

Функциональная активность $\gamma\delta$ T-клеток при atopическом дерматите

Чурина Е.Г., Климов В.В.

Functional activity of $\gamma\delta$ T-cells in atopic dermatitis

Chourina Ye.G., Klimov V.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Чурина Е.Г., Климов В.В.

Изучалась функциональная активность $\gamma\delta$ T-клеток при atopическом дерматите (АтД) в зависимости от стадии заболевания и характера сопутствующей патологии. Обследовано 86 пациентов (54 женщины и 32 мужчины) в возрасте от 17 до 50 лет. При АтД у пациентов отмечается недостаточность клеточного иммунитета. Наиболее выраженные изменения выявлены со стороны $\gamma\delta$ T-клеток, содержание которых увеличивалось у пациентов с АтД в фазе ремиссии и возрастало в 2 раза по сравнению с контрольными значениями в фазу обострения. При этом содержание CD8 $\alpha\alpha$ практически не изменялось, но отмечалось снижение CD8 $\alpha\beta$ -клеток и NK-клеток. Клинически это проявляется непрерывно рецидивирующим течением заболевания с высоким риском осложнений, с присоединением бактериальной и вирусной инфекций.

Ключевые слова: atopический дерматит, $\gamma\delta$ T-клетки.

Functional activity of $\gamma\delta$ T-cells in atopic dermatitis (AD) in dependence on the disease stage and concomitant pathology character was studied. We investigated 86 patients: 54 women and 32 men aged 17–50 years. AD patients revealed significant insufficiency of the cell immunity, the most marked of them being in $\gamma\delta$ T-cells. The level of CD8 $\alpha\alpha$ did not differ practically but number of CD8 $\alpha\beta$ -cells and NK-cells was decreased. Clinically, it manifested in continuously recurrent course of the disease with high risk of complications with joining bacterial and viral infections.

Key words: atopic dermatitis, $\gamma\delta$ T- cells.

УДК 616.5-056.3:612.017.1

Введение

Атопический дерматит (АтД) является наиболее распространенной формой аллергического поражения кожи и представляет собой генетически детерминированное аллергическое воспаление, в основе которого лежит IgE-зависимый механизм формирования, возрастная стадийность и склонность к хроническому рецидивирующему течению [1, 6]. За последние годы число больных АтД увеличилось в 2 раза, изменился его патоморфоз: отмечается более раннее (с 1–2-месячного возраста) появление первых признаков заболевания, более тяжелое течение с расширением площади поражения кожи, увеличение числа больных с тяжелым, непрерывно рецидивиру-

ющим течением, торпидным к традиционной терапии и приводящим к инвалидности [3].

Клинические проявления АтД многообразны и во многом определяются возрастом, в котором обнаружилось заболевание. АтД проходит в своем развитии стадии, которые могут быть разделены периодами ремиссии либо перетекать одна в другую. АтД в подростковом возрасте и у взрослых проявляется постоянными либо исчезающими и вновь появляющимися поражениями кожи лица и верхней части туловища с выраженной лихенизацией, сухостью и шелушением. Ведущими критериями АтД являются: зуд кожи, полиморфизм высыпаний, типичная локализация, наследственная предрасположенность, возрастная стадийность, неспецифическая гиперреактив-

ность кожи — склонность к сухости, раздражению, инфицированности [2, 8].

АтД характеризуется высоким содержанием общего сывороточного IgE и множественной сенсибилизацией к вызывающим atopический ответ аллергенам (бытовым, эпидермальным, грибковым, пыльцевым, пищевым) [4]. При АтД имеется нарушение T-клеточной регуляции с преобладанием ответа, опосредованного T-хелперами 2-го типа (Th-2), что, возможно, определяет наличие IgE-опосредованных реакций. Для АтД характерна высокая степень колонизации *Staph. aureus*; вирусная инфекция, обусловленная *Herpes simplex*, *Varicella*, вирусом бородавки и контактного моллюска, а также грибковая инфекция (дерматомикозы, обусловленные *Trichophyton*, высокий процент колонизации условно-патогенными грибами рода *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Rhizopus spp.*, *Spegazzinia tessartha*, *Pitirosporum ovale*) [2, 4, 7].

