

СЕПСИС И АПОПТОЗ

Х.С. Хаертынов¹, В.А. Анохин¹, С.В. Бойчук¹, А.А. Ризванов²

¹ Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Sepsis and apoptosis

Kh.S. Khaertynov¹, V.A. Anokhin¹, S.V. Boichuk¹, A.A. Rizvanov²

¹ Kazan State Medical University, Kazan, Russia

² Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

В работе приведен обзор современных представлений об иммунном ответе при сепсисе. Сепсис протекает на фоне развития как системной воспалительной реакции, так и феномена иммуносупрессии. Дисфункция иммунной системы — одно из важнейших и обязательных звеньев патофизиологии процесса. Одним из механизмов иммуносупрессии при сепсисе является апоптоз лимфоцитов. В статье рассмотрены основные пути активации этого процесса, в том числе и при неонатальном сепсисе.

Ключевые слова: сепсис, апоптоз лимфоцитов.

The article provides an overview of the current knowledge about the immune response in sepsis. Sepsis occurs on a background of development as a systemic inflammatory response, and immunosuppression phenomena. Dysfunction of the immune system is one of the most important parts of the pathophysiology and compulsory process. One of the immunosuppression mechanisms in sepsis is lymphocyte apoptosis. The article describes the main activation pathway of this process including those in neonatal sepsis.

Keywords: sepsis, lymphocyte apoptosis.

Введение

Неонатальный сепсис (НС) — наиболее значимая с клинической точки зрения инфекционная патология периода новорожденности [1]. Полиорганная недостаточность и неконтролируемая воспалительная реакция лежат в основе неблагоприятного прогноза при этом заболевании. Тем не менее, многочисленные наблюдения не раз демонстрировали отсутствие «ожидаемых» грубых некротических изменений в пораженных органах, столь свойственных воспалительному процессу. Более того, используемый арсенал противовоспалительных средств (главным образом, кортикостероидов) не всегда эффективно подавляет выраженную воспалительную реакцию, поэтому не позволяет контролировать клиническую ситуацию. Очевидно, что причиной данного несоответствия может быть грубая органная дисфункция, не только усугубляемая, но и формируемая апоптотическими явлениями.

Иммунный ответ при сепсисе

Согласно современным данным, врожденный иммунитет реализуется целым комплексом факторов: целостностью кожи и слизистых, нейтрофилами, моноцитами, дендритными клетками, «вооруженными», в том числе, Toll-и Nod-подобными рецепторами (TLR, NLR), а также иммуноглобулинами, переданными от матери плоду. Активная их трансмиссия через материнскую плаценту, как известно, происходит лишь после 32 нед. гестации [2]. В этой связи, недоношенные дети *argioi* имеют значимо больший риск развития тяжелого инфекционного процесса по сравнению с доношенными, что и реализуется в последующем на практике. В инициации иммунного ответа важное место принадлежит TLR, обеспечивающим межмолекулярное взаимодействие микроорганизма с клетками иммунной системы. Известно 10 TLR у человека, которые обнаруживаются на поверхности различных клеток: лейкоцитах, эпителии пищеварительного тракта, эндотелии сосудов, кератиноцитах кожи, микроглии [3]. Основной их функцией является раннее распознавание инфекционных агентов с последующей экспрессией генов провос-

палительных цитокинов, активирующих фагоциты, Т- и В-лимфоциты, синтез иммуноглобулинов [4, 5]. Экспрессия рецепторов врожденного иммунитета на поверхности клеток определяется гестационным возрастом ребенка и массой его тела при рождении: так у новорожденных с экстремально низкой массой (ЭНМТ) экспрессия рецепторов ниже в сравнении с доношенными детьми и взрослыми. В частности, активность TLR2, TLR4 на поверхности макрофагов у недоношенных детей предельно мала [6]. В том числе и по этой причине у детей, рожденных ранее нормального срока, стимулированная липополисахаридом секреция провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α оказывается сниженной [7, 8].

