

МЕДИЦИНА

MEDICINE

УДК 616.94-07:576.53.08:[611.018.5+611.018.83]
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-3-330-337>

Поступило в редакцию 31.03.2022

Received 31.03.2022

Академик Л. П. Титов¹, М. О. Трусевич¹, Ю. Л. Горбич²

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

**РОЛЬ КЛЕТОК СИСТЕМЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ
И РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ
В ФОРМИРОВАНИИ СОСТОЯНИЯ ИММУНОСУПРЕССИИ ПРИ СЕПСИСЕ**

Аннотация. Изучено изменение относительного и абсолютного содержания в крови пациентов с сепсисом и септическим шоком субпопуляций моноцитов, дендритных клеток, миелоидных супрессорных клеток, регуляторных Т-лимфоцитов на 3–4 день от постановки диагноза с целью оценки формирования стадии иммуносупрессии. Обследовано 33 пациента с сепсисом (19 мужчин и 14 женщин, возраст $57,1 \pm 19,9$ лет) и 6 пациентов с септическим шоком (2 мужчин и 4 женщины, возраст $49,3 \pm 19,6$ лет). Контрольная группа включала 30 здоровых доноров. Субпопуляции моноцитов, дендритных клеток, миелоидных супрессорных клеток и T_{reg} -клеток определяли методом проточной цитометрии. Выявлено достоверное снижение экспрессии HLA-DR на моноцитах, снижение относительного содержания классических моноцитов, миелоидных и плазматоидных дендритных клеток, увеличение процентного содержания промежуточных моноцитов и Γ -МЛСК CD15⁺, увеличение абсолютного содержания T_{reg} -клеток у пациентов с сепсисом и септическим шоком. Выявленные функциональные дефекты и сдвиги в составе популяции лейкоцитов указывают на развитие стадии иммуносупрессии у пациентов с сепсисом.

Ключевые слова: моноциты, дендритные клетки, миелоидные супрессорные клетки, T_{reg} -клетки, сепсис, септический шок

Для цитирования. Титов, Л. П. Роль клеток системы мононуклеарных фагоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов в формировании состояния иммуносупрессии при сепсисе / Л. П. Титов, М. О. Трусевич, Ю. Л. Горбич // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 3. – С. 330–337. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-3-330-337>

Academician Leonid P. Titov¹, Margarita O. Trusevich¹, Yuri L. Gorbich²

¹Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

**ROLE OF THE CELLS OF THE SYSTEM OF MONONUCLEAR PHAGOCYTES AND REGULATORY
T-LYMPHOCYTES IN THE FORMATION OF THE STATE OF IMMUNOSUPPRESSION IN SEPSIS**

Abstract. Sepsis still represents one of the leading causes of death in hospitalized patients worldwide, and its incidence is increasing. Changes in the relative and absolute blood levels of monocytes, dendritic cells, myeloid suppressor cells, and regulatory T-lymphocytes in the blood of patients with sepsis and septic shock were studied on the 3rd–4th day after diagnosis in order to identify the stage of immunosuppression. 33 patients with sepsis (19 men and 14 women, age 57.1 ± 19.9 years) and 6 patients with septic shock (2 men and 4 women, age 49.3 ± 19.6 years) were examined. The control group included 30 healthy donors. Subpopulations of monocytes, dendritic cells, myeloid suppressor cells, and T_{reg} cells were determined by flow cytometry. A significant decrease in HLA-DR expression on monocytes, a decrease in the relative content of classical monocytes, myeloid and plasmacytoid dendritic cells, an increase in the percentage of intermediate monocytes and G-MLSC CD15⁺, an increase in the absolute content of T_{reg} cells in patients with sepsis and septic shock were revealed. The revealed functional defects and shifts in the composition of the leukocyte population indicate the development of the stage of immunosuppression in patients with sepsis.

Keywords: monocytes, dendritic cells, myeloid suppressor cells, T_{reg} cells, sepsis, septic shock

For citation. Titov L. P., Trusevich M. O., Gorbich Y. L. Role of the cells of the system of mononuclear phagocytes and regulatory T-lymphocytes in the formation of the state of immunosuppression in sepsis. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 3, pp. 330–337 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-3-330-337>

