

УДК 616.24-002-078.73:612.017

В.А. Невзорова¹, Т.Ф. Боровская², Т.Б. Дмитриева³, Л.Д. Скребкова³, С.А. Пазыч¹

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 имени Ф.С. Анкудинова (693000 г. Южно-Сахалинск, бульвар Анкудинова, 1)

СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО И СИСТЕМНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

Ключевые слова: пневмония, иммуноциты, мокрота, кровь.

На основании обследования 216 пациентов с внебольничной пневмонией оценивалась рецепторная активность иммуноцитов в периферической крови, индуцированной мокроте (ИМ) и слизистой оболочке крупных бронхов (СОБ). Для идентификации клеток использовались моноклональные антитела. В остром периоде заболевания в периферической крови снижалось количество клеток CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ и CD25⁺, в ИМ уменьшалось количество клеток CD11b⁺, CD18⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD25⁺ и HLA-DR⁺. В период реконвалесценции в крови снижалось только число клеток CD3⁺, тогда как в отдаленные сроки заболевания низкая численность иммуноцитов наблюдалась в популяциях CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD25⁺ и HLA-DR⁺. Содержание клеток CD4⁺, CD25⁺, CD16⁺, CD22⁺, CD11b⁺, CD18⁺ и HLA-DR⁺ на 20-е сутки и через 6 месяцев в ИМ не достигало контрольных значений. В СОБ только в отдаленные сроки зарегистрировано повышение уровня CD11b⁺-клеток. Достоверных отличий между показателями различных биологических сред не выявлено.

Клинические особенности внебольничной пневмонии (ВП) определяются как характером возбудителя, так и особенностями иммунного ответа [7, 9]. Существует мнение о разнонаправленной активности системных и местных иммунных реакций, формирующихся при инфекционном поражении легких [12]. Системный иммунитет здесь характеризуется признаками вторичной иммунологической недостаточности: снижением численности Т- и В-лимфоцитов, изменением их функциональных характеристик, дисбалансом в соотношении популяций лимфоцитов и иммуноглобулинов [6]. В слизистых оболочках дыхательных путей наблюдается инфильтрация лимфоцитами и плазмócитами, которые концентрируются под покровным эпителием, что отражает напряжение механизмов местной иммунной защиты [1]. Поскольку существует тесная связь между компонентами иммунной реакции, знание состава иммуноцитов на ее различных этапах в норме и при патологических состояниях является особенно важным для идентификации нарушений в различных звеньях иммунной системы. Решение этого вопроса может позволить целенаправленно формировать адекватный локальный и системный иммунный ответ и улучшать исход заболевания.

Цель исследования — определить функциональное состояние иммуноцитов у больных ВП в периферической крови, индуцированной мокроте (ИМ) и слизистой оболочке крупных бронхов (СОКБ) в динамике заболевания.

Материал и методы. Были обследованы пациенты в возрасте до 40 лет с ВП: 123 — в остром периоде (в среднем на 3-и сутки), 64 — в периоде реконвалесценции (в среднем на 20-е сутки) и 29 — в отдаленные сроки после перенесенного заболевания (спустя 90–120 суток). В группу сравнения (контроль) были включены 12 человек, госпитализированных по поводу удаления инородных тел бронхов. Фенотип иммуноцитов определяли в периферической крови, ИМ и СОКБ. Для идентификации иммуноцитов с определением кластеров дифференцировки (CD) — CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD22⁺, CD25⁺, CD11b⁺, CD18⁺ и HLA-DR⁺ — были использованы соответствующие моноклональные антитела фирмы Caltag (Burlingame). Исследование клеточного звена иммунитета осуществлялось методом проточной цитофлуорометрии на приборе FACScan фирмы Beckton Dickinson (США).

