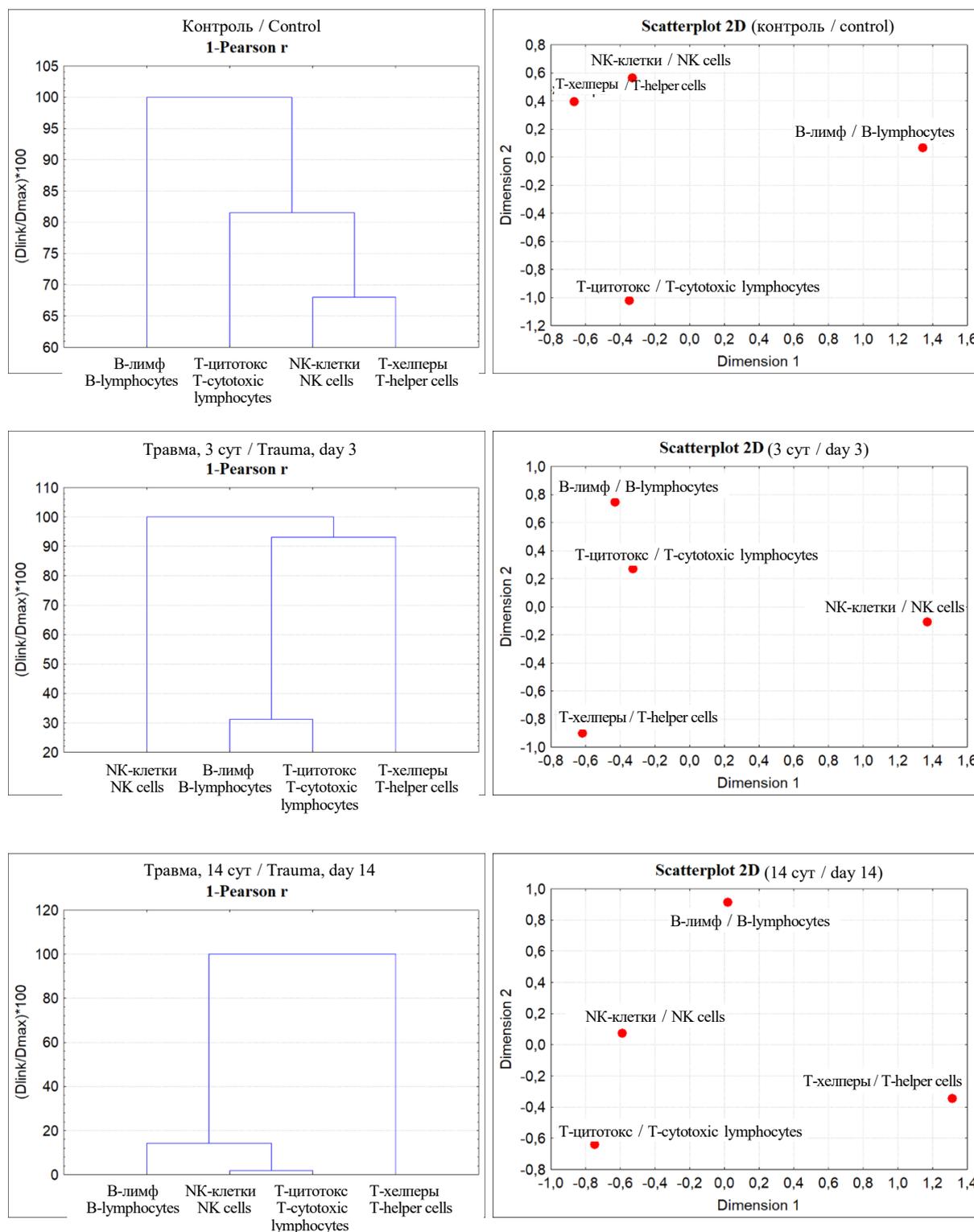


Рис. 2. Результаты кластерного анализа (кластерное дерево) и многомерного шкалирования (распределение в пространстве), проведенных на основе корреляционной матрицы четырех независимых переменных