Введение. Сепсис – синдром дисрегуляции защитных механизмов индивидуума, индуцированный внедрением бактерий, приводящий к системному воспалению, повреждению тканей, дисфункции жизненно важных органов, и является основной причиной заболеваемости и смертности пациентов отделений хирургии и интенсивной терапии [1]. В мире ежегодно регистрируется более 19,0 млн случаев тяжелого течения сепсиса и около 5,0 млн случаев смертей, ассоциированных с ним. В странах западной Европы заболеваемость сепсисом составляет 50–100 случаев на 100 000 населения. В Республике Беларусь предполагается до 2,5 тыс. больных сепсисом. Ежегодно сепсисом страдает более 3 млн новорожденных и 1,2 млн детей, при этом умирает 1 млн новорожденных. Три из девяти случаев смерти от неонатального сепсиса предположительно вызвано лекарственно-устойчивыми патогенами [2]. Каждая десятая смерть в связи с беременностью и родами происходит по причине материнского сепсиса, при этом 95 % случаев смерти от материнского сепсиса происходит в странах с низким и средним уровнем доходов на душу населения. Распространенность случаев сепсиса, демографические и экономические потери при данном заболевании недостаточно изучены. Среди причин смертности населения сепсис занимает 11 место [3]. В настоящий период отмечается повышение значимости сепсиса как наиболее важной причины смертности людей, доля которой достигает до 20 % всех смертей на планете. Средний возраст пациентов, страдающих сепсисом, около 60 лет, но среди новорожденных частота сепсиса также высока и достигает 500 случаев на 100 000. Особенно это заметно в группе детей с малой массой тела [4]. При тяжелом течении сепсиса летальность варьирует от 14 до 34 %. Этиологически значимыми бактериями при сепсисе являются коагулазонегативные стафилококки (15,9 %), кишечная палочка (13,0 %), золотистый стафилококк (11,7 %), клебсиелла пневмонии (9,8 %), энтеробактер (9,5 %), ацинетобактер (9,2 %), палочка синезеленого гноя (5,7 %) и грибы рода кандиды (5,1 %). При этом доля грамотрицательных бактерий составляет более 50 %, а метициллинрезистентных стафилококков (MRSA) достигает 51 % [3; 5]. Своевременная лабораторная диагностика и адекватное патогенетическое и этиотропное лечение являются крайне важными для регулирования этой проблемы. В тактике лечения сепсиса необходимо руководствоваться эффективными и точными методами выделения и идентификации этиологически значимого инфекционного агента и корректными данными о чувствительности к антибиотикам чистых культур бактерий.

Иммунологические и метаболические механизмы патофизиологии сепсиса, приводящие к развитию полиорганной недостаточности и смерти пациентов до настоящего времени не установлены. Вместе с тем более полное понимание механизмов развития сепсиса представляется важнейшим этапом в разработке профилактических и терапевтических мероприятий, повышающих выживаемость пациентов.

Хотя развитие сепсиса и септического шока связывают с чрезмерной активацией иммунной системы, текущие данные показывают, что после короткой провоспалительной фазы у септических пациентов развиваются негативные регуляторные механизмы, направленные на ингибирование процессов гипериммунной активации. У некоторых пациентов это может привести к глубокой иммуносупрессии, затрагивающей как врожденный, так и адаптивный иммунитет. Иммуносупрессия, ассоциированная с сепсисом, препятствует эффективной элиминации первичной инфекции, связана с повышенным риском возникновения случаев внутрибольничных инфекций и способствует реактивации латентных герпесвирусов (цитомегаловирус или вирус простого герпеса) [6].

В настоящее время ведущую роль в реализации врожденного иммунитета отводят системе мононуклеарных фагоцитов. Под термином «система мононуклеарных фагоцитов» понимают миелоидную линию клеток, включающую костномозговые предшественники, циркулирующие моноциты, резидентные макрофаги и дендритные клетки (ДК) [7].

Моноциты и ДК крови представляют особый интерес для изучения при сепсисе не только потому, что они играют ключевую роль в противоинфекционном иммунитете, но и потому, что они являются, по сути, незрелыми клетками, мигрирующими из костного мозга в периферические органы для дальнейшей дифференцировки. Также моноциты, макрофаги и ДК осуществляют

ют захват и последующий киллинг микроорганизмов, перерабатывают и представляют их антигены на мембране в комплексе с молекулами МНС II класса, тем самым инициируют Т-клеточный иммунный ответ [8].

В последнее время пристальное внимание стало уделяться миелоидным супрессорным клеткам (МЛСК), которые представляют собой гетерогенную группу пластичных миелоидных клеток, образуемых из незрелых миелоидных предшественников в костном мозге, редко выявляются у здоровых людей и появляются в крови при различных патологических состояниях. МЛСК весьма эффективно подавляют иммунный ответ, уменьшая число антиген-специфических Т-клеток. Учитывая способность МЛСК подавлять пролиферацию и создавать условия анергии Т-клеток, в том числе CD8-лимфоцитов, стимулировать образование Т-регуляторных клеток, а также ингибировать функциональную активность антигенпрезентирующих клеток, было высказано предположение, что МЛСК имеют важное значение в хронизации инфекционных процессов и в механизмах иммуносупрессии [7; 8].

