

ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ФУРУНКУЛЕЗОМ

¹ УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

² ГУ «РНПЦрадиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Проанализированы показатели иммунного статуса у 45 больных хроническим рецидивирующим фурункулезом в стадии ремиссии в зависимости от давности заболевания. Установлено, что изменения, выявляемые у больных с длительностью заболевания менее 2 лет, представлены угнетением поглотительной активности нейтрофилов, снижением резерва продукции активных форм кислорода и NO. Изменения субпопуляционного состава лимфоцитов, такие как снижение числа CD3⁺16/56⁺-клеток, повышение числа CD3⁺4⁺-лимфоцитов, а также ИРИ, наблюдаются у больных с давностью фурункулеза свыше 5 лет.

Ключевые слова: хронический рецидивирующий фурункулез, субпопуляции лимфоцитов, фагоцитоз, оксид азота, НСТ-тест

Введение

Хронический рецидивирующий фурункулез (ХРФ) является серьезной проблемой клинической медицины ввиду широкого распространения и неуклонного роста заболеваемости, недостаточной эффективности этиотропной терапии и склонности к хронизации, частым рецидивам, постоянной персистенции возбудителя в организме [1-3].

В возникновении и развитии ХРФ, наряду с особенностями возбудителя (*Staphylococcus aureus*), ведущая роль принадлежит нарушениям нормального функционирования и взаимодействия различных звеньев иммунной системы. В настоящее время это заболевание считается клиническим проявлением вторичной иммунологической недостаточности. Описаны различные дефекты состава и функциональных свойств иммунокомпетентных клеток у больных ХРФ, такие как изменение содержания CD3⁺, CD21⁺-лимфоцитов в периферической крови, нарушения функциональной активности Т-клеток, снижение внутриклеточной бактерицидности нейтрофилов [2, 4-7]. Однако выявляемые изменения часто носят разноплановый, а иногда противоречивый характер, что в значительной степени связано не только с

различными подходами к иммунологическому обследованию пациентов, но и с разнообразием клинических форм и особенностей течения заболевания.

Цель работы - анализ особенностей иммунного статуса при хроническом рецидивирующем фурункулезе в зависимости от давности заболевания.

Материалы и методы исследования

Обследовано 45 пациентов хроническим рецидивирующим фурункулезом (16 мужчин и 29 женщин в возрасте от 18 до 46 лет), проходивших обследование и лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека». Давность заболевания составляла от 6 месяцев до 14 лет при частоте рецидивирования не менее 6 раз в год. У 69% больных отмечено непрерывно-рецидивирующее течение заболевания. На момент обследования все пациенты находились в стадии ремиссии заболевания. Диагноз ставили на основании жалоб, объективного осмотра, лабораторных методов исследования. Сахарный диабет и ВИЧ-инфекция как причина гнойных поражений кожи была исключена. Иммунологическое обследование проводили до назначения медикаментозной терапии.

Группа сравнения включала 56 практически здоровых лиц сопоставимого возраста, которые по данным анкетирования и лабораторного обследования не имели клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности и сопутствующих заболеваний.

Определялся количественный состав популяций и субпопуляций лимфоцитов периферической крови с использованием моноклональных антител линии ЮTest (Beckman Coulter, USA), меченных FITC, PE, PC-5 в следующих панелях: CD3~FITC/CD4~PE/CD25~PC-5, CD3~FITC/CD56+CD16~PE/CD8~PC-5, CD3~FITC/CD19~PE/HLA-DR~PC-5. Анализ окрашенных клеток проводился на трехцветном проточном цитофлуориметре («PAS», Partec) в программе «Partec FloMax». Оценивалось содержание CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺16/56⁺, CD3⁺16/56⁺, CD19⁺-клеток, рассчитывался иммунорегуляторный индекс (ИРИ) как отношение CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ [8].

