

УДК 612.017.1:616.24-002-02

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО И МЕСТНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Н.В. Шестакова¹, В.А. Невзорова¹, Т.Ф. Боровская², Л.Д. Скребкова³, Т.Б. Дмитриева³

¹Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

²Хабаровский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (680042 г. Хабаровск, Воронежское шоссе, 164),

³Южно-Сахалинская городская больница им. Ф.С. Анкудинова (693000 г. Южно-Сахалинск, бульвар Анкудинова, 1)

Ключевые слова: пневмония, иммуноциты, мокрота, кровь.

На основании обследования 118 пациентов с внебольничной пневмонией, вызванной различными возбудителями, оценивалась рецепторная активность иммунокомпетентных клеток периферической крови, индуцированной мокроты и слизистой оболочки крупных бронхов. Для идентификации клеток использовались моноклональные антитела. Зарегистрированы односторонние изменения в виде снижения рецепторной активности в 6 и 7 из 9 исследованных популяций клеток соответственно. Наблюдались отличия в состоянии эффекторных клеток периферической крови и индуцированной мокроты в зависимости от этиологии пневмонии. Иммунокомпетентные клетки слизистой оболочки бронхов характеризовались стабильностью состояния рецепторной активности: показатели здесь практически не отличались от контрольных.

Клинические особенности внебольничной пневмонии (ВП) определяются рядом факторов, среди которых решающее значение имеют состояние иммунной системы организма и вид возбудителя [5]. Несмотря на широкий спектр возможных возбудителей ВП возникает в результате воздействия ограниченного числа респираторных патогенов [9]. Эффективная элиминация микроорганизмов и разрешение воспалительного процесса в легких требует напряжения как местного, так и системного иммунного ответа, участниками которого являются функционально активные Т- и В-лимфоциты. Основные субпопуляции Т-лимфоцитов обеспечивают клеточную форму защиты, непосредственно разрушая инфицированные соматические клетки или активизируя макрофаги к внутриклеточному разрушению паразитов. В отличие от Т-системы иммунитета, В-лимфоциты нейтрализуют патогены с помощью антител и обеспечивают гуморальный иммунный ответ [6, 11].

Хорошо известно, что антигенная структура микробной клетки представляет собой сложный комплекс, состоящий из высокомолекулярных белковых соединений и биологически активных полисахаридов, что в свою очередь определяет иммунологическую специфичность микроорганизма [2]. В связи с этим формирование иммунного ответа на генетически чужеродные субстанции при ВП зависит от вида возбудителя и может влиять на исход заболевания. Весь путь развития иммунологических реакций от первичного контакта иммуноцитов с микроорганизмом

до его уничтожения представляет собой многоступенчатый процесс с включением широкого набора клеточных и молекулярных структур, что требует его дальнейшего изучения в целях совершенствования диагностики и лечения инфекционных заболеваний нижних отделов респираторного тракта.

Цель исследования – определить степень участия иммуноцитов периферической крови, индуцированной мокроты (ИМ) и слизистой оболочки крупных бронхов в реализации иммунного ответа при ВП, вызванной различными возбудителями.

Материал и методы. Обследовано 118 пациентов с ВП в возрасте от 18 до 69 лет (средний возраст – 42,2±6,4 г.), находившихся на лечении в пульмонологическом отделении Южно-Сахалинской городской больницы им. Ф.С. Анкудинова. В группу сравнения (контроль) вошли 12 человек, госпитализированных по поводу инородных тел бронхов. При идентификации возбудителя учитывали характер роста на кровяном агаре, β-гемолиз, чувствительность штаммов к оптохину (диск TAXO P, BBL, США) и пробирочный тест лизиса солями желчи (натрия дезоксихолат, MAST Diagnostics, Германия). Идентификацию *Mycoplasma pneumoniae* проводили методом иммуноферментного анализа с помощью отечественного диагностикума МикопневмоСкрин (НИИРМЕДИК Плюс, Россия) – тест системы для выявления антител классов иммуноглобулинов М и G к антигенам микоплазм. Фенотип иммуноцитов определяли в периферической крови, ИМ и слизистой оболочке крупных бронхов. Для идентификации иммуноцитов с определением кластеров дифференцировки (cluster of differentiation – CD) – CD3, CD4, CD8, CD16, CD18, CD22, CD25, CD11b, HLA-DR – были использованы соответствующие моноклональные антитела фирмы Caltag (Burlingame). Исследование клеточного звена иммунитета осуществлялось методом проточной цитофлюорометрии на приборе FACScan фирмы Beckton Dickinson (США).

