

Лимфоциты слизистой оболочки кишечника при неонатальном сепсисе

Х.С. Хаертынов¹, В.А. Анохин¹, Г.Р. Бурганова², Г.О. Певнев², М.О. Мавликеев², А.П. Киясов²,
Е.З. Низамутдинов³, С.А. Любин⁴, М.А. Сатрутдинов⁵, П.В. Пшеничный²

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия;

²ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия;

³ГАУЗ «Городская клиническая больница №7», Казань, Россия;

⁴ГАУЗ «Городская детская больница №1», Казань, Россия;

⁵ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница», Казань, Россия

Intestinal mucosal lymphocytes in neonatal sepsis

Kh.S. Khaertynov¹, V.A. Anokhin¹, G.R. Burganova², G.O. Pevnev², M.O. Mavlikeev², A.P. Kiyasov²,
E.Z. Nizamutdinov³, S.A. Lubin⁴, M.A. Satrutdinov⁵, P.V. Pchenitchnyi²

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia;

³City Hospital No.7, Kazan, Russia;

⁴City Children's Hospital No. 1, Kazan, Russia;

⁵Children's Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

С целью оценки состава лимфоцитов слизистой оболочки кишечника на фоне морфологических изменений тканей желудочно-кишечного тракта у новорожденных при сепсисе проведено исследование аутопсийного материала, полученного от 7 детей, умерших в неонатальном периоде. Основную группу составили 4 ребенка с неонатальным сепсисом, контрольную – 3 новорожденных, погибших от иных причин. Материалом исследования служили образцы тонкой и толстой кишки.

Результаты. *Тонкая кишка:* установлено, что количество лимфоцитов CD4+ слизистой оболочки тонкой кишки в группе детей, умерших от неонатального сепсиса, в 75% случаев было меньше, чем в контроле, однако это различие не было статистически значимым ($p=0,1$). Не выявлено различий и по числу клеток CD8+ и CD20+ в изучаемых группах. *Толстая кишка:* в основной группе детей количество лимфоцитов CD4+ слизистой оболочки толстой кишки было больше, чем в контроле ($p=0,03$). Увеличение числа клеток CD4+ зарегистрировано в 3 из 4 случаев неонатального сепсиса. Количество лимфоцитов CD8+ и CD20+ в изучаемых группах было одинаковым ($p>0,05$).

Заключение. Повышение количества Т-лимфоцитов CD4+ в слизистой оболочке толстой кишки, вероятно, связано с антигенной стимуляцией условно-патогенными бактериями кишечника. Морфологических признаков угнетения клеток адаптивного иммунитета, ассоциированного со слизистой оболочкой кишечника, в нашем исследовании не обнаружено.

Ключевые слова: дети, новорожденные, сепсис, иммунитет, тонкая и толстая кишка, лимфоциты.

Для цитирования: Хаертынов Х.С., Анохин В.А., Бурганова Г.Р., Певнев Г.О., Мавликеев М.О., Киясов А.П., Низамутдинов Е.З., Любин С.А., Сатрутдинов М.А., Пшеничный П.В. Лимфоциты слизистой оболочки кишечника при неонатальном сепсисе. Рос вестн перинатол и педиатр 2019; 64:(4): 52–59. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-4-52-59

We studied the autopsy material obtained from 7 children who died in the neonatal period in order to evaluate the composition of lymphocytes of the intestinal mucosa against the background of morphological changes in the tissues of the gastrointestinal tract in newborns with sepsis. The main group consisted of 4 children with neonatal sepsis, the control group – of 3 newborns who died from other causes. The research material included the specimen of the small and large intestine.

Results. *Small intestine:* it was found that there were less CD4 + lymphocytes in the small intestinal mucosa in the group of children who died from neonatal sepsis in 75% of cases than in the control group, but this difference was not statistically significant ($p=0.1$). There were no differences in the number of CD8 + and CD20 + cells in the studied groups. *Large intestine:* the number of CD4 + lymphocytes of the mucous membrane of the colon was greater in the main group of children than in the control group ($p=0.03$). An increase in the number of CD4 + cells was registered in 3 of 4 cases of neonatal sepsis. The number of CD8+ and CD20+ lymphocytes in the studied groups was the same ($p>0.05$).

Conclusion. The increase in T-lymphocytes CD4+ in the mucous membrane of the large intestine is probably connected with the antigenic stimulation of opportunistic intestinal bacteria. We found no morphological signs of the suppression of the cells of adaptive immunity associated with the intestinal mucosa.

Key words: children, newborns, sepsis, immunity, small and large intestine, lymphocytes.

For citation: Khaertynov Kh.S., Anokhin V.A., Burganova G.R., Pevnev G.O., Mavlikeev M.O., Kiyasov A.P., Nizamutdinov E.Z., Lubin S.A., Satrutdinov M.A., Pchenitchnyi P.V. Intestinal mucosal lymphocytes in neonatal sepsis. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2019; 64:(4): 52–59 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-4-52-59

Неонатальный сепсис – актуальная инфекционная патология новорожденных детей, в значительной мере определяющая заболеваемость и летальность в этой возрастной группе [1, 2]. Летальность среди детей, родившихся с массой тела менее 1000 г по последним расчетам составляет 26 на 1000 живорожденных, а у детей, родившихся

живыми с массой 1000–1500 г, – 8 на 1000 [3]. Очевидно, что особенность реагирования иммунной системы новорожденного – основной фактор, определяющий риск развития сепсиса и его исход. В формировании первичного иммунного ответа главную роль играют клетки врожденного иммунитета (моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы) [4–6].

