

Р. Яakuби, В. П. Федотов,

ИМУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ УГРЕВОЙ БОЛЕЗНЬЮ, СОЧЕТАННОЙ С МАЛАССЕЗИОЗОМ КОЖИ

Р. Яakuби, В. П. Федотов,

ИМУННИЙ СТАТУС У ХВОРИХ НА ВУГРОВУ ХВОРОБУ, ПОЄДНАНУ З МАЛАСЕЗИОЗОМ ШКІРИ

R. Yaakubi, V. Fedotov,

IMMUNE STATUS OF PATIENTS WITH ACNE AND CONCOMITANT SKIN MALASSEZIOSIS

Запорожский государственный медицинский университет,
кафедра дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической
медицины факультета последипломного образования.

Zaporozhye State Medical University,

*Department of dermatology and cosmetic dermatology with the course dermatology and esthetic medicine
for faculty postgraduate education.*

Статья поступила в редакцию 4.04.2016.

Резюме

При изучении у 120 больных угревой болезнью иммунного статуса, выявлено угнетение функции фагоцитов, снижение показателей НСТ- теста, депрессия Т-клеточного звена иммунитета, увеличение CD22+, снижение коэффициента CD4+ / CD8+, увеличение иммуноглобулинов М и G, продукции интерлейкинов – 10 и – 12, главным образом у пациентов с сопутствующим малассезиозом кожи, которые зависят от тяжести течения угревой болезни.

Ключевые слова

иммунитет, клетка, фагоцит, иммуноглобулин, интерлейкин, угревая болезнь, малассезиоз, лимфоцит.

Резюме

При вивченні у 120 хворих на вугрову хворобу імунного статусу, встановлено пригнічення функції фагоцитів, зниження показника НСТ- тесту, депресія Т-клітинної ланки імунітету, збільшення CD22+, зниження коефіцієнту CD4+ / CD8+, збільшення імуноглобулінів М та G, продукції інтерлейкінів – 10 та – 12, головним чином у пацієнтів з супутнім мала- сезиозом шкіри, які залежали від тяжкості перебігу вугрової хвороби.

Ключові слова

імунітет, клітина, фагоцит, імуноглобулін, інтерлейкін, вугрова хвороба, маласезіоз, лімфоцит.

Resume

In the study of 120 patients with acne immune status showed inhibition of phagocyte function, reduced NBT-test, depression T-cell immunity, increase CD22 + reduction ratio of CD4 + / CD8 +, increased immunoglobulin M and the G, the production of interleukin – 10 and – 12 mainly in patients with concomitant malasseziosis skin, which depend on the severity of acne.

Keywords

immunity, cell, phagocyte, immunoglobulin, interleukin, acne, malassezios, lymphocyte.

Как известно, угревая болезнь развивается на фоне определенных сдвигов в иммунной системе, которые нередко связаны с патологией внутренних органов [1 – 3]. Для оценки состояния защитных сил организма, проведения рациональной курации пациентов, назначения адекватного

дифференцированного лечения и диспансеризации, мы исследовали иммунный статус больных угревой болезнью, сочетанной с малассезиозом кожи и без сопутствующего микоза [4 – 6].

С учётом клинических и лабораторных данных об локальных особенностях воспаления при угревой болезни, параллельно с исследованиями клеточных реакций и неспецифических факторов из крови, взятой из пальцев рук, мы впервые исследовали эти показатели в крови, взятой из пораженной кожи лица [4 – 6].

Цель исследования – оценить состояние иммунного статуса у больных угревой болезнью, сочетанной с малассезиозом кожи.

Материал и методы. Мы наблюдали 120 больных угревой болезнью, мужчин – 55 (45,8%), женщин 65 (54,2%) возрастом 16 – 27 лет. Длительность заболевания составила в основном 3–8 лет (80,8%). Папуло-пустулёзные угри диагностированы у 102 из 120 больных (85%), узловато-кистозные – у 18 (15%). Малассезиоз кожи установлен нами в виде разноцветного лишая, гнойного фолликулита, кератоза Дарье, педикуриза волосистой части головы, как сопутствующий фактор у 100 больных угревой болезнью.

