

На правах рукописи

Пустынникова Светлана Владимировна

**КЛИНИКО–ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
И ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ
ПРИ СТРЕПТОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ**

14.00.09 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург - 2008

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» на базе Муниципального учреждения Детская городская клиническая больница № 9, г. Екатеринбург.

Научный руководитель

Заслуженный деятель РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Фомин Виталий Васильевич

Официальные оппоненты

доктор медицинских наук, профессор

Санникова Наталья Евгеньевна

кандидат медицинских наук

Савинова Татьяна Леонидовна

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Челябинск

Защита диссертации состоится «___» _____ 2008 г. в ___ часов на заседании совета по защите докторских диссертаций Д.208.102.02, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, а с авторефератом - на сайте академии www.usma.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Гришина И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Среди воздушно-капельных бактериальных инфекций стрептококковые заболевания занимают ведущее положение. Клинические варианты стрептококковых инфекций многообразны, но среди детей дошкольного возраста, реже - младшего школьного, преобладает скарлатина, заболеваемость которой составляет 36,3-36,5 на 10 тыс. детского населения по г. Екатеринбург и не отличается от среднереспубликанских значений.

В 70-е г.г. прошлого столетия была высказано предположение, что скарлатина, ангина, гнойные заболевания кожи и подкожной клетчатки, вызываемые β -гемолитическим стрептококком, *Str. pyogenes*, являются единой нозологической формой, которая имеет этиологическое и эпидемиологическое единство.

Стрептококковую инфекцию, ее различные клинические варианты объединяет единство этиологии и эпидемиологии, что позволяет высказать предположение о соединении их в единую нозологическую форму: стрептококкоз.

Однако среди стрептококковой инфекции скарлатина занимает особое положение. При ней сохраняется стойкий иммунитет, повторные случаи скарлатины являются исключением из правил, для нее характерно циклическое течение с развитием токсической, инфекционной (септической) и аллергической стадий болезни. Причиной начальных клинических проявлений (сыпи, токсико́за, лихорадки) является эритрогенный токсин. Все вышеперечисленное не характерно для других форм стрептококковой инфекции.

За последние 40 лет при скарлатине стали редко возникать бактериальные и аллергические осложнения, что, возможно, связано с благоприятным влиянием антибактериальной терапии или с преобладанием циркуляции слаботоксигенного штамма *Str. pyogenes*, вызывающего легкую или среднетяжелую форму болезни, или, возможно, обусловлено иммунологической перестройкой макроорганизма, теоретические данные о которой достаточно противоречивы. Все выше перечисленное и послужило основанием для проведения клинко-иммунологического комплексного исследования детей со стрептококковой инфекцией.

Цель исследования: выявление особенностей фагоцитарного, гуморального и клеточного звеньев иммунитета в динамике острого периода скарлатины, рожистого воспаления, гнойных заболеваний подкожной клетчатки и клинко-иммунологическая оценка иммунокорректора - препарата «Ликопид».

Задачи исследования:

1. Изучить клинку скарлатины, рожистого воспаления и гнойных заболеваний подкожной клетчатки и лимфоузлов в зависимости от формы тяжести болезни.

2. Оценить состояние фагоцитарного, гуморального и клеточного звеньев иммунитета при скарлатине, рожистом воспалении и гнойных заболеваниях подкожной клетчатки и лимфоузлов.

3. Выявить частные и общие закономерности иммунной перестройки при перечисленных заболеваниях и уточнить основные адаптивно-компенсаторные иммунологические реакции при них.

4. Изучить клинико-иммунологическое влияние препарата «Ликопид» при скарлатине и рожистом воспалении.

Научная новизна исследования. Было установлено, что скарлатина в отличие от других стрептококковых заболеваний, несмотря на один и тот же возбудитель – β -гемолитический стрептококк – скарлатина диаметрально противоположна по иммунологической перестройке, для нее характерна, по сравнению с рожистым воспалением, иммуносупрессия с развитием СД3-, СД4-, СД8-, СД16-лимфопении при высоких показателях субпопуляции СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины ИЛ4, ФНО α , ИЛ2, ИФ γ .

Для рожистого воспаления характерны высокие показатели Т-клеточного звена при низкой численности субпопуляций СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ФНО α , ИФ γ). Общей закономерностью инфекционного процесса при стрептококковой инфекции является изменение соотношений ИФ γ и ИЛ4 с преобладанием Th2-цитокинового профиля в остром периоде и высоким показателем ЦИК.

Практическая значимость работы. Результаты исследования позволили оценить состояние фагоцитарного, гуморального и клеточного звеньев иммунитета при стрептококковых инфекциях у детей и определить показания к назначению ликопида, рациональность его применения при среднетяжелой форме скарлатины.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При скарлатине отмечаются транзиторная иммуносупрессия клеточного звена иммунитета и высокие показатели субпопуляций СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины ИЛ4, нормальные показатели фагоцитоза.

