

ИММУННЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ ЗООАНТРОПОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ

Р. Даниленко¹,

З. Хисматуллина¹, доктор медицинских наук, профессор,

О. Мухаммадеева¹, кандидат медицинских наук,

Ю. Медведев², доктор медицинских наук, профессор

¹Башкирский государственный медицинский университет, Уфа

²Научно-исследовательский технологический институт

гербицидов и регуляторов роста растений

с опытно-экспериментальным производством, Уфа

E-mail: hzr07@mail.ru

Оценивались иммунный статус больных зооантропонозной трихофитией (ЗАТ) и изменения их иммунной реакции на антигены грибов-возбудителей. В ходе исследования изучали особенности иммунного ответа при разных клинических формах микоза и микозах, вызываемых разными видами возбудителей. Работа выполнена по материалам клинико-лабораторного обследования 45 детей (в возрасте от 5 до 18 лет) с ЗАТ. Результаты исследования подтверждают научные представления о том, что для ЗАТ характерен преимущественно клеточно-опосредованный вариант иммунного ответа организма хозяина и в значительно меньшей степени – гуморальный. Неэффективность традиционных методов лечения некоторых больных ЗАТ, характеризующаяся трансформацией инфильтративных форм в нагноительные и сопровождающаяся достоверно измененными иммунологическими показателями, указывает на целесообразность совершенствования методов комплексного лечения таких больных.

Ключевые слова: дерматология, зооантропонозная трихофития, инфильтративная форма, нагноительная форма, иммунитет.

Целью исследования явилась оценка иммунного статуса больных зооантропонозной трихофитией (ЗАТ) и изменений иммунной реакции на антигены грибов-возбудителей. Работа выполнена по материалам клинико-лабораторного обследования 45 детей с ЗАТ в возрасте от 5 до 18 лет. Диагноз ставили, исходя из клинической картины, и подтверждали выделением грибов из очагов поражения при микроскопическом исследовании патологического материала, а также результатами культурального исследования [1]. При госпитализации у 21 больного была диагностирована нагноительная (НТ) и у 24 – инфильтративная (ИТ) трихофития. При микологическом обследовании у 36 больных выделена культура *Trichophyton mentagrophytes var. gypseum*, у 19 – *T. verrucosum*. Практически здоровые дети (ПЗД) в возрасте от 5 до 18 лет составили группу контроля (n=25); они на момент исследования не имели острых заболеваний и проявлений аллергических реакций. У всех больных исследовали образцы периферической крови из локтевой вены (комплекс тестов для оценки иммунного статуса [2] до традиционного лечения и после него); у детей группы контроля образцы крови исследовали однократно. При исследовании иммунного статуса определяли содержание в крови некоторых цитокинов – интерферона-γ (ИФНγ), фактора некроза опухоли-α (ФНОα), интерлейкинов (ИЛ)-1 и ИЛ4 методом радиоиммунного ана-

лиза; проводили иммунофенотипирование лимфоцитов крови [3]. Способность лейкоцитов из венозной крови (системное действие) и капиллярной крови из очагов поражения (местное действие) к поглощению и инактивации живых клеток (микроконидии) трихофитона оценивали микроскопически (вычисляли фагоцитарное число и фагоцитарный индекс) методом мерного высева на плотную среду Сабуро [4].

Для оценки интенсивности иммунной реакции больных на грибы-возбудители использовали специфические клеточные (реакция торможения миграции лейкоцитов – РТМЛ) и гуморальные реакции (определение уровня циркулирующих в крови антител по результатам реакции пассивной гемагглютинации – РПГА) на цитоплазматический антигенный комплекс зоофильного трихофитона – ЦАТ. Последний представляет собой препарат из лиофильно высушенных цитоплазматических нативных антигенов *T. mentagrophytes var. gypseum*, проявлявший активность в реакциях *in vitro* и *in vivo* с материалом людей и животных при микотической инфекции, обусловленной возбудителями ЗАТ [5].

Результаты исследования иммунного статуса больных ЗАТ и ПЗД приведены в табл. 1.

