© Коллектив авторов, 2020

Маркелова Е.В.¹, Лазанович В.А.¹, Шуматов В.Б.¹, Малков В.А.¹,
Евсегнеева И.В.²

Клиническая оценка В- и Т-лимфоцитов у пациентов с хирургическим сепсисом

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 690002, г. Владивосток, Российская Федерация

² Федеральное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. Иммунные нарушения при сепсисе включают в себя широкий спектр реакций от «цитокинового шторма» до глубокой иммуносупрессии. Клеточные реакции врожденного и адаптивного иммунитета ответственны за меняющийся сценарий на разных этапах заболевания. Исследований, касающихся аспектов механизмов иммунного ответа со стороны клеток адаптивного иммунитета при сепсисе, мало. Отмечены важные изменения количественного состава и роль В- и Т-лимфоцитов в регуляции воспаления на различных этапах течения сепсиса. Вопрос о возможности их использования в качестве биомаркеров при септических состояниях и критериев при диагностике его фенотипов и эндотипов остается открытым.

Цель исследования – провести расширенное исследование клеточного звена адаптивного иммунитета при различных клинических вариантах течения сепсиса в динамике.

Материал и методы. Представлены данные проспективного исследования, в котором были проанализированы результаты состояния клеток адаптивного иммунитета 43 пациентов. С учетом тяжести состояния и выраженности органной недостаточности они были распределены на группы по шкале – SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score Sequential Organ Failure Assessment). Забор крови проводился у пациентов в первые 48 ч после поступления в отделение интенсивной терапии и на 21–28-е сутки заболевания. Определение уровня В- и Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺, CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺), а также субпопуляций Т-лимфоцитов Th1 (CD3⁺CD4⁺ИФН γ ⁺), Th2 (CD3⁺CD4⁺ИЛ-4⁺), Treg (CD3⁺CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg}CD45⁺) осуществляли методом проточной цитометрии.

Результаты. Отмечена лимфопения на 21–28-е сутки заболевания в группе с более тяжелым течением сепсиса ($p < 0,05$), как относительно группы сравнения, так и по отношению к показателям дебюта болезни. Уровень CD19⁺-лимфоцитов был снижен в группе с более выраженной тяжестью органной дисфункции относительно группы сравнения ($p < 0,05$) на 21–28-е сутки. В группах с различной степенью органной дисфункции на начальной стадии заболевания (первые 48 ч) не выявлено дисбаланса соотношения Th1 и Th2. На более поздних стадиях (21–28-е сутки) преобладает Th2-субпопуляция Т-лимфоцитов ($p < 0,05$), а в группе с выраженной органной дисфункцией зарегистрировано повышенное содержание Treg ($p < 0,01$).

Заключение. Выявлены минимальные изменения со стороны клеток адаптивного иммунитета на начальных стадиях сепсиса, независимо от тяжести течения и степени органной дисфункции. На более поздних сроках (21–28-е сутки) зафиксировано снижение CD19⁺-лимфоцитов, преобладание Th2-субпопуляции над Th1 ($p < 0,05$), повышенное содержание Treg. Одним из маркеров, позволяющих определять наступление иммуносупрессивной фазы сепсиса, может явиться количество Treg.

Ключевые слова: проточная цитометрия; В-лимфоциты; Т-лимфоциты; Т-регуляторные лимфоциты; сепсис; прогноз

Статья поступила 06.06.2020. Принята в печать 16.07.2020.

Для цитирования: Маркелова Е.В., Лазанович В.А., Шуматов В.Б., Малков В.А., Евсегнеева И.В. Клиническая оценка В- и Т-лимфоцитов у пациентов с хирургическим сепсисом. Иммунология. 2020; 41 (4): 344–353. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-344-353>

Для корреспонденции
Маркелова Елена Владимировна –
доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой нормальной
и патологической физиологии
ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России,
Владивосток, Российская Федерация
E-mail: markev2010@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0001-5846-851X>

Финансирование. Работа выполнена в рамках внутривузовского научного гранта ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации – «Клинико-иммунологическая оценка биомаркеров системного воспаления для диагностики сепсиса и его фенотипов».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Markelova E.V.¹, Lazanovich V.A.¹, Shumatov V.B.¹, Malkov V.A.¹,
Evseegneeva I.V.²

Clinical evaluation of B- and T-lymphocytes in patients with surgical sepsis

¹ Pacific State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 690002, Vladivostok, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Immune disorders in sepsis include a wide range of reactions from the «cytokine storm» to deep immunosuppression. The cellular reactions of the innate and adaptive immune systems are responsible for the changing scenario at different stages of the disease. There is very limited studies on aspects of the mechanisms of the immune response by adaptive immune response cells in sepsis. Important changes in the quantitative composition and the role of B- and T-lymphocytes in the regulation of inflammation at different stages of sepsis were noted. The question of the possibility of their use as biomarkers in septic conditions and criteria for the diagnosis of its phenotypes and endotypes remains open.

The aim. An expanded study of the cellular adaptive immunity in various clinical course options of sepsis in dynamics.

Material and methods. The data of a prospective study are presented in which the results of the state of cells of adaptive immunity of 43 patients were analyzed. Given the severity of the condition and the severity of organ failure, they were divided into groups on a scale of SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score Sequential Organ Failure Assessment). Blood sampling was performed in patients in the first 48 hours after admission to the intensive care unit and on days 21–28 of the disease. Determination of the level of B- and T-lymphocytes (CD3⁺CD19⁺, CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺), as well as subpopulations of T1 lymphocytes Th1 (CD3⁺CD4⁺IFN γ ⁺), Th2 (CD3⁺CD4⁺IL-4⁺), Treg (CD3⁺CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg}CD45⁺) was carried out by flow cytometry.

Results. Lymphopenia was noted on days 21–28 of the disease in the group with a more severe course of sepsis ($p < 0.05$), both in comparison with the comparison group and relative to the initial stage of observation. The level of CD19⁺-lymphocytes was reduced in the group with a more pronounced severity of organ dysfunction compared with the comparison group ($p < 0.05$) on days 21–28. In groups with varying degrees of organ dysfunction at the initial stage of the disease (the first 48 hours) there was no imbalance in the ratio of Th1 and Th2. At later stages, days 21–28, Th2 subpopulations of T-lymphocytes predominate ($p < 0.05$), and in the group with severe organ dysfunction, increased content of Treg ($p < 0.01$) was recorded.