Созревание адаптивного иммунитета происходит, как известно, после рождения ребенка. Для новорожденных характерны сравнительно небольшая популяция и низкие уровни активности Т-клеток (в том числе и клеток памяти) и взаимодействия их с В-лимфоцитами [9, 10]. Преимущественная активация Т-хелперов 2 типа способствует доминированию в цитокиновом спектре противовоспалительных факторов, повышающих уязвимость к инфекциям [9].

Иммунный ответ при сепсисе, согласно современным представлениям, имеет двухфазный характер [11, 12]. Первая фаза характеризуется активацией клеток иммунной системы и протекает с преобладанием синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), проявляющегося преимущественным синтезом провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, 8) и др. маркеров воспаления — С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина. Кроме того, на фоне общего роста числа нейтрофилов на их поверхности экспрессируются CD11b, CD64 [13]. Наибольший рост уровня провоспалительных медиаторов в кровотоке («цитокиновый шторм») характерен для тяжелого сепсиса и септического шока, сопровождающихся дисфункцией одного или нескольких органов — полиорганной недостаточностью (ПОН) [11]. Примером такой реакции может стать фульминантная форма менингококцемии, при которой большой погибает в течение первых нескольких часов от начала заболевания. Поэтому перспективы лечения начальной

e-mail: khalit65@rambler.ru

фазы сепсиса обычно ассоциируются с проведением активной противовоспалительной терапией.

В это же самое время, целый ряд других реакций, традиционно связываемых с функциональной активностью моноцитов и их способностью синтезировать провоспалительные цитокины, существенно подавляется, что послужило основанием для описания «гипоэргического» варианта ответа в подобной клинической ситуации [14, 15]. Вторая фаза септического процесса характеризуется формированием и доминированием противовоспалительного ответа (СПВО) [11, 16]. Более того, высокий уровень ИЛ-10 при сепсисе у детей (в т.ч. и при неонатальном) ассоциирован с неблагоприятным исходом именно в эти сроки заболевания: наибольшие значения цитокина в крови наблюдали среди умерших пациентов [17, 18]. Именно иммуносупрессия и развивающийся при этом «иммунный паралич» становятся, по-видимому, основными причинами летальности в эту фазу сепсиса [19]. Показательно, что раннее назначение антибактериальных препаратов и методы патогенетической терапии, практикуемые в последнее время, привели к «смещению» показателя летальности в фазу именно иммуносупрессии: более 70% такого рода исходов регистрируются после 3 дня болезни [19].

Во второй фазе заболевания патогенетически обосновано проведение стимулирующей иммунотерапии. Однако эффективность ее при сепсисе неоднозначна и зависит, как показала практика, от множества факторов [20]. Важно отметить, что выделение двух фаз иммунного ответа при сепсисе в указанном хронологическом порядке является достаточно условным, поскольку ССВО, так же как и СПВО могут регистрироваться на любой стадии сепсиса. Справедливость этого утверждения была доказана на модели сепсиса у мышей, когда уже в начальной стадии заболевания отмечалось одновременное повышение как про-, так и противовоспалительных цитокинов в крови [21]. Кроме того, с развитием СПВО синтез провоспалительных цитокинов не прекращается, хотя уровень их в крови становится ниже в сравнении с ранней фазой сепсиса [22].

Апоптоз

Наряду с некрозом апоптоз представляет собой одну из форм клеточной гибели [23]. Эта генетически программируемая гибель клеток лежит в основе патогенеза различных заболеваний (онкологических, аутоиммунных), в том числе и инфекционных (ВИЧ-инфекция, сепсис) [24]. Физиологический смысл этого процесса при сепсисе заключается в элиминации макрофагами «отработавших свое» активированных клеток иммунной системы. В отличие от некроза, при котором гибель клетки индуцируется повреждением ее мембраны и сопровождается кариолизисом, при апоптозе развивается конденсация хроматина с последующей фрагментацией ядра (кариорексис) [23, 24]. Основными морфологическими признаками апоптоза, выявляемыми при проведении световой и электронной микроскопии, являются дегидратационное сжатие клеток, утрата межклеточных контактов, флэббинг, разрушение цитоскелета, конденсация хроматина, фрагментация ядра и деградация ДНК [25].