Fig. 2. Results of cluster analysis (cluster tree) and multidimensional scaling (spatial distribution) based on the correlation matrix of four independent variables

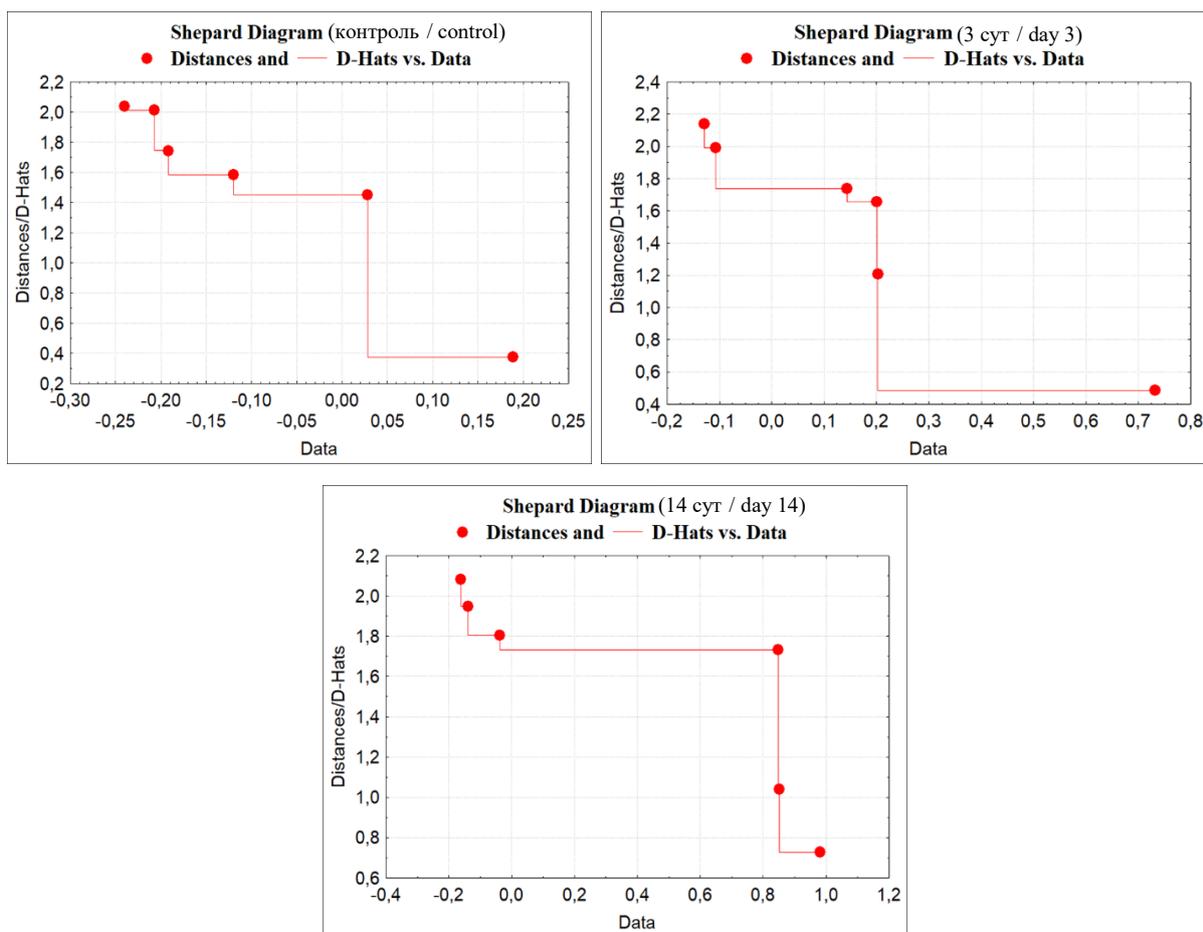


Рис. 3. Диаграммы Шепарда, используемые для проверки моделей многомерного шкалирования по четырем переменным