Исследовали лейкоцитарную формулу, функциональную активность фагоцитирующих клеток, фенотипировали лимфоциты. Определение общего и относительного количества лейкоцитов проводилась унифицированным методом подсчёта в счетной камере. Изучение лейкоцитарной формулы проводили унифицированным методом морфологического исследования форменных элементов крови с дифференцированным подсчётом лейкоцитарной формулы в сухих, фиксированных и окрашенных мазках крови. Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом иммунофенотипирования клеток крови по дифференцированным антигенам (так называемыми CD-рецепторами) с помощью моноклональных антител набора «Клоноспектр» (Россия). Непрямая реакция поверхностной иммунофлюоресценции выполнялась непосредственно в цельной крови обследованных. Исследование проводилось согласно инструкции. Учёт результатов реакции проводился с помощью метода флуоресцентной микроскопии по относительному количеству:

- CD3+ – клеток – число зрелых Т-лимфоцитов;
- CD4+ – число Т-хелперов;
- CD8+ – число Т-цитотоксических клеток;
- CD22+ – число В-лимфоцитов;
- CD16+ – число натуральных киллеров.

Кроме подсчета относительного числа отдельных субпопуляций лимфоцитов, проводился анализ: – их соотношения CD4+ / CD8+ – этот индекс, близкий к иммунорегуляторному индексу (ИРИ), позволяет оценить влияние иммуноадгезивных свойств мембран регулирующих субпопуляций Т- лимфоцитов на формирование иммунного ответа; Содержание иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотке крови определяли методом прямой радиальной иммунодиффузии в геле с помощью моноспецифических диагностических сывороток (Россия).

Кроме того, анализировали в сыворотке крови концентрацию IL – 10 и IL – 12 количественно методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью стандартных наборов «Biosource International, Inc.hil-1 a kit» и «lnc.hvegф kit».

ФАЛ исследовали используя оценку фагоцитарной активности полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) периферической крови и бактерицидной активности фагоцитирующих клеток по восстановлению в них бесцветного тетразолия нитросинего в фармазан.

Фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови оценивали по степени захвата ПМЯЛ фиксированных клеток пекарских дрожжей (0,05% суспензии в растворе Хенкса) с определением:

- фагоцитарного индекса (ФИ) – процента клеток, вступивших в фагоцитоз;
- фагоцитарного числа (ФЧ) – среднего числа фагоцитированных клеток гриба в фагоците.

Бактерицидную активность фагоцитирующих клеток определяли с помощью НСТ-теста, результаты оценивали по количеству НСТ-положительных клеток (фагоцитов, содержащих гранулы диформазана) в окрашенных метиленовым зеленым препаратах.

Таблица 1. Активность фагоцитов у обследуемых.

Показатели, %	Больные угревой болезнью с малассезиозом кожи (n = 100)	Больные угревой болезнью без микоза (n = 20)	Группа контроля (n=14)
ФИ	36,8 ± 3,82хх	83,4 ± 4,15	85,9 ± 1,38
ФЧ	3,38 ± 0,58хх	7,92 ± 0,58	8,12 ± 0,72
Нейтрофилы	5,32 ± 0,32	4,92 ± 0,38	4,71 ± 0,29
НСТ-тест	15,2 ± 1,98хх	27,8 ± 2,38	20,9 ± 1,78

Примечание: хх – $p < 0,01$ при сравнении; х – $p < 0,05$ с группой контроля.

Результаты и их обсуждение. Как видно из табл. 1, количество нейтрофилов статистически достоверно не отличалось от их количества у здоровых людей. В то же время ФИ (фагоцитарный индекс или число фагоцитирующих нейтрофилов) имел выраженную тенденцию ($p < 0,01$) к уменьшению, главным образом у пациентов угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом, в отличие от больных без микоза. Одновременно со снижением ФИ, у больных основной группы (с наличием сопутствующего малассезиоза) отмечалось статистически значимое уменьшение ФЧ (среднее число фагоцитированных грибковых клеток), в отличие от группы сравнения больных угревой болезнью без микоза. В табл. 1 отмечено статистически достоверное ($p < 0,01$) снижение показателей НСТ-теста. В противоположность этому, в группе сравнения угревой болезнью без малассезиоза наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение НСТ-теста.