Результаты исследования и обсуждение полученных данных. На поверхности иммуноцитов здоровых лиц присутствовали все виды рецепторов. При этом уровень иммуноцитов в различных биологических средах имел отличительные особенности только по трем показателям. Так, доля CD3⁺-клеток в периферической крови оказалась в 1,5 раза выше, чем в ИМ и СОКБ. Напротив, максимальное количество CD18⁺- и CD11b⁺-клеток, имевших на своей мембране маркеры клеточной адгезии, зарегистрировано в ИМ, а минимальное — в СОКБ. Число остальных маркеров в периферической крови, ИМ и СОКБ находилось практически на одном уровне. Сравнительный анализ параметров системного и местного иммунитета у пациентов с ВП показал, что в острый период заболевания имела место выраженная вариабельность показателей в двух средах: периферической крови и ИМ. В СОКБ показатели иммунного ответа оставались стабильными и не отличались от группы сравнения (табл. 1).

Основными эффекторными клетками любого воспалительного процесса являются Т-лимфоциты, экспрессирующие на своей мембране CD3- и CD4-рецепторы [2]. В периферической крови пациентов в остром периоде болезни число CD3⁺-клеток (зрелые Т-лимфоциты) достоверно снижалось, а в ИМ и СОКБ практически не изменялось. Очевидно, снижение числа зрелых Т-лимфоцитов в периферической крови можно связать с их активной миграцией в дыхательные пути в острый период пневмонии. Рекрутирование зрелых Т-хелперов и моноцитов, представленных клетками с фенотипом

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей системного и местного иммунитета у больных ВП в остром периоде болезни, %

Рецептор	Слизистая оболочка		Периферическая кровь		Мокрота	
	пневмония	контроль	пневмония	контроль	пневмония	контроль
CD3	25,80±1,85	33,55±4,21	28,77±2,33 ¹	50,06±4,21	32,05±3,84	36,57±2,35
CD22	25,09±2,69	24,53±3,51	21,77±1,95	27,67±3,15	25,34±1,92	36,07±1,87
CD4	25,30±1,93	29,26±3,14	21,63±1,92 ¹	39,33±3,76	20,43±1,87 ¹	42,07±1,76
CD8	23,84±2,12	23,73±3,86	20,63±1,88 ¹	32,17±3,76	21,04±1,77	23,87±3,54
CD25	23,26±1,87	24,70±4,01	19,00±1,72 ¹	29,58±3,64	19,96±1,85 ¹	31,35±2,89
CD16	21,34±1,69	26,06±3,60	18,70±1,78	20,86±3,72	18,16±2,11 ¹	34,32±3,78
HLA-DR	25,35±2,25	25,21±3,41	22,66±2,54	30,52±2,34	15,30±1,78 ¹	38,12±3,56
CD18	23,11±1,76	17,70±3,11	18,77±1,77	19,40±2,66	21,17±1,37 ¹	41,54±3,08
CD11b	19,24±1,37	13,41±2,71	19,66±1,88	23,86±4,98	19,36±1,88 ¹	34,43±2,87

¹ Здесь и в табл. 2 и 3 — различия по сравнению с контролем статистически значимы.

CD4⁺, в очаг воспаления для участия в реализации клеточно-опосредованного и гуморального иммунного ответа может приводить к снижению их циркулирующего пула [3]. Действительно в остром периоде заболевания в периферической крови и ИМ выявлено уменьшение числа CD4⁺-клеток — в 1,8 и в 2 раза ниже группы сравнения (табл. 1).

Полученные результаты объясняются участием Т-хелперов в специфическом ответе, направленном на киллинг микробов макрофагами, продукцию антител и клональную экспансию цитотоксических Т-лимфоцитов. Взаимодействие между пептидами антигенов, белками поверхности антигенпрезентирующих клеток и рецепторами Т-клеток приводит к активации последних [5]. Однако, результаты нашего исследования демонстрируют отсутствие напряжения локального иммунного ответа в СОКБ в данный период заболевания. Можно предположить, что это обусловлено временем, которое необходимо для запуска местной иммунной реакции в дыхательных путях, с одной стороны, и объектом исследования (СОКБ) — с другой, в то время как все процессы разыгрываются на уровне респираторных отделов дыхательных путей. Популяции цитотоксических и киллерных клеток, а также мутировавших собственных клеток, имеют рецепторы CD8⁺ и CD16⁺ [11]. В остром периоде болезни в периферической крови число CD8⁺-клеток уменьшалось в 1,5 раза. В ИМ и слизистой оболочке их уровень по отношению к группе сравнения не менялся (табл. 1).