Fig. 3. Shepard diagrams for testing multidimensional scaling models based on four variables

Таким образом, при экстремальных состояниях относительное содержание иммунокомпетентных клеток крови изменяется и отражает трансформацию иммунного статуса организма. При этом происходит реорганизация стохастических связей между относительным содержанием разных типов и субпопуляций лимфоцитов, что позволяет количественно характеризовать регрессивные аспекты их взаимодействий. Кровь является тканью, в которую лимфоциты поступают из органов, прежде всего иммунной системы. Они циркулируют в ней в течение нескольких часов или суток, а затем мигрируют через сосуды микроциркуляторного русла в периваскулярную соединительную ткань, где и реализуют свои функции [13, 14].

Заключение. Лимфоциты выделяют разнообразные цитокины, включая интерлейкины, интерфероны и фактор некроза опухоли,

которые играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа и активируют другие иммунные клетки, участвуют в дифференцировке других лимфоцитов и управлении воспалительными процессами. Любое травматическое воздействие, вызывающее локальные изменения в балансе про- и противовоспалительных цитокинов, может привести к развитию асептического воспаления на локальном или системном уровнях [15, 16]. Это означает, что при травме активируются воспалительные механизмы, способствующие возникновению местного воспаления в поврежденной области и системного воспаления, затрагивающего весь организм. Провоспалительные цитокины, такие как интерлейкины (IL-1 и IL-6) и факторы некроза опухоли (TNF- α), играют ключевую роль в инициации и поддержании воспаления [17]. Они способствуют привлечению иммунных клеток к месту повреждения и активируют

процессы, направленные на восстановление тканей. Антивоспалительные цитокины, такие как IL-10 и трансформирующий фактор роста-бета (TGF- β), способствуют ограничению воспаления и стимулированию заживления. Несбалансированное взаимодействие про- и антивоспалительных цитокинов может привести к чрезмерной реакции воспаления, что в свою очередь может вызвать повреждение окружающих тканей и системные проявления [18]. Например, системное воспаление может сопровождаться такими признаками, как лихорадка, мышечная боль и ухудшение общего состояния пациента. Обострение системного воспаления может также привести к более серьезным осложнениям, включая сепсис и полиорганную недостаточность [19, 20].

Таким образом, понимание молекулярных и клеточных механизмов, сопутствующих травматическому воздействию, является ключевым для разработки эффективных стратегий лечения и профилактики воспалительных состояний. Травматический стресс, вызывающий асептическое системное воспаление, неизбежно приводит к реакции со стороны органов иммунной системы, что проявляется в изменении клеточного состава крови.

Обнаруженные нами сдвиги в лимфоцитарном профиле крови отражают системные реактивные изменения иммунной системы в ответ на механическое повреждение мягких тканей бедра у экспериментальных животных. Через 3 сут после воздействия наблюдается снижение относительного содержания CD4⁺-лимфоцитов-хелперов, CD8⁺-цитотоксических лимфоцитов и NK-лимфоцитов. Через 14 сут наблюдения относительное содержание различных субпопуляций Т-лимфоцитов частично восстанавливается, но остается ниже контрольных значений. Относительное содержание В-лимфоцитов в этот период достигает уровня контроля. Это указывает на угнетение Т-клеточного звена иммунитета и частичную компенсацию В-клеточного звена. Увеличение Т-лимфоцитопении свидетельствует о нарушении взаимодействия иммунорегуляторных клеток, а зафиксированное резкое уменьшение относительного содержания субпопуляции лимфоцитов с цитотоксическим действием (NK-клеток) в остром периоде (по прошествии 3 сут) после механической травмы может стать патогенетическим основанием для снижения иммунологической резистентности.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: Ланичева А.Х., Семченко В.В.