Таблица 2. Количество популяций и субпопуляций лимфоцитов у больных угревой болезнью.

Показатели		Контрольная группа (n = 14)	Больные угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом (основная группа) (n= 100)	Больные угревой болезнью без малассезиоза (группа сравнения) (n = 20)
Лейкоциты крови	10 ⁹ /л	6,62 ± 0,42	5,14 ± 0,9хх	5,18 ± 0,14
Лимфоциты	10 ⁹ /л	1,72 ± 0,24	1,11 ± 0,2хх	1,51 ± 0,21х
крови	%	29,9 ± 1,46	22,1 ± 2,8хх	30,7 ± 1,68
CD3+	10 ⁹ /л	1,06 ± 0,01	0,75 ± 0,06хх	1,06 ± 0,1
	%	62,6 ± 0,28	60,2 ± 4,08хх	67,6 ± 5,03х
CD4+	10 ⁹ /л	0,62 ± 0,04	0,36 ± 0,04хх	0,62 ± 0,07
	%	36,1 ± 2,84	25,4 ± 4,8	38,2 ± 1,14
CD8±	10 ⁹ /л	0,41 ± 0,02	0,24 ± 0,02хх	0,42 ± 0,04
	%	25,8 ± 1,74	23,4 ± 5,1	25,2 ± 3,31
CD16+	10 ⁹ /л	0,22 ± 0,03	0,39 ± 0,01х	0,37 ± 0,01х
	%	16,82 ± 1,73	21,2 ± 1,64	24,2 ± 1,22
CD22+	10 ⁹ /л	0,27 ± 0,01	0,38 ± 0,01хх	0,26 ± 0,02
	%	16,1 ± 1,08	18,9 ± 0,8	16,2 ± 1,04
CD4+/CD8+		15 ± 0,07	1,14 ± 0,01х	1,5 ± 0,01

Примечание: хх – $p < 0,01$ при сравнении; х – $p < 0,05$ с группой контроля.

Обращает на себя внимание, что наиболее показательные нарушения обнаруживались нами и пациентов с более тяжелым течением угревой болезни (IV стадия болезни).

Из табл. 2 видно, что у больных угревой болезнью, сочетанной с малассезиозом кожи, отмечаются выраженные, с достаточно высокой степенью достоверности ($p < 0,05$ и $p < 0,01$), изменения количественного состава основных популяций и субпопуляций лимфоцитов. У больных угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом, в отличие от больных без микоза, отмечено статистически достоверное снижение числа лейкоцитов ($p < 0,05$).

Особый интерес вызвало изучение количества натуральных киллеров (CD16+) в сыворотке крови. Исследование показало, что в сравнении со здоровыми лицами у больных в основной группе и группе сравнения отмечалась тенденция к повышению CD16+ ($p < 0,05$). Абсолютное и относительное содержание числа CD22+ (В-лимфоциты) было статистически значимо ($p < 0,01$) увеличено только у больных угревой болезнью, осложненной малассезиозом.

Такие изменения количественного состава основных популяций и субпопуляций лимфоцитов у больных угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом мы расцениваем как проявление иммунорегуляторных нарушений с наличием признаков иммунодефицита, увеличения числа CD22+ и снижение коэффициента CD4+ / CD8+.

Отметим, что выявленные нарушения в иммунном статусе зависимы от стадии угревой болезни: они были минимальными у пациентов со второй стадией и были более выражены – в третьей, достигая максимума в четвертой. Однако мы не приводим эти материалы, поскольку они будут иметь существенную роль при проведении сопоставительного анализа данных и клинических проявлений угревой болезни, малассезиоза, а также других важных изученных патогенетических факторов. Это даст возможность выделить конкретные обоснованные клинико-терапевтические группы, позволяющие рекомендовать рациональную дифференцированную терапию этой смешанной патологии.