Регуляторные Т-клетки (T_{reg} -клетки), которые составляют менее 10 % от общей популяции $CD4^+$ Т-клеток в лимфатических узлах и кровообращении, играют критическую роль в модуляции функций иммунных клеток. Основная их функция – контроль силы и продолжительности иммунного ответа посредством регуляции функций Т-эффекторных клеток ($CD4^+$ - и $CD8^+$ -Т-лимфоцитов). Оценка содержания T_{reg} -клеток в крови у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии может рассматриваться как прогностический маркер развития септических осложнений и неблагоприятного исхода [9].

Из вышеизложенного следует, что изучение количественных и функциональных характеристик клеток системы мононуклеарных фагоцитов, МЛСК и T_{reg} -клеток у пациентов с сепсисом с новых позиций является необходимым этапом в раскрытии механизмов иммунопатологии при сепсисе.

Целью настоящего исследования являлось изучение изменений относительного и абсолютного содержания в крови пациентов с сепсисом и септическим шоком субпопуляций моноцитов, дендритных клеток, миелоидных супрессорных клеток, регуляторных Т-лимфоцитов на 3–4 день от постановки диагноза с целью оценки формирования стадии иммуносупрессии.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования была кровь от пациентов с диагнозом сепсис и септический шок (УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» и УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» г. Минск) и кровь донорская неопробованная (ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»).

Обследовано 33 пациента с сепсисом (19 мужчин и 14 женщин, возраст $57,1 \pm 19,9$ лет) и 6 пациентов с септическим шоком (2 мужчин и 4 женщины, возраст $49,3 \pm 19,6$ лет). Забор крови производился на 3–4 сутки от установления диагноза. Контрольная группа включала 30 здоровых доноров.

Субпопуляции моноцитов, дендритных клеток, миелоидных супрессорных клеток, T_{reg} -клеток определяли методом проточной цитометрии, используя следующие моноклональные антитела: lin (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56), CD4 (клон MEM-241), CD11b (клон ICRF44), CD11c (клон BU15), CD14 (клон MEM-15), CD15 (клон W6D3), CD33 (клон 6C5), CD16 (клон CB16), CD25 (клон MEM-181), CD45 (клон HI30), CD123 (клон 6H6), CD127 (клон AO19D5) и HLA-DR (клон L243). Для этого цельную кровь окрашивали соответствующими моноклональными антителами. После инкубации в течение 15 мин образцы лизировали лизирующим раствором RBC Lysis Buffer (BioLegend, США). Оставшиеся лейкоциты промывали после лизиса фосфатно-солевым буфером (ФСБ), pH 7,2 (Capricorn Scientific GmbH, Германия). После восстановления в ФСБ клетки анализировали с помощью проточного цитофлюориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США).

Гейтирование проводили согласно общепринятым методикам [10–12]. Для корректной настройки параметров компенсации для каждой группы образцов готовили single-stained контроли. Данные анализировали при помощи программы FACSDiva версии 7.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica версии 10. Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me – медиана,

а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й перцентилей. Для сравнения двух независимых выборок применяли *U*-критерий Манна–Уитни. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. *Изменения в структуре субпопуляций моноцитов.* Мононуклеарные фагоциты – моноциты, макрофаги и дендритные клетки играют важнейшую роль в защитных механизмах как естественного (распознавание, переработка чужеродных субстанций, продукция цитокинов), так и адаптивного (антигенпрезентация, регуляция гуморальных и клеточных механизмов) иммунитета. Формируясь в костном мозге моноциты мигрируют в периферическую кровь, где циркулируют в течение нескольких дней и затем рекрутируются в ткани. Немигрировавшие в ткани клетки погибают в результате апоптоза. В процессе развития разных патологических процессов в кинетике обмена моноцитов и обратной связи с костным мозгом происходит ряд иммунорегуляторных процессов, изменяющих экспрессии многих генов и, соответственно, функциональные свойства моноцитов, что позволяет их классифицировать как отдельные субпопуляции [7]. HLA-DR⁺ антигены относятся к семейству молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, обеспечивают распознавание антигенных мотивов чужеродных структур и представление иммуоэпитопов субпопуляциям зрелых CD4⁺ Т-лимфоцитов [13]. Из представленных в табл. 1 данных видно, что в периферической крови пациентов с сепсисом и септическим шоком достоверно ($p < 0,05$) снижается относительное и абсолютное содержание моноцитов, экспрессирующих HLA-DR⁺ молекулы. Снижение экспрессии HLA-DR⁺ рецепторов моноцитами может рассматриваться как ослабление их функциональной роли в стимуляции специфического иммунного ответа.