Этиология и иммунопатогенез АтД во многом остаются неясными. В настоящее время интенсивно изучается роль в патогенезе АтД различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток, нарушений в клеточно-опосредованном звене иммунитета, а также особенности функционирования системы естественной цитотоксичности при данной патологии. Система естественной цитотоксичности включает в себя: NK-клетки (natural killer) — большие гранулярные лимфоциты, которые составляют 15% от всех лимфоцитов и интерфероны (ИФН) α , β , γ [9].

К настоящему времени известны пять субпопуляций NK-клеток. Основные субпопуляции представлены: $CD16^{hi} - CD56^{lo}$ — NK-клетками, клетками-мишенями для которых являются клетки, инфицированные вирусами, собственные стареющие клетки организма, клетки трансплантата, опухолевые клетки; K-клетками, которые осуществляют антителозависимую клеточную цитотоксичность; ЛАК-клетками (лимфокинактивированные киллеры), которые специализируются в отношении апоптоза опухолевых клеток; $CD16^{lo} - CD56^{hi}$ — NK-клетками печени, клетками-мишенями для которых являются T-лимфоциты, сенсибилизированные к пище-

вым белкам; и наименее изученной на сегодняшний день субпопуляцией — $\gamma\delta$ T-клетками. $\gamma\delta$ T-Клетки экспрессируют на своей поверхности маркер $CD8\alpha\alpha$ и преимущественно локализуются на слизистых оболочках, в коже (10% в виде эпидермальных T-клеток), а также в периферической крови, где их количество у здоровых людей составляет, по данным разных авторов, от 2 до 5%. Основной функцией $\gamma\delta$ T-лимфоцитов является защита кожи и слизистых оболочек от оппортунистических инфекций вирусной и бактериальной этиологии (стафилококки, стрептококки, микобактерии, вирусы простого герпеса, цитомегаловирус, вирус Эпштейна–Барра, ВИЧ и др.).

На основании изложенного целью работы было изучение функциональной активности $\gamma\delta$ T-клеток при atopическом дерматите в зависимости от стадии заболевания и характера сопутствующей патологии.

Материал и методы

Обследовано 86 пациентов (54 женщины и 32 мужчины) в возрасте от 17 до 50 лет. Пациенты были распределены на шесть групп. Первые две группы составляли пациенты с АтД в стадии ремиссии и в стадии обострения (12 и 27 человек соответственно). Еще две группы составили пациенты, страдающие АтД, осложненным грибковой инфекцией (10 человек) и фурункулезом (9 больных). Дополнительно были обследованы две группы сравнения, в которые вошли пациенты, страдающие герпетической инфекцией и псевдоаллергической крапивницей — 20 и 8 человек соответственно. Основным критерием включения пациентов в группы была верификация диагноза, формы и стадии заболевания по МКБ-10 и по шкале SCORAD (Scoring of Atopic Dermatitis), предусматривающей балльную оценку шести объективных и субъективных симптомов. Критериями исключения пациентов из исследования были: наличие сопутствующих заболеваний, наличие острых инфекционных заболеваний в течение последних 3 мес.

Для обследования привлекалась контрольная группа из 15 здоровых доноров. Критерии исключения из контрольной группы были следующие: наличие аллергических заболеваний в анамнезе,

наличие кожных заболеваний, наличие острых инфекционных заболеваний в течение последних 3 мес.

Субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивался методом непрямой флюоресценции с использованием моноклональных антител к CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺ и C72⁺-лимфоцитам. Использовались моноклональные антитела фирмы «Сорбент» (г. Москва). Для определения субпопуляций $\gamma\delta$ T-клеток и CD8 $\alpha\alpha$ -клеток использовались моноклональные антитела производства фирмы «Bioscience» (США).

Определение концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови выполнялось методом радиальной иммунодиффузии в агаре.

Статистическую обработку полученного материала проводили методами вариационной статистики с определением среднего арифметического значения \bar{X} и ошибки среднего m . Проверка гипотезы о нормальном распределении генеральной совокупности проводилась по значениям коэффициентов асимметрии A_s и эксцесса E_s . Поскольку рассчитанные значения коэффициентов асимметрии и эксцесса превосходили критические величины, приводимые в упомянутых таблицах для уровня значимости $\alpha = 0,05$, гипотеза о нормальности распределения была отвергнута. Проверку статистических гипотез о различии между группами проводили с использованием непараметрического U -критерия Манна–Уитни для попарно несвязанных выборок. Анализ данных проводился при помощи программы Statistica 5.5 for Windows фирмы «Statsoft».