Как следует из табл. 1, у детей с обеими формами ЗАТ до начала лечения не обнаружено признаков первичных или вторичных иммунодефицитных состояний [3]. В то же время у них до лечения по результатам оценки иммунограмм в крови определялись косвенные признаки воспалительного процесса – формирование нейтрофильного лейкоцитоза (увеличение содержания нейтрофилов было статистически значимым у больных НТ; $p < 0,05$), снижение фагоцитарного индекса и возрастание спонтанной активации кислородзависимого метаболизма фагоцитов (по результатам спонтанного НСТ-теста). У всех детей с ИТ и НТ отмечено также значимое возрастание содержания в крови IgM и IgG. Спектральный анализ лимфоцитов крови выявил у больных НТ достоверное увеличение концентрации CD3⁺-лимфоцитов ($p < 0,05$). При этом субпопуляционный состав Т-лимфоцитов характеризовался возрастанием уровня цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺), снижением величины иммунорегуляторного индекса (отношение CD4⁺-/CD8⁺-лимфоцитов) и незначительным возрастанием количества хелперов/индукторов (CD4⁺-Т-лимфоциты), достоверным у пациентов с НТ. Из лимфоцитов крови было увеличено количество клеток с экспрессией одного из маркеров активации – HLA-DR-антигена – у пациентов с НТ и ИТ

($p < 0,05$). Было показано, что возникновению и течению ЗАТ сопутствует значительное изменение цитокинового профиля. У детей с обеими формами ЗАТ до лечения определялось повышенное содержание всех исследованных цитокинов – ИФН γ (медиатор, участвующий в формировании клеточно-опосредованного иммунитета), ФНО α и ИЛ1 (в 3–6 раз) и ИЛ4 ($p < 0,05$). При этом уровень ИЛ4, обеспечивающего контроль активности антителогенеза, был у больных ЗАТ не более чем в 2 раза выше, чем в контроле.

Иммунная реакция на возбудитель (цельные клетки грибов – микроконидии трихофитона), а также их антигенов (цитоплазматические антигены трихофитона) у детей с ЗАТ характеризовалась величинами, приведенными в табл. 2.

Таким образом, согласно результатам наших исследований (см. табл. 2), у больных ЗАТ проявлялся клеточно-опосредованный иммунный ответ на микотическую инфекцию, сходный по интенсивности реакции при обеих формах ЗАТ. Поскольку, за редким исключением, титры антител в РПГА не превышали уровня 1:8 в обеих группах, проявления гуморального иммунного ответа в виде накопления в крови специфических антител были выражены слабо. Это подтверждает научные представления о том, что для ЗАТ характерен преимущественно клеточно-опосредованный вариант иммунного ответа организма хозяина и в значительно меньшей степени – гуморальный [5]. Способность лейкоцитов к инактивации живых клеток (микроконидий) трихофитона у больных трихофитией была ниже, чем у ПЗД, а в группе па-