Conclusion. Minimal changes were revealed on the part of adaptive immunity cells at the initial stages of sepsis, regardless of the severity of the course and the degree of organ dysfunction. At a later date (21–28 days) in patients of both groups (depending on the severity of organ dysfunction), a decrease in CD19⁺-lymphocytes, a predominance of Th2-subpopulation of T-lymphocytes over Th1 ($p < 0.05$), an increased content of Treg compared with the comparison group was revealed. One of the markers that can determine the onset of the immunosuppressive phase of sepsis may be the quantification of Treg.

Keywords: flow cytometry; B-lymphocytes; T-lymphocytes; regulatory T-lymphocytes; sepsis; prognosis

For correspondence

Elena V. Markelova – MD, Professor,
Head of Normal and Pathological
Physiology Department,
Pacific State Medical University,
Ministry of Health
of the Russian Federation,
Vladivostok, Russian Federation
E-mail: markev2010@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0001-5846-851X>

Received 06.06.2020. Accepted 16.07.2020.

For citation: Markelova E.V., Lazanovich V.A., Shumatov V.B., Malkov V.A., Evsegneeva I.V. Clinical evaluation of B- and T-lymphocytes in patients with surgical sepsis. *Immunologiya*. 2020; 41 (4): 344–53. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-344-353> (in Russian)

Funding. The study was carried out as part of an internal University scientific grant of the Pacific Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation – «Clinical and immunological evaluation of biomarkers of systemic inflammation for the diagnosis of sepsis and its phenotypes».

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

Введение

В настоящее время сепсис определен как угрожающая жизни органная дисфункция, вызванная дисрегуляторным ответом организма на инфекцию [1]. Тем не менее в широком смысле под сепсисом продолжают понимать патологический процесс, в основе которого лежит генерализованная (системная) воспалительная реакция на повреждение инфекционной природы (бактериальной, вирусной, грибковой) [2]. Основу данного состояния составляют сложные клеточные взаимодействия врожденного и адаптивного иммунного ответа, реализующегося в ответ на инфекцию и/или эндогенные молекулы – Danger-associated molecular patterns (DAMP), которые образуются в большом количестве при некрозе или ином клеточном дистрессе [3].

Работ о роли клеток врожденного иммунитета, продуцируемых ими цитокинов, биомаркеров системного воспаления достаточно много, а исследований, касающихся аспектов механизмов иммунного ответа со стороны клеток адаптивного иммунитета при сепсисе, весьма ограничено. Адаптивный иммунный ответ осуществляется Т- и В-клетками. Они высокоспецифичны, образуются в результате клональной экспансии *de novo* в ответ на антиген, узнаваемый при помощи паттерн-распознающих рецепторов (PRR) клеток врожденного иммунитета после обработки микробных пептидов антиген-презентирующими клетками. Иммунные реакции клеток адаптивного иммунитета отсрочены по времени, поэтому в начале иммунный ответ при сепсисе, который часто характеризуют как «цитокиновый шторм» с высвобождением большого количества про- и противовоспалительных цитокинов, связывают с реакциями именно врожденного иммунитета. Во многом именно поэтому принято считать, что изменения в начальной фазе воспаления при сепсисе со стороны адаптивного иммунитета минимальны. Тем не менее они характеризуются лимфопенией, повышением содержания нейтрофилов и, по мнению некоторых исследователей, это может быть сопряжено с тяжестью клинического течения заболевания [4]. Но в других работах данные о прогностической роли количественных изменений уровня лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), на ранних этапах воспалительной реакции подвергались сомнению и не нашли подтверждения [5]. В рамках другого исследования с использованием многовариантного регрессионного анализа Кокса, с учетом таких показателей, как пол, возраст, APACHE II, уровень иммуноглобулинов, факторов комплемента (C3, C4), основных клеточных субпопуляций лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, НК-клетки), было установлено отсутствие

корреляционных связей с тяжестью течения септического процесса и летальностью [6]. Исследования, отражающие количественные показатели В-лимфоцитов, также немногочисленны. Показано, что на начальных стадиях септического процесса их уровень не претерпевает значительных изменений [7].

Количественная оценка основных иммунных клеток, реализующих адаптивный иммунитет, может быть начальным и наиболее доступным методом, отражающим состояние иммунного ответа при септической патологии в широкой клинической практике. Следующим уровнем диагностики может быть определение субпопуляций клеток, в частности Т-лимфоцитов, с оценкой экспрессии маркеров, отражающих их функциональное состояние. Именно клетки иммунной системы и их активированные рецепторы играют не только ключевую роль в реакции организма хозяина на инфекцию, но могут быть биомаркерами иммунного ответа при септических состояниях и выступать в качестве критериев диагностики его фенотипов и эндотипов [8]. Это особенно важно на более поздних стадиях заболевания: если ранняя летальность при сепсисе связана с гипervоспалительной реакцией врожденного иммунитета, то в дальнейшем неблагоприятные исходы во многом обусловлены иммуносупрессией, вызванной реакциями адаптивного иммунитета, где особую роль отводят Т-лимфоцитам [9].

Работы многих авторов указывают на важные изменения и роль различных субпопуляций Т-лимфоцитов в регуляции воспаления при сепсисе [10, 11]. Зрелые $CD4^+$ -Т-клетки представлены разными подтипами – Th1, Th2 и Th17 – в зависимости от цитокинов в окружении и которые они продуцируют при стимуляции в ходе иммунного ответа. Th1- и Th2-клетки продуцируют различные профили цитокинов: Th1-клетки – интерферон- γ (ИФН- γ), опосредуя клеточный иммунный ответ, а Th2-клетки – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 и ИЛ-13. Th1- и Th2-клетки перекрестно регулируют друг друга и их баланс важен для устранения инфекции. Избыточная продукция Th2-цитокинов может вызывать иммуносупрессию при септических состояниях [12]. Еще одним важным наблюдением является то, что на поздней стадии сепсиса исследователи отмечали снижение абсолютного числа циркулирующих Т-клеток ($CD4^+$, $CD8^+$), за исключением регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) [13]. Treg важны для индукции и поддержания иммунной толерантности. Недавние исследования показывают, что увеличение количества Treg при сепсисе коррелирует со снижением пролиферации и функциональной активности эффекторных Т-клеток [14, 15].