Индукция апоптоза может осуществляться либо через экспрессию Fas- и TNF-рецепторов плазматической

мембраны («внешний путь»), либо через снижение мембранного потенциала митохондрий («внутренний путь») [24]. Важную роль в этом процессе играют каспазы (ферментная система, относящаяся к цистеиновым протеиназам). Внешний путь апоптоза опосредован каспазой-8, тогда как внутренний — каспазой-9. В завершающей стадии ключевую роль играет уже каспаза-3, в активации которой участвуют два вышеназванных фермента [26]. Лабораторными маркерами апоптоза иммунокомпетентных клеток являются: выраженная экспрессия белков CD95 (Fas-рецептор) и CD120 (рецептор к фактору некроза опухоли) на плазматических мембранах, снижение мембранного потенциала митохондрий, транслокация фосфатидилсерина с внутренней на наружную поверхность мембраны клеток, повышение активности каспаз [24]. Основным компонентом клетки, препятствующим апоптозу, является митохондриальный белок Bcl-2, экспрессия которого обычно ассоциируется с анти-апоптотической активностью [26].

Активация апоптоза при сепсисе осуществляется обоими путями [26]. При этом разрушению подвергаются преимущественно лимфоциты, дендритные и эпителиальные клетки [23]. Считается, что эти типы клеток склонны к апоптозу из-за их способности к быстрому делению [26]. Диагностическое значение имеет увеличение доли погибших клеток более чем на 10%. Развитие лимфопении относится к одному из ранних проявлений апоптоза при сепсисе [27–29]. Активация процесса апоптоза лимфоцитов крови отмечается при сепсисе у пациентов различных возрастных групп, в том числе у детей периода новорожденности [12, 30, 31]. Сохранившие жизнеспособность дендритные клетки, а также моноциты и макрофаги демонстрируют низкую экспрессию HLA-DR и повышенный синтез интерлейкина-10 [32, 33]. Было показано, что снижение экспрессии HLA-DR моноцитов ассоциируется с высоким риском нозокомиальных инфекций и летального исхода при сепсисе [34–36]. Критическим порогом является экспрессия HLA-DR моноцитов до цифр менее 30%, когда вероятность летального исхода возрастает в 30 раз [13]. Результаты морфологических исследований тканей людей, умерших от сепсиса, также выявляют наличие выраженного апоптоза иммунных клеток у людей разного возраста [37–39]. Примечательно, что при сепсисе, в отличие от лимфоцитов, которые подвергаются усиленному апоптозу, в нейтрофилах этот процесс имеет отсроченный характер [40, 41]. Выброс в кровяное русло незрелых форм нейтрофилов в сочетании с задержкой апоптоза циркулирующих зрелых клеток проявляется картиной выраженного нейтрофилеза с характерным «сдвигом влево». Клетками, обладающими устойчивостью к апоптозу, являются T-регуляторные лимфоциты (Treg). Уровень их при сепсисе значительно увеличивается как в крови, так и в тканях [41]. Повышение уровня Treg сопровождается супрессивным влиянием как на врожденный, так и на адаптивный иммунитет, что, в частности, проявляется подавлением пролиферативной и функциональной активностей эффекторных T-клеток [42, 43]. Апоптоз клеток иммунной системы регистрируется не только в крови, но и в различных лимфоидных органах — селезенке, лимфатических узлах, тимусе, а также в ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани [44]. Снижение количества лимфоцитов в стенке кишечника