Иммунный статус ПЗД и больных ИТ и НТ (M \pm m) ЗАТ до лечения

Таблица 1

Показатели	ПЗД (n=55)	Больные ЗАТ	
		ИТ (n=24)	НТ (n=21)
Лейкоциты, $\bullet 10^9/\text{л}$	7,18 \pm 0,83	8,12 \pm 1,04	8,94 \pm 0,98
Лимфоциты, $\bullet 10^9/\text{л}$	1,88 \pm 0,82	2,09 \pm 0,46	2,44 \pm 0,38
Нейтрофилы, $\bullet 10^9/\text{л}$	4,36 \pm 0,51	5,46 \pm 0,88	5,84 \pm 0,47*
IgA, г/л	1,45 \pm 0,29	1,68 \pm 0,25	1,78 \pm 0,21
IgM, г/л	1,38 \pm 0,69	3,46 \pm 0,44*	3,63 \pm 0,61*
IgG, г/л	10,95 \pm 0,88	13,02 \pm 0,64*	13,58 \pm 1,02*
Фагоцитарный индекс, %	38,07 \pm 2,69	24,85 \pm 3,89*	26,72 \pm 4,31*
Фагоцитарное число, ед	4,25 \pm 0,42	3,84 \pm 0,61	4,11 \pm 0,55
НСТ-тест спонтанный, %	4,84 \pm 1,04	9,96 \pm 2,08*	11,92 \pm 2,44*
НСТ-тест индуцированный, %	38,06 \pm 8,31	36,08 \pm 5,12	33,24 \pm 5,35
CD3, $\bullet 10^9/\text{л}$	1,13 \pm 0,04	1,23 \pm 0,06	1,32 \pm 0,08*
CD4, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,61 \pm 0,05	0,67 \pm 0,08	0,64 \pm 0,07
CD8, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,37 \pm 0,07	0,41 \pm 0,09	0,44 \pm 0,08
CD16, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,32 \pm 0,04	0,36 \pm 0,09	0,41 \pm 0,13
CD72, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,31 \pm 0,04	0,36 \pm 0,05	0,35 \pm 0,07
HLA-DR, $\bullet 10^9/\text{л}$	0,41 \pm 0,04	0,54 \pm 0,05*	0,59 \pm 0,07*
ФНО α , пг/мл	36,11 \pm 8,08	124,54 \pm 25,92*	184,48 \pm 38,65*
ИЛ1 β , пг/мл	44,22 \pm 12,96	128,22 \pm 30,81*	138,62 \pm 41,80*
ИЛ4, пг/мл	43,12 \pm 6,58	88,12 \pm 18,50*	80,89 \pm 16,86*
ИФН γ , пг/мл	39,04 \pm 8,74	184,50 \pm 25,62	162,34 \pm 40,12*

Примечание. НСТ – нитросиний тетразолий; * – различия с данными ПЗД статистически значимы ($p < 0,05$).

циентов с НТ это снижение было статистически значимым ($p < 0,05$). Можно предположить, что снижение указанной способности лейкоцитов является результатом описанного лимфоцитопосредованного угнетения фунгицидности фагоцитов, проявляющегося на ранних этапах формирования ЗАТ [4, 5].

Нас интересовал также вопрос об особенностях иммунного ответа при микозе, обусловленном разными видами возбудителей.

Согласно полученным данным, различия иммунного ответа у пациентов с ИТ и НТ выражены вне зависимости от того, какой грибок вызвал данную инфекцию. В табл. 3 приведены данные иммунологического обследования больных ИТ и НТ с сопоставимыми по длительности сроками заболевания (10–14-й день от предполагаемого заражения).

Как видно из табл. 3, до начала лечения при НТ в сравнении с ИТ отмечалась тенденция к увеличению показателей активности нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте; она была достоверно более выраженной ($p < 0,01$) при индукции конидиями гриба; в то же время фунгицидная активность этих клеток при НТ ниже, чем при ИТ (различие недостоверно). При сравнительном исследовании у пациентов наиболее многочисленной группы (ИТ) достоверных различий в показателях иммунного ответа при инфекциях, вызываемых разными видами зоофильных трихофитов, выявить не удалось. Однако обращает на себя внимание то, что при трихофитии, вызванной *T. mentagrophytes var. gyraseum*, определяется тенденция к большей реактивности клеток нейтрофильного звена и стимуляции антителогенеза, а при инфекции, вызванной *T. verrucosum*, — к клеточно-опосредованному иммунному ответу (табл. 4).

В ходе исследования, несмотря на применение комплекса традиционной терапии, у нескольких больных ИТ волосистой части головы на 7–20-е сутки заболевания (3–8-е сутки лечения) процесс инфильтрации в очагах трансформировался в нагноительный. Ретроспективный анализ всех этих случаев показал, что такое неблагоприятное течение трихофитии может быть обусловлено особенностями иммунного ответа.

По данным изучения иммунного статуса больных ИТ благоприятного течения (раскасывание инфильтратов) и неблагоприятного (трансформация ИТ в НТ) при поступлении на стационарное лечение и в ходе терапии были определены различия этих групп по поглощательной активности фагоцитов (фагоцитарная активность нейтрофилов в венозной крови и в капиллярной крови очага воспаления).