Несмотря на эти отдельные работы, общепризнанных маркеров или фенотипических особенностей иммунного ответа у пациентов с сепсисом, ассоциированных с различными клиническими вариантами течения заболевания, в настоящее время не выявлено. Данная проблема остается открытой и требует дальнейшего изучения.

Цель исследования – расширенное исследование клеточного звена адаптивного иммунитета при различных клинических вариантах течения сепсиса в динамике.

Материал и методы

Пациенты и дизайн исследования. В проспективном исследовании, проведенном на базе краевого Центра анестезиологии и реаниматологии ГБУЗ Приморской краевой клинической больницы № 1 г. Владивостока, были проанализированы исследования клеток адаптивного иммунитета у 43 пациентов. Исследование выполнено с информированного согласия всех пациентов, включенных в исследование, и одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г., протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г., и в соответствии со статьями 20, 22, 23 Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ (ред. от 21.07.2014).

Из 43 пациентов, включенных в исследование, больше половины (56 %) составили мужчины ($n = 24$), женщины составили 44 % ($n = 19$). Возраст варьировал от 24 до 72 лет, средний показатель составлял $51,4 \pm 13,5$ года. Причинами сепсиса являлось распространение инфекционного агента, источниками которого служили органы брюшной полости – 72 % ($n = 31$), легкие – 14 % ($n = 6$), мочевыводящие пути – 9 % ($n = 4$), инфекции кожи и подкожной клетчатки – 5 % ($n = 2$). 28-дневная летальность в 1-й группе (SOFA < 6 баллов) составила 4 (17 %) пациента, во 2-й – с более тяжелым течением септического процесса (SOFA > 6 баллов) – 7 (37 %) пациентов, общая летальность в обеих группах – 11 (26 %) пациентов. Данные о пациентах представлены в табл. 1. Группу сравнения составили практически здоровые, сравнимые по возрасту и полу добровольцы ($n = 25$).

Пациенты были распределены на 2 группы с учетом тяжести состояния и выраженности органной недостаточности. 1-я группа ($n = 24$) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции < 6 баллов по шкале SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score Sequential Organ Failure Assessment). 2-я группа ($n = 19$) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции > 6 баллов по шкале SOFA. Забор крови у пациентов проводили в первые 48 ч после поступления в отделение интенсивной терапии и установки диагноза «сепсис» в соответствии

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов

Показатель	Результаты
Средний возраст $M \pm \sigma$, лет	$51,4 \pm 13,5$
Мужчины/женщины (абс / %)	24/19 (56/44 %)
Органная недостаточность SOFA $M \pm \sigma$, баллы	$8,3 \pm 3,2$
28-дневная летальность (абс / %)	11 (26 %)

с критериями III международного консенсуса по сепсису и септическому шоку, SCCM-ESICM и Общероссийского экспертного совета РАХИ и на 21–28-е сутки заболевания [16].

Забор крови и проточная цитометрия. Кровь забирали в две стандартные вакуумные пробирки (с гепарином лития и K_2 ЭДТА) не позднее чем через 4 ч после взятия крови проводили лабораторный анализ. Вся последующая обработка крови была стандартизирована и выполнялась одними и теми же реактивами и в одинаковые временные интервалы для всех пациентов.

Определение уровня В- и Т-лимфоцитов ($CD3^+CD19^+$, $CD3^+CD19^-$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$), а также субпопуляций Т-лимфоцитов Th1 ($CD3^+CD4^+ИФН-\gamma^+$), Th2 ($CD3^+CD4^+ИЛ-4^+$), Treg ($CD3^+CD4^+CD25^{bright}CD127^{neg}CD45^+$) осуществляли методом проточной цитометрии. Их оценку проводили в цельной венозной крови при использовании многоцветного анализа на проточном цитофлуориметре Beckman Coulter FC 500 с использованием реактивов фирм: Beckman Coulter (США), Thermo Fisher Scientific (США). Учет количества Th1- и Th2-клеток проводили путем анализа продукции внутриклеточных цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-4) спустя 18 ч инкубации совместно с коктейлем для стимуляции клеток [форбол-12-миристан-13-ацетат (ФМА) + иономицин], предварительно выполнив ингибирование внутриклеточного транспорта при помощи брэфелдина А. В каждой пробе анализировали не менее 25 000 событий по $CD3^+$ -популяции и проводили гейтирование Th1 и Th2 с учетом постановки изотипического контроля (рис. 1). Treg-клетки определяли как $CD3^+CD4^+CD25^{bright}CD127^{neg}CD45^+$ (рис. 2).

Статистическая обработка. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica-10 методом Манна–Уитни для независимых выборок. Сопряженность уровня Treg на 21-е и 28-е сутки с исходом заболевания оценивалась с использованием критерия χ^2 . Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$. Референсные интервалы для исследуемых показателей представлены в табл. 2, значения для Treg указаны от общего количества лимфоцитов.

Результаты

Средние значения уровней В- и Т-лимфоцитов и субпопуляций Т-клеток у пациентов обследуемых групп в зависимости от выраженности органной дисфункции в динамике заболевания, полученные в ходе исследования, представлены в табл. 3.

