© Смирнова О.В., Елманова Н.Г., 2021

Смирнова О.В., Елманова Н.Г.

Характеристика клеточного иммунитета у пациентов с механической желтухой, вызванной желчнокаменной болезнью

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» – обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 660022, г. Красноярск, Российская Федерация

Резюме

Введение. Механическая желтуха (МЖ) представляет собой угрожающую жизни дисфункцию органов, сопровождающуюся дисрегуляторным иммунным ответом на обструкцию, гипербилирубинемиию и инфекционный процесс. Прогноз заболевания зависит от меняющихся клеточных реакций врожденного и адаптивного иммунитета. Имеются данные о количественных изменениях Т- и В-лимфоцитов при МЖ, однако исследований их использования в качестве предикторов развития неблагоприятного прогноза недостаточно.

Цель – исследовать показатели клеточного звена адаптивного иммунитета у больных с МЖ, обусловленной желчнокаменной болезнью, в динамике после оперативного лечения.

Материал и методы. Показаны данные проспективного исследования клеток иммунной системы 40 пациентов с МЖ, обусловленной желчнокаменной болезнью, и 30 практически здоровых добровольцев. Забор крови у пациентов осуществлялся в первые 24 ч после поступления в стационар и установления диагноза «механическая желтуха» и на 7-е сутки после оперативного лечения. Оценку уровня Т-, НК- и В-лимфоцитов ($CD3^+CD19^-$, $CD3^+CD16/56^+$, $CD3^+CD19^+$), субпопуляций Т-лимфоцитов ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD4^+CD25^+$) проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител. Количество Th1- и Th2-клеток оценивали косвенно по содержанию цитокинов (ИФН- γ и ИЛ-4) в плазме крови, которые определяли с помощью иммуноферментного анализа и набора моноклональных антител ЗАО «Вектор Бест» (Россия).

Результаты. При поступлении у пациентов с МЖ выявляли лимфопению, снижение общих Т-лимфоцитов и их субпопуляций, уменьшение количества НК-клеток, увеличение Treg и ИЛ-4 ($p < 0,05$). После оперативного лечения у пациентов сохранялась Т-клеточная иммуносупрессия, но при этом нормализовались уровни Treg и цитокинов ($p < 0,05$).

Заключение. Выявлены значительные изменения со стороны клеток адаптивного иммунитета у пациентов с МЖ, обусловленной желчнокаменной болезнью, до оперативного вмешательства, проявляющиеся снижением содержания Т-лимфоцитов и их субпопуляций, дисбалансом Т-хелперов в сторону Th2-клеток, увеличением уровня Treg. В послеоперационном периоде супрессия клеточного звена иммунитета сохраняется из-за дополнительной антигенной нагрузки от самого оперативного вмешательства, при этом происходит стабилизация про- и противовоспалительных цитокинов, нормализация соотношения Th1/Th2-клеток и количества Treg. Количественное определение Treg-клеток может являться предиктором неблагоприятного прогноза у этих пациентов.

Ключевые слова: клеточная цитометрия; Т-лимфоциты; В-лимфоциты; НК-клетки; механическая желтуха; желчнокаменная болезнь

Статья получена 21.05.2021. Принята в печать 27.10.2021.

Для цитирования: Смирнова О.В., Елманова Н.Г. Характеристика клеточного иммунитета у пациентов с механической желтухой, вызванной желчнокаменной болезнью. Иммунология. 2021; 42 (6): 655–661. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-6-655-661>

Финансирование. Исследование проводилось за счет средств государственного задания НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН «Исследование молекулярно-генетических и регуляторно-метаболических механизмов функциональной активности клеток иммунной системы в норме и при иммунопатологических состояниях» № 121022600088-4 от 24.02.2021.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Смирнова Ольга Валентиновна –
доктор медицинских наук, доцент,
заведующий лабораторией
клинической патофизиологии
НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН,
Минобрнауки России,
Красноярск,
Российская Федерация
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3992-9207>

Smirnova O.V., Elmanova N.G.