Синтезируемые ими провоспалительные цитокины (интерлейкины-1, 6, 8, фактор некроза опухоли альфа), а также следующие за этим миграция нейтрофилов в очаг воспаления и активный фагоцитоз направлены на локализацию инфекционного процесса [7, 8]. Однако принципиально важным в эффективной элиминации возбудителя становится динамично формирующийся в эти сроки адаптивный иммунитет ребенка [9]. Исследования у взрослых и новорожденных с сепсисом продемонстрировали значительное численное сокращение всех популяций лимфоцитов периферической крови, в первую очередь клеток CD4+ [10–12]. Более того, у умерших пациентов регистрировали значительно уменьшенное количество лимфоцитов CD4+ и CD8+ не только в крови, но и в органах иммунной системы (селезенка, лимфатические узлы) [13–15].

Известно, что лимфоидный аппарат кишечника – важный иммунный орган. Только в собственной пластинке (*lamina propria*) слизистой оболочки кишки содержится столько же лимфоидных клеток, сколько в селезенке. В то же время нередко входными воротами инфекции у новорожденных становится именно

кишечник, микробиота которого в первые дни жизни формируется за счет условно-патогенных бактерий родильных отделений и отделений патологии новорожденных. Все это позволяет рассчитывать на то, что оценка числа и состава лимфоцитов, ассоциированных со слизистой оболочкой кишечника, даст возможность объяснить или изменить наши представления о характере локальных иммунных реакций и определить направления корректирующей терапии.

Цель исследования: оценка количественного состава лимфоцитов слизистой оболочки кишечника на фоне морфологических изменений тканей пищеварительного тракта у новорожденных при сепсисе.

Материал и методы исследования

Проведено исследование аутопсийного материала, полученного от 7 детей, умерших в неонатальном периоде. Основную группу составили 4 детей, умерших от неонатального сепсиса, контрольную – 3 новорожденных, погибших по иным причинам. Материалом исследования служили образцы ткани тонкой и толстой кишки.

Диагноз неонатального сепсиса был установлен на основании клинико-лабораторных данных (развитие синдрома системного воспалительного ответа с повышением в крови концентрации С-реактивного белка более 1 мг/дл, наличие одного или нескольких очагов инфекции, признаки полиорганной недостаточности и выделение микроорганизма из венозной крови), а также результатов патоморфологического исследования. Клинико-лабораторная характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1. В группе с неонатальным сепсисом 3 детей родились недоношенными с очень низкой массой тела. Частота развития раннего и позднего неонатального сепсиса была одинаковой (по 2 детей в каждой группе). Очаги инфекции отмечались у всех 4 новорожденных основной группы. У 2 детей диагностирована пневмония, у одного – одновременное развитие пневмонии и некротического энтероколита, еще у одного – пневмонии и менингита. Этиология неонатального сепсиса установлена только у одного пациента: из крови была выделена *Klebsiella pneumoniae*. Признаки полиорганной недостаточности выявлены у 2 детей. У всех 4 новорожденных отмечалась тромбоцитопения, причем у 3 – менее $100 \cdot 10^9/\text{л}$. У одного ребенка развилась абсолютная лимфопения (менее $2 \cdot 10^9/\text{л}$). Все пациенты получали антибактериальную и инфузионную терапию, респираторную поддержку в виде искусственной вентиляции легких, иммунотерапию (введение обогащенного IgM иммуноглобулина). Все дети находились на искусственном вскармливании, которое осуществлялось через назогастральный зонд.

В контрольной группе один ребенок родился доношенным, 2 – недоношенными с очень низкой массой тела. У 2 детей была диагностирована врожденная пневмония, еще у одного – врожденный

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: Хаертынов Халит Саубанович – к.м.н., доц. кафедры детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID – 0000-0002-9013-4402
e-mail: khalit65@rambler.ru

Анохин Владимир Алексеевич – д.м.н., проф., зав. кафедрой детских Казанского государственного медицинского университета, ORCID – 0000-0003-1050-9081

420012 Казань, ул. Бултерова, д. 49

Бурганова Гузель Рустамовна – старший преподаватель кафедры морфологии и общей патологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, ORCID – 0000-0002-7204-7268

Певнев Георгий Олегович – старший преподаватель кафедры морфологии и общей патологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, ORCID – 0000-0003-2015-9310

Мавликеев Михаил Олегович – преподаватель кафедры морфологии и общей патологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, ORCID – 0000-0002-3799-6169

420015 Казань, ул. Карла Маркса, д. 34

Киясов Андрей Павлович – д.м.н., проф., директор Института фундаментальной медицины Казанского (Приволжского) федерального университета

420021 Казань, ул. Карла Маркса, д. 74

Низамутдинов Евгений Зиновьевич – врач-патологоанатом городской клинической больницы №7

420103 Казань, ул. Маршала Чуйкова, д. 54

Любин Сергей Анатольевич – зав. отделением реанимации новорожденных городской детской больницы № 1, ORCID: 0000-0002-1322-2601

420034 Казань, ул. Декабристов, д. 125а

Сатрутдинов Марат Альбертович – зав. отделением реанимации новорожденных Детской республиканской клинической больницы

420138 Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 140

Пшеничный Павел Витальевич – доц. кафедры системного анализа и информационных технологий Казанского (Приволжского) федерального университета

420008 Казань, ул. Кремлевская, д. 18

порок развития легких (поликистоз). Все дети находились на искусственной вентиляции легких.