Рис. 1. Тактика гейтирования Th1- и Th2-лимфоцитов методом проточной цитометрии при помощи оценки продукции внутриклеточных цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-4)

Рис. 2. Идентификация Treg с фенотипом $CD3^+CD4^+CD25^{bright}CD127^{neg}$ методом проточной цитометрии

Таблица 2. Референсные интервалы для исследованных субпопуляций В- и Т-лимфоцитов

Показатель	Абсолютное значение	Относительное значение, %
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	4–9	–
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,81–3,8	20–40
CD19 ⁺ (В-лимфоциты общие), $\cdot 10^9/\text{л}$	0,1–0,5	5–19
CD3 ⁺ (Т-лимфоциты общие), $\cdot 10^9/\text{л}$	0,8–2,2	55–85
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Т-хелперы), $\cdot 10^9/\text{л}$	0,6–1,6	31–52
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), $\cdot 10^9/\text{л}$	0,19–0,65	12–32
Иммунорегуляторный индекс (CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺)	1,5–2,6	–
Соотношение Th1/Th2	0,95–1,05	–
Treg (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg} CD45 ⁺), $\cdot 10^9/\text{л}$	0,009–0,078	0,6–1,1

У пациентов обеих групп на начальной стадии течения септического процесса отмечен повышенный уровень лейкоцитов в отличие от группы сравнения ($p < 0,05$). Количественные показатели лимфоцитов в абсолютных и относительных значениях не претерпевали каких-либо существенных отличий между группами по степени выраженности органной дисфункции (шкала SOFA) и здоровых индивидуумов. Данные результаты согласуются с данными других исследований и указывают на минимальные изменения со стороны адаптивного иммунитета на первоначальной стадии септического процесса. На 21–28-е сутки у пациентов отмечена лимфопения, наиболее выраженная в группе с более тяжелым течением сепсиса ($p < 0,05$) относительно как группы сравнения, так и пациентов обеих

групп на начальном этапе наблюдения. Полученные данные совпадают с результатами недавнего крупного ретроспективного исследования, которые говорят о том, что снижение уровня лимфоцитов может служить биомаркером прогноза иммуносупрессии и неблагоприятного исхода при сепсисе [17].

Уровень CD19⁺-лимфоцитов не претерпевал существенных изменений на начальном этапе в обеих исследуемых группах в первые дни болезни. В дальнейшем (21–28-е сутки) мы наблюдали статистически значимое снижение абсолютного количества данного типа клеток только в группе с более выраженной тяжестью органной дисфункции относительно группы сравнения: $0,27 \pm 0,17 \cdot 10^9/\text{л}$ против $0,41 \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Таблица 3. Средние значения показателей субпопуляций лимфоцитов у пациентов в зависимости от выраженности органной дисфункции в динамике ($M \pm \sigma$)

Показатель, единицы измерения	Группа				
	1-я (SOFA < 6 баллов) $n = 24$	2-я (SOFA > 6 баллов) $n = 19$	1-я (SOFA < 6 баллов) $n = 24$	2-я (SOFA > 6 баллов) $n = 19$	сравнения
Сроки исследования	48 ч от начала заболевания		На 21–28-е сутки заболевания		Одно- кратно
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	$14,6 \pm 4,8^{\#}$	$16,6 \pm 5,8^{\#}$	$11,0 \pm 3,8^{*\#}$	$5,7 \pm 3,9^{*\wedge}$	$7,1 \pm 1,5$
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	$2,7 \pm 0,51$	$2,3 \pm 0,64$	$1,3 \pm 0,38^{*\#}$	$1,1 \pm 0,37^{*\#}$	$2,9 \pm 0,9$
Лимфоциты, (%)	$28,4 \pm 4,9$	$29,3 \pm 5,7$	$18,2 \pm 6,9^{*\#}$	$14,2 \pm 9,3^{*\#}$	$30,4 \pm 10,2$
CD19 ⁺ (В-лимфоциты общие), $\cdot 10^9/\text{л}$	$0,38 \pm 0,15$	$0,29 \pm 0,13$	$0,31 \pm 0,12$	$0,27 \pm 0,17^{\#}$	$0,41 \pm 0,16$
CD3 ⁺ (Т-лимфоциты общие), (%)	$66,2 \pm 13,4$	$65,3 \pm 11,3$	$76,5 \pm 17,6$	$72,3 \pm 13,4$	$61,3 \pm 13,4$
CD3 ⁺ (Т-лимфоциты общие), $\cdot 10^9/\text{л}$	$1,5 \pm 0,44$	$1,7 \pm 0,39$	$1,7 \pm 0,39$	$1,3 \pm 0,27$	$1,2 \pm 0,33$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Т-хелперы), (%)	$45,7 \pm 11,3$	$39,4 \pm 15,3$	$38,4 \pm 14,8$	$34,4 \pm 12,9$	$44,2 \pm 16,4$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Т-хелперы), $\cdot 10^9/\text{л}$	$1,1 \pm 0,26$	$1,1 \pm 0,39$	$0,9 \pm 0,29$	$1,0 \pm 0,39$	$1,2 \pm 0,34$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), %	$18,7 \pm 5,33$	$12,5 \pm 5,3$	$21,9 \pm 9,5$	$18,7 \pm 7,53$	$24,4 \pm 11,4$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), $\cdot 10^9/\text{л}$	$0,44 \pm 0,16$	$0,58 \pm 0,21$	$0,32 \pm 0,11$	$0,29 \pm 0,13$	$0,45 \pm 0,19$
CD19 ⁺ (В-лимфоциты общие), %	$16,2 \pm 5,9$	$14,3 \pm 5,8$	$11,7 \pm 4,7$	$9,6 \pm 3,2^{\#}$	$14,9 \pm 4,9$
Иммунорегуляторный индекс (CD3 ⁺ CD4 ⁺ / CD3 ⁺ CD8 ⁺)	$1,6 \pm 0,36$	$1,5 \pm 0,66$	$1,4 \pm 0,76$	$1,7 \pm 0,56$	$1,9 \pm 0,46$
Соотношение Th1/Th2	$0,9 \pm 0,11$	$0,86 \pm 0,2$	$0,67 \pm 0,19^{*\wedge}$	$0,64 \pm 0,14^{*\wedge}$	$1,0 \pm 0,21$
Treg (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg} CD45 ⁺), (%)	$0,94 \pm 0,18$	$0,92 \pm 0,26$	$1,27 \pm 0,34^{*\wedge\#}$	$4,61 \pm 1,1^{*\wedge\#2}$	$0,85 \pm 0,12$

Примечание. Статистическая достоверность различий между группами в разные сроки заболевания: * – $p < 0,05$; между группами на этапе заболевания: ^ – $p < 0,05$; между группами пациентов и группой сравнения: # – $p < 0,05$; #2 – $p < 0,01$.