Characterization of cellular immunity in patients with obstructive jaundice caused by cholelithiasis

«Federal Research Center» Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences «Research Institute of Medical Problems of the North», Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract

Introduction. Obstructive jaundice is currently a life-threatening organ dysfunction, accompanied by a dysregulatory immune response to obstruction, hyperbilirubinemia, and an infectious process. The prognosis of the disease depends on the changing cellular responses of innate and adaptive immunity. There is evidence of quantitative changes in T- and B-lymphocytes in obstructive jaundice, however, studies of their use as predictors of the development of an unfavorable prognosis are insufficient.

The aim of the study – estimation of the parameters of the cellular part of adaptive immunity in patients with obstructive jaundice caused by cholelithiasis in dynamics after surgical treatment.

Material and methods. The data of a prospective study of the cells of the immune system of 40 patients with obstructive jaundice due to cholelithiasis and 30 practically healthy volunteers are shown. Blood sampling from patients was carried out in the first 24 hours after admission to the hospital and the establishment of the diagnosis «obstructive jaundice» and on the 7th day after surgery. Evaluation of the level of T-, NK- and B-lymphocytes (CD3⁺CD19⁺, CD3⁺CD16/56⁺, CD3⁺CD19⁺), subpopulations of T-lymphocytes (CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺CD25⁺) was carried out by the method of flow cytometry using monoclonal antibodies. Determination of the number of Th1- and Th2 cells was assessed indirectly by the presence of cytokines IFN- γ and IL-4 in plasma, which were determined using enzyme-linked immunosorbent assay and a set of monoclonal antibodies produced by ZAO Vector Best (Russia).

Results. On admission, patients with obstructive jaundice showed lymphopenia, a decrease in total T-lymphocytes and their subpopulations, a decrease in the number of NK cells, an increase in Treg and IL-4 ($p < 0.05$). After surgical treatment, the patients retained T-cell immunosuppression, while Treg and cytokines were normalized ($p < 0.05$).

Conclusion. Significant changes in the adaptive immunity cells were revealed in patients with obstructive jaundice caused by cholelithiasis before surgery, manifested by a decrease in the content of T-lymphocytes and their subpopulations, an imbalance of T-helpers towards Th2 cells, an increase in Treg. In the postoperative period, the suppression of the cellular immunity is preserved due to the additional antigenic load from the surgical intervention itself, while the stabilization of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, the normalization of the ratio of Th1/Th2-cells and the number of Treg. Quantification of Treg cells can be a predictor of poor prognosis in these patients.

Keywords: cell cytometry; T-lymphocytes; B-lymphocytes; NK cells; obstructive jaundice, cholelithiasis

Received 21.05.2021. Accepted 27.10.2021.

For citation: Smirnova O.V., Elmanova N.G. Characterization of cellular immunity in patients with obstructive jaundice caused by cholelithiasis. Immunologiya. 2021; 42 (6): 655–661. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-6-655-661> (in Russian)

Funding. The study was carried out at the expense of the state task of the SRI MPN FRC KSC SB RAS «Study of molecular genetic and regulatory metabolic mechanisms of the functional activity of cells of the immune system in health and immunopathological conditions» No. 121022600088-4 of 24.02.2021.

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

Введение

Механическая желтуха (МЖ) в настоящее время представляет собой угрожающую жизни дисфункцию органов, сопровождающуюся дисрегуляторным иммунным ответом на обструкцию, гипербилирубинемия

и инфекционный процесс. При МЖ возникает сложный патогенетический процесс, обусловленный выраженной интоксикацией, воспалением, присоединением инфекционных агентов и развитием осложнений. В основе патологических изменений данного состояния лежат

For correspondence

Olga V. Smirnova – MD, PhD,
Associate Professor,
Head of the laboratory
of clinical pathophysiology
of the SRI MPN FRC KSC SB RAS,
MSHE of Russia,
Krasnoyarsk, Russian Federation
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3992-9207>

сложные взаимодействия клеток врожденного и адаптивного иммунного ответа, реализующие иммунные реакции через эндогенные молекулы, появляющиеся в результате клеточного дистресса или некроза.