Из табл. 3 видно существенное усиление продукции Ig G в обеих группах больных ($p < 0,05$), более выраженное у пациентов угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом, что согласуется с данными литературы об увеличении этого иммуноглобулина при острых и хронических бактериальных, грибковых инфекциях. Этот иммуноглобулин составляет основную часть иммуноглобулинов (до 80%), являясь важнейшим фактором гуморального иммунитета, осуществляя защитную функцию, благодаря токсин-нейтрализующей, опсолизирующей и бактерицидной активности.

Таблица 3. Показатели уровня иммуноглобулинов в крови у обследованных.

Показатели	Группа контроля (n = 14)	Больные угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом (основная группа) (n = 100)	Больные угревой болезнью без малассезиоза (группа сравнения) (n = 20)
Ig G (г/л)	12,2 ± 1,1	17,1 ± 1,2x	15,6 ± 0,9 x
Ig A (г/л)	2,7 ± 0,3	2,9 ± 0,3	2,3 ± 0,7
Ig M (г/л)	1,5 ± 0,1	2,4 ± 1,1x	1,4 ± 0,2

Примечание: xx – $p < 0,01$ при сравнении; x – $p < 0,05$ с группой контроля.

Мы не смогли отметить статистически достоверных изменений уровня Ig A. Концентрация иммуноглобулина M была достоверно ($p < 0,05$) увеличена у больных угревой болезнью осложненной малассезиозом. Антитела, связанные с иммуноглобулином M появляются на первом этапе иммунного ответа и играют важную роль при бактериемии. Увеличение Ig M у обследованных основной группы с микотическим осложнением соответствует данным литературы.

Таблица 4. Сывороточные уровни цитокинов IL-10 и IL-12 у обследованных.

Показатели (п ² /мл)	Здоровые люди (n=14)	Больные угревой болезнью без малассезиоза (n = 20)	Больные угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом (основная группа) (n = 100)
Интерлейкин 10 (IL-10)	5,12 ± 0,3	25,6 ± 5,6 x	40,2 ± 6,2x
Интерлейкин I2 (IL-12)	28,32 ± 6,58	86,8 ± 8,4 x	12,4 ± 14,2x

Примечание: x - различия между исследуемыми группами достоверны (p < 0,05).

По мнению многих авторов, оценка цитокинового статуса является важнейшим дополнением к пониманию патогенеза заболевания, позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и прогнозе течения. Индуцирующую роль цитокинов в развитии воспаления сально – волосяного фолликула отмечали многие авторы. Было установлено, что *Racnes* способствует выделению из эпителия протоков сальной железы противовоспалительных цитокинов, включая ИЛ-10 и ИЛ-12.

Также было показано, что *Racnes* продуцирует ферменты, активирует комплемент, хемотаксин нейтрофилов и выработку цитокинов ИЛ-2 и ИЛ-6. Отмечалось, что клиническое обострение на коже сочеталось с ростом условно-патогенных микроорганизмов в патологических очагах и изменениями иммунограмм, характеризующих вялотекущий воспалительный процесс. Было показано, что *Racnes* вызывает активацию ИЛ-12.

Наше внимание привлекли ИЛ-10 и ИЛ-12, которые по данным (Е.В.Наход(2009), [7]), являются одними из важнейших регуляторных цитокинов, во многом определяющих направленность иммунного ответа, под их влиянием подавляется клеточный ответ (Т-хелперы), снижает функцию моноцитов – макрофагов, в том числе подавляют продукцию ими противовоспалительных цитокинов. ИЛ-10 продуцируется главным образом Т-лимфоцитами – хелперами 2-го типа. Подавляет функцию Т-хелперов 1-го типа, ЕК-клеток и моноцитов, снижая продукцию иммуоцикинов (γ-интерферона, ОНФ, ИЛ-1, ИЛ-8). Усиливает пролиферацию В-лимфоцитов и тканевых базофилов.

ИЛ-12 продуцируется В-лимфоцитами, моноцитами – макрофагами. Это важнейший цитокин, способствующий дифференцировке «наивных» Т-хелперов (Т_{h0}) в Т-хелперов 1-го типа. Усиливает генерацию ЕК-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Повышает продукцию γ-интерферона Т-лимфоцитами и ЕК-клетками. Усиливает активность ЕК- и К-клеток.