Таблица 4. Взаимосвязь уровня содержания Treg с исходом заболевания на 21–28-е сутки

Исход болезни	Частота встречаемости				Статистические показатели сопряженности признаков по критерию χ^2
	Количество пациентов с уровнем Treg на 21–28-е сутки заболевания				
	> 2 %, $n = 14$		< 2 %, $n = 17$		
	абс.	%	абс.	%	
Умерли ($n = 11$)	8	72,7	3	27,3	$\chi^2 = 8,543$ $p = 0,004$
Выжили ($n = 32$)	6	18,8	26	81,2	

Нами не выявлено существенных различий основных популяций Т-лимфоцитов ($CD4^+$ и $CD8^+$), их относительных и абсолютных значений, соотношения (иммунорегуляторный индекс) в исследуемых группах, в дебюте заболевания, как относительно группы сравнения, так и в зависимости от выраженности органной дисфункции. Подобные результаты были отмечены и на более поздних (21–28-е сутки) сроках течения сепсиса. Далее был изучен субпопуляционный состав Т-лимфоцитов. В группах с различной степенью органной дисфункции на начальной стадии заболевания (первые 48 ч), не было зафиксировано дисбаланса соотношения Th1- и Th2-клеток, а количество Treg, хотя и было повышено, но различия не достигали значимых величин относительно группы сравнения. Полученные результаты указывают на отсутствие существенных изменений как со стороны основных популяций $CD4^+$, $CD8^+$, так и субпопуляционного состава Т-лимфоцитов в дебюте заболевания. На более поздних сроках (21–28-е сутки) у пациентов обеих групп (в зависимости от выраженности органной дисфункции) выявлено преобладание Th2-субпопуляции Т-лимфоцитов над Th1-субпопуляцией ($p < 0,05$). Кроме того, на более поздних сроках течения септического процесса выявлено повышенное содержание Treg в обеих группах относительно группы сравнения, причем данный показатель был наиболее высок в группе с более выраженной органной дисфункцией (SOFA > 6 баллов) ($p < 0,01$). Между группами на данной стадии заболевания также были выявлены достоверные различия содержания Treg. Так, в группе с более выраженной органной дисфункцией (SOFA > 6 баллов) средний уровень содержания Treg был выше и составил $4,61 \pm 1,1$ % против $1,27 \pm 0,34$ % в группе с менее выраженной органной дисфункцией (SOFA < 6 баллов) ($p < 0,05$).

В связи с этим был проведен анализ сопряженности уровня содержания Treg на 21–28-е сутки с исходом заболевания (использован критерий χ^2). Результаты анализа представлены в табл. 4. При исследовании сопряженности содержания Treg на данном этапе заболевания в группах пациентов с различным исходом зафиксировано наличие случаев как высокого (> 2 %) так и низкого уровня данной субпопуляции лимфоцитов (< 2 %). У выживших пациентов выявлено 6 случаев высокого уровня Treg (18,8 %) и 26 случаев – низкого уровня Treg (81,2 %). У пациентов с летальным исходом в 8 случаях установлен высокий уровень (72,7 %) и в 3 (27,3 %) – низкий уровень данных клеток. Проведенный анализ подтвердил, что показатель содержания

Treg более 2 % на 21–28-е сутки сопряжен ($p = 0,004$) с особенностями течения заболевания, и может являться прогностическим критерием неблагоприятного исхода при сепсисе.

Обсуждение

При генерализованном воспалении в первую очередь наблюдаются выраженные изменения со стороны врожденного иммунитета. Гранулоциты, покидая костный мозг, следуют по градиентам хемокинов к месту повреждения, что и приводит к лейкоцитозу, особенно на начальных стадиях заболевания. Это показано в том числе и в нашем исследовании. Данное состояние приводит к миграции из костного мозга эффекторных клеток врожденного иммунитета и незрелых миелоидных клеток, что получило название «экстренный гранулопоз/миелопоэз» [18]. В ходе иммунного ответа наивные $CD4^+$ -Т-лимфоциты дифференцируются в различные субпопуляции клеток, отличительной особенностью которых является продукция тех или иных цитокинов. Полученные нами результаты подтверждают патогенетическую и диагностическую значимость соотношения Th1- и Th2-клеток при сепсисе, что ранее было показано при многих иммуноопосредованных заболеваниях [19]. Потенциальным механизмом иммуносупрессии при сепсисе многие авторы отмечают сдвиг от Th1 к Th2. Дисбаланс Th1/Th2 отражает меняющийся вектор иммунного ответа, свидетельствует об увеличении продукции противовоспалительных цитокинов, изменении в ходе заболевания фенотипа Т-клеток в сторону Th2 [20]. Повышение Treg, выявленное в ходе исследования на поздних стадиях заболевания, увеличивает супрессорную активность и вызывает в итоге анергию Т-клеток и переход в стадию «иммунного паралича» [21]. Понимание причин и своевременная диагностика данных изменений позволит выбрать правильное направление терапии в каждом конкретном случае, персонализировать и улучшить результаты лечения сепсиса.