2. Для рожистого воспаления характерны высокие показатели Т-клеточного и фагоцитарного звеньев иммунитета, низкие субпопуляции СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ФНО α , ИЛ2, ИФ γ).

3. Установлено, что ликопид целесообразно применять при скарлатине и рожистом воспалении, так как он стимулирует повышение клеточного иммунитета.

4. Скарлатина диаметрально противоположна по иммунологическим показателям, отличается от рожистого воспаления и других стрептококковых заболеваний, несмотря на один и тот же возбудитель, и является исключением в группе стрептококковых инфекциях.

Апробация работы. Материалы диссертации: «Клинико-иммунологические характеристики скарлатины у детей» изложены в журнале «Иммунология Урала» г. Челябинск, 2003 г.; «Иммунологические особенности стрептококковой инфекции у детей» в материалах научно-практической конференции в 2004 г., г. Екатеринбург; «Клинико-иммунологические особенности и иммунокорректирующая терапия у детей» изд. «Медицинская иммунология» СПб, 2004 г.; «Иммунологические характеристики стрептококковой инфекции у детей» в материалах IV Российского конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской» г. Москва, 2005 г.; «Функциональное состояние фагоцитарного, гуморального, клеточного звеньев иммунитета при стрептококковой инфекции», Уральский медицинский журнал №3, 2007 г.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в работу МУ ДГКБ № 9 г. Екатеринбурга, а его материалы используются в учебном процессе кафедрой детских инфекционных болезней и клинической иммунологии УГМА.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 106 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 34 таблицами и 5 рисунками; состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, актов внедрения, списка литературы, включающего 127 отечественных и 49 иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Исследования проводились на базе МУ ДГКБ № 9 и Клинико-диагностического центра лабораторной диагностики болезней матери и ребенка.

Обследовано 66 больных со стрептококковой инфекцией, из них больных со скарлатиной – 44, с рожистым воспалением – 15, с флегмоной – 7. 22,7% составили дети от 1 года до 3 лет, 77,3% – после 3 лет.

Дизайн исследования



Иммунокорректирующая терапия ликолипидом проводилась у 50% наблюдаемых детей в возрасте от 3 до 7 лет со среднетяжелой формой скарлатины и рожистого воспаления. Гематологические и иммунологические обследования осуществлялись двукратно с интервалом 7–10 дней с определением ИФН γ , ФНО α , ИЛ2, ИЛ4. Иммунологические исследования проводились на базе Клинико-диагностического центра (лабораторной диагностики ВИЧ, инфекционной патологии и болезней матери и ребенка; главный врач, д.м.н., профессор Я. Б. Бейкин) на 2–4-й и 7–10-й день болезни. Параметры общего анализа крови регистрировались с помощью гематологического анализатора Cobas Micros 60 («ABX»). Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли с использованием моноклональных антител CD3-FITC/CD20-PE, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD16+56-PE («IO Test») методом проточной цитофлюорометрии на цитометре FACScan («Becton Dickinson»). Количество иммуноглобулинов классов M, G, A в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаровом геле, предложенным G. Mancini (1965). Содержание циркулирующих иммунных комплексов определяли методом преципитации их в 4% растворе ПЭГ-6000 по V. Haskova в модификации Ю. А. Гриневич (1981). Результаты оценивали в единицах экстинции с помощью спектрофотометрии на аппарате СФ-46. Определение уровня комплементарной активности сыворотки крови (СН50) проводили методом титрования по 50% гемолизу эритроцитов барана. Результаты выражали в условных единицах гемолитической активности. Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали при помощи спонтанного НСТ-теста.

Для оценки внутриклеточного синтеза цитокинов мононуклеары периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фиколлверографина (1,077 г/см³). Спонтанную продукцию ИЛ2, ИЛ4, ИФН γ и ФНО α Т-лимфоцитами оценивали по истечении 4 часов инкубации в присутствии брэфельдина А при 37°C, в атмосфере 5% CO₂. В качестве активатора для симуляции внутриклеточного синтеза использовали РМА («Sigma», 50 ng/ml) плюс иономицин («Sigma», 1 μ g/ml). Иммунофенотипирование проводили с использованием ФИТЦ-меченых анти-CD3-моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва) реконъюгированных анти-ИЛ2-, ИЛ4-, ИФН γ - и ФНО α -антител («Caltag»).