Т а б л и ц а 1. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций моноцитов периферической крови доноров и пациентов с бактериальным сепсисом, Me (Q1–Q3)

T a b l e 1. Relative and absolute content of the subpopulations of monocytes of the peripheral blood of donors and patients with sepsis, Me (Q1–Q3)

Параметр Parameter	Доноры, $n = 30$ Donors, $n = 30$	Пациенты с сепсисом, $n = 33$ Patients with sepsis, $n = 33$	Пациенты с септическим шоком, $n = 6$ Patients with septic shock, $n = 6$
HLA-DR ⁺ : % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	85,58 (82,86–88,68) 0,337 (0,290–0,416)	59,7 (36,2–70,6)* 0,244 (0,117–0,412)*	53,42 (42,55–70,48)* 0,199 (0,074–0,903)
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ классические: % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	82,53 (80,60–84,15) 0,327 (0,274–0,404)	71,36 (58,1–78,82)* 0,342 (0,220–0,401)	70,2 (59,08–74,48)* 0,224 (0,110–0,898)
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ промежуточные: % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	10,08 (8,33–11,37) 0,037 (0,031–0,049)	21,02 (12,52–29,18)* 0,078 (0,053–0,159)*	19,76 (15,00–30,69)* 0,060 (0,024–0,565)
CD14 ^{+/–} CD16 ⁺ неклассические: % от числа моноцитов $\times 10^6/\text{мл}$	6,01 (5,18–7,27) 0,024 (0,020–0,033)	2,42 (1,46–5,45)* 0,013 (0,005–0,029)*	5,10 (2,85–11,52) 0,011 (0,005–0,138)

П р и м е ч а н и е: * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами.

N o t e: * – significant differences ($p < 0.05$) between donors and patients.

Одновременно пациенты с сепсисом характеризуются снижением в крови относительного содержания субпопуляции CD14⁺⁺CD16⁻ классических моноцитов ($p < 0,05$). Абсолютное содержание субпопуляции классических моноцитов в крови пациентов с сепсисом и септическим шоком также снижено, хотя и не достигает уровня достоверности ($p > 0,05$). Следует отметить, что классические моноциты способны продуцировать как про-, так и противовоспалительные цитокины, а основными их функциями являются фагоцитоз и противомикробная активность. Эти моноциты мало эффективны в генезе воспаления при бактериальных заболеваниях.

В противоположность выше описанной тенденции, в субпопуляции промежуточных моноцитов (CD14⁺⁺CD16⁺) отмечается существенное увеличение как их относительного содержания в группе пациентов с сепсисом и септическим шоком ($p < 0,05$), так и абсолютного содержания этих клеток в группе пациентов с сепсисом ($p < 0,05$). Физиологической ролью промежуточных моноцитов помимо фагоцитарной активности является способность процессировать и презентовать чужеродные антигены Т-лимфоцитам, а также участвовать в индукции хронического

воспаления. Моноциты этого типа также экспрессируют высокий уровень хемокиновых рецепторов, продуцируют IL-10, определяют уровень активности локального и системного воспаления [6; 7].

В крови пациентов с сепсисом отмечены также значимые изменения в содержании субпопуляции неклассических моноцитов (CD14⁺CD16⁺) – достоверное снижение их относительного и абсолютного содержания у пациентов с сепсисом при отсутствии таковых в группе пациентов с септическим шоком ($p > 0,05$). Моноциты данного фенотипа экспрессируют широкий спектр поверхностных молекул, патрулируют ткани организма, включая стенки сосудов, что важно в развитии синдрома системной воспалительной реакции при сепсисе.

Влияние факторов сепсиса на субпопуляции моноцитов человека было предметом интенсивных исследований в течение последних пятидесяти лет. Сниженная способность моноцитов крови пациентов с сепсисом высвобождать провоспалительные цитокины после воздействия эндотоксина (липополисахарида – ЛПС) была описана как эндотоксин-индуцированная толерантность, что, как предполагается, способствует развитию неблагоприятных краткосрочных и долгосрочных осложнений при сепсисе. Хотя различные сложные сигнальные пути мононуклеарных клеток изменяются и способствуют установлению толерантности к эндотоксину, основное воздействие на моноциты заключается в снижении представления антигена, связанного со снижением экспрессии молекул HLA-DR на клеточной поверхности. В дополнение к явному и стойкому снижению экспрессии HLA-DR молекул на клеточной поверхности, моноциты пациентов с сепсисом также демонстрируют сниженную способность секретировать провоспалительные цитокины TNF, IL-1, IL-6 и IL-12 после воздействия ЛПС [14]. Снижение способности моноцитов секретировать провоспалительные цитокины позволяет предположить, что механизмы внутриклеточной передачи сигналов смещаются в сторону продукции противовоспалительных медиаторов, которые ассоциируются с внутрибольничными, текущими и вторичными инфекциями, что в конечном итоге увеличивает смертность при сепсисе.