Адаптивный иммунитет осуществляется высоко-специфичными Т- и В-клетками, которые продуцируются в ответ на чужеродный антиген, распознаваемый с участием паттерн-распознающих рецепторов (PRR) клеток врожденного звена иммунитета после процессинга эпитопа антиген-презентирующими клетками. Иммунный ответ, реализуемый клетками адаптивного иммунитета, проявляется после реакций врожденного иммунитета, характеризующихся выделением различных цитокинов. Именно поэтому нарушения на начальном этапе воспаления при МЖ характеризуются минимальными изменениями со стороны адаптивного иммунитета. В то же время увеличение содержания нейтрофилов, по данным других исследователей, сопровождается более тяжелым течением МЖ и развитием осложнений [1]. Прогностическая роль количественных колебаний лимфоцитов и их Т-субпопуляций на ранних этапах развития МЖ не выяснена и подвергается сомнению [2]. Немногочисленны исследования, оценивающие количественные параметры В-лимфоцитов, так как на ранних этапах МЖ их колебания тоже незначительны [3].

В клинической практике количественная оценка основных клеточных популяций, осуществляющих адаптивный иммунитет, может использоваться в качестве доступного метода оценки иммунного статуса при воспалительной патологии. Изучение субпопуляций лимфоцитов с экспрессией маркеров позволяет оценивать функциональные возможности Т- и В-лимфоцитов. Клетки иммунной системы играют ключевую роль в противоинфекционном иммунитете, являясь биомаркерами иммунных реакций при воспалительных процессах, критериями диагностики его фено- и эндотипов, что особенно важно на поздних стадиях МЖ, когда неблагоприятный прогноз обусловлен иммуносупрессией вследствие реакций адаптивного иммунитета [4].

Регуляция воспаления, по мнению исследователей, зависит от особенностей различных субпопуляций Т-лимфоцитов, особенно CD4⁺-Т-клеток. Зрелые Т-хелперы имеют различные подтипы: Th1, Th2 и Th17, отличающиеся друг от друга по набору продуцируемых цитокинов в ходе иммунного ответа. Th1-клетки ответственны за клеточный иммунный ответ, они продуцируют ИФН- γ , Th2-лимфоциты – за гуморальный иммунитет, они продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13. Чрезмерная продукция Th2-цитокинов способствует иммуносупрессии при септических осложнениях [5]. При тяжелом воспалительном процессе в крови обнаруживается уменьшение абсолютного количества Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов, за исключением регуляторных Т-лимфоцитов (Treg), которые ответственны за индукцию и поддержание иммунной толерантности [6]. Имеются данные, что при тяжелых септи-

ческих осложнениях выявляется повышение числа Treg при уменьшении пролиферативной и функциональной активности эффекторных Т-клеток [7, 8].

В настоящее время отсутствуют общепризнанные параметры и фенотипические характеристики иммунного ответа у пациентов с МЖ, вызванной желчнокаменной болезнью (ЖКБ). Данная проблема весьма актуальна и требует дальнейшего изучения. Исследование механизмов восстановления клеточного звена иммунной системы после воздействия ЖКБ и оперативного вмешательства имеет важное значение как для понимания патогенеза их повреждающего действия, так и для поиска адекватных способов коррекции возникающих нарушений.

Цель – исследовать показатели клеточного звена адаптивного иммунитета у пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ, в динамике после оперативного лечения.

Материал и методы

В исследовании принимали участие 40 пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ. Обследование и лечение пациенты проходили на базе КГБУЗ «Красноярской межрайонной клинической больницы скорой медицинской помощи им. Н.С. Карповича». В группу сравнения вошли 30 практически здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу. Исследование проводили при наличии информированного согласия всех пациентов, оно было одобрено локальным этическим комитетом ФИЦ КНЦ СО РАН 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., в соответствии со статьями 20, 22, 23 Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 21.07.2014).