Для оценки внутриклеточного киллинга (бактерицидной активности лейкоцитов, завершенности фагоцитоза) использовался метод, разработанный в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии МЗ РФ. Лейкоциты выделяли в 3% растворе желатина в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). В опытную лунку вносили 90 мкл живых ФИТЦ-меченых бактерий (*St. Aureus* Cowan 1), 20 мкл ауто-сыворотки и 90 мкл лейкоцитов в концентрации 2 млн в 1 мл. Смесь инкубировали 20 мин при 37°C, лейкоциты осаждали в течение 1 мин при 200°C, 2 раза отмывали ФСБ от несвязавшихся бактерий, ресуспендировали в 200 мкл ФСБ и

инкубировали 1 час при 37°C. После остановки киллинга лейкоциты разрушали в течение 10 мин и ресуспендировали в 200 мкл ФСБ с 2,5 мкг пропидиум иодида («Sigma»), окрашивающего только убитые клетки. Через 30-40 мин пробы анализировали на проточном цитометре FACScan («Becton Dickinson»). Для оценки поглотительной активности (АФ) нейтрофилов и моноцитов использовался метод, разработанный в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии МЗ РФ. Лейкоциты выделяли в 3% растворе желатина в фосфатно-солевом буфере. В опытную лунку вносили 90 мкл живых ФИТЦ-меченых бактерий (*St. Aureus Cowan 1*), 20 мкл аутосыворотки и 90 мкл лейкоцитов в концентрации 2 млн в 1 мл. После 30-минутной инкубации при 37°C лейкоциты осаждали в течение 1 мин при 200°C, 2 раза отмывали ФСБ от несвязавшихся бактерий, ресуспендировали в 200 мкл ФСБ и вносили 5 мкл анти-CD14 (PE) моноклональных антител («Caltag») для оценки мембранной экспрессии CD14-рецептора на моноцитах. Инкубировали 15 мин при комнатной температуре, затем вносили 200 мкл лизирующего раствора FACSlysing («Becton Dickinson»), через 5-12 мин однократно отмывали 200 мкл ФСБ и ресуспендировали в 200 мкл раствора ФСБ. Анализ проб проводился на проточном цитометре FACScan («Becton Dickinson»). Оценивали процент клеток среди нейтрофилов и моноцитов, положительных по зеленой флюоресценции (поглотивших ФИТЦ-меченые бактерии).

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Office» и «Statistica 6.0». Использовали методы математической статистики: расчет средних величин, среднеквадратичных отклонений, коэффициентов парной корреляции. Достоверность различий средних значений между двумя выборками определяли по t-критерию Стьюдента и теста Манна-Уитни. Критический уровень статистической значимости (p) принимали равным 0,05. Коэффициент корреляции (r) использовался для определения наличия взаимосвязи между свойствами, силы связи между признаками в группах. В таблицах и рисунках, приведенных в диссертации, полученные значения показаны как $M \pm m$. Единицы измерений приведены в системе СИ.

В соответствии с поставленной целью было проведено клинко-иммунологическое исследование у 66 детей со стрептококковой инфекцией: из них со скарлатиной - 44 ребенка (основная группа), с рожистым воспалением – 15 и флегмоной – 7 (контрольные группы).

Оценка иммунологической перестройки проводилась у 10 детей в возрасте от 1 до 3 лет и у 44 детей в возрасте старше 3 лет. Иммунологическая перестройка при скарлатине у детей от 1 до 3 лет характеризуется в стартовых исследованиях нормальными показателями нейтрофильного фагоцитарного звена. В остром периоде у этой возрастной группы отмечалось понижение СД20, повышение JgM при нормальных значениях JgA и JgG, высокий показатель ЦИК. Клеточное звено иммунитета в остром периоде характеризуется СД3-, СД8-, СД16-лимфопенией.

В период реконвалесценции регистрировалось снижение НСТ-теста, что могло способствовать снижению бактериальной резистентности и возникновению бактериальных осложнений, показатели клеточного иммунитета оставались в норме. В период выздоровления оставались пониженными СД20, регистрировалось повышение JgM, сохранялись повышенные ЦИК. Для скарлатины этой возрастной группы характерна тенденция к супрессии Т-клеточного звена, преимущественно киллеров при нормальных показателях фагоцитарного звена и первичного иммунного ответа.

У больных старше 3 лет, по сравнению с ранним возрастом, в остром периоде отмечались более выраженный лейкоцитоз, гранулоцитоз, лимфопения, моноцитоз, повышение значений стимулированного НСТ-теста. В гуморальном звене у детей старше 3 лет при нормальных показателях В-лимфоцитов регистрировались высокие JgM и ЦИК. Кроме этого наблюдалась Т-лимфопения за счет клеток-киллеров (60%). В период реконвалесценции оставались нормальными JgA, JgG, при высоких JgM и ЦИК. В клеточном звене иммунитета в остром периоде отмечается СД3-, СД8-лимфопения. В период реконвалесценции показатели СД3-, СД4-, СД16-лимфоцитов соответствуют нормативным, увеличивается численность лимфоцитов, нормализуется НСТ-тест. Таким образом, нами установлено, что общей иммунологической закономерностью, независимо от возраста, является ранняя СД3- и СД8-лимфопения, возможно, возникающая под влиянием экстрацеллюлярных продуктов стрептококка.

У наблюдаемых нами детей легкая форма скарлатины отмечалась у 21 больного, среднетяжелая – у 14 и тяжелая форма – у 8.

Клиника легкой формы скарлатины характеризовалась наличием всех типичных симптомов, но выраженность их была стертой.