Литературный поиск, участие в исследовании, обработка материала: Ланичева А.Х., Валеева Р.Р.

Статистическая обработка данных: Ланичева А.Х.

Анализ и интерпретация данных: Ланичева А.Х., Семченко В.В.,

Вихарева Л.В., Валеева Р.Р.

Написание и редактирование текста: Ланичева А.Х., Семченко В.В.,

Вихарева Л.В., Валеева Р.Р.

Литература

1. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Толоян А.А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа). Медицинская иммунология. 2009; 11 (2-3): 227–238. DOI: 10.15789/1563-0625-2009-2-3-227-238.
2. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. The Lancet Infectious Diseases. 2013; 13 (3): 260–268. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70001-X.

3. Lord J.M., Midwinter M.J., Chen Y.F., Belli A., Brohi K., Kovacs E.J., Koenderman L., Kubes P., Liford R.J. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *The Lancet*. 2014; 384 (9952): 1455–1465. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60687-5.
4. Бородин Ю.И., Ананько Г.Г., Балабанова Л.А., Белогуров А.Ю. Функциональная морфология иммунной системы. Новосибирск: Наука; 1987. 120.
5. Rossaint J., Zarbock A. Pathogenesis of Multiple Organ Failure in Sepsis. *Critical Reviews in Immunology*. 2015; 35 (4): 277–291. DOI: 10.1615/critrevimmunol.2015015461.
6. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464 (7285): 104–107. DOI: 10.1038/nature08780.
7. Smith-Garvin J.E., Koretzky G.A., Jordan M.S. T cell activation. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27: 591–619. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132706.
8. Fischer K., Voelkl S., Heymann J., Przybylski G.K., Mondal K., Laumer M., Kunz-Schughart L., Schmidt C.A., Andreesen R., Mackensen A. Isolation and characterization of human antigen-specific TCR alpha beta+ CD4(-)CD8- double-negative regulatory T cells. *Blood*. 2005; 105 (7): 2828–2835. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2583.
9. Zhu H.R., Wei Y.B., Guo J.Q., Liu X.F. Double-negative T cells with a distinct transcriptomic profile are abundant in the peripheral blood of patients with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2024; 209 (1): 103–115. DOI: 10.1007/s10549-024-07477-6.
10. Jameson S.C., Masopust D. Understanding subset diversity in T cell immunity. *Immunity*. 2018; 48 (2): 214–226. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.02.010.
11. Vivier E., Tomasello E., Baratin M., Walzer T., Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nature Immunology*. 2008; 9 (5): 503–510. DOI: 10.1038/ni1582.
12. Ланичева А.Х., Семченко В.В., Мурзабаев Х.Х., Имаева А.К. Патент РФ № 2807925; 2023.
13. Яриц Ю.И. Интерпретация результатов иммунограммы. Гомель: ГУ РНПИ РМ и ЭЧ; 2020. 38.
14. Одинова И.А., Капустин В.И., Смирнов А.В., Белова О.В. Внутридифферонная гетероморфия тканевых базофилов в регенерационном гистогенезе. *Известия Российской военной-медицинской академии*. 2020; 39 (3): 115–119.
15. Wang H., Ma L., Su W., Liu Y., Xie N., Liu J., Xie N., Liu J. NLRP3 inflammasome in health and disease (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2025; 55 (3): 48. DOI: 10.3892/ijmm.2025.5489.
16. Голубев А.М., Шифман Э.М., Абакумов М.М. Синдром системного воспалительного ответа: современные представления о патогенезе и подходах к терапии (обзор). *Общая реаниматология*. 2020; 16 (1): 4–20.
17. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов. *Медицинская иммунология*. 2001; 3 (3): 361–368.
18. Новицкий В.В., Гольдберг Е.Д., Уразова О.И. Патофизиология: учебник. В 2 т. Т. 1. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. 848.
19. Speer K., Upton D., Semple S., McKune A. Systemic low-grade inflammation in post-traumatic stress disorder: a systematic review. *Journal of Inflammation Research*. 2018; 11: 111–121. DOI: 10.2147/JIR.S155903.
20. Исаева Р.Х., Антонюк И.А., Гридякина А.В., Евстафьева А.Е. Иммунологические изменения при черепно-мозговой травме. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014; 8-2: 41–47. URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=5579> (дата обращения: 17.11.2025).