В исследование были включены 26 (65 %) мужчин, 14 (35 %) женщин (основная группа) и 30 практически здоровых добровольцев (группа сравнения). Возраст лиц группы сравнения и пациентов варьировал от 37 лет до 71 года (средний возраст – $52,3 \pm 12,8$ года). Причиной МЖ стала обструкция, вызванная обострением ЖКБ. Забор крови в пробирки с гепарином у участников группы сравнения осуществлялся однократно, у пациентов – в первые 24 ч после поступления в стационар и установления диагноза «механическая желтуха» в соответствии с критериями заболевания (1-й забор крови в основной группе) и на 7-е сутки после оперативного лечения (2-й забор крови в основной группе). Лабораторный анализ осуществлялся не позднее чем через 4 ч после забора крови. Процедура исследования крови была стандартизирована и осуществлялась одними и теми же реактивами в одинаковые временные интервалы для всех пациентов.

Оценка уровня Т-, НК- и В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻, CD3⁻CD16/56⁺, CD3⁻CD19⁺), субпопуляций Т-лимфо-

цитов ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD4^+CD25^+CD127^-$) проводилась методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител на проточном 5-параметровом цитометре FC-500 (Beckman Coulter, США). Количество Th1- и Th2-клеток оценивали косвенно по содержанию в плазме крови цитокинов ИФН- γ и ИЛ-4, которые определяли с помощью иммуноферментного анализа и набора моноклональных антител ЗАО «Вектор Бест» (Россия).

Статистические данные анализировали с помощью прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США), по общепринятым критериям после оценки принадлежности количественных признаков к виду распределения (тест Шапиро–Уилка). При использовании критериев Колмогорова–Смирнова и Лилиефорса выявлено отсутствие нормального распределения признаков во всех полученных выборках. Для оценки различий в группах использовали непараметрические критерии Краскела–Уоллиса (для 3 и более групп сравнения) и Манна–Уитни (для попарного сравнения). Все данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного разброса медианы ($Q_{25}-Q_{75}$).

Результаты

У пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ, при определении параметров клеточного звена иммунного ответа определено увеличение количества лейкоцитов по отношению к группе сравнения на 52 % ($p_{1-2} < 0,05$). При этом регистрировалось снижение абсолютного и относительного числа лимфоцитов относительно показателей группы сравнения ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$) (табл.). Уменьшение количества лимфоцитов может стать фактором прогноза иммуносупрессии и неблагоприятного исхода [9].

Обнаружено снижение относительного и абсолютного числа Т-лимфоцитов ($CD3^+CD19^+$) у пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$), и абсолютного и относительного числа Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) у пациентов ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$) по отношению к группе сравнения.

Определение экспрессии CD8 на Т-лимфоцитах у пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ, показало уменьшение количества (абсолютного и относительного числа) цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) ($p_{1-2} < 0,05$) по отношению к группе сравнения.

В группе пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ, не найдено статистически значимых отличий в содержании В-лимфоцитов ($CD3^-CD19^+$) по отношению к группе сравнения.

Также отмечено снижение у пациентов относительного и абсолютного числа НК-клеток ($CD3^-CD16/56^+$) по отношению к группе сравнения ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$).

Дополнительно были определены показатели регуляторных Т-клеток ($CD4^+CD25^+$). У пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ, увеличивалось относительное и абсолютное количество регуляторных Т-клеток ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$) относительно группы сравнения.

При изучении содержания цитокинов в венозной крови у пациентов с МЖ выявлено увеличение уровня ИЛ-4 ($p_{1-2} < 0,05$) относительно группы сравнения, при этом показатель ИФН- γ не отличался от нормальных значений. Данный результат позволил выдвинуть предположение о преобладании Th2-субпопуляции Т-лимфоцитов над Th1-субпопуляцией ($p < 0,05$).