Обработка полученных данных выполнена с использованием методов вариационной статистики.

Результаты исследования. Преобладающим среди возбудителей ВП оказался *Streptococcus pneumoniae*, выделенный из 59 образцов ИМ. *Streptococcus pyogenes* в качестве основного возбудителя установлен в 26 случаях, в 14 случаях выделены ассоциации

Таблица 1

Содержание иммуноцитов в периферической крови пациентов с ВП

Рецептор	Содержание по группам, %				
	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>M. pneumoniae</i>	Ассоциация микробов	Контроль
CD3	23,19±2,31*	24,56±3,44*	45,45±2,33	26,43±3,48*	50,06±4,21
CD22	24,46±1,71	20,97±2,87	17,94±2,50*	24,65±4,21	27,67±3,15
CD4	19,32±1,78*	22,76±4,22*	19,32±2,92*	20,84±2,76*	39,33±3,76
CD8	20,0±1,65*	23,23±3,45*	21,03±6,29*	20,92±2,67*	32,17±3,76
CD25	20,45±2,00*	21,78±2,89	23,64±4,02	23,57±4,64	29,58±3,64
CD16	20,87±2,62	19,76±2,68	21,17±5,84	20,12±2,31	20,86±3,72
HLA-DR	14,23±1,92*	20,98±3,21*	17,56±3,32*	22,15±3,32*	30,52±2,34
CD18	22,34±1,53	21,98±3,68	16,68±3,42	18,56±3,78	23,86±4,98
CD11b	21,38±2,32	21,67±4,12	16,72±2,46	22,34±2,65	19,40±2,66

* Здесь и в табл. 2 и 3 – различия по сравнению с контролем статистически значимы.

Таблица 2

Содержание иммуноцитов в ИМ пациентов с ВП

Рецептор	Содержание по группам, %				
	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>M. pneumoniae</i>	Ассоциация микробов	Контроль
CD3	34,23±5,71	27,24±6,21	37,21±3,42	30,55±6,62	36,57±2,35
CD22	24,97±1,82*	29,87±3,72	20,12±2,54*	27,44±6,11	36,07±1,87
CD4	24,0±1,62*	19,34±4,52*	28,86±4,51*	19,97±2,14*	42,07±1,76
CD8	20,0±1,64	19,87±6,51	24,12±3,34	14,72±7,41	23,87±3,54
CD25	19,57±1,84*	22,78±8,32	26,17±1,86	15,92±7,32*	31,35±2,89
CD16	20,76±2,65*	16,98±4,22*	26,23±4,76	13,0±4,62*	34,32±3,78
HLA-DR	12,88±2,00*	22,98±2,62*	22,56±2,78*	21,62±6,67*	38,12±3,56
CD18	21,65±1,32*	21,67±4,96*	18,09±3,63*	13,0±1,63*	41,54±3,08
CD11b	19,96±2,0*	22,64±4,33*	19,43±5,12*	26,72±3,42	34,43±2,87

микроорганизмов. У 19 пациентов выявлены антитела к *M. pneumoniae* в титрах от 1:40 до 1:80.

В периферической крови зарегистрировано снижение рецепторной активности 6 из 9 исследованных клеточных популяций. Независимо от этиологии ВП количество CD4⁺-клеток в периферической крови было достоверно снижено по сравнению с группой контроля, достоверно уменьшалось и количество CD3⁺-клеток, и только при ВП, вызванной *M. pneumoniae*, клеточный пул CD3⁺ периферической крови практически не изменялся. Популяция CD22⁺-клеток достоверно уменьшалась только при ВП, вызванной микоплазмами. Независимо от этиологии заболевания снижалось количество CD8⁺-иммуноцитов и HLA-DR⁺-клеток. Содержание CD25⁺-клеток достоверно снижалось только при ВП пневмококковой этиологии (табл. 1).

