

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С НЕОНАТАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

Х.С. Хаертынов¹, С.В. Бойчук¹, В.А. Анохин¹, Б.Р. Рамазанов¹, П.Д. Дунаев¹, С.Ф. Хайбуллина², А.А. Ризванов², А.А. Андреева³, М.А. Сатрутдинов³

¹Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³Детская республиканская клиническая больница, Казань, Россия

Activity index of lymphocyte apoptosis in children with neonatal sepsis

Kh.S. Khaertynov¹, S.V. Boichuk¹, V.A. Anokhin¹, B.R. Ramazanov¹, P.D. Dunaev¹, S.F. Khaiboullina², A.A. Rizvanov², A.A. Andreeva³, M.A. Satrutdinov³

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia

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

³Children's Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

Проведено исследование апоптоза лимфоцитов у 15 детей с поздним неонатальным сепсисом, из которых 8 (53,3%) родились недоношенными. Этиология сепсиса была установлена у 4 детей (26,7%): в одном случае возбудителем заболевания была *Klebsiella pneumoniae*, в другом — *Pseudomonas koreenses*, в третьем — грибы рода *Candida*, у четвертого ребенка — *St. agalactae*. Контрольную группу составили 5 здоровых новорожденных. Оценка апоптоза лимфоцитов осуществлялась на основании количественной оценки гиподиплоидных клеток по изменению интенсивности их окраски пропидия йодидом (Sigma Aldrich) с помощью проточной цитометрии (FACScanto II, Becton Dickinson).

Установлено, что неонатальный сепсис во всех случаях протекал на фоне повышенной активности процессов апоптоза. Наиболее показательные, статистически значимые изменения регистрировались на 3 и 5 день культивирования лимфоцитов. Медиана активности изучаемого процесса к 3 дню культивирования составила 19,6%, в то время, как в контроле она не превышала 5,13%. Развитие абсолютной лимфопении отмечалось в 26,7% случаев. Различий в активности апоптоза лимфоцитов в группах доношенных и недоношенных детей не установлено. Активность апоптоза лимфоцитов не ассоциировалась с исходным количественным уровнем С-реактивного белка пациентов ни в 1, ни на 3, ни на 5 дни культивирования клеток.

Таким образом, острый период неонатального сепсиса протекает на фоне повышенной активности процессов апоптоза лимфоцитов периферической крови.

Ключевые слова: неонатальный сепсис, апоптоз лимфоцитов.

Дисфункция иммунной системы является одним из важнейших звеньев патофизиологии сепсиса и может иметь решающее значение в исходе заболевания. Особенно актуально это положение в раннем детском возрасте — периоде жизни человека, характеризующимся незрелостью факторов врожденного иммунитета и практически полным отсутствием адаптивных иммунных реакций, что и объясняет высокий уровень заболеваемости сепсисом в данной возрастной группе [1].

Известно, что иммунный ответ при сепсисе имеет двухфазный характер [2]. Первая фаза (стадия воспаления) протекает с преобладанием синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), проявляющегося преимущественным синтезом провоспалительных цитокинов и других маркеров воспаления: С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина, ряда других «острофазных» протеинов, характерными изменениями в периферической крови в виде лейкоцитоза или лейкопении. Массивный, неконтролируе-

We studied the lymphocyte apoptosis in 15 infants with late neonatal sepsis, whereas 8 of them (53.3%) were considered as a preterm infants. Etiology of sepsis was identified in 4 cases (26.7%): in 1 case of each, the cause of the disease was *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas koreenses*, *Candida* and *St. agalactae*. Control group consisted of 5 healthy newborns. Apoptosis analysis was conducted by measuring the amount of hypodiploid cells by using a propidium iodide (Sigma Aldrich) DNA staining procedure and flow cytometry (FACScanto II, Becton Dickinson).

We observed an elevated numbers of apoptotic cells in all cases of neonatal sepsis. The most significant difference was observed when the lymphocytes were cultured for 3 and 5 days. For example, on day 3 of culture the numbers of apoptotic cells in patients with neonatal sepsis vs control group were 19.6% and 5.13%, respectively. Absolute lymphopenia was noted in 26.7% of cases with neonatal sepsis. No difference in the lymphocyte apoptosis between term and preterm infants was observed. An increased amount of lymphocyte apoptosis was not associated with C-reactive protein level during the whole time-points of the experiment: at 1, 3 and 5 days.