Данное исследование было одобрено локальным этическим комитетом Казанского государственного медицинского университета (протокол №2 от 21.02.2017 г.).

Методы исследования

Получение материала и заливка в парафин. Аутопсийный материал брали во время патологоанатомического исследования. Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном формалине и в

течение нескольких часов доставляли на кафедру морфологии и общей патологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета (ИФМиБ КФУ) для дальнейшего исследования. Заливку образцов в парафин осуществляли по стандартной методике на базе гистологической лаборатории Центра биомедицинской микроскопии при кафедре морфологии и общей патологии ИФМиБ КФУ. С каждого парафинового блока на ротационном микротоме HM 355S («Thermo Scientific», США) были получены срезы аутопсийных материалов толщиной 4–5 мкм.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика умерших пациентов

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of deceased patients

Характеристика	Группа детей с неонатальным сепсисом (n=4)				Контрольная группа (n=3)		
	1	2	3	4	1	2	3
Диагноз	ПНС, пневмония, ателектаз правого легкого, гидроторакс, асцит	ПНС, пневмония, НЭК	РНС: РДС (ателектазы, гиалиновые мембраны), очаговая пневмония. Двусторонний пневмоторакс. Синдром ДВС	РНС: менингит, внутриутробная пневмония, ИМВП. Синдром ДВС: легочное кровоотечение, интраальвеолярные кровоизлияния, инфаркт селезенки	Внутриутробная пневмония. ВЖК 2-й степени	Внутриутробная пневмония. Гиалиновые мембраны, ателектазы легких. ВЖК 2-й степени. Асцит, анасарка, гидроторакс	Врожденный порок развития (врожденный поликистоз легких). Двусторонний пневмоторакс. Коллапс легких
Очаги инфекции	Пневмония	Пневмония и энтероколит	Пневмония	Пневмония и менингит	Пневмония	Пневмония	–
Гемокультура	–	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	–	–	–
Гестационный возраст, нед	29	29	27	40	29	38	29
Масса при рождении, г	1430	760	1300	3780	900	3090	1040
Пол	Муж	Жен	Жен	Жен	Жен	Муж	Муж
Длительность пребывания в роддоме, дни	13	10	3	4	5	4	14
Уровень СРБ, мг/дл	4,8	9,6	1,7	1	0	0,8	0
Число лейкоцитов в крови, $\cdot 10^9/\text{л}$	11,7	22,6	21,7	11,5	13,7	24,4	10,5
Число лимфоцитов в крови							
%	35	27	58	10	59	32	22
$\cdot 10^9/\text{л}$	4095	6102	12 586	1150	8083	7808	2310
Число тромбоцитов в крови, $\cdot 10^9/\text{л}$	119	8	74	53	167	149	421
Полиорганная недостаточность	Нет	Нет	Да	Да	Нет	Нет	Нет
Искусственная вентиляция легких	Да	Да	Да	Да	Да	Да	Да

ПНС – поздний неонатальный сепсис; НЭК – некротический энтероколит; РНС – ранний неонатальный сепсис; ИМВП – инфекция мочевыводящих путей; РДС – респираторный дистресс-синдром; ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание; ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние; СРБ – С-реактивный белок.

Окраска гематоксилином и эозином. Для визуализации структур тканей один срез от каждого образца был окрашен гематоксилином Майера и 1% водным раствором эозина («Эрго Продакшн», Россия) по стандартному протоколу [16].

Иммуногистохимические методы окрашивания. Иммуногистохимическое окрашивание выполняли с использованием визуализационной системы Novolink Polymer Detection System («Leica Biosystems», Великобритания) с коммерческими антителами к CD4 (клон EPR6855, Abcam, разведение 1:100), CD8 (клон sp239, Sigma-Aldrich, разведение 1:100), CD20 (клон L26, Abcam, разведение 1:50) в соответствии с инструкциями производителя. Антитела к CD4 были использованы для идентификации Т-лимфоцитов-хелперов, антитела к CD8 — как маркеры цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток, антитела к CD20 — для выявления В-клеток. Положительным контролем иммуногистохимических реакций служили срезы тканей, содержащие исследуемые антигены [17]. Полученные гистологические препараты были изучены на микроскопе Axio Imager («Carl Zeiss», Германия), а также отсканированы на сканере гистологических препаратов Aperio CS2 («Leica Biosystems», Швейцария) на различных увеличениях.

Подсчет результатов. Количественное определение клеток, позитивных по CD4+, CD8+ и CD20+, проводили с помощью программ анализа и обработки изображений Image J (National Institute of Health, США). Результаты подсчета лимфоцитов CD4+, CD8+ и CD20+ представлены в виде отношения позитивно-окрашенной к общей площади поля зрения на увеличении 200. В каждом образце подсчет проводили в 5 случайных полях зрения.

