

УДК 616.523-036.12-036.87-097

СУБПОПУЛЯЦИИ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРОВ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Злотникова М. В.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Популяцию естественных киллеров (ЕК) составляют большие зернистые лимфоциты, уничтожающие измененные (вследствие опухолевой трансформации или инфекции) клетки собственного организма. Естественные киллеры являются одним из важнейших компонентов врожденного иммунитета. Активированные ЕК продуцируют γ -интерферон и непосредственно разрушают инфицированные вирусом клетки. Наличием на мембране ЕК FcRIII обеспечивается их участие в реакциях антителозависимой клеточной цитотоксичности. Иммунодефицит с селективным или преимущественным дефектом естественных киллеров проявляется чрезвычайно высокой чувствительностью к некоторым вирусным инфекциям. У пациентов с таким дефектом даже при нормальном уровне специфического гуморального и клеточного иммунного ответа на антигены вируса герпеса нередко развивается диссеминированная форма герпетической инфекции [2].

Естественные киллеры развиваются независимо от Т- и В-лимфоцитов и не несут характерных для Т- и В-клеток поверхностных маркеров. В клинической практике для их идентификации используют метод проточной цитофлуорометрии с определением следующих поверхностных маркеров: $CD3^-$, $CD16^+$, $CD56^+$, характерных для ЕК-клеток. Исследования последних лет показали функциональную и фенотипическую неоднородность ЕК-клеток [4]. Так, установлено, что 30 % ЕК-клеток являются $CD8^+$ [5]. В настоящее время возрастает интерес исследователей к субпопуляции $CD3^-8^+$ -лимфоцитов, которую относят к активированным ЕК-клеткам. Фенотипическая характеристика $CD3^-8^+$ -лимфоцитов показала, что эти клетки являются также $CD16^+$, $CD45RA^+$, $CD11b^+$, $CD69^+$, $CD28^-$ [4]. Описано изменение количества $CD3^-8^+$ -клеток при различной соматической патологии: показано повышение количества данных клеток у женщин с невынашиванием неясной этиологии, при остром инфаркте миокарда, при опухоли почки [3]. Также имеются данные о снижении количества $CD3^-8^+$ -лимфоцитов при тяжелой неврологической патологии (детский церебральный паралич) [3].

Данные различных исследователей о содержании ЕК-клеток при герпетической инфекции достаточно противоречивы. Одни авторы отмечают снижение количества $CD3^-16/56^+$ -лимфоцитов у больных хронической рецидивирующей герпетической инфекцией (ХРГИ) [1], другие, наоборот, наблюдали увеличение количества данных клеток при лабиальных и аногенитальных герпетических поражениях тяжелого течения в ремиссии заболевания [2]. Исследования о содержании субпопуляции лимфоцитов крови с фенотипом $CD3^-8^+$ при ХРГИ не проводились.

Цель работы

Оценить содержания $CD3^-8^+$ - и $CD3^-16/56^+$ лимфоцитов у пациентов ХРГИ тяжелого течения.

Материалы и методы исследования

Обследовано 63 пациента с тяжелой формой ХРГИ (7 мужчин и 56 женщин в возрасте от 18 до 50 лет), проходивших обследование и лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (г. Гомель). Критериями тяжелого течения считали более 6 рецидивов в год, длительность рецидивов более 14 дней, распространенный характер высыпаний, наличие симптомов общей

интоксикации [2]. Продолжительность заболевания варьировала от 1 до 26 лет, частота рецидивирования — от 6 до 25 раз в год. Назолабиальная локализация герпетических высыпаний встречалась у 46 больных, аногенитальная — у 3 лиц, сочетанные поражения (лабиальные и аногенитальные) — у 14 пациентов. В анализ включали только пациентов в ремиссии заболевания, так как, согласно рекомендациям большинства клинических иммунологов, именно такой подход считается оптимальным для выявления дефектов реактивности организма. Диагноз ставили на основании анамнеза, объективного осмотра, лабораторных методов исследования. Больные с тяжелой патологией сердечно-сосудистой системы, сахарным диабетом и ВИЧ-инфекцией в исследование не включались. У всех обследованных пациентов отмечались сопутствующие хронические воспалительные заболевания: поражения респираторного тракта — у 24 человек, урогенитального тракта — у 35 больных, желудочно-кишечного тракта — у 22 пациентов. Однако, обострения сопутствующих заболеваний на момент обследования не отмечалось. Контрольную группу составили 29 практически здоровых лиц сопоставимого возраста.

