

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИМФОИДНЫХ И ФАГОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПОВ ПРИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Земсков В.М.¹, Козлова М.Н.¹, Барсуков А.А.¹, Шишкина Н.С.¹, Земсков А.М.², Алексеев А.А.¹, Демидова В.С.¹

¹ ФГБУ «Институт хирургии им. А. В. Вишневского» Минздрава России, Москва

² Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж

THE STUDY OF LYMPHOID AND PHAGOCYTIC CELLS OF DIFFERENT PHENOTYPES IN BURN DISEASE

Zemskov V. M.¹, Kozlova M. N.¹, Barsukov A.A.¹, Shishkina N. S.¹, Zemskov A. M.², Alekseev A.A.¹, Demidova V. S.¹

¹ Vishnevsky Institute of surgery of the Ministry of Health of Russia, Moscow

² Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

Иммунопатологические нарушения являются важнейшим звеном патогенеза ожоговой болезни. У пациентов с тяжёлой термической травмой выраженные изменения иммунной системы, сопряженные с воспалительной реакцией и иммуносупрессией часто приводят к инфекционным осложнениям [1].

Для уточнения типа нарушений иммунной системы и поиска ещё неизвестных ключевых звеньев этих нарушений при развитии ожоговой болезни у тяжелообожжённых пациентов проведён анализ иммунофенотипических маркеров, которые ранее прицельно не изучались. На разных стадиях ожоговой болезни обследовано 39 пациентов – 19 женщин и 20 мужчин, средний возраст которых – 45 лет. Площадь ожогового поражения составила в среднем (М) 46,7% поверхности тела, из них глубоких ожогов – М=17,5% поверхности тела. Иммунный анализ фенотипа фагоцитарных и лимфоидных клеток у пациентов выполняли в цельной венозной крови (антикоагулянт КЗЭД-ТА) на проточном цитофлуориметре FACSCalibur Becton Discinson (США) с панелью меченых флуорохромами (PE, FITC) с соответствующими изотипическими маркерами и прописью мето-

дики фирмы Becton Discinson. Группу сравнения составили 16 здоровых добровольцев. Изучали клетки с экспрессией HLA-DR+ антигенов ГКГС, естественных киллеров и их субпопуляций, Т-киллеров, Т-регуляторных лимфоцитов, клетки с экспрессией L-селектинов, рецепторов комплемента, эндотоксинов бактерий и ЛПС, аналогов рецептора ФНО, а также общие лимфоциты, гранулоциты и моноциты с соответствующими фенотипическими маркерами, различные иммунные индексы, представляющие соотношения ключевых клеток иммунной системы. Результаты показали, что в стадии острой ожоговой токсемии (3-10 день после ожоговой травмы) отмечено преимущественное достоверное возрастание содержания HLA-DR+ ЛФ ($p < 0,05$ относительно группы сравнения) максимально до 44,1%. В более поздние сроки ожоговой болезни наблюдался дефицит HLA-DR+ЛФ до 3,6% (М=5,97%). В стадии ожоговой септикотоксемии, через 10-12 дней и более после травмы, у 18% больных возрастало содержание CD 3+/HLA-DR+ Лф на фоне глубокого дефицита HLA-DR+ МН, отражающих степень выраженности системной воспалительной реакции и инфекционно-воспалительного про-