Статистическая обработка полученных данных. Статистический анализ данных исследования был проведен с использованием программы Statistica 13.0 («TIBCO», США). Различия между группами были сопоставлены с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Достоверность (статистическую значимость) различий признавали при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты морфологического исследования.

У пациентов контрольной группы были зарегистрированы изменения морфологии стенки тонкой кишки с наличием очагов некроза, воспалительных инфильтратов с высоким содержанием гранулоцитов, полнокровием сосудов и отежной серозной оболочкой. В то же время ни у одного из 3 новорожденных контрольной группы не выявлено нарушений структуры стенки толстой кишки. При изучении аутопсий тонкой кишки пациентов основной группы (с сепсисом) были обнаружены воспалительные инфильтраты, отек мышечной и серозной оболочек, полнокровие сосудов подслизистой основы. Нарушения

толстой кишки новорожденных основной группы отмечены в 2 случаях: в одном из образцов наблюдались атрофические изменения всех слоев толстой кишки, в другом — гипертрофия мышечного слоя.

Результаты иммуногистохимического исследования. В тканях тонкой и толстой кишки клетки CD4+ были диффузно распределены в собственной пластинке и в подслизистой основе. В воспалительных инфильтратах и лимфатических фолликулах число таких клеток не превышало 25%. Лимфоциты CD8+ имели схожую локализацию, но в отличие от CD4+ располагались между эпителиальными клетками (так называемые внутриэпителиальные лимфоциты). Единичные В-лимфоциты CD20+ и образованные ими небольшие скопления обнаруживались в слизистой оболочке и в подслизистой основе. Кроме того, эти клетки преобладали в лимфоцитарных инфильтратах и вокруг крупных сосудов.

Тонкая кишка. Установлено, что у 3 из 4 детей, умерших от неонатального сепсиса, число лимфоцитов всех субпопуляций в слизистой оболочке было меньше, чем в контроле (рис. 1). Однако это различие оказалось статистически незначимым ($p > 0,05$; табл. 2).

Толстая кишка. У умерших от сепсиса детей число лимфоцитов CD4+ в слизистой оболочке толстой кишки было больше ($p = 0,03$), чем в контрольной группе (см. табл. 2; рис. 2). Увеличение числа лимфоцитов CD4+ в слизистой основе мы зарегистрировали в 3 случаях неонатального сепсиса и только в одном (у пациента, умершего от респираторного дистресс-синдрома) оно было меньше, чем в контроле. Численные показатели лимфоцитов CD8+ и CD20+ в изучаемых группах были одинаковыми ($p > 0,05$). При этом число лимфоцитов CD20+

Таблица 2. Площадь субпопуляций лимфоцитов тонкой и толстой кишки, определенных иммуногистохимическим методом, % (Me; МКР)

Table 2. The area of subpopulations of lymphocytes of the small intestine and the colon determined by immunohistochemical method, % (Me; interquartile range)

Показатель	Новорожденные с сепсисом (n=4)	Контрольная группа (n=3)	p*
Тонкая кишка			
CD4	0,006; 0,004–0,007	0,008; 0,007–0,01	0,1
CD8	0,005; 0,004–0,006	0,006; 0,005–0,01	0,3
CD20	0,004; 0,003–0,007	0,006; 0,006–0,03	0,1
Толстая кишка			
CD4	0,01; 0,009–0,01	0,005; 0,001–0,007	0,03
CD8	0,005; 0,004–0,01	0,004; 0,004–0,005	0,7
CD20	0,004; 0,002–0,006	0,004; 0,004–0,004	1,0

Примечание. *определение достоверности различий между группами проводилось с использованием U-критерия Манна–Уитни. Me – медиана; МКР – межквартильный размах.

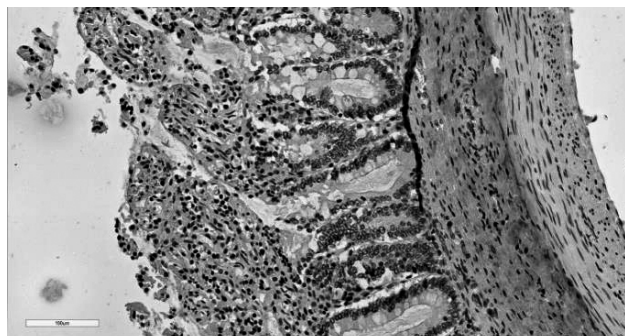
слизистой оболочке у умерших от сепсиса в половине наблюдаемых нами случаев было меньше, чем в контроле.

Таким образом, при сравнении субпопуляций лимфоцитов CD4+, CD8+ и CD20+ в аутопсийном материале тонкой и толстой кишки, полученных от пациентов, умерших от сепсиса (основная группа) и от иных причин (контрольная группа), статистически значимые различия были выявлены по числу Т-лимфоцитов CD4+ толстой кишки.