Материалом для исследования служила венозная кровь, полученная из кубитальной вены, с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Оценивали содержание субпопуляции $CD3^-CD8^+$ и $CD3^-16/56^+$ на проточном цитофлюориметре («PAS», Partec) в программе «Partek FloMax» в рамках оценки иммунограммы. Пробоподготовка проводилась по методике «окраска – лизис с фиксацией – отмывка». Использовались моноклональные антитела линии ЮТест (Beckman Coulter, USA), меченые FITC (флуоресцеин изотиоцианат), PE (фикоэритрин), PC-5 (комплекс PE+ цианин-5) в следующей панели: $CD3^-FITC/CD56^+CD16^-PE/CD8^-PC-5$.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программ «Statistica» 6.0. С учетом проверки на нормальность распределения использованы непараметрические методы статистики — критерии Манн-Уитни, а также Спирмена (rs) для корреляционного анализа. При проведении частотного анализа за норму принимали интерквартильный размах (25; 75 %) диапазона значений изучаемых параметров в группе здоровых лиц. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (25; 75 %).

Результаты и обсуждение

Показатели содержания $CD3^-8^+$ - и $CD3^-16/56^+$ лимфоцитов в крови больных с ХРГИ приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Содержание ЕК-клеток в крови обследованных пациентов ХРГИ

Показатель, ед. изм.	Контрольная группа, n = 40	Больные ХРГИ		
		Общая группа, n = 63	I группа 6–11 обострений в год, n = 29	II группа ≥ 12 обострений в год, n = 31
Лейкоциты, $10^9/л$	6,1 (5,4–7,3)	5,7 (4,6–7,1)	5,6 (4,2–7,2)	4,8 (4,4–5,9)
Лимфоциты, %	34,0 (27,0–39,5)	35,0 (28,0–42,0)	38,1 (25,6–42,5)	35,0 (30,2–42,6)
$CD3^-8^+$, %	6,6 (4,9–8,4)	4,5 (3,3–6,6)*	3,5 (2,7–5,4)*	4,6 (3,4–5,9)*
$CD3^-8^+ \times 10^9/л$	0,12(0,09–0,14)	0,08 (0,06–0,016)	0,06 (0,05–0,19)	0,09 (0,05–0,10)
$CD3^-16/56^+$, %	14,1(10,8–20,5)	11,6 (8,7–13,6)*	9,0 (7,5–12,3)*	12,4 (11,1–14,6)**
$CD3^-16/56^+ \times 10^9/л$	0,27(0,17–0,38)	0,23(0,17–0,30)	0,19(0,13–0,25)	0,23 (0,20–0,30)

* Различия статистически значимы в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$), ** различия статистически значимы между показателями в группах больных с различной частотой рецидивирования ($p < 0,05$).

Как видно из таблицы 1, в целом в группе пациентов, обследованных в ремиссии ХРГИ, отмечалось более низкое относительное содержание $CD3^-8^+$ -лимфоцитов по сравнению с контрольной группой ($p = 0,031$).

Относительное количество естественных киллеров ($CD3^{-}16/56^{+}$ -лимфоцитов) также было снижено по сравнению со значениями здоровых лиц ($p = 0,025$), при этом абсолютные значения не отличались от контрольной группы. Полученные результаты совпадают с данными, полученными другими авторами, которые также показали снижение $CD3^{-}16/56^{+}$ -клеток у больных герпетической инфекцией [1].