Изменения субпопуляций дендритных клеток. Дендритные клетки являются естественными антигенпрезентирующими клетками, которые экспрессируют HLA-DR⁺ молекулы распознавания чужеродных для организма антигенов. Они подразделяются на 2 субпопуляции – моноцитарные и плазмацитоидные [7]. Из представленных в табл. 2 данных видно, что относительное и абсолютное содержание плазмацитоидных дендритных клеток (пДК CD123⁺CD11c⁻) достоверно снижено в обеих группах пациентов – с сепсисом и септическим шоком ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция имела место и с содержанием в крови пациентов моноцитарных дендритных клеток (мДК CD123⁻CD11c⁺).

Т а б л и ц а 2. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций дендритных клеток в периферической крови доноров и пациентов с бактериальным сепсисом, Ме (Q1–Q3)

T a b l e 2. Relative and absolute content of the subpopulations of the dendritic cells of the peripheral blood of donors and patients with bacterial sepsis, Me (Q1–Q3)

Параметр Parameter	Доноры, $n = 30$ Donors, $n = 30$	Пациенты с сепсисом, $n = 33$ Patients with sepsis, $n = 33$	Пациенты с септическим шоком, $n = 6$ Patients with septic shock, $n = 6$
пДК CD123 ⁺ CD11c ⁻ : % от числа лейкоцитов $\times 10^6/\text{мл}$	0,162 (0,137-0,197) 0,01 (0,008-0,011)	0,009 (0,005-0,029)* 0,001 (0,001-0,003)*	0,019 (0,004-0,036)* 0,001 (0,0008-0,0052)*
мДК CD123 ⁻ CD11c ⁺ : % от числа лейкоцитов $\times 10^6/\text{мл}$	0,290 (0,241-0,386) 0,018 (0,013-0,024)	0,015 (0,009-0,050)* 0,002 (0,001-0,003)*	0,015 (0,004-0,095)* 0,003 (0,0004-0,0139)*

П р и м е ч а н и е: * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами.

N o t e: * – significant differences ($p < 0.05$) between donors and patients.

Основную роль в развитии иммуносупрессии при сепсисе многие исследователи отводят сепсис-индуцированному апоптозу иммунных клеток. Так, апоптоз вызывает глубокое истощение иммунных клеток, включая CD4⁺, CD8⁺ Т-клетки и В-клетки в различных органах пациентов. По литературным данным, дендритные клетки особенно уязвимы к сепсис-индуцированному апоптозу [14]. Показано, что у пациентов с сепсисом не только снижено количество ДК, но

и выжившие ДК имеют более низкую экспрессию HLA-DR и продуцируют повышенные количества IL-10. Кроме того, полученные из моноцитов ДК у пациентов с сепсисом были не способны индуцировать сильный ответ эффекторных Т-клеток, но вместо этого индуцировали либо анергию Т-клеток, либо пролиферацию T_{reg} -клеток [14]. Таким образом, так как ДК играют важную роль в распознавании патогенов и связывании врожденной и адаптивной иммунных систем во время инфекции, то увеличение количества и функции ДК может стать мишенью возможных будущих терапевтических тактик при сепсисе.

Изменения субпопуляции миелоидных супрессорных клеток. Популяция миелоидных супрессорных клеток является чувствительным маркером развития ряда иммунопатологических процессов, включая сепсис. Миелоидные супрессорные клетки (МЛСК) – это незрелые клетки миелоидного происхождения, способные подавлять эффекторный иммунный ответ. В настоящее время охарактеризованы две основные популяции МЛСК: моноцитарные (М-МЛСК) с фенотипом $CD14^+HLA-DR^-$ и гранулоцитарные (Г-МЛСК) с фенотипом $lin^- HLA-DR-CD11b^+CD15^+/CD33^+$. М-МЛСК считаются более зрелыми, а Г-МЛСК – менее зрелыми [7]. Согласно полученным данным, приведенным в табл. 3, содержание в крови пациентов клеток, относящихся к субпопуляции М-МЛСК, $CD14^+HLA-DR^-$ достоверно снижено у пациентов с сепсисом ($p < 0,05$) и не отличалось от данных контроля у пациентов с септическим шоком ($p > 0,05$). В то же время содержание Г-МЛСК с иммунофенотипом $lin^- HLA-DR-CD11b^+CD15^+$ характеризовалось достоверным повышением у пациентов обеих групп – с сепсисом и септическим шоком ($p < 0,05$). А субпопуляция Г-МЛСК иммунофенотипа $lin^- HLA-DR-CD11b^+CD33^+$ имела тенденцию к повышению как относительного, так и абсолютного содержания и достигала уровня достоверности в группе пациентов с септическим шоком ($p < 0,05$).