цесса, особенно при развитии сепсиса. Причем, у пациентов с критическими для жизни ожогами более 80% п.т. с сепсисом и летальным исходом данный показатель имел крайне низкий уровень, составляющий 10 - 25% (при норме > 50%). Независимо от стадии ожоговой болезни, отмечено достоверное возрастание CD54+Лф у 61,5% пациентов с наибольшим отклонением числа клеток до 56,8% (норма 13%). Похожие изменения, но у меньшего числа больных касались повышения CD54+Gr, причем в некоторых случаях до очень высоких цифр – 81%, тогда как изменение моноцитарных клеток с экспрессией CD54+Mn, напротив происходило в сторону дефицита, что может свидетельствовать о локальной миграции и аккумуляции лимфоидных и гранулоцитарных клеток в очаги ожогового поражения с формированием местного иммунитета. Обнаруженные достоверные изменения только в сторону повышения в среднем до 28,1% CD56+Mn – у 66,6 % обследованных больных, возможно, были связаны с развитием воспалительно-деструктивного процесса в организме. Известно, что естественные Т-киллеры CD3+CD56+Лф представляют субпопуляцию Т-клеток со свойствами Т-лимфоцитов и естественных киллеров, обеспечивают цитотоксическую функцию (цитоллиз инфицированных или повреждённых клеток организма). Они обладают цитотоксичностью против внутриклеточных микробных и вирусных патогенов и участвуют в регуляции аутоиммунных реакций (иммуносупрессия) [2]. Глубокий дефицит этих клеток мы обнаружили у 50% тяжёлых ожоговых больных на фоне инвазивной раневой инфекции, с преобладанием в тканевых биоптатах полирезистентной микрофлоры и (или) ассоциации различных возбудителей (грибы, Gr+ и Gr- бактерий), наличия эндогенной интоксикации с микробным или аутоиммунным компонентом. Кроме того, на протяжении длительного времени сохранялся глубокий дефицит субпопуляций естественных регуляторных и эффекторных киллеров. Фактически, это очень важные субпопуляции, т. к. первая активно синтезирует цитокины, в том числе и интерфероны, и обладает слабым киллингом, т.е. может быть отнесена к регуляторным НК-клеткам, тогда как вторая имеет мощную цитотоксичность и слабую секрецию цитокинов. У пациентов с площадью ожогов > 50% поверхности тела, выявлено возрастание

гранулоцитов с экспрессией активационных маркеров, в т.ч. с экспрессией аналогов рецепторов семейства ФНО, эндотоксина и ЛПС. Изменения оказывались значительно более выраженными у ожоговых больных с септическим осложнением, преимущественно в сочетании с токсическим повреждением нейтрофилов, тяжёлой эндогенной интоксикацией с микробным компонентом, на фоне выраженного лейкоцитоза со сдвигом формулы крови влево, появлением миелоцитов и юных форм нейтрофилов, возрастанием оксидативного стресса фагоцитов, острофазовых реактантов (СРБ, ПКТ, пресепсин). Нейтрофилы у выше представленной когорты пациентов претерпевали и значительные функциональные изменения. Наблюдали нарушение подвижности клеток – хемотаксиса и спонтанной миграции (анализ выполняли *in vitro* [3]), причём в ряде случаев у пациентов с тяжёлым сепсисом регистрировался инвертированный характер хемотаксиса, когда нейтрофилы мигрировали от градиента хемоаттрактанта. У некоторых пациентов с ожогами и сепсисом, наблюдали повышенную продукцию нейтрофилами кислородных радикалов при фагоцитозе не опсонизированного зимозана. При этом в норме этот показатель был снижен почти в два раза по сравнению с фагоцитозом опсонизированных частиц. Такое повышение опсонов в крови больных, по-видимому, можно связать с нарастанием бактериальной инвазии, что является прогностически важным признаком. К тому же негативным моментом у пациентов с сепсисом оказывалось также наблюдаемое нами частое и значительное снижение аффинности рецептора CD16 на мембране нейтрофилов (одной из его функций является фагоцитоз опсонизированных патогенов [4]), что также снижает антимикробный потенциал фагоцитов. Как уже отмечалось, иммунные индексы представляют собой соотношения клеток с экспрессией маркеров активации (CD25, HLA-DR), адгезии (CD11b) и апоптоза (CD95) и применяются нами в диагностике нарушений клеточно-молекулярных функций Т-системы иммунитета. Изменения данных соотношений могут свидетельствовать о нарушении активации иммунокомпетентных клеток крови за счёт развития дефицита функциональной активности клеток с истощением их резерва, адгезивной и активационной способности Т-лимфоцитов на фоне повышенной готовности