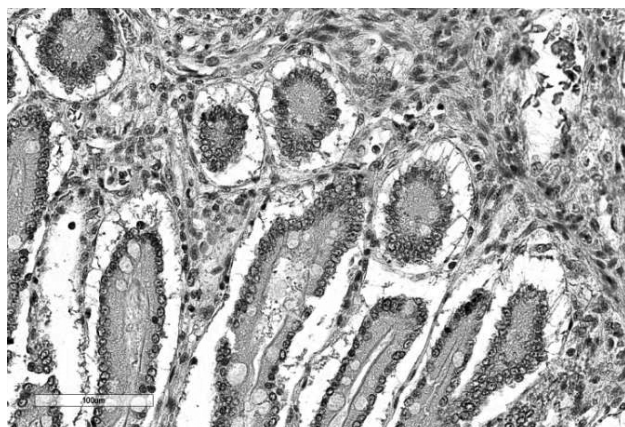
Обсуждение

Иммуносупрессия традиционно считается одной из основных причин неблагоприятного исхода при сепсисе. Раннее назначение антибактериальной терапии, использование современных методов патогенетического лечения привели к тому, что более 70% всех летальных исходов при сепсисе в настоящее время регистрируется именно в фазу иммуносупрессии (после 3-го дня с начала заболевания) [18].

СЕПСИС



а (CD4)

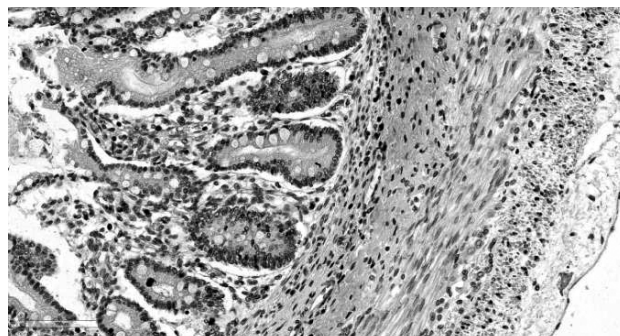


б (CD8)

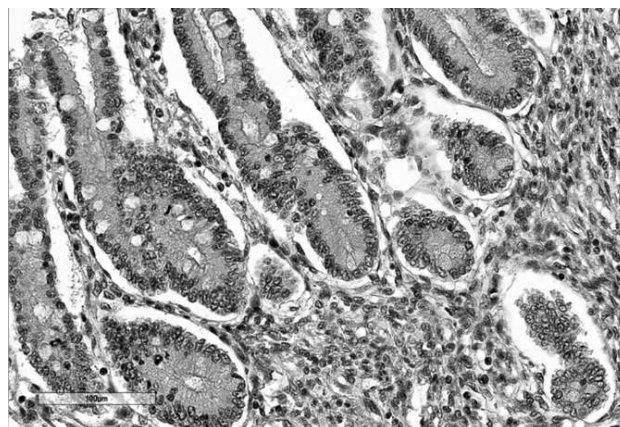


в (CD20)

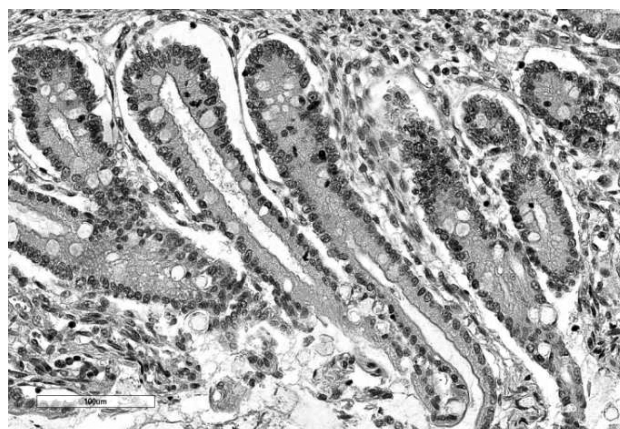
КОНТРОЛЬ



г (CD4)



д (CD8)



е (CD20)

Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание лимфоцитов CD4, CD8 и CD20 (коричневая окраска) тонкой кишки у пациента с сепсисом (а–в) и пациента без сепсиса (г–е). Ув. 200.

Fig. 1. Immunohistochemical staining of CD4, CD8 and CD20 lymphocytes (brown color) of the small intestine in a patient with sepsis (a–v) and a patient without sepsis (r–e). Magnification $\times 200$.

В исследованиях, посвященных оценке состояния адаптивного иммунитета у взрослых, умерших от сепсиса, в различных лимфоидных органах (селезенка, лимфатические узлы, тимус) было выявлено снижение числа Т-лимфоцитов (субпопуляций CD4+, CD8+) и В-клеток [13–15].

Мы предположили, что и в аутопсийном материале, полученном от детей, умерших от сепсиса, будет выявлена аналогичная картина — обеднение слизистой оболочки кишечника лимфоцитами изучаемых субпопуляций.

Однако полученные результаты не подтвердили исходную гипотезу. Несмотря на сравнительно низкое содержание лимфоцитов CD4+ в слизистой оболочке, разница по сравнению с контролем оказалась статистически незначимой. Оценка других субпопуляций лимфоидных клеток в слизистой оболочке тонкой кишки также не выявила достоверных различий между группами. Конечно, на результаты статистики могла повлиять и, по-видимому, повлияла сравнительно небольшая выборка изучаемых объектов.