Acute phase of neonatal sepsis is associated with an increased apoptosis of peripheral blood lymphocytes.

Key words: neonatal sepsis, lymphocyte apoptosis.

мый выброс медиаторов воспаления характерен для тяжелого сепсиса и септического шока. Именно этот так называемый «цитокиновый шторм» формирует в такой ситуации картину полиорганной недостаточности [3]. Вторая фаза иммунного ответа (стадия иммуносупрессии) характеризуется формированием противовоспалительного ответа (СПВО) [4]. Иммуносупрессия и развивающийся при этом иммунный паралич становятся основными причинами летального исхода в эту фазу сепсиса [5]. Одним из основных факторов, приводящих к развитию такого рода состояния, является апоптоз иммунокомпетентных клеток.

Апоптоз, генетически программируемая гибель клеток, лежит в основе патогенеза разного рода заболеваний (онкологических, аутоиммунных), в том числе и инфекционных (ВИЧ-инфекция, сепсис) [6, 7]. Индукция этого процесса может проходить двумя путями: либо через экспрессию Fas-рецепторов цитоплазматической мембраны (внешний путь), либо че-

рез снижение мембранного потенциала митохондрий (внутренний путь) [6]. Лабораторными маркерами апоптоза иммунокомпетентных клеток являются: выраженная экспрессия белков CD95 (Fas-рецептор) и CD120 (рецептор к фактору некроза опухолей), снижение мембранного потенциала митохондрий и высвобождение цитохрома С, транслокация фосфатидилсерина с внутренней на наружную поверхность мембран клеток, повышение активности каспаз [6, 8]. К характерным морфологическим признакам апоптоза относят дегидратационное сжатие клеток, утрату межклеточных контактов, блеббинг, разрушение цитоскелета, конденсацию хроматина, фрагментацию ядра и деградацию ДНК [9].

В результате сепсис-индуцированного апоптоза снижается количество клеток врожденного и адаптивного иммунитета: CD4⁺-, CD8⁺-лимфоцитов, В-лимфоцитов и дендритных клеток [10–12]. Результаты морфологического исследования тканей людей, умерших от сепсиса, также подтверждают наличие выраженного апоптоза иммунных клеток [5, 11, 13]. Результат развития такого рода феномена – патологическое снижение эффективности иммунного ответа и ухудшение клиренса внутренних сред организма [14]. При этом выраженность апоптоза лимфоцитов прямо коррелирует с тяжестью септического процесса и степенью иммуносупрессии [15]. Помимо иммунной системы, аналогичные изменения регистрируются в клетках паренхиматозных органов, эндотелии сосудов и лежат в основе механизма органной дисфункции у пациентов с сепсисом [16]. Показано, что эффективное подавление апоптоза при сепсисе снижает и риск развития полиорганной недостаточности, и, соответственно, летального исхода [17]. Поэтому оценка активности апоптотических процессов потенциально может быть использована как в диагностике развивающейся иммуносупрессии, так и в оценке прогноза заболевания. Ранее нами на основе учета числа клеток со сниженным мембранным потенциалом была показана высокая активность процессов апоптоза лимфоцитов у детей с поздним началом неонатального сепсиса [18]. Однако этот параметр отражает лишь начальную, потенциально обратимую стадию процесса. Необратимость же

апоптотических изменений в поздней, завершающей стадии характеризуется фрагментацией ядра и ДНК клеток. Поэтому в настоящем исследовании, продолжая изучение процессов апоптоза при сепсисе новорожденных, мы попытались оценить факт его возможной обратимости на основе учета вышеуказанных феноменов фрагментации ядра и ДНК клеток.

Целью данного исследования являлась оценка активности апоптоза лимфоцитов крови у детей с неонатальным сепсисом на основе учета необратимых изменений в клетках.