На 7-е сутки после оказания оперативного лечения в группе пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ, при определении параметров клеточного звена иммунного ответа не найдено статистически значимого отличия количества лейкоцитов по сравнению с показателями группы сравнения. При этом отмечалось снижение абсолютного числа лимфоцитов относительно показателей группы сравнения ($p_{1-2} < 0,05$) на 31 % (см. табл.).

Несмотря на проведенное лечение, обнаруживались сниженные показатели относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов ($CD3^+CD19^+$) и Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) у пациентов с МЖ, обусловленной ЖКБ ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$) по отношению к группе сравнения. По сравнению с практически здоровыми людьми на 7-е сутки после операции показатели цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) оставались пониженными ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$).

Относительное и абсолютное количество НК-клеток ($CD3^-CD16/56^+CD45^+$) было снижено по отношению к группе сравнения ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-2} < 0,05$).

На 7-е сутки после операции у пациентов не найдено статистически значимого отличия основной группы и группы сравнения относительного числа регуляторных Т-клеток ($CD4^+CD25^+$), а абсолютное число данных клеток было снижено на 15 % ($p_{1-2} < 0,05$).

При изучении цитокинов в венозной крови у больных МЖ после оперативного вмешательства отмечалась нормализация показателей ИФН- γ и ИЛ-4 по отношению к группе сравнения, что позволило предположить отсутствие дисбаланса соотношения Th1- и Th2-клеток.

Обсуждение

Согласно результатам исследования, у больных МЖ, обусловленной ЖКБ, при поступлении был выявлен лейкоцитоз, который указывает на развитие выраженной воспалительной реакции в месте обструкции. Наблюдаются выраженные изменения врожденного иммунитета. Гранулоциты из костного мозга по хемокиновому градиенту направляются к месту обструкции, способствуя появлению лейкоцитоза. Такое состояние вызывает миграцию из костного мозга эффекторных клеток врожденного иммунитета и незрелых гранулоцитов, вызывая экстренный гранулопоз/миелопоэз [10]. В нашем исследовании отмечается снижение общих Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических клеток, НК-клеток у больных МЖ до оперативного лечения. Патогенетическую и диагностическую значимость имеет соотношение Th1- и Th2-клеток при иммуноопосредованных заболеваниях [11].

Механизмом иммуносупрессии при МЖ, по данным ряда авторов, является сдвиг иммунного ответа от Th1-

Медианные показатели иммунитета у пациентов с механической желтухой, обусловленной желчнокаменной болезнью
Me (Q₂₅–Q₇₅)