Температурная реакция держалась на субфебрильных цифрах в течение 3–4 суток. Инфекционная экзантема отмечалась с поступления больных в стационар, сыпь сохранялась 2–3 дня, ангина была катаральной, гипертрофия миндалин первой степени, пальпировались безболезненные подчелюстные лимфоузлы, без признаков периоденита.

Язык имел выраженную сосочковость. В первые 5 дней заболевания лишь у 30% детей преобладала симпатикотония и проявлялась повышением АД, тахикардией и белым дермографизмом, вагус-фаза не зарегистрирована. АД было нормальным.

Для легкой формы скарлатины характерны нормальные показатели лейкоцитов, гранулоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, киллинговая активность нейтрофилов была выше нормы. Регистрировались высокие показатели JgM, ЦИК и низкие показатели СД3-, СД8- и СД16-лимфоцитов (рис. 1).

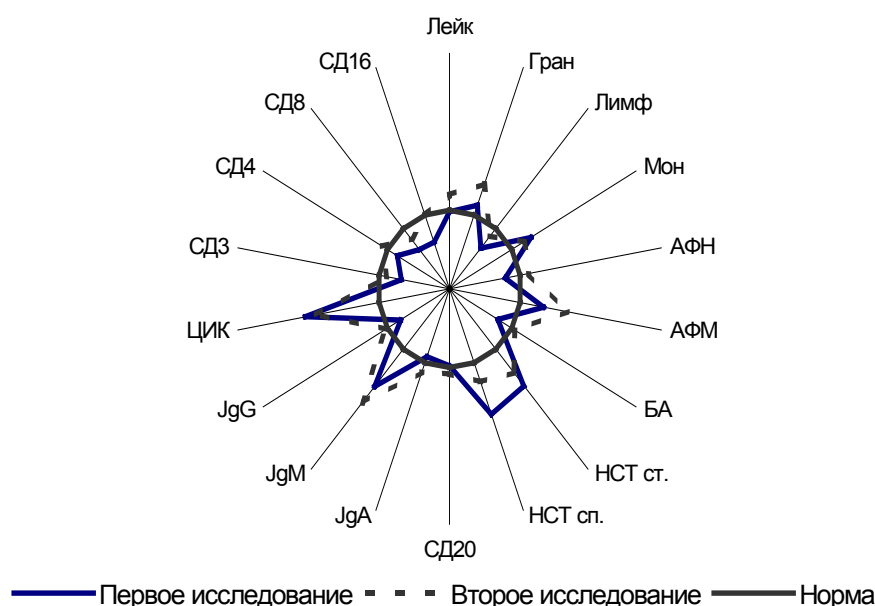


Рис. 1. Иммунологические показатели больных скарлатиной легкой формы

В остром периоде отмечается кооперация клеточного и гуморального звеньев иммунитета ($r = +0,74$, $p < 0,01$ между СД3- и СД20-лимфоцитами) и содружественная реакция гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета (JgM и АФн, $r = +0,59$, $p < 0,05$). Высокое содержание JgM соответствовало высоким показателям ЦИК, которые, уменьшая дозу антигена, способствовали нормализации гомеостаза, но и в то же время повышался риск возникновения иммуннокомплексных заболеваний (рис. 1).

В период реконвалесценции сохраняются высокие показатели JgM, ЦИК, показатели клеточного звена иммунитета достигали нормативных.

При среднетяжелой форме скарлатины симптомы интоксикации сохранялись до 5 дней на фоне лакунарной ангины, гипертрофии небных миндалин II-III степени, пальпировались болезненные подчелюстные лимфоузлы. Экзантема сохранялась до 4 дней. На 7-12-е сутки болезни появлялись пластинчатое шелушение пальцев кисти, сухость кожных покровов.

Во всех случаях в первые 5 дней преобладала симпатикотония с повышением АД, тахикардией, белым дермографизмом. В 25% случаев отмечалась транзиторная лейкоцитурия.

При среднетяжелой форме скарлатины гемограмма и фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов не отличались от нормативных показателей. В гуморальном звене иммунитета значения JgM и ЦИК были выше нормативных показателей. Значения Т-лимфоцитов и их субпопуляции были ниже нормативных.