Поступила в редакцию 20.10.2025; принята 17.11.2025.

Авторский коллектив

Ланичева Альбина Хамитовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 435008, Россия, г. Уфа, ул. Ленина, 3; e-mail: lanichevaa@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-0550-2760>.

Семченко Валерий Васильевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Омский государственный

агарный университет имени П.А. Столыпина». 644008, Россия, г. Омск, Институтская площадь, 1; e-mail: ivm_omgau_gistology@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0006-8933-9618>.

Вихарева Лариса Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой топографической анатомии и оперативной хирургии, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, 54; e-mail: vikharevalv@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/000-0002-5931-3648>.

Валеева Рената Руслановна – студентка, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 435008, Россия, г. Уфа, ул. Ленина, 3; e-mail: valeeva_renata_02@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-5189-6801>.

Образец цитирования

Ланичева А.Х., Семченко В.В., Вихарева Л.В., Валеева Р.Р. Динамика относительного содержания лимфоцитов крови после механической травмы бедра в эксперименте. Ульяновский медико-биологический журнал. 2025; 4: 106–117. DOI: 10.34014/2227-1848-2025-4-106-117.

DYNAMICS OF THE RELATIVE BLOOD LYMPHOCYTE COUNT AFTER MECHANICAL FEMORAL TRAUMA IN THE EXPERIMENT

A.Kh. Lanicheva ¹, V.V. Semchenko ², L.V. Vikhareva ³, R.R. Valeyeva ¹

¹ Bashkir State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Ufa, Russia;

² Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Omsk, Russia;

³ Tyumen State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Tyumen, Russia

Mechanical soft tissue trauma is accompanied by changes in the immune system, which are manifested by shifts in the blood lymphocyte profile. In the acute period following high-kinetic mechanical trauma, a decrease in the relative proportions of CD4+ helper lymphocytes, CD8+ cytotoxic lymphocytes, and NK lymphocytes is observed. Subsequently, the relative T-lymphocyte count partially recovers but remains below control values, while the relative B-lymphocyte count returns to control levels. This indicates suppression of the T-cell component of immune system and partial compensation of the B-cell one.

Objective. The study examines the effect of mechanical femoral trauma in white rats on the relative blood lymphocyte count, and the correlation between lymphocyte types and subpopulations over time.

Materials and Methods. The experiment was conducted on 18 male albino rats with simulated mechanical femoral trauma. The animals were divided into control (n=6) and experimental (n=12) groups. Blood samples were collected 3 and 14 days after the trauma, and immunocytochemical analysis of lymphocyte subpopulations (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD56+) was performed using monoclonal antibodies. Statistical data processing was carried out using nonparametric statistical methods, with results presented as median and quartiles.

Results. It was established that 3 days after mechanical femoral trauma, there was a decrease in the relative count of T-cytotoxic lymphocytes, T-helpers, NK-lymphocytes, and B-lymphocytes in the blood of white rats. Fourteen days after the trauma, an increase in T-helpers, NK-lymphocytes, and T-cytotoxic lymphocytes was observed, compared to the data obtained on day 3. Still, these values remained below the baseline, while B-cells were restored to the control level. The change in the relative content of immunocompetent cells of the lymphocytic profile (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD56+) was accompanied by a reorganization of stochastic relations between them. New positive correlations formed between the relative count of B-lymphocytes, T-cytotoxic lymphocytes, and NK-lymphocytes, which were not observed in the control group.