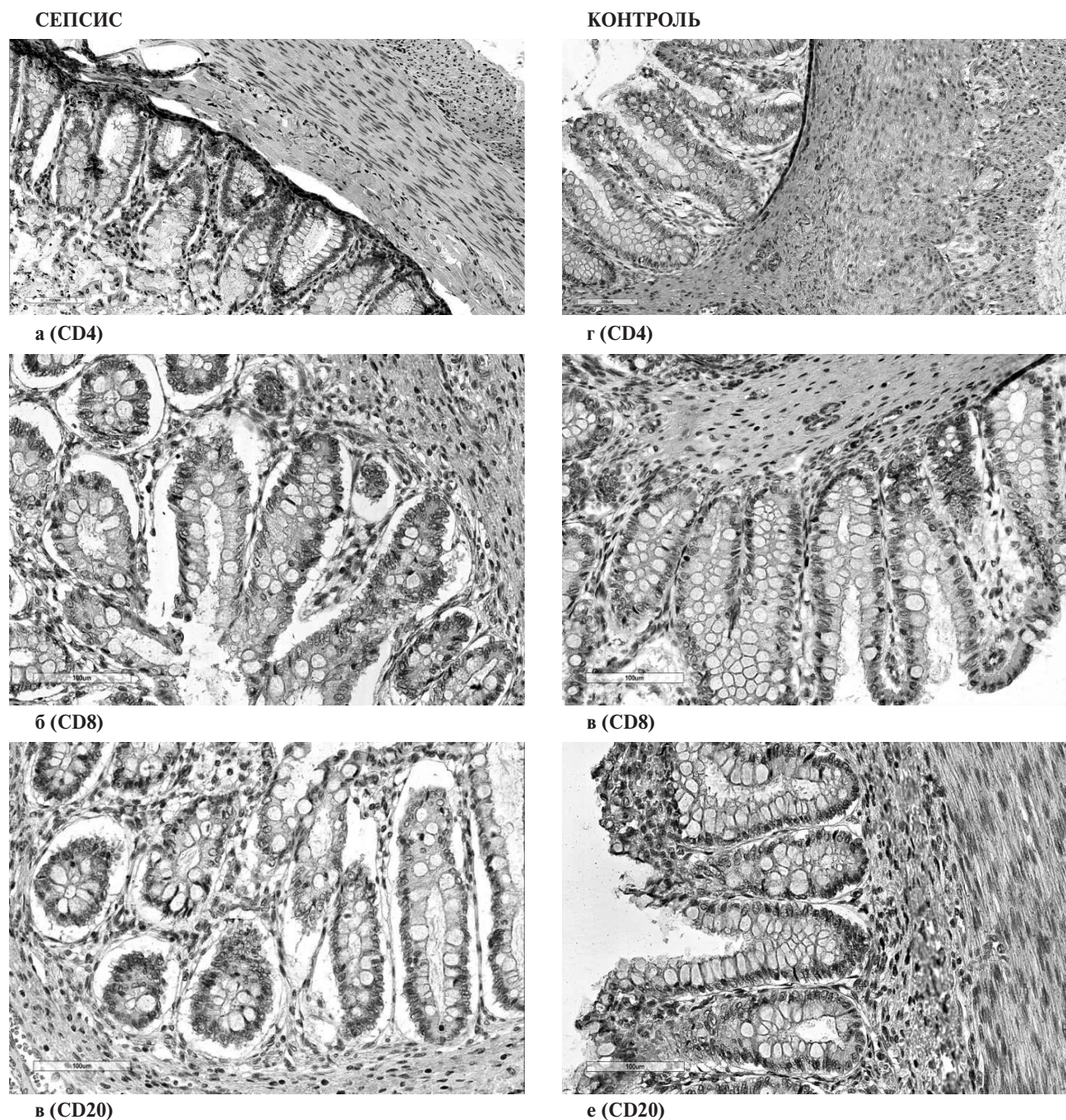


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание лимфоцитов CD4, CD8 и CD20 (коричневая окраска) толстой кишки у пациента с сепсисом (а–в) и пациента без сепсиса (г–е). Ув. 200

Fig. 2. Immunohistochemical staining of CD4, CD8 and CD20 lymphocytes (brown color) in a patient with sepsis (a–b) and a patient without sepsis (g–e). Magnification $\times 200$.

Возможно, «повинна» в этом и сходная, универсальная морфологическая картина воспалительных изменений в тонкой кишке, наблюдавшаяся как в основной, так и в контрольной группах. В то же время обращало внимание статистически значимое увеличение числа Т-лимфоцитов CD4⁺ в толстой кишке у детей с неонатальным сепсисом.

Толстая кишка, как известно, служит резервуаром условно-патогенной микрофлоры, часто являющейся причиной позднего неонатального сепсиса. Несмотря на то что микробная колонизация кишечника начинается еще во внутриутробном периоде [19], этот процесс усиливается сразу после рождения ребенка и становится микробиологически и клинически значимым начиная с 1–2-й недели жизни [20, 21]. Мы не исключаем, что увеличение числа клеток CD4⁺ в толстой кишке связано с антигенной стимуляцией лимфоидного аппарата микрофлорой кишечника. Являясь «дирижером» иммунной системы, лимфоциты CD4⁺ играют ключевую роль в регуляции адаптивного иммунитета, определяя характер иммунного ответа [22]. Несмотря на то что среди пациентов, включенных в наше исследование, дисфункция кишечника отмечалась только у одного (вследствие развития некротического энтероколита), именно пищеварительный тракт, как показывает практика, нередко служит входными воротами инфекции при позднем неонатальном сепсисе. Поэтому повышенное содержание лимфоцитов CD4⁺ в слизистой оболочке толстой кишки отражает реакцию иммунной системы кишечника на микробную инвазию.