Считаем важным подчеркнуть, что во многом супрессию иммунного ответа на поздних стадиях сепсиса связывают именно с Treg [22]. Treg (regulatory T cells – $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^-$) представляют собой субпопуляцию Т-клеток, которая характеризуется конститутивной экспрессией CD25 (рецептор ИЛ-2, IL-2R), наличием внутриклеточного транскрипционного фактора Foxp3, регулирующего транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток, продукцию антиген-презентирующими клетками цито-

кинов и других факторов, участвующих в реализации иммунного ответа. Данный тип клеток играет ключевую роль не только при онкологических, аутоиммунных заболеваниях и аллергопатологии, но и при инфекционных болезнях. Они регулируют Т-клеточный гомеостаз, предотвращают развитие аутоиммунных заболеваний, аллергии, гиперчувствительности, реакции «трансплантат против хозяина» [23]. С другой стороны, Treg снижают противоопухолевый иммунитет и иммунитет к инфекциям. Основная их роль – контролировать силу и продолжительность иммунных реакций. Исследования показывают, что увеличение Treg при сепсисе коррелирует со снижением пролиферации и функциональной активности эффекторных Т-клеток [24]. ЛПС-активированные Treg могут влиять на функцию и выживаемость нейтрофилов, индуцировать апоптоз этих клеток, снижая продукцию ими цитокинов [25]. На экспериментальной модели сепсиса было показано, что у мышей дикого типа C57Bl/10ScNJNJU с дефицитом экспрессии сигнального рецептора (TLR4^{-/-}) была снижена активность Treg и отмечена более высокая продукция провоспалительных цитокинов [26]. Кроме того, молекулы патогенов при септическом процессе могут взаимодействовать с дендритными клетками через активирующие и ингибирующие рецепторы, изменяя проведение внутриклеточных сигналов и нарушая тем самым созревание дендритных клеток, в результате чего они становятся толерогенными и вызывают дифференцировку Treg из конвенциональных CD4⁺-Т-клеток. Микробные патогены также способны непосредственно взаимодействовать с Treg через рецепторы врожденного иммунитета и усиливать экспрессию транскрипционного фактора Foxp3, повышая их супрессивную активность [27].

Treg-клетки способны прямо или косвенно подавлять активность иммунных клеток за счет различных факторов и механизмов: продукция противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-35 и ТФРβ), а также перфорина и гранзима, повреждающих клеточную мембрану с развитием апоптоза; высокая экспрессия CD25; подавление дендритных клеток через ингибиторные корепрецепторы (CTLA-4, LAG-3 и др.); метаболические нарушения (экспрессия CD39 на Treg опосредует превращение аденозинтрифосфат в аденозин и аденозинмонофосфат, и уменьшает пролиферацию Т-эффекторов); поляризация дифференцировки моноцитов в сторону M2-макрофагов и предотвращение их дифференцировки в провоспалительные M1-макрофаги; индукция супрессивного фенотипа нейтрофилов и снижение секреции цитокинов лимфоцитами врожденного иммунитета (ILC2, innate lymphoid cells 2) [28]. Таким образом, Treg участвуют в нарушениях как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций, наблюдаемых при патологии, в том числе у пациентов с сепсисом [29]. Недавно был описан синдром хронического воспаления, иммуносупрессии и катаболизма (persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome, PICS), который возникает при данной патологии [30]. Ценность

определения данного синдрома заключается в том, что предполагается наличие механизма, который может объяснить стойкое воспаление и подавление адаптивного иммунитета при септических состояниях. В настоящее время принято считать, что хронический дисрегулируемый иммунный ответ связан с супрессорной активностью клеток с фенотипом MDSC (myeloid derived suppressor cells). Во время экстренного миелопоэза на фоне «цитокинового шторма» дифференцировка незрелых миелоидных клеток в зрелые блокируется, что приводит к образованию гетерогенной популяции незрелых клеток с иммунодепрессивными и воспалительными свойствами, называемыми миелоидными супрессорными клетками – CD11b⁺CD14⁺CD33⁺ (MDSC). MDSC-клетки экспрессируют аргиназу (ARG1) и регулируют зависящие от аргинина биологические процессы. В условиях недостатка аргинина нарушается внутриклеточная сигнализация, экспрессия Т-клеточного рецептора, формирование клеток памяти и Т-клетки подвергаются апоптозу [31]. Но Treg являются клетками, более устойчивыми к сепсис-индуцированному апоптозу по сравнению с другими типами Т-клеток, и это способствует их «выживанию» в условиях септического процесса [32, 33]. Кроме того, прямой контакт моноцитарных MDSC через CD40-рецепторы приводит к индукции Treg [34]. В связи с этим роль Treg, как основного регулятора реакций адаптивного иммунитета, является одной из ключевых при сепсисе, а их количественная оценка может отражать меняющийся клинический фенотип и быть предиктором неблагоприятного исхода. Все это требует дальнейшего уточнения и диктует необходимость продолжения исследований в данной области.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о минимальных изменениях со стороны клеток адаптивного иммунитета на начальных стадиях сепсиса и, напротив, указывают на значительные изменения субпопуляций Т-лимфоцитов на более поздних стадиях заболевания. Определение фенотипов иммунных клеток в ходе септического процесса важно в динамике, так как это способно изменить тактику терапии, которая может быть противовоспалительной на стадии гипервоспаления либо иммуностимулирующей на стадии «иммунного паралича». Одним из маркеров, позволяющих определять наступление иммуносупрессивной фазы сепсиса и способных служить предиктором неблагоприятного исхода, может стать количественное определение Treg.

Вклад авторов

Координация исследования, анализ данных, редактирование текста – Маркелова Е.В.; сбор клинического материала, статистическая обработка, анализ данных, написание статьи – Лазанович В.А.; сбор и обработка материала – Шуматов В.Б.; проведение лабораторных исследований, статистическая обработка данных – Малков В.А.; курация и координация исследования, участие в анализе данных – Евсегнеева И.В.