Функциональная активность нейтрофилов оценивалась по способности к поглощению микроорганизмов, продукции

активных форм кислорода (АФК), оксида азота (NO). Поглотительная способность нейтрофилов определялась в реакции фагоцитоза *S. aureus* с последующим приготовлением окрашенных мазков и оценкой фагоцитарного индекса (ФИ), как процентного содержания нейтрофилов, поглотивших 2 и более микробных частиц. Выработка нейтрофилами АФК изучалась в реакции базального и стимулированного *S. aureus* теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ_б и НСТ_с соответственно) с микроскопической оценкой результатов [9]. Базальная (NO_б) и стимулированная пирогеналом (7 мкг/мл) *in vitro* (NO_с) продукцию лейкоцитами NO оценивалась по накоплению нитрит-анионов в супернатантах краткосрочных (3 часа) клеточных культур фотометрически с реактивом Грисса [10]. Для характеристики функционального резерва лейкоцитов рассчитан индекс стимуляции NO-продукции (ИС_{NO}) по формуле $ИС_{NO} = NO_c / NO_b$, а также и индекс респираторного резерва (ИРР) - по формуле $ИРР = (НСТ_c - НСТ_b) / НСТ_c$.

Учитывая характер распределения изучаемых показателей, использовались не параметрические методы: критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса

Таблица 1 - Показатели иммунного статуса у

Показатель, ед. измерения	Группа сравнения n=56	ХРФ n=45
CD3 ⁺ , %	69,1 (62,8-74,9)	70,1 (66,9-73,6)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	39,8 (34,2-43,2)	43,0 (40,3-49,7)*
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	24,5 (20,7-26,9)	22,6 (18,7-25,6)
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	1,2 (0,8-2,2)	2,0 (1,2-3,0)
ИРИ	1,65 (1,32-1,95)	2,03 (1,66-2,55)*
CD19 ⁺ , %	10,2 (8,6-11,6)	11,0 (7,6-13,4)
CD3 ⁺ 16/56 ⁺ , %	14,0 (9,8-20,5)	12,0 (8,3-16,0)
CD3 ⁺ 16/56 ⁺ , %	3,6 (2,5-6,0)	2,4 (1,3-4,6)*
NO _б , μМ/л	0,38 (0,24-0,76)	0,36 (0,25-0,43)
NO _с , μМ/л	0,56 (0,40-1,04)	0,35 (0,23-0,48)**
ИС _{NO}	1,39 (1,21-1,68)	0,88 (0,70-1,25)**
НСТ _б , %	10,5 (8,0-18,0)	24,5 (13,5-35,0)**
НСТ _с , %	57,0 (48,0-62,0)	50,5 (42,0-60,0)
ИРР	0,77 (0,73-0,84)	0,52 (0,38-0,68)**
ФИ, %	73,0 (68,0-77,5)	69,0 (60,0-77,0)

Примечание: различия значимы * - p<0,05; ** - p<0,001.

- для сравнения независимых групп. Различия считались значимыми при p<0,05. Данные представлены медианой (Me) с интервалом верхний - нижний квартиль (Q₂₅-Q₇₅).

Результаты исследования

Результаты иммунологического обследования пациентов ХРФ и здоровых лиц представлены в таблице 1.

Как видно из представленной таблицы, у больных ХРФ в период ремиссии заболевания наблюдалось значимое увеличение относительного количества Т-хелперов (p=0,009) с одновременным повышением ИРИ (p=0,012), а также снижение содержания СБЗ⁺16/56⁺-лимфоцитов (p=0,014). Если повышение CD3⁺4⁺-

клеток может быть результатом персистенции возбудителя, а также следствием определенной инерционности реакции иммунной системы на предшествующее обострение инфекции, то роль $CD3^+16/56^+$ -лимфоцитов при рецидивирующих стафилококковых инфекциях в настоящее время остается неясной. Эта субпопуляция содержит в своем составе Т-клетки со свойствами естественных киллеров (так называемые НКТ-клетки), которые являются активными продуцентами важнейших цитокинов, регулируют адаптивный иммунный ответ, изменяя соотношение Th1/Th2, предотвращают чрезмерное повреждение здоровых тканей при воспалительной реакции [11]. Благодаря наличию перфорина и гранулизына, НКТ-лимфоциты способны к киллингу микобактерий и Грам-отрицательных микроорганизмов [12]. Полученные нами результаты дают возможность предполагать участие $CD3^+16/56^+$ -лимфоцитов в регуляции иммунного ответа при стафилококковых инфекциях.