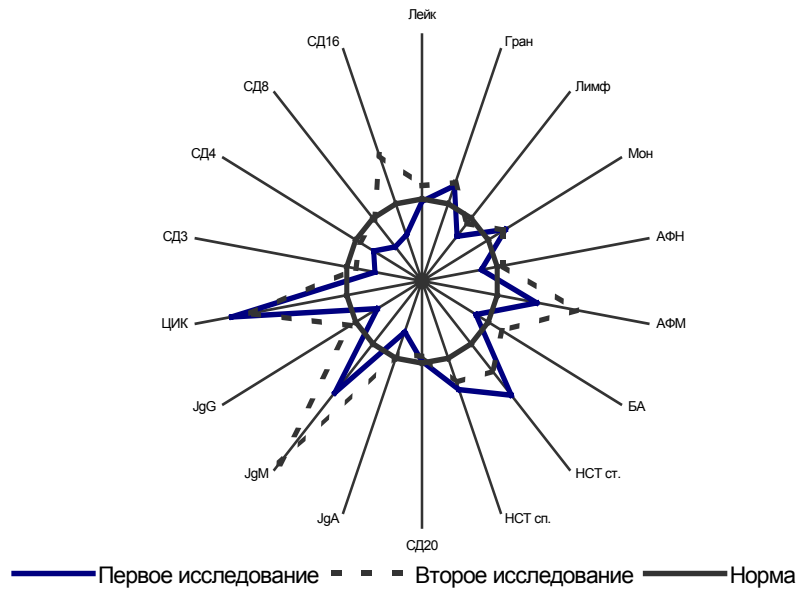


Рис. 2. Иммунологические показатели у детей со среднетяжелой формой скарлатины

При среднетяжелой форме скарлатины на 1-2-й день болезни отмечаются нормальные показатели фагоцитарной активности нейтрофилов, численность киллеров (СД8) и натуральных киллеров (СД16) была ниже нормативных ($p < 0,05$), содержание JgM и ЦИК было высоким ($p < 0,05$). Развитие легкой и среднетяжелой форм болезни определяли факторы со стороны микро- и макроорганизма. Высокое содержание JgM и ЦИК с первых дней болезни не позволяло исключить у заболевших предшествующую стадию иммунизации к стрептококку. Высокий антибактериальный иммунитет (JgM) и образующиеся ЦИК способствовали опсонизации патогена и его нейтрализации фагоцитами (рис. 2).

Циркулирующие иммунные комплексы, являясь универсальными стимуляторами фагоцитоза, позволили сохранять нормальную фагоцитарную активность нейтрофилов, что обеспечивало острое течение болезни и предупреждало развитие инфекционной стадии. В то же время постоянно сохраняющиеся высокие показатели ЦИК на фоне высоких показателей численности СД3-лимфоцитов, синтезирующих ФНО α , не исключают возможности риска развития аллергической стадии болезни.

В период реконвалесценции увеличилась фагоцитарная активность моноцитов и нейтрофилов, показатели клеточного звена соответствовали норме, при сохраняющихся высоких JgM и ЦИК. Изменения иммунограммы не отличались от таковых при легкой форме скарлатины.

При тяжелой форме скарлатины наблюдались лихорадочный период до 5 дней, выраженный токсикоз, чаще отмечались транзиторная лейкоцитурия, лимфаденит. В первые дни заболевания преобладали признаки симпатикотонии.

При тяжелой форме болезни наблюдались лейкоцитоз, нейтрофилез, высокие показатели фагоцитарной активности моноцитов и стимулированный НСТ-тест ($p < 0,05$). Численность лимфоцитов, моноцитов, фагоцитарная активность нейтрофилов были в пределах возрастной нормы. Все три класса иммуноглобулинов и ЦИК были выше нормы. Показатели клеточного звена не отличались от нормативных.

В период реконвалесценции сохранялись моноцитоз и высокая фагоцитарная активность моноцитов, повышенные значения JgM, JgG и ЦИК, низкие показатели цитотоксических лимфоцитов (СД8).

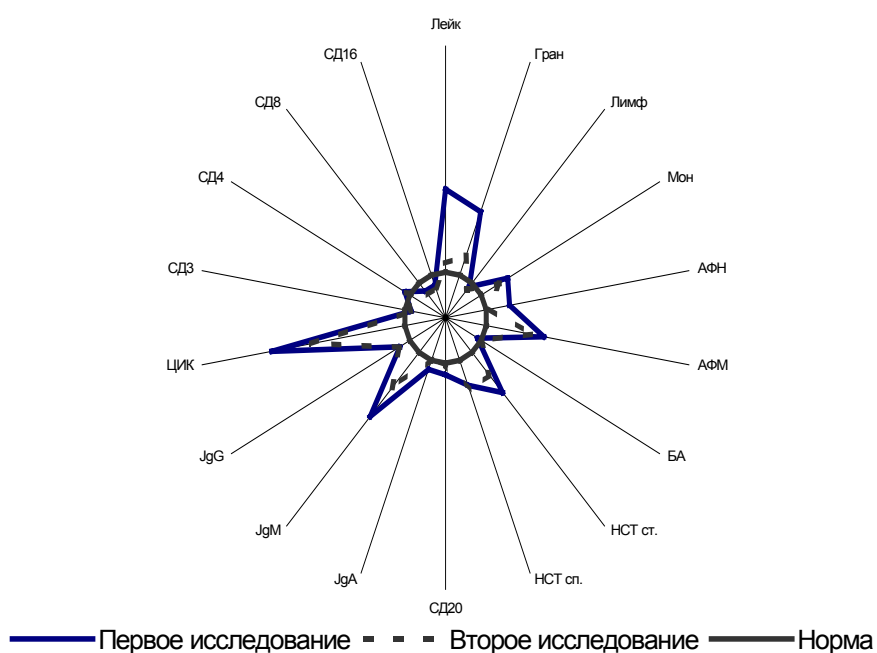


Рис. 3. Иммунологические показатели больных тяжелой формой скарлатины

Выявлены следующие иммунологические сдвиги при тяжелой форме скарлатины: лейкоцитоз, нейтрофилез, моноцитоз, высокая фагоцитарная активность моноцитов, увеличенное содержание ЦИК, высокие показатели JgM, JgG при нормальных показателях численности Т-клеток и их субпопуляций.