Ранее отмечалось, что у больных ЗАТ в капиллярной (очаг воспаления) и венозной крови достоверно снижен фагоцитарный индекс при незначительном уменьшении фагоцитарного числа. Подавление фагоцитарной активности лейкоцитов в сходной степени выражено у больных с разным течением микоза и в дальнейшем (табл. 5).

При наблюдении больных в ходе лечения оказалось, что у пациентов с благоприятным развитием очагового процесса ИТ фагоцитарная активность нейтрофилов крови частично восстанавливалась. В частно-

Таблица 2

Показатели фунгицидной активности лейкоцитов крови и специфических антител у больных с ИТ и НТ до и после лечения ($M \pm m$)

Показатель	Больные ЗАТ			
	ИТ (n=24)		НТ (n=21)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Инактивация лейкоцитами микроконидий трихофитона, %	84,24±21,51	133,88±30,86	61,03±22,13	127,28±32,16
РТМЛ с ЦАТ, %	64,71±13,11	74,11±15,02	64,12±12,05	71,22±15,61
Уровень антител с ЦАТ, log ₂ титров РПГА	2,14±1,28	0,71±0,38	2,45±1,04	1,12±0,77

Таблица 3

Показатели иммунного ответа на возбудитель у больных ИТ и НТ до начала лечения ($M \pm m$)

Показатели	ИТ (n=24)	НТ (n=21)
Активность лейкоцитов в НСТ-тесте (индекс активации), %:		
спонтанном	0,108±0,420	0,143±0,019
индуцированном	0,462±0,116	0,795±0,183
Фунгицидность лейкоцитов крови, % (инактивация конидий гриба)	17,5±3,8	13,3±2,7
Резкоположительные результаты РБТЛ с антигенами гриба, % от числа обследованных	71	100
Антитела в крови в РПГА со специфическим диагностикумом, % от числа обследованных	21	50

Примечание. РБТЛ – реакция бласттрансформации лимфоцитов.

Таблица 4

Показатели иммунного ответа у больных ИТ, вызванной *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes var. gypseum* ($M \pm m$)

Показатели	<i>T. verrucosum</i>	<i>T. mentagrophytes var. gypseum</i>
Активность лейкоцитов в НСТ-тесте (индекс активации), %:		
спонтанном	0,103±0,027	0,110±0,026
индуцированном клетками гриба	0,425±0,129	0,543±0,132
Фунгицидность лейкоцитов крови (инактивация конидий гриба), %	15,80±3,56	21,25±3,90
Резкоположительные результаты РБТЛ с антигенами гриба, % от числа обследованных	100	33
Обнаружение специфических антител в крови в РПГА, % от числа обследованных	17	33

сти, на 7-е сутки терапии фагоцитарный индекс не достигал значений нормы, но статистически значимо возрастал.

После завершения терапии обнаружилось, что показатели гуморального и клеточного иммунитета в отношении антигенов возбудителей сохранялись повышенными, а фунгицидность фагоцитов крови больных в отношении клеток трихофитонов была несколько выше таковой у ПЗД (см. табл. 3). Однако в группе пациентов с неблагоприятным течением ИТ (трансформация ИТ в НТ) этим изменениям сопутствовало дальнейшее подавление поглотительной активности фагоцитов крови. На 7-е сутки лечения фагоцитарное число и фагоцитарный индекс у них были достоверно ниже, чем при поступлении, и через 7 сут у больных с благоприятным течением микоза. При этом показатели поглотительной активности лейкоцитов капиллярной крови различались незначительно. Таким образом, у больных трихофитией переход ИТ в НТ сопровождается снижением поглотительной активности фагоцитов крови.

У больных ИТ с последующим разрешением воспалительного микотического процесса в ходе лечения (благоприятное течение) и с трансформацией ИТ в НТ различались и показатели цитокинового статуса. Как видно из табл. 3, у последних при поступлении отмечалось более высокое содержание в крови ИЛ4 ($p < 0,05$). Поскольку ИЛ4 – один из главных иммуномедиаторов, поддерживающий как течение, так и возникновение гуморального иммунного ответа, у пациентов с тенденцией к переходу ИТ в НТ, видимо, формируется гуморальный ответ. В то же время содержание ИФН γ – одного из основных цитокинов, обеспечивающих клеточно-опосредованный иммунитет, – было у этих больных статистически значимо меньшим ($p < 0,05$); табл. 6.