Conclusion. The shifts we observed in the blood lymphocyte profile reflect systemic reactive changes in the immune system in response to mechanical soft tissue femoral trauma in experimental animals. An increase in T-lymphocytopenia indicates a disruption in the interaction of immunoregulatory cells. The recorded sharp decrease in the relative count of the lymphocyte subpopulation with cytotoxic effect (NK cells) in the acute period (after 3 days) following mechanical trauma may provide a pathogenetic basis for a decrease in immunological resistance.

Key words: mechanical trauma, blood, CD4+-helper lymphocytes, CD8+-cytotoxic lymphocytes, CD19+-B-lymphocytes, CD56+-NK-lymphocytes.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Author contributions

Research concept and design: Lanicheva A.Kh., Semchenko V.V.

Literature search, participation in the study, and data processing: Lanicheva A.Kh.,

Valeyeva R.R.

Statistical data processing: Lanicheva A.Kh.

Data analysis and interpretation: Lanicheva A.Kh., Semchenko V.V.,

Vikhareva L.V., Valeyeva R.R.

Text writing and editing: Lanicheva A.Kh., Semchenko V.V.,

Vikhareva L.V., Valeyeva R.R.

References

1. Khaydukov S.V., Zurochka A.V., Totolyan A.A., Chereshev V.A. Osnovnyye i malyye populyatsii limfotsitov perifericheskoy krovi cheloveka i ikh normativnyye znacheniya (metodom mnogotsvetnogo tsitometricheskogo analiza) [Major and minor populations of human peripheral blood lymphocytes and their reference values, as assayed by multicolor cytometry]. *Meditinskaya immunologiya*. 2009; 11 (2-3): 227–238. DOI: 10.15789/1563-0625-2009-2-3-227-238 (in Russian).
2. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013; 13 (3): 260–268. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70001-X.
3. Lord J.M., Midwinter M.J., Chen Y.F., Belli A., Brohi K., Kovacs E.J., Koenderman L., Kubes P., Lifford R.J. The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *The Lancet*. 2014; 384 (9952): 1455–1465. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60687-5.
4. Borodin Yu.I., Anan'ko G.G., Balabanova L.A., Belogurov A.Yu. *Funktsional'naya morfologiya immunnoy sistemy* [Functional morphology of the immune system]. Novosibirsk: Nauka; 1987. 120 (in Russian).
5. Rossaint J., Zarbock A. Pathogenesis of Multiple Organ Failure in Sepsis. *Critical Reviews in Immunology*. 2015; 35 (4): 277–291. DOI: 10.1615/critrevimmunol.2015015461.
6. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464 (7285): 104–107. DOI: 10.1038/nature08780.
7. Smith-Garvin J.E., Koretzky G.A., Jordan M.S. T cell activation. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27: 591–619. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132706.
8. Fischer K., Voelkl S., Heymann J., Przybylski G.K., Mondal K., Laumer M., Kunz-Schughart L., Schmidt C.A., Andreesen R., Mackensen A. Isolation and characterization of human antigen-specific TCR alpha beta+ CD4(-)CD8- double-negative regulatory T cells. *Blood*. 2005; 105 (7): 2828–2835. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2583.
9. Zhu H.R., Wei Y.B., Guo J.Q., Liu X.F. Double-negative T cells with a distinct transcriptomic profile are abundant in the peripheral blood of patients with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2024; 209 (1): 103–115. DOI: 10.1007/s10549-024-07477-6.
10. Jameson S.C., Masopust D. Understanding subset diversity in T cell immunity. *Immunity*. 2018; 48 (2): 214–226. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.02.010.
11. Vivier E., Tomasello E., Baratin M., Walzer T., Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nature Immunology*. 2008; 9 (5): 503–510. DOI: 10.1038/ni1582.
12. Lanicheva A.Kh., Semchenko V.V., Murzabayev K.H.KH., Imayeva A.K. *Patent RF № 2807925; 2023* (in Russian).
13. Yarits Yu.I. *Interpretatsiya rezul'tatov immunogrammy* [Interpretation of immunogram results]. Gomel': GU RNPI RM i ECH; 2020. 38 (in Russian).
14. Odintsova I.A., Kapustin V.I., Smirnov A.V., Belova O.V. Vnutridifferonnaya geteromorfija tkanevykh bazofilov v regeneratsionnom gistogeneze [Intradifferential heteromorphy of tissue basophils in regenerative histogenesis]. *Izvestiya Rossiyskoy voyenno-meditinskoy akademii*. 2020; 39 (3): 115–119 (in Russian).
15. Wang H., Ma L., Su W., Liu Y., Xie N., Liu J., Xie N., Liu J. NLRP3 inflammasome in health and disease (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2025; 55 (3): 48. DOI: 10.3892/ijmm.2025.5489.