способствует транслокации бактерий в системный кровоток, развитию ССВО и увеличению вероятности развития вторичных инфекций [45]. Результат развития сепсис-индуцированного апоптоза — снижение эффективности иммунного ответа и ухудшение клиренса внутренних сред организма [46]. При этом, выраженность апоптоза лимфоцитов прямо коррелирует с тяжестью септического процесса и степенью иммуносупрессии [47]. Помимо лимфоцитов и дендритных клеток апоптозу при сепсисе подвергаются также эпителиальные клетки различных органов. Сепсис-индуцированный апоптоз клеток эпителия кишечника, легких и печени приводит в итоге к их органной дисфункции [23]. Гибель клеток слизистой пищеварительного тракта становится причиной нарушения целостности кишечной стенки, снижения ее барьерной функции, повышения проницаемости и транслокации грамотрицательных бактерий в кровоток.

Группу риска клинически значимого апоптоза составляют новорожденные, родившиеся в состоянии гипоксии. На практике это ассоциируется с такими патологическими состояниями, как бронхолегочная дисплазия, различные формы перинатального поражения головного мозга (внутрижелудочковые кровоизлияния, перивентрикулярная лейкомаляция) [48].

Очевидно, что патологическая активация апоптоза при сепсисе нуждается в соответствующей коррекции. Показано, что эффективное подавление этих процессов на моделях животных и у людей, больных сепсисом, снижает риск развития полиорганной недостаточности и летального исхода [49–52]. Под-

ходы к терапии, направленной на подавление процессов апоптоза, различны и включают воздействие на разные этапы апоптоза — от взаимодействия патогенов с рецепторами клеток до активации систем каспаз. Перспективным представляется проведение цитокинотерапии ИЛ-7 и ИЛ-15, в результате чего отмечается улучшение функциональной активности и пролиферативной способности Т-лимфоцитов, повышение их резистентности к апоптозу [53, 54].

Заключение

Реакция организма при сепсисе характеризуется не только активацией различных иммунокомпетентных клеток с формированием воспалительной реакции, но и подавлением их активности. Ключевая роль в формировании сепсис-индуцированной иммуносупрессии принадлежит апоптозу. Представляется целесообразной разработка клинически значимых методов оценки активности апоптоза клеток иммунной системы, что может иметь значение для улучшения прогноза заболевания.

Благодарности

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Stoll B.J., Hansen N.I., Sanchez P.J. et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics* 2011; 127(5): 817-26.
2. van den Berg J.P., Westerbeek E.A., van der Klis F.R. et al. Transplacental transport of IgG antibodies to preterm infants: a review of the literature. *Early Hum.* 2011; 87: 67-72.
3. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Rev. Immunol.* 2001; 1: 136-44.
4. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных механизмов воспаления. *Цитокины и воспаление* 2005; 1: 3-10.
5. Chang Z.I. Important aspects of Toll-like receptors, ligands and their signaling pathways. *Inflamm. Res.* 2010; 59(10): 791-808.
6. Tissieres P., Ochoda A., Dunn-Siegrist I. et al. Innate immune deficiency of extremely premature neonates can be reversed by interferon- γ . *PLOS ONE* 2012; 7(3): e32863.
7. Forster-Waldi E.K., Sadeghi D., Tamandl B. et al. Monocyte TLR4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *J. Pediatr. Res.* 2005; 58: 121-4.
8. Sadeghi K., Berger A., Langgartner M. et al. Immaturity of infection control in preterm and term newborns is associated with impaired toll-like receptor signaling. *J. Infect. Dis.* 2007; 195(2): 296-302.
9. Melville J.M., Moss T.J. The immune consequences of preterm birth. *Front. Neurosci.* 2013; 7: 79.
10. Walker J.C., Smolders M.A., Gemen E.F. et al. Development of lymphocyte subpopulations in preterm infants. *Scand. J. Immunol.* 2011; 73: 53-8.
11. Hotchkiss R.S., Karl I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *NEJM* 2003; 348(2): 138-50.
12. Савельев В.А., Гельфанд Б.Р., редакторы. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Москва: Медицинское информационное агентство; 2013.
13. Bhandari V. Effective biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis. *J. Ped. Infect. Dis. Societ.* 2014; 3(3): 234-45.
14. Perez A., Bellon J.M., Gurbindo M.D. et al. Impairment of stimulation ability of very-preterm neonatal monocytes in response to lipopolysaccharide. *Hum. Immunol.* 2010; 71: 151-7.
15. Самсыгина Г.А. О предрасполагающих факторах и факторах риска развития неонатального сепсиса и о современных подходах его лечения. *Педиатрия* 2012; 91(3): 32-7.
16. Белобородов В.Б. Иммунопатология тяжелого сепсиса и возможности ее коррекции. *Вестник интенсивной терапии* 2010; 4: 3-8.