В то же время количественные сдвиги в субпопуляциях лимфоцитов при сепсисе – давно известный и неоднократно описываемый физиологический феномен, который ассоциируется с наиболее тяжелыми формами заболевания [23]. Уменьшение количества лимфоцитов в Т- и В-зависимых зонах с опустошением реактивных центров лимфоидных органов – характерный морфологический признак сепсиса [24]. Описанное «опустошение» органов иммунной системы, как правило, сопровождается уменьшением числа лимфоцитов и в крови. В работах, посвященных изучению селезенки и лимфатических узлов при сепсисе, показано частое развитие лимфопении [15, 23]. Очевидно, что число лимфоцитов в крови, возможно и в кишечнике, определя-

ется их содержанием в органах иммунной системы. Поэтому абсолютная лимфопения может служить одним из маркеров «опустошения» иммунной системы при сепсисе и быть предиктором неблагоприятного исхода заболевания. По мнению К.А. Felmet (2005) [15], транзиторная лимфопения ассоциируется с риском развития больничной инфекции, а пролонгированная (более 7 дней) – с риском летального исхода. В нашем исследовании только у одного пациента с неонатальным сепсисом мы регистрировали этот феномен (абсолютная лимфопения). В исследовании, проведенном R.S. Hotchkiss (2001) [23], степень уменьшения числа лимфоцитов CD4⁺ и CD20⁺ в органах иммунной системы прямо коррелировала со сроками заболевания: иммуносупрессия была более выраженной у пациентов с продолжительностью сепсиса более 7 дней. В нашем исследовании только у 2 детей продолжительность неонатального сепсиса превышала 7 дней. Возможно, морфологические признаки иммуносупрессии при неонатальном сепсисе развиваются на более поздних сроках заболевания.

В 3 из 4 наблюдаемых случаях смерть наступила у детей с очень низкой массой тела. Поэтому непосредственной причиной летального исхода в нашем исследовании могла быть не только иммуносупрессия, но и другие клинически значимые факторы – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания, полиорганная недостаточность, а также малый гестационный возраст и очень низкая масса тела. В ранее проведенном исследовании нами было установлено, что ранний гестационный возраст (<32 нед), экстремально низкая масса тела и низкий уровень тромбоцитов (<100·10⁹/л) – статистически значимые факторы риска летального исхода при неонатальном сепсисе [25].

Заключение

Таким образом, проведенные исследования выявили увеличение количества Т-лимфоцитов CD4⁺ в слизистой оболочке толстой кишки, что, по-видимому, обусловлено антигенной стимуляцией условно-патогенной микрофлорой кишечника. Морфологических признаков угнетения клеток адаптивного иммунитета, ассоциированного со слизистой оболочкой кишечника, в нашем исследовании не обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Verma P., Berwal P.K., Nagaraj N., Swami S., Jivaji P., Narayan S. Neonatal sepsis: epidemiology, clinical spectrum, recent antimicrobial agents and their antibiotic susceptibility pattern. *Int J Contemp Pediatr* 2015; 2: 176–180. DOI: 10.18203/2349-3291.ijcp20150523
2. Camacho-Gonzales A., Spearman P.W., Stoll B.J. Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis. *Pediatr Clin North A* 2013; 60: 367–389. DOI: 10.1016/j.pcl.2012.12.003
3. Simonsen K.A., Andeson-Berry A.L., Delair S.F., Davies H.D. Early onset sepsis. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27(1): 21–47. DOI: 10.1128/CMR.00031-13
4. Hotchkiss R.S., Karl I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *New Eng J Med* 2003; 348(2): 138–150. DOI: 10.1056/NEJMra021333
5. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Под ред. В.А. Савельева, Б.Р. Гель-