Показатель	Группа			p, критерий Краскела–Уоллиса
	сравнения (n = 30)	основная (1 забор крови) (n = 40)	основная (2 забор крови) (n = 40)	
сроки исследования	однократно	24 ч после установле- ния диагноза «меха- ническая желтуха»	на 7-е сутки после оперативно- го лечения	
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	5,7 (4,82–7,47)	8,7 (6,55–11,8)*	6,9 (5,9–10)	< 0,05
Лимфоциты, %	35,8 (31,9–44,9)	15,3 (10–21)*	23,4 (18–32)	< 0,05
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	2,17 (1,49–3,35)	1,12 (0,89–1,69)*	1,5 (1,37–1,82)**	< 0,05
CD3 ⁺ (Т-лимфоциты общие), %	66 (60–75)	22,5 (16–35,3)*	11 (10–34,5)**	< 0,05
CD3 ⁺ (Т-лимфоциты общие), × 10 ⁹ /л	1,43 (0,93–2,42)	0,308 (0,15–0,465)*	0,15 (0,12–0,43)**	< 0,05
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Т-хелперы), %	45 (34,01–48,87)	16 (10–29,2)*	8 (4,5–15,5)**	< 0,05
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (Т-хелперы), ×10 ⁹ /л	0,97 (0,52–1,61)	0,198 (0,097–0,285)*	0,123 (0,072–0,187)**	< 0,05
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), %	27 (20–33,81)	14,9 (7–25,58)*	4,4 (3,8–11,5)	< 0,05
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), ×10 ⁹ /л	0,58 (0,31–1,1)	0,184 (0,071–0,269)*	0,099 (0,041–0,159)**	< 0,05
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ (НК-клетки), %	18 (13,89–21,3)	12 (9–22,6)*	10,8 (6–22,32)**	< 0,05
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ (НК-клетки), ×10 ⁹ /л	0,33 (0,16–0,47)	0,17 (0,094–0,277)*	0,14 (0,07–0,42)**	< 0,05
CD19 ⁺ (В-лимфоциты), %	14 (8,2–15,9)	14,5 (11–27)	11 (2–14,8)	> 0,05
CD19 ⁺ (В-лимфоциты), ×10 ⁹ /л	0,29 (0,13–0,46)	0,174 (0,1–0,35)	0,19 (0,05–0,29)	> 0,05
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 [–] (регуляторные Т-клетки), %	1,88 (0,81–4,2)	8,23 (4,8–12,3)*	4 (0,9–8,3)** ***	< 0,05
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 [–] (регуляторные Т-клетки), ×10 ⁹ /л	0,04 (0,01–0,089)	0,189 (0,156–0,38)*	0,02 (0,006–0,048)** ***	< 0,05
Иммунорегуляторный индекс (CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺)	1,59 (1,14–1,91)	1,12 (1–1,8)	1,7 (1–1,92)	> 0,05
ИФН-γ, пг/мг	0,6 (0,22–4,0)	1,5 (0,3–2,1)	1,23 (0,8–5)	> 0,05
ИЛ-4, пг/мг	2,15 (0,6–4,8)	3,1 (2,2–4)*	1,99 (0,8–3,5)** ***	< 0,05

Примечание. Обозначена статистическая разница между основными группами и группой сравнения по критерию Манна–Уитни (p < 0,05): * – между группой сравнения и пациентами с механической желтухой (МЖ) до операции; ** – между группой сравнения и пациентами с МЖ после операции; *** – между группами пациентов с МЖ до и после операции.

к Th2-типу. Дисбаланс Th1/Th2 приводит к увеличению продукции противовоспалительных цитокинов, трансформации фенотипа Т-клеток в Th2-клетки [12].

Увеличение количества Treg, выявленное у больных МЖ до оперативного лечения, повышает супрессорную активность, способствуя анергии Т-клеток и возникновению стадии иммунного паралича [13]. Таким образом, ранняя декомпрессия желчных протоков при МЖ способна уменьшить данные иммунологические нарушения. Отсроченное хирургическое вмешательство способствует развитию хирургического сепсиса, при котором супрессию иммунного ответа ассоциируют именно с Treg [14].

Treg отводится ведущая роль при онкологических, аутоиммунных, аллергических и инфекционных заболеваниях. Данные клетки осуществляют Т-клеточный гомеостаз, предотвращая возникновение реакции «трансплантат против хозяина», развитие аллергических реакций и аутоиммунных заболеваний [15]. Кроме того, Treg снижают противоопухолевый и противо-

инфекционный иммунитет, регулируют интенсивность и длительность иммунных реакций. Увеличение количества Treg при МЖ связано с уменьшением пролиферативной и функциональной активности эффекторных Т-клеток [16].

Treg оказывают влияние на нейтрофилы, вызывают их апоптоз, уменьшают продукцию ими цитокинов [17]. Снижение количества регуляторных клеток сопровождается повышенной продукцией провоспалительных цитокинов [18]. Бактериальные антигены, взаимодействуя с Treg через рецепторы врожденного иммунитета, усиливают экспрессию фактора транскрипции Foxp3 и повышают супрессивную активность клеток [19].