В остром периоде ВП происходило двухкратное снижение содержания CD16⁺-клеток в ИМ. В периферической крови и СОКБ достоверного изменения экспрессии CD16⁺-рецепторов не наблюдалось. Степень присутствия данной популяции клеток в различных биологических средах, как в группе сравнения, так и при воспалении, была одинаковой.

Установлено, что клетки маркируемые CD16, имеют свойства натуральных киллеров, участвующих в продукции γ-интерферона [4]. Взаимодействие между ними и макрофагами, возможно, является ключевым моментом для активации последних в процессе ответа системы врожденного иммунитета. Вероятно, снижение активности CD16⁺-рецепторов в ИМ обус-

ловлено незначительной микробной нагрузкой или воздействием низковирулентных патогенов.

Сила и характер иммунного ответа детерминируется HLA-DR⁺-антигенпрезентирующими клетками. В периферической крови и СОКБ в остром периоде болезни их численность оставалась прежней, а в ИМ уменьшалась более чем в 2 раза (табл. 1). Данные изменения, возможно, обусловлены частичной миграцией HLA-DR⁺-клеток в дыхательные пути.

Иммунный ответ организма на антигенное воздействие проявляется активацией CD25⁺-клеток. Как известно, рецептор CD25 определяется на поверхностной мембране активированных Т-, В-лимфоцитов и макрофагов и дополнительно имеет цепь интерлейкин-2R_β и Tac-рецептор, которые являются маркерами поздней стадии лимфоцитарной активации [6]. В остром периоде болезни в ИМ и периферической крови содержание CD25⁺-клеток снижалось в 1,5 раза, а в СОКБ не изменялось (табл. 1). Данный феномен частично может быть объяснен дисрегуляцией иммунного ответа на воздействие инфекционных патогенов или ингалируемых инородных частиц.

Миграции иммунных клеток из кровеносного русла в слизистые оболочки дыхательных путей способствуют клетки, экспрессирующие на своей поверхности рецепторы CD18 и CD11b [13]. Достоверные изменения активности данных клеток наблюдались только в мокроте: их содержание в острый период болезни уменьшалось почти в 2 раза. Одной из причин уменьшения данного пула клеток в ИМ могла быть их рекрутизация в центральные органы иммуногенеза: тимус, селезенку или костный мозг. Субпопуляция CD22⁺-клеток принимает активное участие в реализации гуморального иммунного ответа. Их численность в острый период болезни не была подвержена изменениям ни в одной из изучаемых биологических сред (табл. 1).

Таким образом, у пациентов в остром периоде ВП регистрировалось снижение уровня иммунных клеток в периферической крови. При этом по четырем показателям из девяти изученных (CD3, CD4, CD8 и CD25) наблюдались достоверные отличия по отношению к контролю. Изменения же местного иммунитета

Таблица 2

Сравнительная характеристика показателей системного и местного иммунитета у больных ВП в период реконвалесценции, %