Методом корреляционного анализа по Спирмену мы установили наличие прямой взаимосвязи между относительным количеством $CD3^{-}8^{+}$ - и $CD3^{-}16/56^{+}$ -лимфоцитов как у пациентов с ХРГИ, так и у здоровых лиц ($r_s = 0,67$; $p < 0,001$ и $r_s = 0,70$; $p = 0,001$ соответственно).

При индивидуальном анализе нами были обнаружены особенности изменения данных параметров у отдельных больных. Так, у пациентов с ХРГИ мы выявили, что относительное количество $CD3^{-}16/56^{+}$ -лимфоцитов изменялось (в сторону снижения или увеличения) только у 32 (49 %) человек, тогда как у 31 (51 %) пациента отклонений данного параметра от нормальных значений не выявлено. Содержание $CD3^{-}8^{+}$ -клеток изменялось у 37 (59 %) лиц, причем отклонение от нормальных значений отмечалось, преимущественно, в сторону снижения показателя ($n = 25$, 40 %), тогда как нормальные значения встречались у 26 (41 %) больных ХРГИ (различия в частоте случаев с нормальным и измененным содержанием $CD3^{-}8^{+}$ -лимфоцитов статистически значимо $\chi^2 = 3,84$; $p = 0,050$). Полученные данные свидетельствуют о большей изменчивости показателя $CD3^{-}8^{+}$ -клеток по сравнению с $CD3^{-}16/56^{+}$ -лимфоцитами. Учитывая сведения литературы о том, что данная субпопуляция лимфоцитов представляет собой активированные ЕК-клетки, можно предположить, что изменения $CD3^{-}8^{+}$ -лимфоцитов могут быть связаны с активно протекающими иммунными процессами, несмотря на то, что пациенты обследованы в стадии ремиссии.

На следующем этапе работы мы проанализировали содержание клеток с фенотипом $CD3^{-}8^{+}$ и $CD3^{-}16/56^{+}$ у пациентов в зависимости от частоты рецидивирования и длительности анамнеза. Пациентов разделили на 2 группы по частоте обострений в год: в первую группу (группа I) вошли больные с количеством обострений от 6 до 11 раз в год, во вторую (группа II) — пациенты с непрерывно рецидивирующим процессом (12 и более обострений в год). Следует отметить, что группы пациентов не различались по половозрастному составу и длительности анамнеза.

У больных первой группы отмечались сдвиги в содержании лимфоцитов с фенотипом $CD3^{-}16/56^{+}$ - и $CD3^{-}8^{+}$, характерные для группы ХРГИ в целом: снижение относительного количества $CD3^{-}16/56^{+}$ - и $CD3^{-}8^{+}$ -лимфоцитов по сравнению со здоровыми лицами ($p = 0,004$ и $p = 0,023$ соответственно) (таблица 1). У пациентов с непрерывно рецидивирующим течением заболевания (II группа) также наблюдалось снижение относительного количества $CD3^{-}8^{+}$ -лимфоцитов по сравнению со здоровыми лицами ($p = 0,04$), однако изменений числа $CD3^{-}16/56^{+}$ -лимфоцитов не обнаруживалось. Различия между группами с различной частотой рецидивирования по относительному содержанию $CD3^{-}16/56^{+}$ -лимфоцитов были статистически значимы ($p = 0,048$).

Известно, что параметры субпопуляционного состава лимфоцитов могут изменяться по мере прогрессирования хронического рецидивирующего процесса вследствие постепенного истощения компенсаторно-приспособительных реакций организма [1]. Однако в нашем исследовании при сопоставлении значений ЕК-клеток в группах больных, различающихся по длительности анамнеза (до 2-х лет и более 2) не обнаружено. Также не было обнаружено различий в содержании $CD3^{-}16/56^{+}$ - и $CD3^{-}8^{+}$ -лимфоцитов у пациентов с наличием сопутствующей соматической патологии, дисбиозом кишечника и наличием аллергических реакций в анамнезе.