Одновременно с изменениями в субпопуляционном составе лимфоцитов у обследованных больных выявлено повышение исходной степени раздражения нейтрофилов (спонтанный НСТ-тест, $p < 0,001$) и, как следствие, снижение ИРР ($p < 0,001$). Способность лейкоцитов к продукции оксида азота у пациентов и здоровых лиц не различалась, но у пациентов обнаружено отсутствие ответа при стимуляции клеточных культур пирогеналом. Поэтому IS_{NO} , отражающий функциональный резерв NO -продукции, в группе пациентов был значимо ниже соответствующего значения у здоровых лиц ($p < 0,001$).

Описанные выше изменения иммунологических показателей у пациентов ХРФ в ремиссии могут быть связаны с клиническими особенностями течения заболевания у разных пациентов. По данным ряда исследователей по мере прогрессирования воспалительного процесса и увеличения числа обострений усугубляются расстройства в иммунной системе [2]. Поэтому на следующем этапе работы мы про-

анализировали параметры иммунного статуса пациентов в зависимости от длительности заболевания.

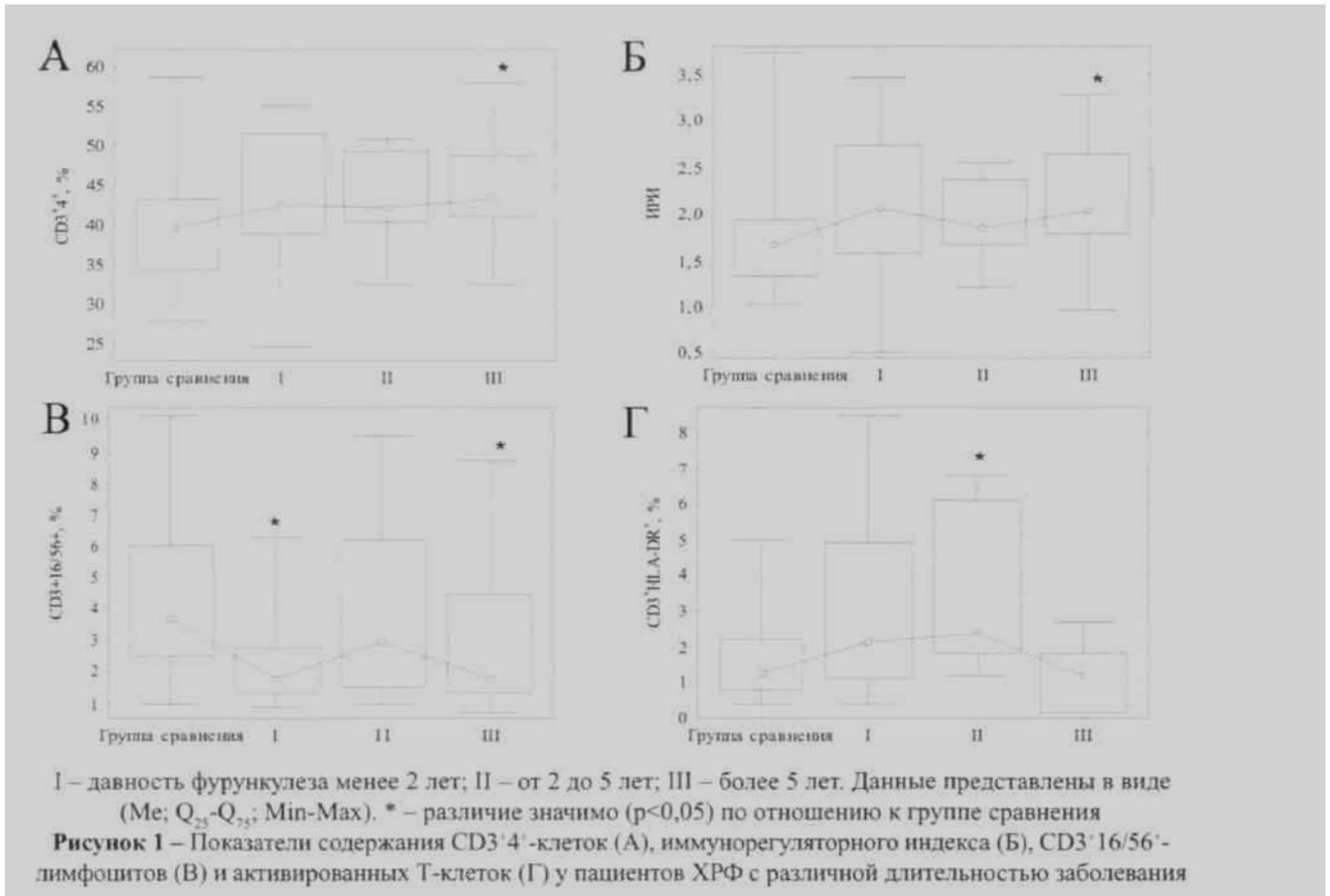
Обследованных пациентов разделили на три группы: с длительностью заболевания менее двух лет (I группа, 16 больных), от 2 до 5 лет включительно (II группа, 14 больных) и более 5 лет (III группа, 15 пациентов). При этом пациенты с разной давностью фурункулеза по половозрастному составу, а также частоте рецидивирования и другим клиническим особенностям течения заболевания не различались.