Материал и методы

Проведено исследование методом «случай-контроль». Обследовано 15 детей (основная группа) с поздним началом неонатального сепсиса. Доношенными родились семеро (46,7%), недоношенными – 8 детей (53,3%), из них на сроках 28–30 недель гестации – шестеро, 35–36 недель – двое. Диагноз «сепсис» был установлен с учетом развития ССВО: повышение концентрации в крови СРБ более 1,5 мг/дл, наличия одного или нескольких очагов инфекции, выделения микроорганизма из венозной крови. Эти критерии и были условием включения детей в группу наблюдения. В 8 случаях (53,3%) сепсис развился на 6–7 сут., у семерых (46,7%) – на 10–26 сут. после рождения. У 5 детей отмечалось поражение пищеварительного тракта (язвенно-некротический энтероколит, у 3 детей осложнившийся перитонитом), еще у 7 была выявлена пневмония, в одном случае – гнойный менингит, у 2 детей имело место одновременное развитие пневмонии и энтероколита (у одного из них развилась полиорганная недостаточность). 10 детей находились на ИВЛ различной продолжительности. Этиология неонатального сепсиса была установлена только в 4 случаях (26,7%): у 3 детей в результате выделения микроорганизма из крови (в первом случае – *Klebsiella pneumoniae*, во втором – *Pseudomonas koreenses*, в третьем – грибы рода *Candida*), у одного ребенка (с гнойным менингитом) – при обнаружения в ликворе антигена стрептококка группы В (*St. agalactae*). Сводная информация по всем пациентам представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика детей с неонатальным сепсисом

| N | Пол | Сроки гестации при рождении, нед. | День начала сепсиса (со дня рождения) | Топический диагноз | Уровень СРБ (мг/дл) | Количество лейкоцитов в крови ($\times 10^9$ /л) | Количество лимфоцитов в крови ($\times 10^9$ /л) |
|---|-----|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------------|---------------------|---|---|
| 1 | ж | 28 | 18 | Пневмония, энтероколит | 1,5 | 9,74 | 2,25 |
| 2 | м | 30 | 22 | Энтероколит, перитонит | 8,66 | 3,9 | 1,09 |
| 3 | м | 36 | 7 | Энтероколит, перитонит | 6,78 | 6,9 | 2,6 |
| 4 | ж | 30 | 5 | Пневмония | 11,29 | 41,5 | 5,8 |
| 5 | ж | 28 | 12 | Пневмония, энтероколит | 1,5 | 15,04 | 1,65 |
| 6 | м | 38 | 10 | Пневмония | 1,5 | 16,6 | 4,3 |

Окончание таблицы 1

| N | Пол | Сроки гестации при рождении, нед. | День начала сепсиса (со дня рождения) | Топический диагноз | Уровень СРБ (мг/дл) | Количество лейкоцитов в крови ($\times 10^9/\text{л}$) | Количество лимфоцитов в крови ($\times 10^9/\text{л}$) |
|----|-----|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------------|---------------------|--|--|
| 7 | м | 39 | 5 | Пневмония | 1,5 | 28 | 5,5 |
| 8 | м | 38 | 5 | Пневмония | 2 | 9,54 | 3,2 |
| 9 | м | 38 | 25 | Энтероколит | 1,7 | 15,7 | 10,8 |
| 10 | ж | 40 | 24 | Энтероколит, перитонит | 3,5 | 12,96 | 4,7 |
| 11 | ж | 38 | 7 | Энтероколит | 14,1 | 18 | 3,5 |
| 12 | ж | 41 | 6 | Пневмония | 2,5 | 15,98 | 3,6 |
| 13 | м | 29 | 6 | Пневмония | 2,6 | 37,9 | 5,3 |
| 14 | ж | 30 | 7 | Пневмония | 1,7 | 30,9 | 4,0 |
| 15 | м | 35 | 26 | Менингит | 1,5 | 12,5 | 6,2 |

СРБ – С-реактивный белок.

Случаев летального исхода среди обследованных нами больных не зарегистрировано (все наблюдаемые дети остались живы). Кровь от больных забиралась однократно в период развернутых клинико-лабораторных проявлений сепсиса. Контрольную группу составили 5 здоровых новорожденных, забор крови которым осуществлялся перед проведением БЦЖ-вакцинации.