16. Golubev A.M., Shifman E.M., Abakumov M.M. Sindrom sistemnogo vospalitel'nogo otveta: sovremennyye predstavleniya o patogeneze i podkhodakh k terapii (obzor) [Systemic inflammatory response syndrome: Current understanding of pathogenesis and approaches to therapy (review)]. *Obshchaya reanimatologiya*. 2020; 16 (1): 4–20 (in Russian).
17. Chereshev V.A., Gusev E.Yu. Immunologiya vospaleniya: rol' tsitokinov [Immunology of inflammation: Role of cytokines]. *Meditsinskaya immunologiya*. 2001; 3 (3): 361–368 (in Russian)
18. Novitskiy V.V., Gol'dberg E.D., Urazova O.I. Patofiziologiya: uchebnik [Pathophysiology: textbook]. V 2 t. T. 1. Moscow.: G·EOTAR-Media; 2009. 848 (in Russian).
19. Speer K., Upton D., Semple S., McKune A. Systemic low-grade inflammation in post-traumatic stress disorder: a systematic review. *Journal of Inflammation Research*. 2018; 11: 111–121. DOI: 10.2147/JIR.S155903.
20. Isayeva R.Kh., Antonyuk I.A., Gridyakina A.V., Evstaf'eva A.E. Immunologicheskiye izmeneniya pri cherepno-mozgovoy travme [Immunological changes in traumatic brain injury]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2014; 8-2: 41–47. Available at: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=5579> (accessed: September 10, 2025) (in Russian).

Received October 20, 2025; accepted November 17, 2025.

Information about the authors

Lanicheva Al'bina Khamitovna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Histology, Bashkir State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation. 3 Lenin St., Ufa, 435008, Russia; e-mail: lanichevaa@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-0550-2760>.

Semchenko Valeriy Vasil'evich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Histology, Anatomy, Histology, Physiology and Pathological Anatomy, Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin. 644008, Russia, Omsk, Institutskaya Sq., 1; e-mail: ivm_omgau_gistology@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0006-8933-9618>.

Vikhareva Larisa Vladimirovna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of the Chair of Topographic Anatomy and Operative Surgery, Tyumen State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation. 625023, Russia, Tyumen, Odesskaya St., 54; e-mail: vikharevalv@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/000-0002-5931-3648>.

Valeyeva Renata Ruslanovna, Student, Bashkir State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation. 435008, Russia, Ufa, Lenin St., 3; e-mail: valeyeva_renata_02@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-5189-6801>.

For citation

Lanicheva A.Kh., Semchenko V.V., Vikhareva L.V., Valeyeva R.R. Dinamika otnositel'nogo sodержaniya limfotsitov krovi posle mekhanicheskoy travmy bedra v eksperimente [Dynamics of the relative blood lymphocyte count after mechanical femoral trauma in the experiment]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal*. 2025; 4: 106–117. DOI: 10.34014/2227-1848-2025-4-106-117 (in Russian).