■ Литература

1. Singer M., Deutschman S., Seymour C.W. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315 (8): 801–10.
2. Сепсис. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение : практическое руководство. В.С. Савельев, Б.Р. Гельфанд (ред.). Москва : Медицинское информационное агентство, 2010.
3. Angus D.C., Van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369 (9): 840–51.
4. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts-rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl. Lek. Listy*. 2001; 102 (1): 5–14.
5. Andaluz-Ojeda D., Iglesias V., Bobillo F. et al. Early natural killer cell counts in blood predict mortality in severe sepsis. *Crit. Care*. 2011; 15 (5): R243.
6. Rimmelé T., Payen D., Cantaluppi V. Immune cell phenotype and function in sepsis. *Shock*. 2016; 45 (3): 282–91.
7. Donadello K., Taccone F.S. Should we measure immunoglobulin levels in septic patients? *Int. Immunopharmacol.* 2012; 12 (3): 540–1.
8. Лазанович В.А., Степанюк В.Н., Смирнов Г.А. Маркелова Е.В. Биомаркеры воспаления в прогнозе исхода абдоминального сепсиса. *Фундаментальные исследования*. 2012; 4: 311–5.
9. Cabrera-Perez J., Condotta S.A., Badovinac V.P. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2014; 96 (5): 767–77.
10. Gouel-Cheron A., Venet F., Allaouchiche B., Monneret G. CD4+ T-lymphocyte alterations in trauma patients. *Crit. Care*. 2012; 16: 432.
11. Inoue S. Reduction of immunocompetent T cells followed by prolonged lymphopenia in severe sepsis in the elderly. *Crit. Care Med.* 2013; 41: 810–9.
12. Xing-hai Chen., Yong-jie Yin., Jing-xiao Zhang. Sepsis and immune response. *World J. Emerg. Med.* 2011; 2: 88–92.
13. Chang K.C., Burnham C.A., Compton S.M. et al. Blockade of the negative co-stimulatory molecules PD-1 and CTLA-4 improves survival in primary and secondary fungal sepsis. *Crit. Care*. 2013; 3: R85.
14. Gupta D.L., Bhoi S., Mohan T. et al. Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with post traumatic sepsis. *Cytokine*. 2016; 88: 214–21.
15. Курганова Е.В., Тихонова М.А., Стрельцова Е.И., Останин А.А., Черных Е.Р., Козлов В.А. Регуляторные Т клетки с супрессорной активностью при хирургическом сепсисе. *Медицинская иммунология*. 2006; 1: 51–60.
16. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение : практическое руководство. Москва : Медицинское информационное агентство, 2013.
17. Drewry A.M., Samra N., Skrupky L.P. et al. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. *Shock*. 2014; 42 (5): 383–91.
18. Manz M.G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14 (5): 302–14.
19. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний. *Инфекция и иммунитет* 2011; 1: 59–66.
20. Boomer J.S. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA*. 2011; 306: 2594–605.
21. Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Курганова Е.В., Стрельцова Е.И., Останин А.А., Козлов В.А. Феномен Т клеточной анергии при хирургическом сепсисе. *Медицинская иммунология*. 2003; 5: 529–38.
22. Venet F., Chung C.S., Kherouf H. et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)CD25(+)CD127(-)) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med.* 2009; 35 (4): 678–86.
23. Козлов И.Б., Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В., Зилькарнаев А.Б., Федулкина В.А., Фаенко А.П., Яздовский В.В., Гудима Г.О., Кофиади И.А. Анализ экспрессии генов иммунной системы, ответственных за активацию и ингибирование Т-клеточного иммунного ответа, у реципиентов почечного трансплантата после ЭКФ. *Иммунология*. 2020; 41 (1): 20–30. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-20-30>
24. Liu Q., An L., Qi Z. Increased expression of programmed cell death-1 in regulatory T cells of patients with severe sepsis and septic shock: an observational clinical study. *Scand. J. Immunol.* 2017; 86 (5): 408–17.
25. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13: 862–74.
26. Cao C., Chai Y., Shou S. et al. Toll-like receptor 4 deficiency increases resistance in sepsis-induced immune dysfunction. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 54: 169–76.
27. Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Стратегия иммунной эвазии патогенов: супрессия иммунного ответа путем активирования Т-регуляторных клеток хозяина. *Иммунология*. 2016; 37 (1): 35–46.
28. Romano M., Fanelli G., Albany C.J., Giganti G. Past, present and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. *Front. Immunol.* 2019; 10: 43.
29. Li J., Li M., Su L., Wang H. et al. Alterations of T helper lymphocyte subpopulations in sepsis, severe sepsis, and septic shock: a prospective observational study. *Inflammation*. 2015; 38: 995–1002.
30. Gentile L.F., Cuenca A.G., Efron P.A. et al. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2012; 72(6): 1491–501.
31. Russell B., Hawkins I., Steven L. et al. Chronic critical illness and the persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome *Front. Immunol.* 2018; 2: 1511.
32. Venet F. et al. Increased percentage of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells during septic shock is due to the decrease of CD4⁺CD25⁻ lymphocytes. *Crit. Care Med.* 2004; 32: 2329–31.
33. Суровой Ю.А., Царенко С.В. Сепсис-индуцированная иммуносупрессия. *Иммунология*. 2019; 40 (3): 93–101. DOI: <https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-13010>
34. Pan P.Y., Ma G., Weber K.J. et al. Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Cancer Res.* 2010; 70 (1): 99–108.

■ References

1. Singer M., Deutschman S., Seymour C.W., et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315 (8): 801–10.
2. Sepsis. Classification, clinical diagnostic concept and treatment. Practical guide. In: V.S. Sav'el'ev, B.R. Gel'fand (eds). Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2010. (in Russian)
3. Angus D.C., Van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369 (9): 840–51.
4. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts-rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl. Lek. Listy*. 2001; 102 (1): 5–14.
5. Andaluz-Ojeda D., Iglesias V., Bobillo F., et al. Early natural killer cell counts in blood predict mortality in severe sepsis. *Crit. Care*. 2011; 15 (5): R243.
6. Rimmelé T., Payen D., Cantaluppi V. Immune cell phenotype and function in sepsis. *Shock*. 2016; 45 (3): 282–91.
7. Donadello K., Taccone F.S. Should we measure immunoglobulin levels in septic patients? *Int. Immunopharmacol.* 2012; 12 (3): 540–1.
8. Lazanovich V.A., Stepanyuk V.N., Smirnov G.A. Markelova E.V. Inflammation biomarkers in predicting the outcome of abdominal sepsis. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012; 4: 311–5. (in Russian)
9. Cabrera-Perez J., Condotta S.A., Badovinac V.P. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2014; 96 (5): 767–77.
10. Gouel-Cheron A., Venet F., Allaouchiche B., Monneret G. CD4+ T-lymphocyte alterations in trauma patients. *Crit. Care*. 2012; 16: 432.
11. Inoue S. Reduction of immunocompetent T cells followed by prolonged lymphopenia in severe sepsis in the elderly. *Crit. Care Med.* 2013; 41: 810–9.
12. Xing-hai Chen., Yong-jie Yin., Jing-xiao Zhang. Sepsis and immune response. *World J. Emerg. Med.* 2011; 2: 88–92.