В качестве маркера фрагментации ядер клеток и деградации ДНК [10] использовали количественную оценку гиподиплоидных клеток по изменению интенсивности их окраски пропидия йодидом (Sigma Aldrich) с помощью проточной цитометрии (FACsCanto II, Becton Dickinson) [19]. Статистический анализ полученных данных был выполнен с использованием непараметрических методов с применением пакета программ Statistica for Windows 6,1 (Statsoft Inc., США) и программного обеспечения MS Excel (Microsoft).

Результаты

Установлено, что поздний неонатальный сепсис во всех наблюдавшихся случаях протекал на фоне повышенной активности процессов апоптоза. Большое число измененных клеток отмечалось уже в 1 день исследования (в день забора крови). Однако наиболее показательные, статистически значимые изменения регистрировались на 3 и 5 день культивирования лимфоцитов (табл. 2), что наглядно демонстрирует феномен динамичного подавления жизнеспособности пула иммунокомпетентных клеток при

сепсисе. Вероятно, в итоге это может способствовать развитию иммунодепрессии в данной ситуации. В литературе имеются сообщения о том, что показатели активности процессов апоптоза среди циркулирующих в крови лимфоцитов при сепсисе составляют не менее 10% измененных клеток, в то время как среди здоровых людей эта цифра не превышает 5% [20]. В нашем же исследовании медиана активности изучаемого процесса к 3 дню культивирования достигала 19,6%, в то время, как в контроле – 5,13%.

Для оценки возможного влияния зрелости организма новорожденного (сроков гестации) на выраженность апоптоза лимфоцитов был проведен сравнительный анализ этого показателя у доношенных и недоношенных детей. В нашем исследовании статистически значимой разницы между показателями этих групп детей не было выявлено (табл. 3). С учетом того, что апоптоз индуцируется инфекционно-воспалительным процессом, развитие которого всегда сопровождается повышенным синтезом провоспалительных цитокинов, «острофазных белков», изменением числа лейкоцитов, нами проведен сравнительный анализ активности апоптоза лимфоцитов в зависимости от идентифицированного числа лейкоцитов капиллярной крови и численных показателей СРБ. Развитие лейкоцитоза детектировано у 10 детей с неонатальным сепсисом (66,7%), в двух случаях имела место лейкопения (13,3%), у трех детей (20%) содержание лейкоцитов в крови было в пределах нормы. Уровень СРБ был повышен у всех пациентов; выраженность этих изменений составляла 3-22 условных норм.

Таблица 2. Показатели активности апоптоза лимфоцитов (в %) у детей с неонатальным сепсисом

| Группы | Сроки культивирования лимфоцитов, сут. | | |
|---------------------------------------|--|------------------|--------------------|
| | 1 | 3 | 5 |
| Дети с неонатальным сепсисом (n = 15) | 1,58; 0,98–2,51 | 19,6; 12,87–24,2 | 24,05; 15,89–40,69 |
| Здоровые дети (n = 5) | 0,82; 0,8–0,9 | 5,13; 5–7,2 | 8,5; 7,4–8,6 |
| <i>p</i> | 0,09 | 0,009 | 0,04 |

Данные представлены как Me (медиана); МКР (межквартильный размах); *p* – уровень статистической значимости различий между двумя группами.

Таблица 3. Показатели активности апоптоза лимфоцитов (в %) у доношенных и недоношенных детей с неонатальным сепсисом

| Группы | Сроки культивирования лимфоцитов, сут. | | |
|------------------------------|--|----------------|-----------------|
| | 1 | 3 | 5 |
| 1. Недоношенные дети (n = 8) | 1,54; 1,17–1,8 | 19,7; 14,53–22 | 21,2; 13,5–30 |
| 2. Доношенные дети (n = 8) | 2,46; 0,82–3,27 | 19,6; 7,9–33,1 | 25,07; 16,29–58 |
| 3. Здоровые дети, (n = 5) | 0,82; 0,8–0,9 | 5,13; 5–7,2 | 8,5; 7,4–8,6 |
| p 1–2 | 0,88 | 0,57 | 0,2 |
| p 1–3 | 0,1 | 0,002 | 0,03 |
| p 2–3 | 0,1 | 0,003 | 0,04 |

Данные представлены как Ме (медиана); МКР (межквартильный размах); p – уровень статистической значимости различий между двумя группами.