Выявлены значимые различия между группами по содержанию Т-хелперов ($CD3^+4^+$), активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$) и $CD3^+CD16/56^+$ -клеток (рисунок 1).

Как видно из рисунка 1, наиболее выраженные изменения субпопуляционного состава лимфоцитов наблюдались у пациентов с длительностью заболевания более 5 лет. Если у пациентов I и II групп содержание $CD3^+4^+$ -лимфоцитов и, соответственно, значение ИРИ, имели лишь тенденцию к повышению, то у пациентов III группы эти показатели были значимо выше ($p = 0,038$) в сравнении с параметрами здоровых лиц. Одновременно у них наблюдалось более низкое содержание, относительно контроля, $CD3^+CD16/56^+$ -клеток ($p = 0,048$).

Интересные закономерности обнаружены нами при сравнительном анализе содержания Т-клеток с фенотипом $CD3^+HLA-DR^+$ в крови пациентов с различной длительностью ХРФ. Известно, что повышение экспрессии HLA-DR на лимфоцитах служит отражением поздней активации клеток, индуцируется провоспалительными цитокинами и увеличивается при различных воспалительных заболеваниях [13].

В нашем исследовании у пациентов с длительностью заболевания до 5 лет содержание этих клеток было увеличено в сравнении с показателями здоровых лиц. В I группе изменения имели характер тенденции, во второй - были статистически значимы ($p = 0,012$) В то же время у паци-