Т а б л и ц а 3. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций МЛСК периферической крови доноров и пациентов с бактериальным сепсисом, Me (Q1–Q3)

Table 3. Relative and absolute content of the subpopulations of myeloid suppressor cells of the peripheral blood of donors and patients with bacterial sepsis, Me (Q1–Q3)

Параметр Parameter	Доноры, $n = 30$ Donors, $n = 30$	Пациенты с сепсисом, $n = 33$ Patients with sepsis, $n = 33$	Пациенты с септическим шоком, $n = 6$ Patients with septic shock, $n = 6$
М-МЛСК $CD14^+HLA-DR^-$ % от числа лейкоцитов $\times 10^6/мл$	0,32 (0,2–0,37) 0,017 (0,014–0,022)	0,36 (0,10–0,74) 0,049 (0,013–0,091)*	0,21 (0,08–0,91) 0,033 (0,008–0,104)
Г-МЛСК $lin^- HLA-DR-CD11b^+CD15^+$ % от числа лейкоцитов $\times 10^6/мл$	0,060 (0,032–0,081) 0,003 (0,002–0,004)	0,317 (0,168–1,019)* 0,043 (0,021–0,141)*	0,452 (0,103–0,912)* 0,053 (0,011–0,140)*
Г-МЛСК $lin^- HLA-DR-CD11b^+CD33^+$ % от числа лейкоцитов $\times 10^6/мл$	0,032 (0,018–0,097) 0,002 (0,001–0,006)	0,048 (0,011–0,088) 0,004 (0,001–0,012)	0,089 (0,027–0,197) 0,006 (0,003–0,0508)*
T_{reg} -клетки $CD4^+CD25^+CD127^-$ % от числа лейкоцитов $\times 10^9/мл$	0,95 (0,70–1,38) 0,059 (0,042–0,084)	0,87 (0,41–1,54) 0,107 (0,037–0,227)*	1,06 (0,46–1,92) 0,181 (0,044–0,232)*

Примечание: * – достоверные различия ($p < 0,05$) между донорами и пациентами.

Note: * – significant differences ($p < 0.05$) between donors and patients.

В экспериментальных моделях сепсиса было показано, что МЛСК блокируют специфические функции Т-клеток, включая пролиферацию и продукцию IFN γ и IL-2. Однако в то же время МЛСК могут либо усиливать, либо ослаблять воспалительную реакцию, связанную с сепсисом, в зависимости от стадии заболевания [7].

Регуляторные $CD4^+CD25^+CD127^-$ Т-лимфоциты. Регуляторные Т-клетки – активные участники системного воспалительного ответа как на этапе гипервоспаления, так и на этапе ограничения аутогенного повреждения тканей посредством усиления иммуносупрессии [15]. Однако эти супрессивные функции нарушаются во время сепсиса, что, в свою очередь, наносит ущерб активации и пролиферации эффекторных Т-клеток в ходе заболевания. T_{reg} -клетки менее восприимчивы к апоптозу во время сепсиса, в отличие от других популяций Т-клеток. Мишенью действия T_{reg} -клеток являются как Т-эффекторные клетки, так и дендритные клетки, ответственные за презентацию антигена и активацию Т-клеток. T_{reg} -клетки, взаимодействуя с рецептором CD86 на дендритных клетках при помощи CTLA-4, способны ингибировать активацию дендритными клетками Т-клеток [9].

В нашем исследовании анализ изменений в содержании $CD4^+CD25^+CD127^-$ регуляторных Т-клеток показал достоверное увеличение абсолютного количества T_{reg} -клеток как у пациентов с сепсисом, так и у пациентов с септическим шоком, в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$). Увеличение доли $CD4^+CD25^+CD127^-$ клеток ассоциируется с появлением супрессорной активности мононуклеарных клеток, что при дальнейшем исследовании может быть маркером начала стадии иммуносупрессии (иммунопаралича) при сепсисе.

Заключение. В настоящей работе проведен комплексный анализ содержания субпопуляций моноцитов, регуляторных Т-клеток, дендритных и миелоидных супрессорных клеток в периферической крови пациентов с сепсисом и септическим шоком. В данном исследовании материал забирался на 3–4-е сутки от поставленного диагноза. Проведенные исследования выявили достоверное снижение экспрессии HLA-DR на моноцитах, снижение относительного содержания классических моноцитов, миелоидных и плазматоидных дендритных клеток, увеличение процентного содержания промежуточных моноцитов и Γ -МЛСК $CD15^+$, увеличение абсолютного содержания T_{reg} -клеток у пациентов с сепсисом и септическим шоком. Выявленные функциональные дефекты и сдвиги в составе популяции лейкоцитов могут свидетельствовать о начале стадии иммуносупрессии при сепсисе.