Результаты и обсуждение

По результатам анализа иммуно-аллергологического анамнеза и клинической симптоматики у больных атопическим дерматитом отмечается отягощенная наследственность по атопическим заболеваниям (в 75% случаев), непрерывно рецидивирующий характер течения патологического процесса, преимущественно генерализованная форма поражения кожных покровов, сопутствующие заболевания желудочно-кишечного тракта (холецистит, гастрит, дисбактериоз кишечника).

На основе тестов первого и второго уровня была проведена верификация аномалий иммунитета в обследованных группах (таблица). У пациентов с АтД в период обострения выявлено достоверное снижение

($p < 0,05$) субпопуляций Т-лимфоцитов CD8 и CD16 по сравнению с контрольной группой и увеличение иммунорегуляторного коэффициента (ИРК) CD4/CD8. Различия в субпопуляции В-лимфоцитов (CD72) не оказались достоверными. Содержание иммуноглобулинов всех трех классов также достоверно не изменялось. В период ремиссии отмечено увеличение клеток CD72.

У пациентов с АтД, осложненным грибковой инфекцией и фурункулезом, отмечается активация гуморального звена иммунитета (увеличение CD72-клеток и IgG) на фоне угнетения Т-клеточно-го звена. В группах сравнения (у пациентов с герпетической инфекцией и псевдоаллергической крапивницей) не наблюдалось достоверных изменений со стороны изученных параметров.

В то же время наиболее выраженные изменения выявлены со стороны $\gamma\delta$ T-клеток, содержание которых увеличивалось у пациентов с АтД в фазе ремиссии и возрастало в 2 раза по сравнению с контрольными значениями в фазу обострения (таблица). При этом содержание CD8 $\alpha\alpha$ практически не изменялось, но отмечалось снижение CD8 $\alpha\beta$ -клеток и NK-клеток.

При АтД, осложненном грибковой инфекцией, содержание CD8 $\alpha\alpha$ и $\gamma\delta$ T-клеток достоверно уменьшалось, количество CD8 $\alpha\beta$ -клеток и NK-клеток при этом, напротив, увеличивалось. На фоне АтД, осложненного фурункулезом, названные показатели не изменялись по сравнению с пациентами с АтД в фазе ремиссии.

Характеристика иммунного статуса пациентов

Показатель	Группа пациентов						
	Контрольная (n = 15)	Атопический дерматит				Герпетическая инфекция (n = 20)	Псевдоаллергическая крапивница (n = 8)
стадия ремиссии (n = 12)		стадия обострения (n = 27)	осложненный грибковой инфекцией (n = 10)	осложненный фурункулезом (n = 9)			
CD8 $\alpha\alpha$, %	7,86 ± 1,22	7,67 ± 2,15	6,57 ± 0,97	2,78 ± 0,58*	7,67 ± 2,18	6,62 ± 0,93	9,00 ± 2,76*
$\gamma\delta$ T, %	1,07 ± 0,18	1,23 ± 0,33	2,19 ± 0,48*	0,51 ± 0,10*	1,27 ± 0,28	0,88 ± 0,16*	4,43 ± 1,46*
Лейкоциты, %	5,51 ± 0,39	5,46 ± 0,36	7,28 ± 0,33*	5,70 ± 0,63	6,37 ± 0,37*	5,94 ± 0,29	6,34 ± 0,66
Лимфоциты, %	41,87 ± 2,26	45,42 ± 2,36*	41,38 ± 1,87	38,80 ± 3,18	43,11 ± 1,75	44,15 ± 1,48	40,00 ± 3,31
CD3, %	68,13 ± 1,83	65,25 ± 2,52	64,19 ± 1,90	70,20 ± 1,74	66,56 ± 3,70	66,15 ± 2,06	69,38 ± 2,88
CD4, %	44,60 ± 2,15	43,92 ± 2,36	45,48 ± 1,78	47,40 ± 1,93*	46,67 ± 3,62	44,50 ± 2,12	47,63 ± 3,14
CD8, %	22,20 ± 1,28	17,83 ± 2,02*	17,22 ± 1,53*	22,60 ± 1,74	18,00 ± 1,33*	20,25 ± 1,36	20,75 ± 2,21
CD16, %	7,50 ± 1,15	4,67 ± 1,16*	4,33 ± 0,72*	5,60 ± 0,95*	5,00 ± 1,35*	5,72 ± 1,16*	10,00 ± 1,79*
CD72, %	6,80 ± 0,80	9,83 ± 1,88*	7,19 ± 0,71	11,20 ± 1,43*	6,94 ± 1,00	5,85 ± 0,82	5,75 ± 1,66
IgM, г/л	1,35 ± 0,12	2,02 ± 0,34*	1,30 ± 0,10	0,85 ± 0,08*	1,30 ± 0,21	1,39 ± 0,07	1,40 ± 0,34
IgG, г/л	12,39 ± 0,69	11,80 ± 1,04	12,60 ± 0,53	14,34 ± 0,86*	14,24 ± 1,34*	11,40 ± 0,76	12,00 ± 1,25
IgA, г/л	1,80 ± 0,16	1,98 ± 0,27	1,81 ± 0,19	2,20 ± 0,19*	1,76 ± 0,14	1,63 ± 0,15	1,78 ± 0,29