Группы больных ИТ, впоследствии трансформировавшейся в НТ, и ИТ без такого перехода существенно различались по иммунной реактивности (содержание антигенов трихофитонов, а также цельных клеток возбудителя – микроконидий трихофитона); табл. 7.

Согласно результатам исследования, в группе пациентов с ИТ, у которых она перешла в НТ, при поступлении в стационар были отмечены более высокий уровень специфических антител в крови при низких показателях активности клеточного иммунного ответа на антигены гриба (РТМЛ),

а также большие показатели подавления фунгицидной способности фагоцитов (инактивация лейкоцитами конидий трихофитона), чем у больных без трансформации ИТ в НТ ($p < 0,05$); см. табл. 5.

Согласно данным литературы, при микотической инфекции, обусловленной зоофильными трихофитонами, возможны оба варианта иммунного ответа на антигены возбудителя. Кроме того, клеточный и гуморальный иммунные ответы при ЗАТ различаются по механизмам защитной активности и угнетают друг друга. Так, клеточный иммунный ответ – протективный, а гуморальный – слабопротективный. Формирование у больного гуморального или клеточного варианта иммунного ответа при ЗАТ зависит от разных факторов, в том числе и генетически детерминированных. Именно поэтому при ЗАТ угнетение клеточного иммунного ответа сопровождается интенсивным накоплением специфических антител в условиях более тяжелого течения микотической инфекции (трансформация ИТ в НТ) [5].

Таблица 5

Фагоцитарная активность нейтрофилов в очаге воспаления и венозной крови у больных ИТ с трансформацией (n=9) и без трансформации в НТ (n=25); M \pm m

Показатели	Кровь	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарное число, ед	
ПЗД (n=25)	Венозная	38,07 \pm 2,69	4,25 \pm 0,42	
	Капиллярная	37,71 \pm 1,15	4,23 \pm 0,24	
До начала лечения у больных: без перехода в НТ	Венозная	24,05 \pm 1,91	3,65 \pm 0,77	
	Капиллярная	28,20 \pm 1,83	3,87 \pm 0,78	
	с переходом в НТ	Венозная	21,94 \pm 1,82	3,74 \pm 0,42
		Капиллярная	25,02 \pm 3,94	4,10 \pm 0,39
Спустя 7 сут лечения: без перехода в НТ	Венозная	28,72 \pm 1,04*	3,48 \pm 0,33	
	Капиллярная	27,24 \pm 2,07	3,29 \pm 0,48	
	с переходом в НТ	Венозная	17,11 \pm 1,43*,**	2,46 \pm 0,38*,**
		Капиллярная	22,05 \pm 6,17	3,42 \pm 0,63

Примечание. Достоверность различий: * – с показателями до начала лечения ($p < 0,05$); ** – с показателями детей, у которых ИТ не перешла в НТ ($p < 0,05$).

Таблица 6

Цитокиновый профиль до лечения у больных ИТ с благоприятным (1-я группа) и неблагоприятным (2-я группа) ее течением (M \pm m)

ИТ	ФНО α , пг/мл	ИЛ1, пг/мл	ИЛ4, пг/мл	ИФН γ , пг/мл
1-я группа (n=25)	128,53 \pm 25,22*	126,24 \pm 27,36*	87,06 \pm 21,13*	194,22 \pm 25,04
2-я группа (n=9)	181,05 \pm 37,45*	137,05 \pm 43,12*	196,22 \pm 31,01*,**	133,61 \pm 16,33*,**
ПЗД (n=25)	36,11 \pm 8,08	41,7 \pm 16,4	44,22 \pm 12,96	39,04 \pm 8,74

Примечание. Достоверность различий: * – с показателями ПЗД ($p < 0,05$); ** – показателей 2-й группы с показателями 1-й группы ($p < 0,05$).