17. Doughty L., Carcillo J.A., Kaplan S. et al. The compensatory anti-inflammatory cytokine interleukin 10 response in pediatric sepsis-induced multiple organ failure. *Chest*. 1998; 113: 1625-31.
18. Romagnoli C., Frezza S., Cingolani A. et al. Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Eur. J. Pediatr.* 2001; 160: 345-50.
19. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Immunosuppression in sepsis: novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect. Dis.* 2013; 13: 260-8.
20. Dellinger R.F., Levy M.M., Rhodes A. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit. Care Med.* 2013; 41(2): 580-637.
21. Osuchowsky M.F., Welch K., Siddiqui J. et al. Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality. *J. Immunol.* 2006; 1: 1967-74.
22. Delano M.J., Scumpia P.O., Weinstein J.S. et al. MyD88-dependent expansion of an immature GR-1(+) CD11b(+) population induces T cell suppression and Th2 polarization in sepsis. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 1463-74.
23. da Silva F.P., Nizet V. Cell death during sepsis: integration of disintegration in the inflammatory response to overwhelming infection. *Apoptosis* 2009; 14: 509-21.
24. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.* 2007; 35(4): 495-516.
25. Hacker G. The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res.* 2000; 301: 5-17.
26. Hotchkiss R.S., Coopersmith C.M., Karl I.E. Prevention of lymphocyte apoptosis — a potential treatment of sepsis? *Clin. Inf. Diseases* 2005; 41: 465-9.
27. Boomer J.S., To K., Chang K.C. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 2011; 306(23): 2594-605.
28. Hotchkiss R.S., Tinsley K.W., Swanson P.E. et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4⁺ T lymphocytes in humans. *J. Immunol.* 2001; 166: 6952-63.
29. Hotchkiss R.S., Tinsley K.W., Swanson P.E. et al. Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis. *J. Immunol.* 2002; 168: 2493-500.
30. Хаертынов Х.С., Бойчук С.В., Анохин В.А. и др. Показатели активности апоптоза лимфоцитов крови у детей с неонатальным сепсисом. *Гены и клетки* 2014; 9(3): 267-71.
31. Хаертынов Х.С., Бойчук С.В., Анохин В.А. и др. Апоптоз лимфоцитов крови у детей периода новорожденности с клебсиеллезным сепсисом. *Гены и клетки* 2015; 10(4): 106-9.