Таким образом, полученные результаты продемонстрировали, что на стадии клинической ремиссии ХРГИ отмечается снижение содержания в периферической крови как общего коли-

чества естественных киллеров, так и их активированной субпопуляции (CD3⁻8⁺). Возможно, определение CD3⁻8⁺-клеток дополнительно к CD3⁻16/56⁺-лимфоцитам в комплексе оценки иммунограммы позволит получить дополнительную информацию о состоянии естественных киллеров при хронической рецидивирующей герпетической инфекции.

Выводы

1. У пациентов с хронической рецидивирующей герпетической инфекцией, обследованных в стадии ремиссии заболевания, обнаружено снижение относительного содержания лимфоцитов с фенотипом CD3⁻8⁺ и CD3⁻16/56⁺ в периферической крови.

2. Снижение CD3⁻8⁺-лимфоцитов сохраняется у больных хронической рецидивирующей герпетической инфекцией вне зависимости от частоты рецидивирования, длительности клинического анамнеза, наличия сопутствующей патологии, дисбиоза кишечника и аллергических реакций в анамнезе.

3. Выявлено наличие положительной взаимосвязи между содержанием в крови CD3⁻8⁺-клеток и CD3⁻16/56⁺-лимфоцитов, как у пациентов с хронической рецидивирующей герпетической инфекцией ($r_s = 0,67$; $p < 0,001$), так и у здоровых лиц ($r_s = 0,70$; $p = 0,001$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Мальшева, О. А. Состояние вегетативной нервной и иммунной систем у инфицированных вирусом простого герпеса / О. А. Мальшева, В. С. Ширинский // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — № 3. — С. 37–40.
2. Полеско, И. В. Иммунологический статус при простом герпесе / И. В. Полеско, Ю. С. Бутов // Российский медицинский журнал. — 2001. — № 6. — С. 37–38.
3. Мордовина, Т. Г. Содержание аутоантител к белкам нервной ткани и субпопуляционный состав лимфоцитов у детей с тяжелой неврологической патологией / Т. Г. Мордовина, А. Ф. Перковская // Аллергология и иммунология. — 2009. — Т. 10, № 2. — С. 279–280.
4. Use of human CD3 monoclonal antibody for accurate CD4⁺ and CD8⁺ lymphocyte determinations in macaques: phenotypic characterization of the CD3⁻CD8⁺ cell subset / C. Ibegbu [et al.] // J. of Medical Primatology. — 2002. — Vol. 30(6). — P. 291–298.
5. PathologyOutlines. com [Electronic resource]. — 2001–2009. — Mode of access: <http://www.pathologyoutlines.com/jobs.html>. — Date of access: 31.10.2010.

УДК 616.317-006.6-089.17

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ПРОГНОЗА РАКА ГУБЫ

Иванов С. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Рак губы (РГ) — самая частая злокачественная опухоль челюстно-лицевой области [1, 2, 4]. Заболеваемость в РБ в последние годы находится в пределах 2,1–3,1 случаев на 100 тыс. населения в год, соотношение заболевших мужчин и женщин — 4–5:1 [1]. В 95–98 % случаев опухоль локализуется на нижней губе. РГ характеризуется сравнительно медленным ростом и преимущественно локальным распространением, преобладают новообразования стадий T1–2N0M0 [1, 4, 5]. Окультные метастазы наблюдаются у 5–10 % больных [1, 4]. Смертность при РГ составляет 1–3 %, основная причина смерти — развитие регионарных метастазов [1–5]. В тематической литературе приводятся сведения о влиянии на прогноз таких клинических факторов, как скорость роста опухоли, форма роста опухоли, локализация [1, 3, 4]. Рекомендации по лечебной тактике для опухолей с различным прогнозом варьируют, поэтому представляется целесообразным исследование прогностической значимости перечисленных критериев.

Цель исследования

Исследовать влияние клинических параметров рака губы на дальнейшее течение опухолевого процесса.