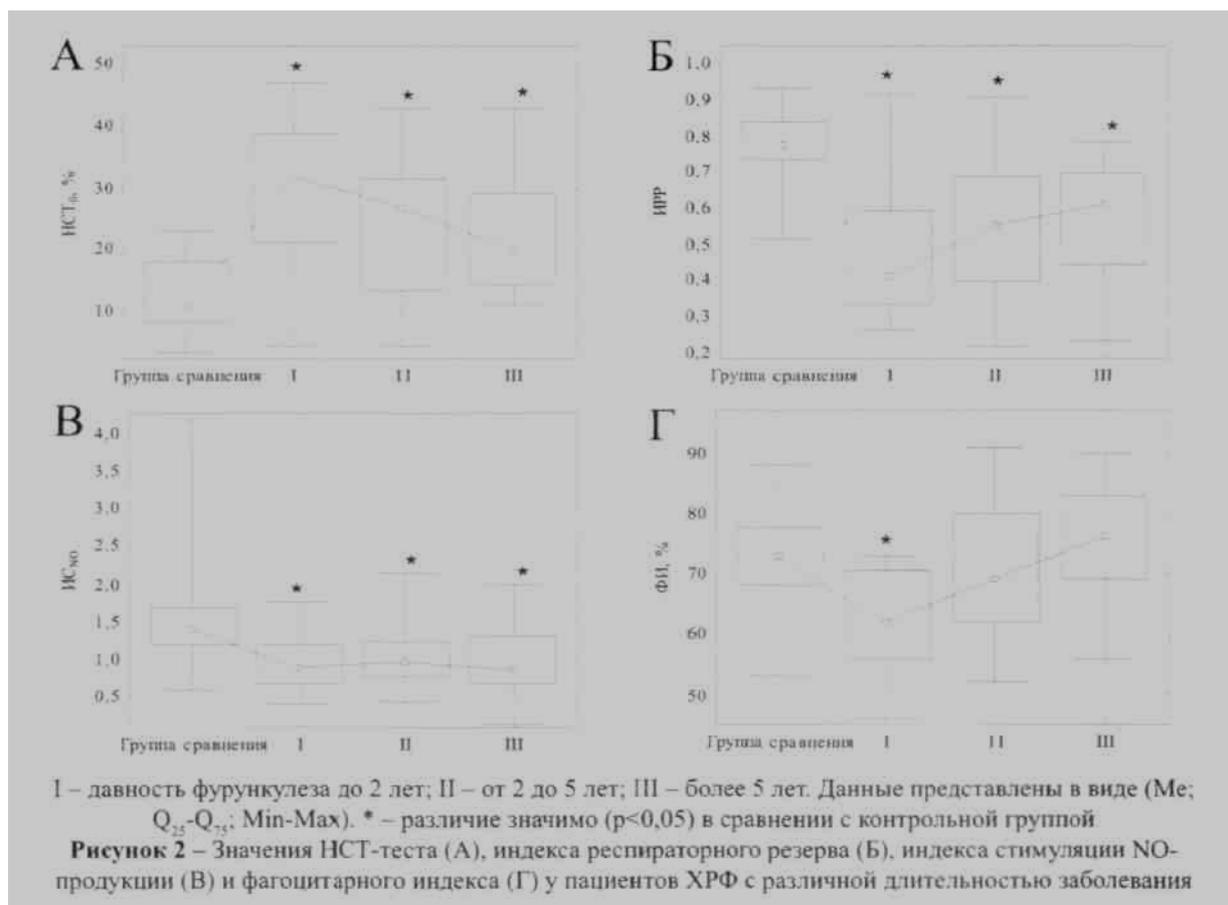


ентов с длительностью заболевания более 5 лет (III группа), количество активированных Т-клеток не отличалось от контрольных значений (рисунок 1Г). Мы рассцениваем это как истощение способности Т-клеток пациентов к активации при длительном течении инфекционного процесса. Данное наблюдение согласуется с результатами других исследователей, продемонстрировавших возможность использования маркера HLA-DR для контроля за течением и исходом воспалительных процессов различной этиологии [6, 14].