Рецептор	Слизистая оболочка		Периферическая кровь		Мокрота	
	пневмония	контроль	пневмония	контроль	пневмония	контроль
CD3	24,32±3,52	33,55±4,21	33,45±1,87 ¹	50,06±4,21	35,80±2,70	36,57±2,35
CD22	25,40±2,00	24,53±3,51	32,13±2,45	27,67±3,15	26,00±3,41 ¹	36,07±1,87
CD4	23,19±3,41	29,26±3,14	27,21±3,12	39,33±3,76	27,81±2,31 ¹	42,07±1,76
CD8	24,00±1,78	23,73±3,86	22,34±1,78	32,17±3,76	21,54±2,71	23,87±3,54
CD25	22,98±2,81	24,70±4,01	21,13±2,45	29,58±3,64	18,19±3,61 ¹	31,35±2,89
CD16	21,18±3,11	26,06±3,60	20,23±1,67	20,86±3,72	18,88±2,45 ¹	34,30±3,78
HLA-DR	22,46±2,45	25,21±3,41	24,56±1,57	30,52±2,34	17,0±3,85 ¹	38,12±3,56
CD18	21,79±2,71	17,70±3,11	22,34±2,35	19,40±2,66	20,87±2,02 ¹	41,54±3,08
CD11b	21,42±2,91	13,41±2,71	19,98±1,75	23,86±4,98	15,89±1,92 ¹	34,43±2,87

имели неоднозначный характер, причем в мокроте число популяций, подвергшихся колебаниям, было максимальным: зафиксировано достоверное снижение численности клеток в шести субпопуляциях: CD11b⁺, CD18⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD25⁺, HLA-DR⁺. В то же время в СОКБ не наблюдалось изменений рецепторной активности ни одной из популяций клеток. По-видимому, в процессе воспаления происходит рекрутирование иммунных клеток из периферической крови. По данным ряда авторов, на фоне бактериальной агрессии у больных пневмонией формируется супрессия иммунного ответа, особенно выраженная в остром периоде. Снижаются количество и функциональная активность клеток-индукторов/хелперов, сохраняются или повышаются содержание и функциональная активность киллеров/цитотоксических клеток, регистрируется уменьшение числа ранних Т-клеток [8, 10].

Снижение в ИМ численности клеток ряда субпопуляций, возможно, обусловлено их миграцией в центральные органы иммуногенеза и/или рекрутизацией в респираторные отделы легких, где происходит презентация антигена, их дифференцировка и дальнейшее поступление в очаг воспаления клеток с уже измененным фенотипом. Следовательно, иммуномодулирующие препараты должны назначаться с учетом местных иммунных реакций, местом развития которых могут быть слизистые оболочки бронхального дерева и, согласно нашим исследованиям, в большей степени — ИМ. В период реконвалесценции и в отдаленные сроки после перенесенной пневмонии регистрировалось снижение рецепторной активности иммунных клеток в двух биологических средах: периферической крови и ИМ (табл. 2, 3). На 20-е сутки от начала заболевания в периферической крови больных достоверные изменения наблюдались только в отношении CD3⁺-субпопуляции: уровень этих клеток оставался ниже в 1,5 раза по сравнению с контролем. Количество CD4⁺- и CD8⁺-клеток имело тенденцию к снижению, но достоверно не отличалось от показателей в группе сравнения (табл. 2). В отдаленные сроки заболевания (через 6 месяцев) в периферической крови было достоверно ниже содержание лимфоцитов, маркированных антигенами CD3, CD4, CD8, CD25 и HLA-DR (табл. 3).

Изменения содержания иммунных клеток в ИМ в период реконвалесценции и в отдаленные сроки болезни выявлены в семи субпопуляциях (табл. 2, 3). При этом достоверно низкий уровень численности клеток регистрировался в субпопуляциях CD4⁺, CD25⁺, CD16⁺, CD22⁺, CD11b⁺, CD18⁺, HLA-DR⁺. В эти периоды заболевания число CD4⁺-клеток оставалось в 1,5 и 2 раза ниже по отношению к контрольной группе. Наряду с уменьшением количества CD4⁺-клеток происходило снижение содержания иммунных клеток, несущих HLA-DR⁺-рецепторы, — в 2,2 и 1,7 раза ниже контрольных значений (табл. 2, 3). В отличие от CD4⁺, антиген HLA-DR⁺ является поздним активационным маркером. Его низкая экспрессия в ИМ у больных ВП в период реконвалесценции и в отдаленные сроки болезни может быть следствием нарушения в системе памяти лимфоцитов, которая необходима для формирования быстрого ответа при повторном воздействии соответствующего антигена.