Treg вызывают снижение активности клеток иммунной системы благодаря различным факторам и механизмам: продукции противовоспалительных цитокинов, перфорина и гранзима, разрушающих мембрану клетки; высокой экспрессии CD25; угнетения дендритных клеток через ингибиторные корецепторы. Также Treg вызывают различные метаболические нарушения; сдвиг

дифференцировки моноцитов в сторону M2-макрофагов и предотвращение их созревания в провоспалительные M1-макрофаги; способствуют индукции супрессивного фенотипа нейтрофилов и уменьшению секреции цитокинов лимфоцитами врожденного иммунитета [20]. Следовательно, Treg принимают участие в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета при различных патологических процессах [21]. При септических осложнениях развивается стойкое воспаление с подавлением адаптивного иммунитета, которое может быть объяснено синдромом хронического воспаления с иммуносупрессией и синдромом катаболизма (PICS) [22].

В условиях хронического несбалансированного иммунного ответа повышается активность миелоидных супрессорных клеток (MDSC, myeloid derived suppressor cells). При экстренном миелопоэзе в условиях «цитокинового шторма» нарушается дифференцировка незрелых миелоидных клеток в зрелые, увеличивается популяция CD11b⁺CD14⁺CD33⁺-MDSC с иммуносупрессивными и провоспалительными свойствами. Данные клетки продуцируют фермент аргиназу и участвуют во всех биологических процессах с участием аргинина. Недостаток аргинина нарушает сигнализацию в Т-клетках, блокирует образование Т-клеток памяти, а эффекторные Т-клетки уходят в апоптоз [23]. Treg более устойчивы к апоптозу, поэтому они сохраняются в условиях инфекционного процесса [24]. Миелоидные супрессорные клетки через CD40-рецепторы сами вызывают индукцию Treg [25].

На 7-е сутки после операции у больных с МЖ отмечалось уменьшение количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций, что, вероятно, обусловлено воздействием

дополнительной антигенной нагрузки из-за самого оперативного вмешательства. Наше исследование показало, что супрессия иммунной системы сохраняется, при этом нормализуются соотношения Th1/Th2-клеток и количество Treg, что может указывать на положительную динамику выздоровления.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о значительных изменениях со стороны клеток адаптивного иммунитета у больных МЖ, обусловленной ЖКБ, до оперативного вмешательства, проявляющихся снижением содержания Т-лимфоцитов и их субпопуляций, дисбалансом Т-хелперов в сторону Th2-клеток, увеличением Treg. В послеоперационном периоде супрессия клеточного звена иммунитета сохранена из-за дополнительной антигенной нагрузки от самого оперативного вмешательства, при этом происходят стабилизация уровней про- и противовоспалительных цитокинов, нормализация соотношения Th1/Th2-клеток и количества Treg. Количественное определение Treg может стать предиктором неблагоприятного прогноза у этих больных. Нарушения клеточного иммунитета у больных с МЖ предопределяют необходимость проведения иммуномодулирующей терапии. Все это требует дальнейшего изучения и проведение дополнительных исследований в данной области.

Вклад авторов. Смирнова О.В. – координация исследования, анализ данных, редактирование текста статьи; Елманова Н.Г. – сбор клинического материала, проведение лабораторных исследований, статистическая обработка данных, написание статьи.

Литература

1. 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.
2. 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.
3. Donadello K., Taccone F.S. Should we measure immunoglobulin levels in septic patients? Int. Immunopharmacol. 2012; 12 (3): 540–1.
4. 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.
5. Xing-Hai Chen, Yong-Jie Yin., Jing-Xiao Zhang. Sepsis and immune response. World J. Emerg. Med. 2011; 2: 88–92.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Drewry A.M., Samra N., Skrupky L.P. et al. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. Shock. 2014; 42 (5): 383–91.
10. Manz M.G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis. Nat. Rev. Immunol. 2014; 14 (5): 302–14.
11. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Возможности проточной цитофлюориметрии в диагностике инфекционных заболеваний. Инфекция и иммунитет 2011; 1: 59–66.
12. Boomer J.S. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. JAMA. 2011; 306: 2594–605.
13. 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.
14. 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.
15. Козлов И.Б., Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В., Зулькарнаев 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>
16. 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.
17. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. Nat. Rev. Immunol. 2013; 13: 862–74.
18. 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.
19. Фрейдлин И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции. Медицинская иммунология. 2005; 7 (4): 347–54.