Основная проблема при изучении механизмов прогрессирования сепсиса – его многофакторность и вариабельность иммунного ответа между пациентами. Сепсис вызывает множество дефектов в функционировании основных звеньев иммунитета, равно как и накладывается на существующие особенности иммунной системы пациентов, которые способствуют затяжному воспалению, подавлению иммунитета, восприимчивости к инфекциям. Несмотря на то что существуют клеточные методологии для выявления пациентов с иммунной дисрегуляцией, до сих пор неясно, какие вмешательства и в какие периоды болезни, направленные на устранение клеточно-специфического дефицита, будут наиболее полезными для выживания при сепсисе.

Список использованных источников

1. The global burden of sepsis: barriers and potential solutions / К. Е. Rudd [et al.] // *Crit. Care.* – 2018. – Vol. 22. – Art. 232. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2157-z>
2. Якубцевич, Р. Э. Сепсис в интенсивной терапии: современные аспекты диагностики / Р. Э. Якубцевич // *Журн. Грод. гос. мед. ун-та.* – 2016. – № 1. – С. 11–16.
3. Качанко, Е. Ф. Антимикробная терапия при сепсисе / Е. Ф. Качанко, М. Г. Козаченко, И. А. Карпов // *Мед. новости.* – 2006. – Т. 2, № 8. – С. 36–42.
4. Нозокомиальный сепсис / Н. В. Соловей [и др.] // *Клиническая инфектология и паразитология: науч. материалы, посвящ. 100-летию Минской городской клин. инфекционной больницы.* – 2013. – Т. 3, прилож. – С. 68–102.
5. Microbiological characteristics of sepsis in a University hospital / A. V. Vendemiato [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2015. – Vol. 15, N 1. – Art. 58. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0798-y>
6. Characterization of Circulating IL-10-Producing Cells in Septic Shock Patients: A Proof of Concept Study / A. Fabri [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 11. – Art. 615009. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615009>
7. Титов, Л. П. Моноциты, макрофаги, дендритные и миелоидные супрессорные клетки: генез, классификация, иммунобиологические свойства / Л. П. Титов // *Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 363–382. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382>
8. Состояние системы мононуклеарных фагоцитов (моноцитов, дендритных клеток) у пациентов с разными формами лекарственно-устойчивого туберкулеза легких / А. Е. Гончаров [и др.] // *Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2012. – № 4. – С. 4–15.
9. Чурина, Е. Г. Факторы иммуносупрессии при различных патологиях / Е. Г. Чурина, В. В. Новицкий, О. И. Уразова // *Бюл. сибирской медицины.* – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 103–111.
10. CD14, CD16 and HLA-DR reliably identifies human monocytes and their subsets in the context of pathologically reduced HLA-DR expression by CD14(hi)/CD16(neg) monocytes: Expansion of CD14(hi)/CD16(pos) and contraction of CD14(lo)/CD16(pos) monocytes in acute liver failure / R. D. Abeles [et al.] // *Cytometry A.* – 2012. – Vol. 81, N 10. – P. 823–834. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22104>
11. Evaluation of a 12-color flow cytometry panel to study lymphocyte, monocyte, and dendritic cell subsets in humans / P. Autissier [et al.] // *Cytometry A.* – 2010. – Vol. 77, N 5. – P. 410–419. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20859>
12. A new procedure to analyze polymorphonuclear myeloid derived suppressor cells in cryopreserved samples cells by flow cytometry / A. Sacchi [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, N 8. – Art. e0202920. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202920>
13. Изменения экспрессии HLA-DR-антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе / А. В. Зурочка [и др.] // *Мед. иммунология.* – 2008. – Т. 10, № 4–5. – С. 379–388. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388>
14. Hotchkiss, R. S. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy / R. S. Hotchkiss, G. Monneret, D. Payen // *Nat. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 13, N 12. – P. 862–874. <https://doi.org/10.1038/nri3552>

15. Роль регуляторных Т-клеток в системном воспалительном ответе / М. Ю. Ханова [и др.] // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2020. – Т. 9, № 2. – Р. 82–90. <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2020-9-2-82-90>