В ИМ колебаниям подверглось максимальное количество субпопуляций иммуноцитов – 7 из 9. Изменения содержания иммуноцитов в периферической крови и ИМ имели однонаправленный характер, отличаясь по качественным характеристикам иммунного дисбаланса. Так, в отличие от периферической

крови в ИМ не получено достоверного снижения содержания CD3⁺-клеток. Количество иммуноцитов CD4⁺ достоверно уменьшалось независимо от этиологии ВП. У большинства пациентов отмечено и уменьшение содержания CD22⁺-клеток, исключение составила пневмония, вызванная ассоциациями микроорганизмов. В ИМ более активно, чем в крови, реагировали иммуноциты, ответственные за клеточный иммунный ответ. Так, содержание CD25⁺-клеток здесь было достоверно снижено не только при пневмококковой пневмонии, но и при пневмонии, вызванной ассоциациями микроорганизмов. Независимо от этиологии процесса происходило достоверное уменьшение содержания HLA-DR⁺-клеток. Особенно это было заметно при пневмококковой пневмонии, где содержание HLA-DR⁺-клеток достоверно снижалось не только по отношению к контролю (в 3 раза), но и к показателям ВП другой этиологии. Во всех исследуемых группах установлено уменьшение содержания популяций CD16⁺, CD18⁺ и CD11b⁺. При всех вариантах возбудителей не зарегистрировано достоверных отличий в содержании Т-лимфоцитов CD8⁺ по сравнению с группой контроля (табл. 2).

Таблица 3

Содержание иммуноцитов в слизистой оболочке крупных бронхов пациентов с ВП

Рецептор	Содержание по группам, %				
	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>M. pneumoniae</i>	Ассоциация микробов	Контроль
CD3	25,51±1,75	23,67±3,42	26,13±6,69	24,71±10,72	33,55±4,21
CD22	24,97±3,12	22,46±3,45	20,66±4,68	20,45±7,82	24,53±3,51
CD4	24,53±1,97	23,0±4,81	28,42±4,35	23,54±8,63	29,26±3,14
CD8	24,34±2,00	24,76±6,81	28,92±7,48	26,57±12,34	23,73±3,86
CD25	24,23±1,82	22,0±3,86	19,99±2,66	24,33±8,62	24,70±4,01
CD16	22,38±1,84	20,77±4,71	22,23±4,75	22,57±6,41	26,06±3,60
HLA-DR	26,32±2,76	22,0±6,91	21,52±5,12	23,21±10,42	25,21±3,41
CD18	22,87±1,73*	22,61±3,51*	19,97±6,48	19,44±4,53	13,41±2,71
CD11b	19,69±1,42	20,22±4,51	20,28±2,87	21,00±8,33	17,70±3,11

Иммуноциты слизистой оболочки крупных бронхов при ВП характеризовались стабильностью рецепторной активности. Несмотря на некоторое уменьшение количества CD3⁺-клеток во всех группах наблюдения достоверной разницы показателей по рецепторам CD3, CD22, CD4, CD8, CD25, CD16, HLA-DR, CD11b и группе контроля не отмечено. Единственным достоверно измененным показателем оказалось содержание CD18⁺-клеток. При этом их количество превышало уровень контроля в группах пациентов с ВП, вызванной *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* (табл. 3).

Обсуждение полученных данных. Основными эффекторными клетками воспалительного процесса являются Т-лимфоциты, экспрессирующие на своей мембране рецепторы CD3 и CD4. Независимо от этиологии ВП отмечалось почти двукратное снижение количества CD4⁺-клеток (зрелые Т-хелперы и моноциты) в периферической крови. Вероятно, это связано с рекрутированием клеток в очаг воспаления для участия в реализации клеточного и гуморального иммунного ответа и отражало общие закономерности формирования воспалительного процесса в легких [1, 3]. Содержание CD3⁺-клеток (зрелые Т-лимфоциты) достоверно снижалось при стрептококковой ВП, а также при ВП, вызванной микробными ассоциациями. Исключение составила микоплазменная пневмония, где CD3⁺-клеточный пул практически не изменялся. Отсутствие напряжения иммунного ответа на CD3-антиген могло быть связано с биологическими особенностями микоплазм [8].