Количество иммунных клеток, экспрессирующих на своей мембране второй маркер поздней стадии активации — CD25, также оставалось в 1,7 и 1,4 раза ниже, чем в контроле (табл. 2, 3). Детерминант CD25 является рецептором для интерлейкина-2, участвующего в стимуляции пролиферации лимфоцитов, и снижение его экспрессии в ИМ в период реконвалесценции связано с супрессией локального иммунного ответа.

В период реконвалесценции регистрировалось достоверное снижение (примерно в 2 раза) содержания CD11b⁺- и CD18⁺-клеток. В отдаленные сроки после перенесенной пневмонии численность этих элементов продолжала оставаться низкой. Аналогичные изменения наблюдались в популяции клеток с фенотипом CD16⁺ (табл. 3). Характер распределения иммунных клеток в СОКБ в период реконвалесценции имел тот же диапазон, что и в остром периоде заболевания и достоверно не отличался от показателей в группе сравнения. Однако в отдаленные сроки результаты нашего исследования впервые продемонстрировали повышение в 1,7 раза числа CD11b⁺-клеток в СОКБ (табл. 3). Между тем достоверных отличий между показателями в различных биологических средах как в период реконвалесценции, так и в отдаленные сроки после ВП мы не наблюдали.

Таблица 3

Сравнительная характеристика показателей системного и местного иммунитета у больных ВП в отдаленные сроки, %

Рецептор	Слизистая оболочка		Периферическая кровь		Мокрота	
	пневмония	контроль	пневмония	контроль	пневмония	контроль
CD3	28,11±3,81	33,55±4,21	27,68±1,34 ¹	50,06±4,21	27,67±1,43	36,57±2,35
CD22	21,34±3,34	24,53±3,51	19,00±2,33	27,67±3,15	19,0±2,23 ¹	36,07±1,87
CD4	28,87±4,12	29,26±3,14	21,65±2,00 ¹	39,33±3,76	20,97±3,51 ¹	42,07±1,76
CD8	24,22±1,54	23,73±3,86	20,97±3,50 ¹	32,17±3,76	17,76±2,74	23,87±3,54
CD25	19,23±1,88	24,70±4,01	17,75±2,71 ¹	29,58±3,64	23,12±1,76 ¹	31,35±2,89
CD16	22,00±3,31	26,06±3,60	23,11±3,72	20,86±3,72	15,91±2,54 ¹	34,32±3,78
HLA-DR	21,23±1,35	25,21±3,41	15,98±3,51 ¹	30,52±2,34	22,14±2,75 ¹	38,12±3,56
CD18	22,77±2,72	17,70±3,11	22,19±2,73	19,40±2,66	18,78±1,87 ¹	41,54±3,08
CD11b	22,86±2,50 ¹	13,41±2,71	18,78±1,87	23,86±4,98	21,22±2,31 ¹	34,43±2,87

Выводы

1. Системный и локальный иммунный ответ в острый период ВП характеризуется развитием вторичной иммунной недостаточности. При этом снижается рецепторная активность клеток CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD25⁺ в периферической крови и клеток CD11b⁺, CD18⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD25⁺, HLA-DR⁺ в ИМ.

2. В различные периоды ВП характер распределения клеток лимфоидного ряда в периферической крови, ИМ и СОКБ не имеет достоверных отличий.

3. Различия рецепторной активности клеток периферической крови в период реконвалесценции регистрируются только в CD3⁺-популяции, тогда как в отдаленные сроки заболевания низкая численность иммуноцитов наблюдается в CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-, CD25⁺- и HLA-DR⁺-популяциях.

4. Содержание иммуноцитов CD4⁺, CD25⁺, CD16⁺, CD22⁺, CD11b⁺, CD18⁺ и HLA-DR⁺ у больных ВП на 20-е сутки и через 6 мес. от начала заболевания в ИМ не достигает контрольных значений.

5. Состояние рецепторного аппарата клеток СОКБ на всех этапах заболевания достоверно не отличается от показателей здоровых лиц за исключением числа CD11b⁺-иммуноцитов, регистрируемых в отдаленные сроки после перенесенной ВП.