При тяжелой форме отмечалось отсутствие кооперации между СД3- и СД20-лимфоцитами. Выявлена прямая корреляция между нейтрофилами и ЦИК, АфМ, АСЛО; JgM и ЦИК; ЦИК и АфМ; АфМ и СД16; СД16 и СД8; СД3+ИФγ и СД3+ИЛ2 (рис. 3).

Считают, что основными факторами вирулентности при скарлатине являются белок клеточной стенки М-протеин, обеспечивающий резистентность стрептококка к фагоцитозу, и эритрогенный токсин, обладающий пирогенностью, иммуносупрессивностью и антигенностью.

Выявленные нами клинико-иммунологические данные не отражали супрессивного действия антигенов стрептококка на фагоцитарную активность моноцитов и на показатели гуморального иммунитета.

При скарлатине в остром периоде отмечали нормальные или высокие показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, высокие показатели гуморального иммунитета (JgM, ЦИК), а СДЗ-лимфопения компенсируется высокой численностью субпопуляций СДЗ-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины: ФНО α , активирующий макрофаги и гранулоциты; ИЛ2, активирующий Th1; ИЛ4, стимулирующий синтез JgE и JgG.

Не исключается, что при тяжелой форме скарлатины, как и при легкой форме, эритрогенный токсин, как суперантиген, в начальном периоде болезни активирует иммунокомпетентные клетки, которые экспрессируют огромное количество цитокинов, не только способствующих формированию иммунитета, но и приводящих к нарушению гомеостаза макроорганизма (ФНО α , ИФН γ).

Можно допустить, что действие иммунокомпетентных клеток происходит за счет контактных клеточных реакций, когда факторы, несущие информацию (цитокины), не секретируются во внешнюю среду, а остаются связанными с наружной поверхностью клетки. Они представляются клеткам мишенями, путем воздействия на их поверхностные рецепторы только при непосредственном межклеточном контакте (см. табл. 1, 2, 3).

Таблица 1

Фагоцитарное звено иммунитета при среднетяжелой форме скарлатины и рожистого воспаления у детей старше 3 лет

Показатели фагоцитарного звена иммунитета	Скарлатина M \pm m, n=14		Рожистое воспаление M \pm m, n=15		Норма
	первое исследование	второе исследование	первое исследование	второе исследование	
Лейкоциты	6,8 \pm 0,43**	9,48 \pm 0,76*	10,8 \pm 0,86*	8,16 \pm 0,56	7,0 \pm 0,2
Гранулоциты	4,2 \pm 0,47**	5,18 \pm 0,79*	9,1 \pm 1,5*	4,16 \pm 0,42	3,4 \pm 0,2
Моноциты	0,44 \pm 0,04	0,62 \pm 0,05*	0,5 \pm 0,06*	0,55 \pm 0,06*	0,35 \pm 0,03
Афнейтрофилы	2,8 \pm 0,31	4,55 \pm 0,66	4,4 \pm 0,97	3,67 \pm 0,28	3,5 \pm 0,4
Афмоноциты	0,32 \pm 0,02*	0,52 \pm 0,04*	0,39 \pm 0,03*	0,39 \pm 0,04*	0,21 \pm 0,04
НСТ спон.	25,29 \pm 3,93*,**	14,38 \pm 2,37	15,3 \pm 3,0	13,14 \pm 0,97	10,1 \pm 1,3
НСТ стим.	32,33 \pm 2,27*	24,38 \pm 3,84	28,43 \pm 1,96*	23,14 \pm 1,95	18,3 \pm 4,3

Примечание: * - p<0,05 при сравнении с нормой;

** - p<0,05 при сравнении скарлатины с рожистым воспалением.

Таблица 2

Клеточное звено иммунитета при среднетяжелой форме скарлатины и рожистом воспалении у детей старше 3 лет