CD8- и CD16-рецепторы активно экспрессируются на мембранах цитотоксических и киллерных клеток, ответственных за распознавание и уничтожение чужеродных агентов. Независимо от этиологии ВП количество CD8⁺-иммуноцитов значимо уменьшалось. Клетки этого фенотипа чаще представлены антигенспецифическими Т-лимфоцитами, которые могут мигрировать в ткань легкого в ответ на внедрение вируса или обострение хронического воспалительного процесса. Снижение объема указанного

клеточного кластера в периферической крови больных ВП могло косвенно отражать участие вирусной инфекции в инициации поражения легочной паренхимы, наличие хронической обструктивной болезни легких и других сопутствующих заболеваний [12].

Гуморальный или антителозависимый тип иммунного ответа реализуется с участием субпопуляции CD22⁺-клеток. В нашем исследовании указанный пул иммуноцитов достоверно уменьшался только при ВП, вызванной *M. pneumoniae*.

CD25- и HLA-DR-рецепторы относятся к маркерам позитивной активации Т-лимфоцитов. Независимо от этиологии заболевания на собственном материале в периферической крови регистрировалось снижение содержания HLA-DR⁺-клеток. В то же время клеточный кластер CD25⁺ периферической крови достоверно не изменялся. Исключение составила группа пациентов с пневмококковой пневмонией, где отмечалось достоверное уменьшение содержания CD25⁺-клеток по отношению к группе контроля.

Иммуноциты ИМ также характеризовались снижением рецепторной активности. Несмотря на однонаправленность этих изменений, качественная характеристика иммунного дисбаланса в клетках мокроты отличалась от таковой периферической крови. Так, отмечено снижение количества CD4⁺-иммуноцитов, при этом степень их дефицита не зависела от этиологии воспаления. Такую депрессию можно объяснить прямым воздействием микроорганизмов на эффекторные звенья воспаления или представить исходным фоном для инфицирования различными респираторными патогенами [13]. Достоверного уменьшения содержания CD3⁺-клеток (зрелые Т-лимфоциты) в ИМ не зарегистрировано.

Сниженная рецепторная активность CD22⁺-клеток, связанных с формированием гуморального иммунного ответа, могла быть объяснена недостаточной антигенной нагрузкой и миграцией антигена из легочной ткани в лимфатические узлы [10].

Отмечена более активная реакция маркеров позитивной активации Т-лимфоцитов. Количество CD25⁺-иммуноцитов в ИМ было снижено при пневмококковой пневмонии и пневмонии, вызванной микробными ассоциациями. Содержание HLA-DR⁺-клеток при пневмококковой ВП было снижено по сравнению с контролем и достоверно отличалось от показателей при ВП другой этиологии. Такие выраженные изменения показателей позитивной активации при воспалении легких, индуцированном пневмококком, можно объяснить иммунологической или видовой специфичностью данного микроорганизма [4].

Установлено уменьшение содержания CD16⁺-клеток в ИМ всех групп пациентов. Наиболее сниженной была экспрессия указанного клеточного кластера при пневмониях, вызванных пиогенным стрептококком и ассоциациями микробных возбудителей. Одной из причин этого может быть связывание блокирующих доменов с молекулами гистосовместимости и последующая инициация сигнала, подавляющего NK-агрессивность [7]. Обнаружено и снижение численности CD18⁺- и CD11b⁺-клеток, связанных с уровнем молекул адгезии.

Функциональное состояние иммунокомпетентных клеток слизистой оболочки крупных бронхов характеризовалось стабильностью. Только при стрептококковой ВП отмечено увеличение активности CD18-рецепторов молекул адгезии, возможно связанных с миграцией иммуноцитов из сосудистого русла.

Проведенное исследование подтвердило возможность использования показателей экспрессии мембранных маркеров клеточной активации и дифференцировки для оценки состояния системного и местного иммунного статуса больных ВП с целью их оптимальной коррекции. Кроме того, эти показатели могут косвенно свидетельствовать об этиологии заболевания.