Исследование цитокинового статуса при угревой болезни показало, что уровень IL-10 был повышен у 40% больных, уровень IL-12 был повышен у 32% больных по сравнению с группой здоровых лиц. У 27% пациентов были повышены уровни обоих цитокинов.

Необходимо отметить, у больных угревой болезнью с сопутствующим малассезиозом уровни IL-10 и IL-12 были повышены у всех 60 обследуемых, по сравнению с группой здоровых лиц.

Сывороточное содержание интерлейкина-10 у пациентов угревой болезнью осложненной малассезиозом достоверно превышало нормальные значения более чем в 8 раз (p < 0,05). Содержание интерлейкина-12 в сыворотке крови этих больных достоверно превышало показатели у здоровых лиц почти в 5 раз.

Выводы:

1) У обследованных угревой болезнью выявлены нарушения иммунного статуса, характеризующиеся изменениями функции фагоцитов в виде ее угнетения, более показательные у пациентов с сопутствующим малассезиозом. Эти нарушения прогрессировали по мере осложнения течения угревой болезни, особенно при сопутствующем малассезиозе, что мы рассматриваем как взаимовлияющие процессы, приводящие к более неблагоприятному течению угревой болезни.

2) Выявлены изменения количественного состава основных популяций и субпопуляций лимфоцитов у обследованных, особенно у пациентов с угревой болезнью осложненной малассеозиозом, что расценено как проявление иммунорегуляторных нарушений с наличием признаков иммунодефицита: увеличение числа CD22+ и снижение коэффициента CD4+ / CD8+. Эти нарушения зависят от стадии угревой болезни и были более выражены – в четвертой. Депрессия Т-клеточного звена иммунитета характеризовалась диссоциацией уровня CD3+ и CD22+, CD4+, CD8+ и особенно CD16+.

3) У обследованных обнаружено увеличение иммуноглобулина G в обеих группах, а Ig M- у больных угревой болезнью, осложненной малассеозиозом, при нормальных показателях Ig A. Изменения уровня иммуноглобулинов, обнаруженное нами более показательны у больных осложненной угревой болезнью, что способствовало появлению при угревой болезни иммунопатологических изменений под влиянием сопутствующей малассеозиозной инфекции.

4) Обнаружено достоверное увеличение продукции интерлейкинов – 10 и 12, что свидетельствует о гиперактивности противовоспалительных механизмов и может быть фоном для усиления колонизации малассеозиоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ:

1. Караумов А. В. Клиническая иммунология в дерматовенерологии и косметологии / А. В. Караумов, А. Д. Юцковский. – Владивосток, Медицина ДВ. – 2013. – 202 с.
2. Адаскевич В. П. Акне вульгарные и розовые / В. П. Адаскевич. – М.: Медкнига, Н. Новгород; НГМА, 2005. – 160 с.
3. Кубанова А. А. Современные особенности патогенеза и терапии акне / А. А. Кубанова, В. А. Самсонов, О. В. Забненкова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2003. – №1. – С. 9 – 15.
4. Суворова К. Н. Юношеские угри – клиника, патогенез, лечение / К. Н. Суворова, Н. В. Котова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 1999. – №3. – С. 67 – 72.
5. Волошина Н. О. Особливості клініки та перебігу вульгарних вугрів на тлі супутньої гелікобактерної інфекції гастродуоденальної локалізації / Н. О. Волошина, О. І. Денисенко, В. Я. Васюк // УЖДВК. – 2013. – №3 (50). – С. 16 – 21.
6. Кочан Б. Г. Современные и наиболее безопасные подходы в комбинированном лечении акне: взгляд на проблему / Б. Г. Кочан, Е. А. Верба // Укр. журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2011. – №2 (41). – С. 82 – 86.
7. Наход Е. В. Особенности местного иммунитета и цитокинового статуса у мужчин с угревой болезнью: автореферат дис. к.м.н.: 14.00.36 / Е. В. Наход – Владивосток, 2009. – С. 22.