Установлено, что активность апоптоза лимфоцитов не ассоциировалась с исходным количественным уровнем СРБ пациентов ни в 1 (Spearman R = 0,42, p = 0,11), ни на 3 (Spearman R = 0,16, p = 0,55), ни на 5 дни культивирования клеток (Spearman R = 0,29, p = 0,29). Сравнение же с уровнем лейкоцитов крови выявило умеренно выраженную прямую корреляцию показателей только в 1 день исследования (Spearman R = 0,52, p = 0,04), тогда как ни на 3 (Spearman R = -0,23, p = 0,4), ни на 5 дни культивирования (Spearman R = -0,31, p = 0,24) подобной зависимости не было выявлено.

Результатом активации процесса апоптоза иммунокомпетентных клеток является, как уже указывалось, угроза истощения их пула. Так, в нашем исследовании у 4 пациентов (26,7%) наблюдалась абсолютная лимфопения (менее $2,9 \times 10^9/\text{л}$). Это были недоношенные дети (сроки гестации 30–35 нед.), заболевание у них протекало с развитием язвенно-некротического энтероколита. В 2 случаях лимфопения сочеталась с лейкопенией (менее $9 \times 10^9/\text{л}$), у троих – с тромбоцитопенией. При этом только у детей с лимфопенией была выявлена бактериемия. При сравнении показателей общего количества лейкоцитов крови и лимфоцитов выявлена корреляция изменений их числа (Spearman R = 0,55, p = 0,03).

Обсуждение

Индукция апоптоза лимфоцитов при сепсисе является, по-видимому, важным и обязательным фактором формирования дисфункции иммунной системы. Среди причин гибели иммунокомпетентных клеток при сепсисе апоптоз выступает в качестве основной [13]. Традиционно считается, что «всплеск» воспалительной активности характерен для первых суток заболевания. Именно этой стадии сепсиса присущи грубые микроциркуляторные расстройства, шоковая реакция, динамично формируемая полиорганная недостаточность и т.п. Однако нельзя не признать, что морфологические исследования тканей людей, погибших в первые сутки болезни, не всегда позволяют выявить массивные некротические изменения, способствующие в итоге фатальному исходу. По-видимому, причиной тяжелой дисфункции органов в данной ситуации становится иной механизм гибели клеток, не имеющий прямого отношения к реакциям врожденного

иммунитета. Высокая активность апоптотических процессов может объяснить этот феномен [5]. Более того, представление о том, что активность воспалительных и противовоспалительных реакций разделена во времени, что они обязательно представляют собой последовательную смену фаз – в определенной степени механистично. Имеются сообщения о появлении признаков ускоренного апоптоза уже в первые 24 ч септического процесса [14]. Наши наблюдения в определенной мере также подтверждают это. Иными словами, мы наблюдаем одновременную, параллельную индукцию процесса гибели клеток при генерализованной инфекции, как в результате некротических, так и апоптотических изменений. Нельзя исключить и своеобразную компенсацию выраженных воспалительных изменений развернутого проявления сепсиса выбросом цитокинов противовоспалительного действия [21]. Мысль эта не нова, еще в 1997 г. R.C. Bone выделил в патогенезе сепсиса «противовоспалительную компенсаторную реакцию» (compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS) [22]. Выраженность этой реакции может превышать уровень воспаления. В многочисленных описаниях клиники сепсиса у взрослых обнаружить явные признаки преобладания активности той или иной системы практически невозможно. В нашем, сравнительно небольшом исследовании, мы также не выявили каких-либо патогномоничных симптомов доминирования апоптоза. По-видимому, это универсальный тип реагирования, сочетающий хаотический выброс медиаторов разнонаправленных реакций, что даже предлагается именовать синдромом смешанной антагонистической реакции (mixed antagonists response syndrome, MARS).