20. 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.
21. 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.
22. 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.

■ References

1. 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.
2. 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.
3. Donadello K., Taccone F.S. Should we measure immunoglobulin levels in septic patients? *Int. Immunopharmacol.* 2012; 12 (3): 540–1.
4. Lazanovich V.A., Stepanyuk V.N., Smirnov G.A., Markelova E.V. Biomarkers of inflammation in the prognosis of the outcome of abdominal sepsis. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2012; 4: 311–5. (in Russian)
5. Xing-Hai Chen, Yong-Jie Yin., Jing-Xiao Zhang. Sepsis and immune response. *World J. Emerg. Med.* 2011; 2: 88–92.
6. 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.
7. 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.
8. 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)
9. Drewry A.M., Samra N., Skrupky L.P., et al. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. *Shock.* 2014; 42 (5): 383–91.
10. Manz M.G., Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14 (5): 302–14.
11. 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)
12. Boomer J.S. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA.* 2011; 306: 2594–605.
13. Chernykh E.R., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Kurganova E.V., Strel'tsova E.I., Ostannin A.A., Kozlov V.A. Phenomenon of T cell anergy in surgical sepsis. *Meditinskaya immunologiya.* 2003; 5: 529–38. (in Russian)
14. Venet F., Chung C.S., Kherouf H., et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)CD25(+)CD127(-)) contribute to

23. Russell B., Hawkins I., Steven L. et al. Chronic critical illness and the persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome. *Front. Immunol.* 2018; 2: 1511.
24. 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.
25. 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.

- lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med.* 2009; 35 (4): 678–86.
15. Kozlov I.B., Vatazin A.V., Kil'dyushevsky A.V., Zul'kar-naev A.B., Fedulkina V.A., Faenko A.P., Yazdovsky V.V., Gudima G.O., Kofiadi I.A. Analysis of the expression of the genes of the immune system responsible for the activation and inhibition of the T-cell immune response in renal transplant recipients after extracorporeal photopheresis. *Immunologiya.* 2020; 41 (1): 20–30. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-20-30> (in Russian)
16. 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.
17. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13: 862–74.
18. 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.
19. Freidlin I.S. Regulatory T-cells: origin and function. *Medical Immunology.* 2005; 7 (4): 347–54. (in Russian)
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Russell B., Hawkins I., Steven L., et al. Chronic critical illness and the persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome. *Front. Immunol.* 2018; 2: 1511.
24. 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.
25. 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

Смирнова Ольга Валентиновна – д-р мед. наук, доцент, зав. лаб. клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, обособленное подразделение НИИ МПС, Минобрнауки России, Красноярск, Российская Федерация
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3992-9207>

Елманова Нина Георгиевна – канд. биол. наук, мл. науч. сотр. лаб. клинической патофизиологии ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, обособленное подразделение НИИ МПС, Минобрнауки России, Красноярск, Российская Федерация
E-mail: elm-nina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6073-0601>

Authors' information

Olga V. Smirnova – MD, PhD, Associate Prof., Head of the Clinical Pathophysiology Lab., SRI MPN FRC KSC SB RAS, MSHE of Russia, Krasnoyarsk, Russian Federation
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3992-9207>

Nina G. Elmanova – PhD, Junior Researcher, Clinical Pathophysiology Lab., SRI MPN FRC KSC SB RAS, MSHE of Russia, Krasnoyarsk, Russian Federation
E-mail: elm-nina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6073-0601>