к апоптозу и позволяет косвенно судить о развитии иммунодефицитного состояния, возможной хронизации и персистенции инфекции, а также отражать наличие острого воспаления [5]. Высокоинформативным оказывается индекс CD4+ \ CD8+ (соотношение Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов). На разных этапах нормально протекающего воспаления количество этих клеток в крови мало меняется и индекс остается > 1,0. Однако при тяжёлом течении воспаления этот индекс падает < 1,0, возможно за счёт миграции в воспалительные очаги Т-лимфоцитов, особенно при развитии воспалительных септических процессов на фоне инвазивной инфекции. Таким образом, применение в обследовании у ожоговых больных мало использованных ранее фенотипических маркеров Т-лимфоцитов и других клеток, ряда иммунных фенотипических индексов, отражающих соотношение различных субпопуляций Т-лимфоцитов с экспрессией соответствующих маркеров, способствует получению крайне важной и принципиально новой информации о состоянии иммунной системы, воспалении, бактериальных осложнениях пациентов. Данный алгоритм обследования широко используется нами для более точной диагностики и прогноза инфекционных осложнений не только

у всех больных с ожогами, но и у других наиболее тяжёлых пациентов Института хирургии им. А. В. Вишневского, т.к. являются важным подспорьем для оценки иммунного статуса и назначения иммуностимулирующей и других видов терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Яковлев В.П., Ожоговая инфекция, «Вузовская книга», М, 2010.
2. Zemskov VM, Alekseev AA, Gnatenko DA, Kozlova MN, Shishkina NS, Zemskov AM, Zhegalova IV, Bleykhman DA, Bahov NI, Suchkov SV. Composite Biomarker Panel as a Highly Informative and Reliable Tool for Predicting Septic Complications. // *Jacobs Journal of Biomarkers* – 2016. – Vol. 2(1): 016, p.1-10
3. Mollison KW, Carter GW, Krause RA. Chemotaxis of human polymorphonuclear leukocytes under agarose: lack of requirement for media protein and differential effects of buffer and agarose type on locomotion. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* - 1981 Jul;167(3):419-427.
4. Bae M.H., Park S.H., Park C.J., Cho E.J., Lee B.R., Kim Y.J., Park S.H., Cho Y.U., Jang S., Song D.K., Hong S.B. Flow cytometric measurement of respiratory burst activity and surface expression of neutrophils for septic patient prognosis. // *Cytometry B. Clin. Cytom.* - 2016 Jul; 90(4):368 -375.
5. Титов Л. П., Тарасюк В. В., Черношей Д. А., Жмурская Л. С. Метод оценки Т системы иммунитета у больных гепатитом С и микст-гепатитом В+С с использованием индексов активации и апоптоза. Инструкция по применению, НИИ эпидемиологии и микробиологии, МЗ Беларуси, Минск, 2007.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Козлова О.С.¹, Жестков А.В.¹, Букина Т.В.², Шишковская Т.И.¹

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара.

² Самарская областная клиническая больница имени В.Д. Середавина, г. Самара

CHARACTERISTICS OF THE DISEASE IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY SAMARA REGION

Kozlova O.S.¹, Zhestkov A.V.¹, Bukina T.V.², Shishkovskaya T.I.¹

¹ Samara State Medical University Russian Ministry of Health, Samara

² Samara Regional Clinical Hospital named after VD Seredavina, Samara

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) – врождённые нарушения системы иммунитета, связанные с генетическими дефектами одного или нескольких компонентов

системы иммунитета, а именно – клеточного, гуморального иммунитета, фагоцитоза, системы комплемента [1]. Суммарная частота их встречаемости – около 1:10000 человек. На сегодня