References

- Rudd K. E., Kissoon N., Limmathurotsakul D., Bory S., Mutahunga B., Seymour C. W., Angus D. C., West T. E. The global burden of sepsis: barriers and potential solutions. *Critical Care*, 2018, vol. 22, no. 1, art. 232. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2157-z>
- Yakubtsevich R. E. Sepsis in the intensive care unit: modern aspects of diagnosis. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Journal of Grodno State Medical University*, 2016, no. 1, pp. 11–16 (in Russian).
- Kachanko E. F., Kozachenko M. G., Karpov I. A. Antimicrobial therapy for sepsis. *Medicinskie novosti = Medical news*, 2006, vol. 2, no. 8, pp. 36–42 (in Russian).
- Solovej N. V., Kachanko E. F., Gorbich Yu. L., Shcherba V. V., Sergeev S. M., Gucalyuk I. Ya., Blatun E. M., Yurovskij N. N., Paduto D. S., Anisko L. A. Nosocomial sepsis. *Klinicheskaya infektologiya i parazitologiya = Clinical Infectology and Parasitology*, 2013, vol. 3, pp. 68–102 (in Russian).
- Vendemiato A. V., von Nowakowski A., Marson F. A., Levy C. E. Microbiological characteristics of sepsis in a University hospital. *BMC Infectious Diseases*, 2015, vol. 15, no. 1, art. 58. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0798-y>
- Fabri A., Kandara K., Coudereau R., Gossez M., Abraham P., Monard C., Cour M., Rimmelé T., Argaud L., Monneret G., Venet F. Characterization of Circulating IL-10-Producing Cells in Septic Shock Patients: A Proof of Concept Study. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 11, art. 615009. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615009>
- Titov L. P. Monocytes, macrophages, dendritic and myeloid suppressor cells: genesis, classification, immunobiological properties. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 363–382 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382>
- Goncharov A. E., Titov L. P., Romanova I. V., Solodovnikova V. V., Vetushko D. A. The state of the system of mononuclear phagocytes (monocytes, dendritic cells) in patients with various forms of drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2012, no. 4, pp. 4–15 (in Russian).
- Churina Ye. G., Novitsky V. V., Urazova O. I. Immunosuppression factors under various pathologies. *Byulleten' Sibirskoi Meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2011, no. 4, pp. 103–111 (in Russian).
- Abeles R. D., McPhail M. J., Sowter D., Antoniadou C. G., Vergis N., Vijay G. K. M., Xystrakis E., Khamri W., Shawcross D. L., Ma Y., Wendon J. A., Vergani D. CD14, CD16 and HLA-DR reliably identifies human monocytes and their subsets in the context of pathologically reduced HLA-DR expression by CD14(hi)/CD16(neg) monocytes: Expansion of CD14(hi)/CD16(pos) and contraction of CD14(lo)/CD16(pos) monocytes in acute liver fail. *Cytometry Part A*, 2012, vol. 81, no. 10, pp. 823–834. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22104>
- Autissier P., Soulas C., Burdo T. H., Williams K. C. Evaluation of a 12-color flow cytometry panel to study lymphocyte, monocyte, and dendritic cell subsets in humans. *Cytometry Part A*, 2010, vol. 77, no. 5, pp. 410–419. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20859>
- Sacchi A., Tumino N., Grassi G., Casetti R., Cimini E., Bordoni V., Ammassari A., Antinori A., Agrati C. A new procedure to analyze polymorphonuclear myeloid derived suppressor cells in cryopreserved samples cells by flow cytometry. *Public Library of Science One*, 2018, vol. 13, no. 8, art. e0202920. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202920>
- Zurochka A. V., Kotlyarov A. N., Kuvaytsev M. M., Kvyatkovskaya S. V., Zurochka V. A., Ryabova L. V., Khaidukov S. M. Changes of HLA-DR antigen expression on monocytes in children and their clinical significance in sepsis. *Medicinskaya immunologiya = Medical Immunology*, 2008, vol. 10, no. 4–5, pp. 379–388 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388>
- Hotchkiss R. S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 2013, vol. 13, no. 12, pp. 862–874. <https://doi.org/10.1038/nri3552>
- Khanova M. Yu., Matveeva V. G., Antonova L. V., Grigoriev E. V. Role of regulatory T-cells in the systemic inflammatory response syndrome. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistykh zabolevanij = Complex Issues of Cardiovascular Diseases*, 2020, vol. 9, no. 2, pp. 82–90 (in Russian). <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2020-9-2-82-90>

Информация об авторах

Титов Леонид Петрович – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by.

Трусевич Маргарита Олеговна – науч. сотрудник. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.trusevich@tut.by.

Горбич Юрий Леонидович – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: y.gorbich@gmail.com.

Information about the authors

Titov Leonid P. – Academician, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Laboratory. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonidtitov@tut.by.

Trusevich Margarita O. – Researcher. Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.trusevich@tut.by.

Gorbich Yury L. – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: y.gorbich@gmail.com.