6. Исследование ИМ при ВП является высокоинформативным, неинвазивным и доступным методом оценки местного иммунного статуса пациентов.

Литература

1. Боровская Т.Ф., Курпас Э.Х., Гориславец С.Н. и др. Динамика иммунного ответа слизистой оболочки долевого бронха у больных пневмонией // Пульмонология. 2003. № 4. С. 22–25.
2. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов Ф.В. Иммунология и аллергология. М.: Практическая медицина, 2006. 288 с.
3. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Иммунология. 2002. № 2. С. 77–79.
4. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии. Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2003. 272 с.
5. Синопольников А.И., Козлов Р.С. Внебольничные инфекции дыхательных путей. М.: Премьер МТ; Наш Город, 2007. 352 с.
6. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. Т. III–IV. СПб.: Наука, 2001. 267 с.
7. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Климин В.Г., Лебедева Е.В. Иммунофизиология. Екатеринбург: УрО РАН, 2002. 257 с.

8. Ярилин А.А. Контактные межклеточные взаимодействия при иммунном ответе // Иммунология. — 1999. № 1–2. С. 37–46.
9. Dear K., Holden J., Andrews R., Tatham D. Vaccines for preventing pneumococcal infection in adults // Cochrane Database Syst. Rev. 2003. Vol. 4. CD-ROM 000422.
10. Ferreira C., Barthold T., Garcia S. et al. Differential survival CD4 and CD8 T-cells // Ibid. 2000. Vol. 165. P. 3689–3694.
11. Frasca L., Piazza C., Piccolella E. CD4⁺ T-cells orchestrate both amplification and deletion of CD8⁺ T-cells // Crit. Rev. Immunol. 1998. Vol. 18. P. 569–594.
12. Mason C.M., Weinacker A.B., Shellito J.E. Host defence networks in the lung: an overview // Respiratory infections / Niederman M.S., Sarosi G.A., Glassroth J. eds. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 2001. P. 3–12.
13. Meiso T., Venge P., Haahitela T. et al. Cell specific markers for eosinophils and neutrophils in sputum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with respiratory conditions and healthy subjects // Thorax. 2002. Vol. 57, No. 5. P. 449–451.

Поступила в редакцию 04.06.2008.

LOCAL AND SYSTEM IMMUNE RESPONSE IN CASE OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN YOUNG PATIENTS

V.A. Nevzorova, T.F. Borovskaya, T.B. Dmitrieva, L.D. Skrebkova, S.A. Pazyich
Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia), Khabarovsk branch of RORC named after N.N. Blokhin RAMS (164 Voronezhskoe Shosse Khabarovsk 680042 Russia), Yuzhno-Sakhalinsk Municipal Hospital named after F.S. Ankudinov (1 Ankudinov Av. Yuzhno-Sakhalinsk 693000 Russia)

Summary — The examinations of 216 patients with community-acquired pneumonia allowed estimating receptor activity of immunocytes contained in peripheral blood, induced sputum and mucous tunic of large bronchi. Homogenous antibodies were used for cell differentiation. The acute phase of the disease led to a decreasing number of cells CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD25⁺ contained in peripheral blood. There was a decreasing number of cells CD11b⁺, CD18⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD25⁺, and HLA-DR⁺ found in induced sputum. The recovery period was characterized by decreasing number of cells CD3⁺ contained in blood. Low number of immunocytes was observed in populations CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD25⁺ and HLA-DR⁺ during the follow-up period. The quantity of cells CD4⁺, CD25⁺, CD16⁺, CD22⁺, CD11b⁺, CD18⁺ and HLA-DR⁺ found in the induced sputum after 20-day and 6-month periods did not reach control values. The follow-up period was characterized by increasing values of CD11b⁺-cells found in mucous tunic of large bronchi. No reliable differences were observed between the indices of various biological environments.

Key words: pneumonia, immunocytes, sputum, blood.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 106–109.