32. Pastille E., Didovic S., Brauckmann D. et al. Modulation of dendritic cell differentiation in the bone marrow mediates sustained immunosuppression after polymicrobial sepsis. *J. Immunol.* 2001; 186: 977-86.
33. Biswas S.K., Lopez-Collazo E. Endotoxin tolerance: new mechanisms, molecules and clinical significance. *Trends Immunol.* 2009; 30: 475-87.
34. Monneret G., Venet F., Pachot A. et al. Monitoring immune dysfunction in the septic patient: a new skin for the old ceremony. *Mol. Med.* 2008; 14: 64-78.
35. Landelle C., Lepape A., Voirin N. et al. Low monocyte human leukocyte antigen-DR is independently associated with nosocomial infections after septic shock. *Intensive Care Med.* 2010; 36: 1859-66.
36. Venet A., Lukaszewica A., Payen D. et al. Monitoring the immune response in sepsis: a rational approach to administration of immunoadjuvant therapies. *Curr. Opin. Immunol.* 2013; 25: 477-83.
37. Hotchkiss R.S., Swanson P.E., Freeman B.D. et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit. Care Med.* 1999; 27: 1230-51.
38. Toti P., de Felice C., Occhini R. et al. Spleen depletion in neonatal sepsis and chorioamnionitis. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004; 122: 765-71.
39. Felmet K.A., Hall M.W., Clark R.S. et al. Prolonged lymphopenia, lymphoid depletion, and hypoprolactinemia in children with nosocomial sepsis and multiple organ failure. *J. Immunol.* 2005; 174: 3765-72.
40. Wesche D.E., Lomas-Neira J.L., Perl M. et al. Leukocyte apoptosis and its significance in sepsis and shock. *J. Leuk. Biol.* 2005; 78: 325-37.
41. Drifte G., Dunn-Siegrist I., Tissieres P. et al. Innate immune functions of immature neutrophils in patients with sepsis and severe systemic inflammatory response syndrome. *Crit. Care Med.* 2013; 41: 820-32.
42. Huang L.F., Yao Y.M., Dong N. et al. Association between regulatory T cell activity and sepsis and outcome of severely burned patients: a prospective, observational study. *Crit. Care* 2010; 14: R3.
43. Venet F., Pachot A., Debard A.L. et al. Human CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes inhibit lipopolysaccharide-induced monocyte survival through a Fas/Fas ligand-dependent mechanism. *J. Immunol.* 2006; 177: 6540-7.
44. Hotchkiss R.S., Schmiege R.E., Swanson P.E. et al. Rapid onset of intestinal epithelial and lymphocyte apoptotic cell death in patients with trauma and shock. *Crit. Care Med.* 2000; 28: 3207-17.
45. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Immunology* 2013; 13: 862-74.
46. Kasten K.R., Tschöp J., Adediran S.G. et al. T cells are potent early mediators of the host response to sepsis. *Shock* 2010; 34(4): 327-36.
47. Bochud P.Y., Calandra Th. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implication for future treatment. *BMJ* 2003; 326(738): 262-5.
48. Hargitai B., Szabo V., Hajdu J. et al. Apoptosis in various organs of preterm infants: histopathologic study of lung, kidney, liver, and brain of ventilated infants. *Pediatr. Res.* 2001; 50(1): 110-4.
49. Coopersmith C.M., Stromberg P.E., Dunne W.M. et al. Inhibition of intestinal epithelial apoptosis and survival in a murine model of pneumonia-induced sepsis. *JAMA* 2002; 287: 1716-21.
50. Unsinger J., Mc Glynn M., Kasten K.R. IL-7 Promotes T Cell viability, trafficking, and functionality and improves survival in sepsis. *J. Immunol.* 2010; 184(7): 3768-79.
51. Inoue Sh., Unsinger J., Davis C.G. IL-15 Prevents Apoptosis, reverses innate and adaptive immune dysfunction, and improves survival in sepsis. *J. Immunol.* 2010; 184(3): 1401-9.
52. Chang K., Svabek C., Vazquez-Guillamet C. Targeting the programmed cell death 1: programmed cell death ligand 1 pathway reverses T cell exhaustion in patients with sepsis. *Critical Care* 2014, 18(1): R3.
53. Ward P. New approaches to the study of sepsis. *EMBO Mol. Med.* 2012; 4: 1234-43.
54. Venet F., Foray A.P., Villars-Méchin A. IL-7 Restores lymphocyte functions in septic patients. *J. Immunol.* 2012; 189: 5073-81.

Поступила: 08.06.2016