Анализ показателей функциональной активности фагоцитирующих клеток выявил во всех группах пациентов значимое повышение базальной активности нейтрофилов и, как следствие, снижение ИРР по сравнению со значениями здоровых лиц (рисунки 2А, 2Б). В то же время максимальные изменения кислородпродуцирующей функции наблюдались у пациентов с давностью заболевания менее двух лет с постепенной тенденцией к нор-

мализации по мере увеличения длительности заболевания. Известно, что повышение базальной активации нейтрофилов крови является отражением адекватной реакции организма на инфекцию, прежде всего бактериальной природы [10]. В связи с этим выявленные факты являются дополнительным подтверждением постепенного истощения способности иммунокомпетентных клеток к активации, описанной выше применительно к субпопуляции CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов.

Нитроксидпродуцирующая функция нейтрофилов, представленная нами на рисунке 2В, как функциональный резерв продукции NO (ИС_{NO}), была снижена во всех группах пациентов в равной степени. Следует отметить, что снижение ИС_{NO}, в отличие от ИРР, не является адекватной реакцией нейтрофилов на активацию микробными антигенами, но рассматривается как нарушение их функциональной активности [10]. В этом аспекте можно констатировать, что дефект NO-продуцирующих



свойств нейтрофилов у пациентов ХРФ не усугубляется при увеличении длительности анамнеза, а служит исходным фактором, способствующим формированию хронического рецидивирующего течения воспалительного процесса.

Что касается поглотительной активности нейтрофилов, то отмечалось ее значимое снижение у пациентов I группы (p=0,001), тогда как у пациентов с более длительным анамнезом данное нарушение не выявлялось (рисунок 2Г). Механизмы компенсации дефекта фагоцитоза у пациентов ХРФ с длительностью заболевания более 2-х лет не ясны.

Результаты проведенного исследования показывают, что изменения функциональной активности нейтрофилов у пациентов ХРФ выявляются на более ранних сроках заболевания, тогда как сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов характерны для пациентов с длительным анамнезом.

В настоящее время нейтрофилам, как и другим клеточным факторам врож-

денного иммунитета, отводится чрезвычайно важная роль в формировании адекватной защиты против микробных агентов. Доказано наличие на них клетках рецепторов для распознавания микроорганизмов (Toll-рецепторов), активация которых запускает каскад провоспалительных реакций, направленных на блокирование жизнедеятельности патогена, а также стимулирует начальные этапы развития реакций приобретенного иммунитета, определяя тип иммунного ответа. Дефект активации нейтрофилов может приводить к выраженном дисрегуляции защитных реакций [15]. В связи с этим можно предположить, что нарушение NO-продукции и поглотительных свойств нейтрофилов создает благоприятные условия для персистенции *S. aureus* у пациентов ХРФ. По мере увеличения длительности фурункулеза наблюдается постепенное истощение способности иммунной системы реагировать на присутствие возбудителя в организме изменением метаболической активности

оксидативных свойств нейтрофилов. Возможно, следствием нарушенной функциональной активности гранулоцитов является снижение активационной способности Т-клеток и другие изменения субпопуляционного состава лимфоцитов, обнаруживаемые у пациентов с длительно протекающим фурункулезом.

Выводы

1. У больных хроническим рецидивирующим фурункулезом в ремиссии заболевания в сравнении со здоровыми лицами выявлены сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов (увеличение количества CD3⁺4⁺-клеток, снижение CD3⁺56/16⁺-клеток) и показателей функциональной активности нейтрофилов (повышение базальной кислородпродуцирующей активности и снижение стимулированной NO-продукции).

2. Степень и характер сдвигов иммунологических показателей зависят от длительности заболевания. Изменения функциональной активности нейтрофилов выявляются уже на ранних сроках заболевания, тогда как сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов характерны для пациентов с длительным анамнезом.

3. При длительном течении хронического рецидивирующего фурункулеза появляются признаки истощения способности иммунокомпетентных клеток к активации, что проявляется отсутствием ответа CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов и снижением уровня базальной активации нейтрофилов у больных с давностью процесса более 5 лет.