Таблица 7

Показатели до лечения иммунной реактивности у больных ИТ с благоприятным (1-я группа) и неблагоприятным (2-я группа) течением заболевания (M \pm m)

ИТ	Инактивация лейкоцитами конидий трихофитона, %	РТМЛ с ЦАТ, %	Уровень антител с ЦАТ, log 2 титров РПГА
1-я группа (n=25)	95,89 \pm 12,33	67,62 \pm 4,44	0,75 \pm 0,56
2-я группа (n=9)	62,96 \pm 10,16*	50,57 \pm 7,01*	4,25 \pm 0,87*

Примечание. * – различия со значениями 1-й группы статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом, иммунный статус больных ИТ и НТ характеризуется признаками воспалительного процесса – повышенными показателями спонтанной активации кислородзависимого метаболизма фагоцитов, повышенным содержанием провоспалительных цитокинов и нейтрофильным лейкоцитозом. В ходе исследования были получены данные о признаках активного иммунного ответа у больных ЗАТ – увеличении содержания в крови иммуноглобулинов и лимфоцитов с маркерами активации и CD3⁺-лимфоцитов. При НТ в крови определялись лабораторные признаки недостаточности иммунной системы – сниженное соотношение Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов, подавленная функционально-метаболическая активность фагоцитов в очаге воспаления и венозной крови. Иммунная реакция на возбудитель инфекции (микроконидии трихофитона) проявлялась формированием гуморального и клеточного иммунного ответа на антигены клеток грибов, а также сниженной способностью фагоцитов крови к инаktivации этих клеток.

В ходе исследования обнаружилось также, что у детей с ИТ течение микотической инфекции в ходе традиционного лечения может иметь 2 варианта – с последующим разрешением воспалительного очага микоза и с тенденцией к трансформации ИТ в НТ.

Неэффективность традиционных методов лечения у некоторых больных ЗАТ (трансформация ИТ в НТ, сопровождающаяся достоверным изменением иммунологических показателей) указывает на целесообразность совершенствования методов комплексного лечения таких больных.

Литература

1. Сбойчаков В.Б. Медицинская микология. Пособие для врачей / М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008; 208 с.
2. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике / М.: Медицина, 1990; 280 с.
3. Медведев Ю.А., Алсынбаев М.М. Основы иммунных и иммунонаправленных методов терапии и профилактики / Уфа: РИО ГУП «Иммунопрепарат», 2000; 81 с.
4. Хисматуллина З.Р., Медведев Ю.А. Зооантропонозная трихофития у детей: аспекты иммуномодулирующей терапии / Уфа: Здравоохранение Башкортостана, 2005; 100 с.
5. Медведев Ю.А. Молекулярно-клеточные механизмы иммуногенеза при зоонозной трихофитии. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 1988; с. 240.
6. Хисматуллина З.Р. Медведев Ю.А. Зооантропонозная трихофития / Уфа: ГУП ИПК МВД по РБ «ТИД», 2013; 112 с.

IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH ZOOANTHROPONOTIC TRICHOPHYTOSIS

R. Danilenko¹; Professor **Z. Khismatullina**¹, MD; **O. Mukhamadeeva**¹, Candidate of Medical Sciences; Professor **Yu. Medvedev**²; MD

¹Bashkir State Medical University, Ufa

²Research Technological Institute of Herbicides and Plant Growth Regulators with Pilot Production, Ufa

The investigators assessed the immune status of patients with zooanthropontic trichophytosis (ZAT) and changes in their immune responses to the antigens of pathogenic fungi. The investigation studied the specific features of an immune response in different clinical forms of mycosis and mycoses caused by different species of pathogens. This was done using the materials of clinical and laboratory examinations in 45 children aged 5 to 18 years with ZAT. The results of the investigation confirm the scientific conception that ZAT is characterized primarily by the cell-mediated type of a host's immune response and, to a significantly lesser degree, by a humoral one. In some patients with ZAT, the inefficiency of traditional treatments, which is characterized by transformation of infiltrative to suppurative forms and accompanied by significantly altered immunological parameters, shows the expediency of improving the methods of combination treatment in these patients.

Key words: dermatology, zooanthropontic trichophytosis, infiltrative form, suppurative form, immunity.