Показатели клеточного звена иммунитета	Скарлатина M±m n=14		Рожистое воспаление M±m n=15		Норма
	Первое исследование	Второе исследован.	Первое исследование	Второе исследование	
Лимфоциты	2,63±0,41*	3,68±0,25	2,84±0,2*	3,46±0,19	3,65±0,12
CD3	1,56±0,09*,**	2,63±0,17	2,7±0,18	2,49±0,1	2,57±0,08
CD4	0,87±0,07*	1,46±0,12*	0,5±0,22*	1,32±0,09	1,19±0,04
CD8	0,49±0,03*,**	0,98±0,08	0,88±0,08	1,02±0,08	0,9±0,03
CD16	0,18±0,04*	0,35±0,05	0,37±0,09	0,35±0,04	0,3±0,02
CD3 ⁺ /ИФНγ ⁺ спон.	0,04±0,007*,**	0,08±0,02*	0,01±0,002*	0,2±0,07*	0,028±0,003
CD3 ⁺ /ИФНγ ⁺ стим.	0,27±0,04*	0,55±0,08	0,12±0,02*	0,59±0,10	0,52±0,04
CD3 ⁺ /ФНОα ⁺ спон.	0,10±0,02*,**	0,1±0,02*	0,038±0,009	0,13±0,017*	0,03±0,004
CD3 ⁺ /ФНОα ⁺ стим.	0,98±0,15*,**	0,71±0,09	0,45±0,12	0,75±0,13	0,62±0,04
CD3 ⁺ /ИЛ2 ⁺ спон.	0,05±0,01*,**	0,08±0,01*	0,026±0,006	0,07±0,007*	0,028±0,004
CD3 ⁺ /ИЛ2 ⁺ стим.	0,42±0,08**	0,32±0,05*	0,15±0,04*	0,35±0,09	0,47±0,004
CD3 ⁺ /ИЛ4 ⁺ спон.	0,124±0,001***	0,11±0,02*	0,05±0,007*	0,09±0,006*	0,016±0,003
CD3 ⁺ /ИЛ4 ⁺ стим.	0,245±0,004*,**	0,12±0,002*	0,06±0,008*	0,12±0,02*	0,039±0,006

Примечание: * - p<0,05 при сравнении с нормой;

** - p< 0,05 при сравнении скарлатины с рожистым воспалением

Таблица 3

Гуморальное звено иммунитета при среднетяжелой форме скарлатины и рожистом воспалении у детей старше 3 лет

Показатели гуморального звена иммунитета	Скарлатина M±m, n=14		Рожистое воспаление M±m, n=15		Норма
	первое исследование	второе исследование	первое исследование	второе исследование	
Лимфоциты	2,6±0,4	3,68±0,25*	2,84±0,2	3,46±0,19*	2,9±0,12
CD20	0,48±0,05**	0,63±0,06*	0,88±0,07*	0,49±0,06	0,49±0,03
IgA	0,73±0,08*	1,14±0,17	0,82±0,21	1,2±0,12	1,1±0,05
IgM	1,6±0,18*	1,84±0,18*	0,96±0,24	2,33±0,74	0,9±0,07
IgG	6,4±0,52*,**	11,91±1,52	9,6±1,1	11,91±0,75*	9,5±0,27
ЦИК	79,0±7,8*	103,38±14,54*	79,6±6,1*	54,71±5,67*	31,3±3,4

Примечание: * - p<0,05 при сравнении с нормой;

** - p< 0,05 при сравнении скарлатины с рожистым воспалением.

Симптомокомплекс эритематозной формы рожистого воспаления при среднетяжелой форме у детей от 3 до 7 лет выражался в общетоксических проявлениях, лихорадке в течение 3-5 суток, местным статусом, включающим отек, гиперемию, болезненность пораженного участка с последующим его шелушением и длительной пигментацией. Местные проявления сохранялись до 5 суток.

В остром периоде при рожистом воспалении наблюдались лейкоцитоз, нейтрофилез при нормальных показателях фагоцитарной активности нейтрофилов и высокой киллерной активности, на 10–12-й день болезни нарастала численность моноцитов.

Функциональное состояние гуморального иммунитета в остром периоде болезни - показатели JgM не отличались от нормативных, ЦИК был высоким. Численность СД3-лимфоцитов, цитотоксических и натуральных киллеров соответствовала нормативной. СД4-лимфоциты были повышены. Субпопуляция СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ИФН γ , ФНО α) соответствовали нормативным. СД3-лимфоциты, синтезирующие ИЛ4, были повышены и после стимуляции не достигали нормативных показателей (рис. 4).

В период реконвалесценции численность субпопуляций СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматический цитокины, нарастала, после стимуляции оставалась ниже нормативной, повышение JgM и JgG отражали вторичный иммунный ответ.

В клинике флегмоны преобладал токсикоз с фебрильной лихорадкой до 5 дней. Отмечались ограничение движения, болезненность, инфильтрация и флуктуация области пораженной ткани, гиперемия кожных покровов, лимфангит, региональный лимфоденит.