Библиографический список

1. Принципы диагностики и лечения хронического рецидивирующего фурункулеза / Н.Х. Сетдикова [и др.] // Лечащий врач. - 2005. - № 6. - С. 44-47.

2. Сетдикова, Н.Х. Комплексные механизмы развития хронического рецидивирующего фурункулеза и пути их коррекции / Н.Х. Сетдикова, Т.В. Латышева // Иммунология. - 2000. - № 3. - С.48-50.

3. Lowy, F.D. *Staphylococcus aureus* infections / F.D. Lowy // N. Engl. J. Med. - 1998. - Vol. 339, № 8. - P. 520-532.

4. Лебедев, К.А. Иммунная недостаточность (выявление и лечение) / К.А. Лебедев, И.Д. Поныкина. - М.: Медицинская книга, 2003. - 443 с.

5. Cellular inflammatory response to persistent localized *Staphylococcus aureus* infection: phenotypical and functional characterization of polymorphonuclear neutrophils (PMN) / C Wagner [et al.] // Clin. Exp. Immunol. - 2006. - Vol. 143. - P. 70-77.

6. Лебедев, К.А. Интерпретация клинического анализа крови с определением субпопуляций лимфоцитов при воспалении / К.А. Лебедев, И.Д. Поныкина // Аллергология и иммунология. - 2002. - Т. 3, №1. - С. 50-61.

7. Показатели клеточного иммунитета и их изменение под влиянием растворимых продуктов *Staphylococcus aureus* у больных гнойно-воспалительными заболеваниями / И.А. Новикова [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. - 2008. - №1(15). - С. 53-58.

8. An Italian national multicenter study for the definition of a reference ranges for normal values of peripheral blood lymphocyte subsets in healthy adults / A. Santagostino [et al.] // Haematologica. - 1999. - Vol. 84. - P. 499-504.

9. Infections and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic aid / B. Park [et al.] // Lancet. - 1968. - Vol. 7. - P. 532-534.

10. Новикова, И.А. Продукция оксида азота и фагоцитарная активность лейкоцитов больных хроническим рецидивирующим фурункулезом / И.А. Новикова, А.В. Гомоляко // Проблемы здоровья и экологии. - 2008. - Т. 17, №3. - С. 138-143.

11. NKT cells: facts, functions and fallacies / D. Godfrey [et al.] // Immunology Today. - 2000. - Vol. 21, № 11. - P. 573-583.

12. Human NKT cells express granulysin and exhibit antimycobacterial activity / J. Gansert [et al.] // J. Immunol. - 2003. - Vol. 170. - P. 3154-3161.

13. T cells activated by Zwitterionic molecules prevent abscesses induced by pathogenic bacteria / A. O. Tzianabos [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. - 2000. - Vol. 275, № 10. - P. 6733-6740

14. Изменения экспрессии HLA-DR-антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе / А.В.

Зурочка [и др.] // Медицинская иммунология. - 2008. - Т. 10, № 4-5. - С. 379-388.

15. Нейтрофильные гранулоциты - ключевые клетки иммунной системы / И.В. Нестерова [и др.] // Аллергология и иммунология. - 2008. - Т. 9, № 4. - С. 432-435.

A.V. Hamaliaka, L.A. Novikova, A.S. Prokopovich

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC RECURRENT FURUNCULOSIS

Immunological parameters of 45 patients with chronic recurrent furunculosis in remission period according to the disease duration were analyzed. The earliest changes found in patients with disease duration less than 2 years are represented by depression of phagocytosis activity, decrease of the neutrophil production reserve of reactive oxygen species and nitric oxide. Change of lymphocyte subpopulations such as increase of CD3⁺4⁺-cells, CD3⁺4⁺/CD3⁺8⁺ ratio and decrease of CD3⁺16⁺/56⁺-lymphocytes was observed in patients with furunculosis duration more than 5 years.

Key words: *chronic recurrent furunculosis, lymphocyte subpopulation, nitric oxide, NBT-test*

Поступила 29.03.10