В нашем исследовании у 7 из 15 детей (46,7%) отмечалось поражение кишечника, протекавшего в форме язвенно-некротического энтероколита. В ранее проведенных исследованиях было показано развитие при сепсисе апоптоза как лимфоцитов, так и гастроинтестинальных эпителиальных клеток [20]. Гибель клеток пищеварительного тракта может стать причиной нарушения целостности кишечной стенки, повышения ее проницаемости и транслокации грамотрицательной кишечной микрофлоры в кровотоки. Более того, активация апоптоза может быть обусловлена и неинфекционными причинами, в частности, состояниями, сопровождающимися как гипоксией, так и гипероксией, гипо- и гипер-

капнией. Группу риска в данном случае составляют новорожденные, родившиеся в состоянии гипоксии и асфиксии, прежде всего недоношенные дети. Повышенная активность апоптоза клеток ассоциируется с такими процессами, как бронхолегочная дисплазия, различные формы ишемически-гипоксического поражения головного мозга (внутрижелудочковые кровоизлияния, перивентрикулярная лейкомаляция), почечная недостаточность [23].

Заключение

Острый период неонатального сепсиса протекает на фоне повышенной активности процессов апоптоза лимфоцитов периферической крови. Использованный в нашем исследовании метод выявления гиподиплоидных клеток, направленный на регистрацию фрагментации ядра, позволил установить факт необратимости апоптоза лимфоцитов у всех обследованных нами пациентов. Наиболее тяжелые формы неонатального сепсиса сопровождались развитием абсолютной лимфопении, что имело место в 26,7% случаев. Активация апоптоза лимфоцитов и обусловленная этим процессом иммуносупрессия является

основанием для проведения больным с неонатальным сепсисом иммуностимулирующей терапии.

Благодарности

Работа Бойчука С.В. и Дунаева П.Д. частично финансировалась грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) № 13-04-97034 «р_поволжье_а» и выполнялась на оборудовании кафедры патологической физиологии и Центра Коллективного Пользования Казанского государственного медицинского университета (ЦКП КГМУ). Работа Ризванова А.А. частично финансировалась грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых докторов наук МД-433.2013.4 и за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров. Работа частично выполнена на оборудовании Научно-образовательного центра фармацевтики Казанского (Приволжского) федерального университета.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Самсыгина Г.А. О предрасполагающих факторах и факторах риска развития неонатального сепсиса и о современных подходах его лечения. Педиатрия 2012;91(3): 32-7.
2. Савельев В.А., Гельфанд Б.Р. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. М.; 2013.
3. Hotchkiss R.S., Karl I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. New Engl. J. Med. 2003; 348(2): 138-50.
4. Белобородов В.Б. Иммунопатология тяжелого сепсиса и возможности ее коррекции. Вестник интенсивной терапии 2010;(4): 3-8.
5. 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: 260-68
6. Elmore S. Toxicologic Pathology. 2007. Vol.35, Issue: 4: 495-516
7. Milot E., Fotouhi-Ardakani N., Filep J.G. Myeloid nuclear differentiation antigen, neutrophil apoptosis and sepsis. Front. Immunol. 2012; 3: 397.
8. Винокуров М.Г., Юринская М.М. Регуляция апоптоза нейтрофилов при действии липополисахаридов. Биологические мембраны 2010; 27(1): 18-27.
9. Hacker G. The morphology of apoptosis. Cell Tissue Res. 2000; 301: 5-17.
10. Boomer J.S., To K., MD, Chang K.C. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. JAMA 2011; 306(23): 2594-605.
11. 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.
12. 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.

13. 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.
14. 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.
15. Bochud P.Y., Calandra Th. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implication for future treatment. BMJ 2003; 326(738): 262-5.
16. Широкова А.В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение водного и ионного баланса клетки. Цитология 2007; 49(5): 385-94.
17. 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.
18. Хаертынов Х.С., Бойчук С.В., Анохин В.А. и др. Апоптоз лимфоцитов у детей с неонатальным сепсисом. Каз. Мед. Жур. 2013; 94(5): 775-8.
19. Riccardi C., Nicoletti I. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. Nat. Protoc. 2006; 1(3): 1458-61.
20. Hotchkiss R.S., Coopersmith C.M., Karl I.E. Prevention of lymphocyte apoptosis—a potential treatment of sepsis? Clin. Infect. Dis. 2005; 41: S465-9.
21. 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.
22. Bone R.C., Grodzin C.J., Balk R.A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997; 112 (1): 235-43.
23. Hargitai B., Szabó V., Hajdú 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.

Поступила 12.09.2014