Примечание. n – количество пациентов; * – достоверность различий с контрольной группой ($p < 0,05$).

В первой группе сравнения (у пациентов с герпетической инфекцией) – содержание CD8 $\alpha\alpha$ - и $\gamma\delta$ T-клеток достоверно уменьшалось, количество CD8 $\alpha\beta$ -клеток и NK-клеток при этом, напротив, увеличивалось. Во второй группе сравнения (у пациентов с рецидивирующей псевдоаллергической крапивницей) все названные показатели достоверно увеличивались.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при АтД у пациентов отмечается значительный дисбаланс клеточного иммунитета, его естественного и специфического звеньев. Наиболее выраженные изменения выявлены со стороны $\gamma\delta$ T-клеток, содержание которых увеличивалось у пациентов с АтД в фазе ремиссии и возрастало в 2 раза по сравнению с контрольными значениями в фазу обострения. При этом содержание CD8 $\alpha\alpha$ практически не изменялось, но отмечалось сниже-

ние CD8 $\alpha\beta$ -клеток и NK-клеток. Клинически это проявлялось непрерывно рецидивирующим течением заболевания с высоким риском осложнений, с присоединением бактериальной и вирусной инфекций. В период клинической ремиссии у больных сохранялся выраженный дисбаланс между иммунорегуляторными субпопуляциями. На фоне присоединения инфекционных осложнений существенно модифицировалось состояние иммунитета, что могло влиять на характер клинического течения основного заболевания.

Литература

1. Ласица О.И. Современные подходы к диагностике и лечению атопического дерматита у детей // Журн. практич. врача. 2001. № 5. С. 31–37.
2. Ласица О.И., Бережной В.В. Атопический дерматит у детей. Современные подходы к диагностике и лечению: Практическое руководство в таблицах и схемах. К., 2001. 25 с.
3. Лыкова Е.А., Мурашова А.О., Бондаренко В.М. и др. Нарушения микрофлоры кишечника и иммунитета у детей с аллергическими дерматитами и их коррекция // Рос. педиатр. журн. 2000. № 2. С. 20–24.
4. Сергеев Ю.В., Караулов А.В., Сергеев А.Ю., Новиков П.Д. Атопический дерматит: новые подходы к профилактике и наружной терапии // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2003. № 2. С. 57–64.
5. Ярилина Л.Г., Феденко Е.С., Латышева Т.В. Этиология и патогенез атопического дерматита // *Materia-Medica*. 2000. № 1 (25). С. 3–18.
6. Kalliomaki M., Salminen S., Arvilommi H. et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial // *Lancet*. 2001. 357: 9262. P. 1076–1079.
7. Shach U., Walker W.A. Adverse host responses to bacterial toxins in human infants // *J. Nutr.* 2000. № 130(2). P. 420–425.
8. Strickland Y., Hauk P.Y., Trumble A. et al. Evidence for superantigen involvement in skin homing of T cells in atopic dermatitis // *J. Invest. Dermatol.* 1999. № 112(2). P. 249–53.
9. Terui T., Makino Y., Hashimoto A., Tagami H. Learning from fungus allergy in atopic dermatitis patients // *Nippon Ichinkin Gakkai Zasshi*. 2000. № 41(3). P. 157–60.

Поступила в редакцию 24.12.2005 г.