- фанда. М.: Медицинское информационное агентство, 2013; 353. [Sepsis: classification, clinical-diagnostic concept and treatment. V.A. Saveliev, B.R. Gelfand (eds). Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2013; 353. (in Russ)]
6. Wynn J., Levy O. Role of innate host defenses in susceptibility to early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 307–337. DOI: 10.1016/j.clp.2010.04.001
 7. Shah B.A., Padbury J.F. Neonatal sepsis: an old problem with new insights. *Virulence* 2014; 54: 449–457. DOI: 10.4161/viru.26906
 8. Reinhart K., Bauer M., Riedemann N.C., Hartog C.S. New Approaches to Sepsis: Molecular Diagnostics and Biomarkers. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25(4): 609–634. DOI: 10.1128/CMR.00016-12
 9. Salomao R., Brunialti M.K., Rapozo M.M., Baggio-Zappia G.L., Galanos C., Freudenberg M. Bacterial sensing, cell signaling, and modulation of the immune response during sepsis. *Shock* 2012; 38(3): 227–242. DOI: 10.1097/SHK.0b013e318262c4b0
 10. Hotchkiss R.S., Osmon S.B., Chang K.C., Wagner T.H., Coopersmith C.M., Karl I.E. Accelerated Lymphocyte Death in Sepsis Occurs by both the Death Receptor and Mitochondrial Pathways. *J Immunol* 2005, 174: 5110–5118. DOI: 10.4049/jimmunol.174.8.5110
 11. Хаертынов Х.С., Бойчук С.В., Анохин В.А., Рамазанов Б.Р., Дунаев П.Д., Хайбуллина С.Ф. и др. Показатели активности апоптоза лимфоцитов крови у детей с неонатальным сепсисом. *Гены и клетки* 2014; 9(3): 267–271. [Khaertynov K.S., Boichuk S.V., Anokhin V.A., Ramazanov B.R., Dunaev P.D., Hajbullina S.F. et al. Activity rates of apoptosis of lymphocytes in children with neonatal sepsis. *Geny i kletki* 2014; 9: 3: 267–271. (in Russ)]
 12. Хаертынов Х.С., Анохин В.А., Мустафин И.Г., Бойчук С.В., Сатрутдинов М.А., Андреева А.А. и др. Особенности иммунитета у новорожденных детей с локализованными и генерализованными формами бактериальных инфекций. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2015; 5: 168–173. [Khaertynov K.S., Anokhin V.A., Mustafafin I.G., Boichuk S.V., Satrutdinov M.A., Andreeva A.A., Lyubin S.A., Agarova I.V. Specific features of immunity in neonatal infants with localized and generalized bacterial infections. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii* (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics). 2015; 60(5): 168–173. (in Russ)]
 13. Boomer J.S., To K., Chang K.C., Takasu O., Osborne D.F., Walton A.H. et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 2011; 306(23): 2594–605. DOI: 10.1001/jama.2011.1829
 14. Toti P., De Felice C., Occhini R., Schuerfeld K., Stumpo M., Epistolato M.C. et al. Spleen depletion in neonatal sepsis and chorioamnionitis. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 765–771. DOI: 10.1309/RV6E-9BMC-9954-A2WU
 15. Felmet K.A., Hall M.W., Clark R.S., Jaffe R., Carcillo J.A. Prolonged lymphopenia, lymphoid depletion, and hypoprolactinemia in children with nosocomial sepsis and multiple organ failure. *J Immunol* 2005; 174: 3765–3772. DOI: 10.4049/jimmunol.174.6.3765
 16. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. Медгиз, ленинградское отделение, 1961; 343. [Merkulov G.A. Course of pathohistological techniques. Medgiz, 1961; 343. (in Russ)]
 17. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань, 2004; 452. [Petrov S.V., Rajhlin N.T. Guidelines for immunohistochemical diagnosis of human tumors. Kazan', 2004; 452. (in Russ)]
 18. 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: 260–268. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70001-X
 19. Koleva P.T., Kim J.S., Scott J.A., Kozyrskiy A.L. Microbial programming of health and diseases starts during fetal life. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2015; 105(4): 265–277. DOI: 10.1002/bdrc.21117
 20. Adlerberth I., Lindberg E., Åberg N., Hesselmar B., Saalman R., Strannegård I.L. et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: An effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res* 2005; 59(1): 96–101. DOI: 10.1203/01.pdr.0000191137.12774.b2
 21. Björkstöm M.V., Hall L., Söderlund S., Hakansson E.G., Hakansson S., Domellof M. Intestinal flora in very-low birth weight infants. *Acta Paediatr* 2009; 98(11): 1762–1767. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2009.01471.x
 22. Cabrera-Perez J., Condotta S.A., Badovinac V.P., Griffith T.S. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity. *J Leukoc Biol* 2014; 96(5): 767–777. DOI: 10.1189/jlb.5MR0114-067R
 23. Hotchkiss R.S., Tinsley K.W., Swanson P.E., Schmiege R.E.Jr., Hui J.J., Chang K.C. et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol* 2001; 166: 6952–6963. DOI: 10.4049/jimmunol.166.11.6952
 24. Цинзерлинг А.В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. С.-Петербург: СОТИС. 1993; 363. [Cinzerling A.V. Modern infections. Pathological anatomy and pathogenesis issues. S.-Peterburg: SOTIS, 1993; 363. (in Russ)]
 25. Хаертынов Х.С., Анохин В.А., Николаева И.В., Сатрутдинов М.А., Гатаулин Р.А., Семенова Д.Р. Клинико-эпидемиологические особенности и предикторы летальности при неонатальном сепсисе. *Инфекционные болезни* 2017; 15(4): 13–19. [Khaertynov K.S., Anokhin V.A., Nikolaeva I.V., Satrutdinov M.A., Gataullin R.A., Semenova D.R. Clinical and epidemiological features and predictors of mortality in neonatal sepsis. *Infekcionnye bolezni* 2017; 15(4): 13–19. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-4-13-19 (in Russ)]

Поступила: 05.03.19

Received on: 2019.03.05

Сведения о финансировании:

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

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие иного возможного конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Funding Details:

The work was performed as part of the program to improve the competitiveness of the Kazan Federal University and a subsidy allocated to the Kazan Federal University for the implementation of the state task in the field of scientific activity.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest, which should be reported.