13. Chang K.C., Burnham C.A., Compton S.M., et al. Blockade of the negative co-stimulatory molecules PD-1 and CTLA-4 improves survival in primary and secondary fungal sepsis. *Crit. Care*. 2013; 3: R85.
14. Gupta D.L., Bhoi S., Mohan T., et al. Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with post traumatic sepsis. *Cytokine*. 2016; 88: 214–21.
15. Kurganova E.V., Tikhonova M.A., Strel'tsova E.I., Ostannin A.A., Chernykh E.R., Kozlov V.A. Regulatory T-cells with suppressive activity in surgical sepsis. *Meditinskaya immunologiya*. 2006; 1: 51–60. (in Russian)
16. Savel'ev V.S., Gel'fand B.R. Sepsis: classification, clinical diagnostic concept and treatment: Practical guide. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2013. (in Russian)
17. Drewry A.M., Samra N., Skrupky L.P., et al. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. *Shock*. 2014; 42 (5): 383–91.
18. Manz M.G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14 (5): 302–14.
19. Khaydukov S.V., Zurochka A.V. Possibilities of flow cytometry in the diagnosis of infectious diseases. *Infektsiya i immunitet*. 2011; 1: 59–66. (in Russian)
20. Boomer J.S. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA*. 2011; 306: 2594–605.
21. Chernykh E.R., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Kurganova E.V., Strel'tsova E.I., Ostannin A.A., Kozlov V.A. T cell anergy in surgical sepsis. *Meditinskaya immunologiya*. 2003; 5: 529–38. (in Russian)
22. Venet F., Chung C.S., Kherouf H., et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)CD25(+)CD127(-)) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med*. 2009; 35 (4): 678–86.
23. Kozlov I.B., Vatazin A.V., Kil'dushevskiy A.V., Zulkarnayev A.B., Fedulkina V.A., Faenko A.P., Yazdovskiy V.V., Gudima G.O., Kofiadi I.A. Analysis of expression of immune system genes that are responsible for activation and inhibition of T-cell immune response in renal transplant recipients after extracorporeal photochemotherapy. *Immunologiya*. 2020; 41 (1): 20–30. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-20-30> (in Russian)
24. Liu Q., An L., Qi Z. Increased expression of programmed cell death-1 in regulatory T cells of patients with severe sepsis and septic shock: an observational clinical study. *Scand. J. Immunol.* 2017; 86 (5): 408–17.
25. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13: 862–74.
26. Cao C., Chai Y., Shou S., et al. Toll-like receptor 4 deficiency increases resistance in sepsis-induced immune dysfunction. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 54: 169–76.
27. Garib F.Y., Rizopulu A.P. Strategy of immune evasion of pathogens: the suppression of immune response by host's T-regulatory cells activation. *Immunologiya*. 2016; 37 (1): 35–46. (in Russian)
28. Romano M., Fanelli G., Albany C.J., Giganti G. Past, present and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. *Front. Immunol.* 2019; 10: 43.
29. Li J., Li M., Su L., Wang H., et al. Alterations of T helper lymphocyte subpopulations in sepsis, severe sepsis, and septic shock: a prospective observational study. *Inflammation*. 2015; 38: 995–1002.
30. Gentile L.F., Cuenca A.G., Efron P.A., et al. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *J. Trauma Acute Care Surg*. 2012; 72(6): 1491–501.
31. Russell B., Hawkins L., Steven L., et al. Chronic critical illness and the persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome. *Front. Immunol.* 2018; 2: 1511.
32. Venet F., et al. Increased percentage of CD4+CD25+ regulatory T cells during septic shock is due to the decrease of CD4+CD25- lymphocytes. *Crit. Care Med*. 2004; 32: 2329–31.
33. Surovoy Yu.A., Tsarenko S.V. Sepsis-induced immunosuppression. *Immunologiya*. 2019; 40 (3): 93–101. DOI: <https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-13010> (in Russian)
34. Pan P.Y., Ma G., Weber K.J., et al. Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Cancer Res*. 2010; 70 (1): 99–108.

Сведения об авторах

Маркелова Елена Владимировна – д.м.н., проф., зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Российская Федерация; e-mail: markev2010@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5846-851X>

Лазанович Владимир Анатольевич – к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Российская Федерация; <http://orcid.org/0000-0003-0354-4890>

Шуматов Валентин Борисович – д.м.н., проф., зав. кафедрой реанимации, анестезиологии, интенсивной терапии и скорой медицинской помощи ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Российская Федерация; <http://orcid.org/0000-0002-9645-3471>

Малков Владимир Александрович – ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Российская Федерация; <http://orcid.org/0000-0002-7186-299X>

Евсегнеева Ирина Валентиновна – д.м.н., проф., кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация; <http://orcid.org/0000-0002-6624-1363>

Authors' information

Elena V. Markelova – MD, Prof., Head of Normal and Pathological Physiology Chair of PSMU MOH of Russia, Vladivostok, Russian Federation; e-mail: markev2010@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5846-851X>

Vladimir A. Lazanovich – PhD, Associate prof. of Normal and Pathological Physiology Chair of PSMU MOH of Russia, Vladivostok, Russian Federation; <http://orcid.org/0000-0003-0354-4890>

Valentin B. Shumatov – MD, Prof., Head of Reanimatology, Anesthesiology and Urgent Medical Care Chair of PSMU MOH of Russia, Vladivostok, Russian Federation; <http://orcid.org/0000-0002-9645-3471>

Vladimir A. Malkov – Assistant of Normal and Pathological Physiology Chair of PSMU MOH of Russia, Vladivostok, Russian Federation; <http://orcid.org/0000-0002-7186-299X>

Irina V. Evsegneeveva – MD, Prof. of the Clinical Immunology and Allergology Chair of I.M. Sechenov FMSMU of the MOH of Russia (Sechenov University), Moscow, Russian Federation; <http://orcid.org/0000-0002-6624-1363>