Выводы

1. Состояние CD-рецепторной активации клеток ИМ и периферической крови при ВП характеризуется однонаправленностью изменений в виде снижения активности клеток CD4⁺, CD22⁺, CD25⁺, HLA-DR⁺, CD16⁺, CD18⁺ и CD11b⁺ в первом случае и клеток CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD22⁺, CD25⁺ и HLA-DR⁺ во втором.

2. Несмотря на однонаправленный характер изменений местного и системного иммунного ответа при ВП существуют отличия в состоянии эффекторных клеток ИМ и периферической крови в зависимости от этиологии заболевания. Для пневмококковой пневмонии характерно наиболее значимое снижение содержания CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- и CD16⁺-клеток, ответственных за клеточное звено иммунитета, для микоплазменной пневмонии типично снижение активности CD22⁺-клеток, связанных с формированием гуморального иммунного ответа.

3. Иммуноциты слизистой оболочки крупных бронхов при ВП характеризуются стабильностью состояния рецепторной активности: их показатели практически не отличаются от показателей у здоровых. Только при ВП стрептококковой этиологии увеличивается активность CD18-рецепторов молекул адгезии, способствующих миграции иммуноцитов из сосудистого русла в ткани.

Литература

1. Боровская Т.Ф., Козут Е.П., Курпас Э.Х. Особенности иммунного ответа у больных с внебольничной пневмонией // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2004. Вып. 17. С. 77–79.
2. Земсков А.М. Клиническая иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 432 с.
3. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии. Н. Новгород: НГМА, 2003. 272 с.
4. Рабсон Л., Ройт А., Делвиз П. Основы медицинской иммунологии / пер. с англ. М.: Мир, 2006. 320 с.
5. Синопальников А.И., Козлов Р.С. Внебольничные инфекции дыхательных путей: руководство для врачей. М.: Премьер МТ, 2007. 352 с.
6. Хаитов Р.М. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 320 с.
7. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 352 с.
8. Чернушенко Е.Ф. Диагностика вторичных иммунодефицитных состояний // Искусство лечения. 2006. № 2 (28). С. 5–12.
9. Чучалин А.Г. Пневмония. М.: Экономика и информатика, 2002. 180 с.
10. Immunology, 6th ed., Garland Science, New York–London, 2005.
11. Kohlmeier J.E., Woodland D.L. Memory T-cell recruitment to the lung airways // Curr. opin. immunol. 2006. Vol. 18, No. 3. P. 357–362.
12. Roberts A.D., Woodland D.L. Effector memory CD8⁺ T-cells play a prominent role in recall responses to secondary viral infection in the lung // J. Immunol. 2004. Vol. 172, No. 11. P. 6533–6537.
13. Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses // Annu. Rev. Immunol. 2004. No. 22. P. 531–562.

Поступила в редакцию 18.10.2010.

THE STATE OF SYSTEMIC AND LOCAL IMMUNE RESPONSE IN CASE OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA OF DIFFERENT AETIOLOGY

N.V. Shestakova¹, V.A. Nevzorova¹, T.F. Borovskaya², L.D. Skrebkova³, T.B. Dmitrieva³

¹Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia), ²Khabarovsk Branch of Russian Oncological Centre, RAMS (164 Voronezhskoye Sh. Khabarovsk 680042 Russia),

³Yuzhno-Sakhalinsk Municipal Hospital (1 Ankudinova Boulevard, Yuzhno-Sakhalinsk 693000 Russia)

Summary – On examining 118 patients with the community-acquired pneumonia caused by various pathogens, the authors estimated the receptor activity of immune competent cells of peripheral blood, induced sputum and mucous tunic of large bronchi. To identify cells, the authors used monoclonal antibodies. There were unidirectional changes like lowering receptor activity in 6 and 7 of 9 cell populations under study, respectively. Also, there were differences in the state of excitatory cells of the peripheral blood and in the induced sputum, depending on pneumonia aetiology. The immune competent cells of the mucous tunic of bronchi were characterised by stability in the state of receptor activity. These indices almost coincided with the control ones.

Key words: pneumonia, immunocytes, sputum, blood.

Pacific Medical Journal, 2011, No. 2, p. 74–77.