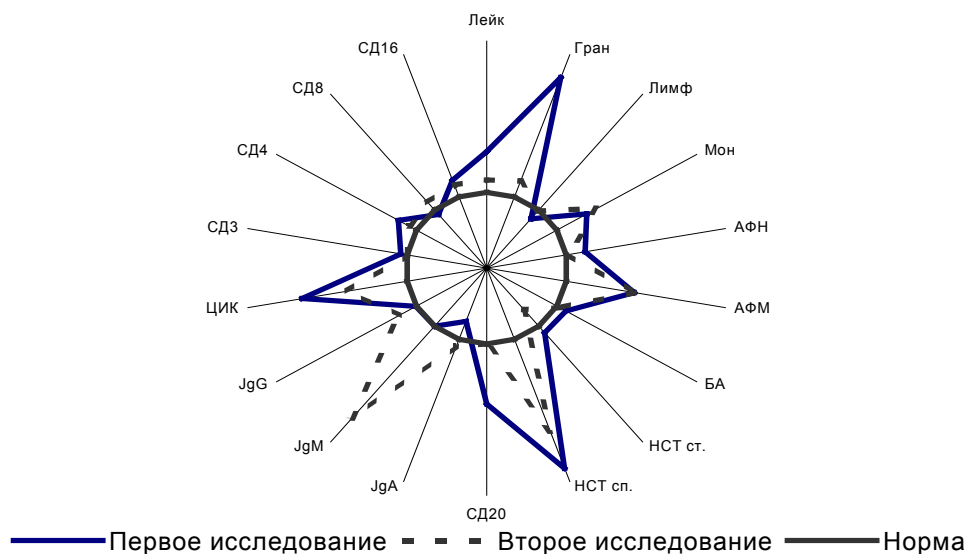


Рис. 4. Иммунологические показатели больных с рожистым воспалением

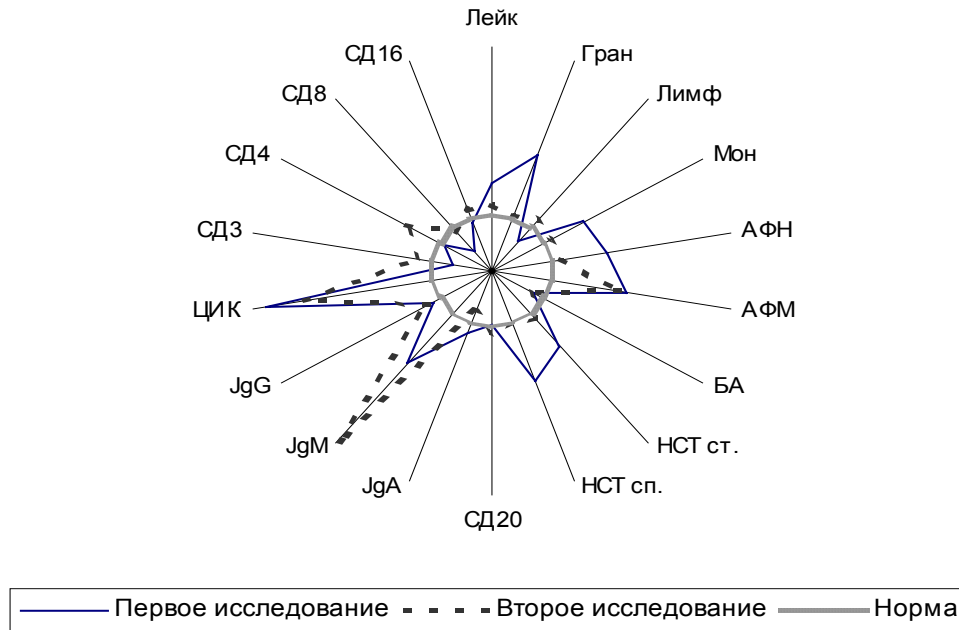


Рис. 5. Иммунологические показатели больных флегмоной

При среднетяжелой форме флегмоны у детей той же возрастной группы в остром периоде регистрируются лейкоцитоз, гранулоцитоз, лимфопения, моноцитоз, повышение фагоцитарной активности нейтрофилов. В гуморальном звене иммунитета при нормальных СД20 повышаются JgM и ЦИК, JgA и JgG не превышают нормативных показателей. В показателях клеточного звена отмечается СД3-, СД4- СД8-лимфопения. В период реконвалесценции регистрируются высокая фагоцитарная активность моноцитов, повышение JgM, JgG и ЦИК, СД3-лимфоцитов, СД16 – нормативные (рис. 5).

У больных флегмоной наблюдалась высокая фагоцитарная активность нейтрофилов, высокие показатели ЦИК, низкие показатели СД3, СД8.

Многочисленными исследованиями было установлено, что стрептококки группы А различных серологических типов, выделенные не только при скарлатине, но и при ангине и других стрептококковых заболеваниях и носителей, в значительной степени оказываются токсигенными, но наиболее часто они выделяются при скарлатине.

Общей иммунологической закономерностью стрептококковой инфекции в остром периоде является нейтрофилез, повышение фагоцитарной активности нейтрофилов, преобладание Т-лимфоцитов, синтезирующих цитокины Th2-типа.

Однако при скарлатине имелось отличие в иммунной перестройке, а именно низкие показатели клеточного звена иммунитета и высокие показатели СД3+-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ФНО α , ИНФ γ), при рожистом воспалении при нормальных показателях Т-клеток наблюдалась низкая численность СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ИНФ γ , ФНО α).

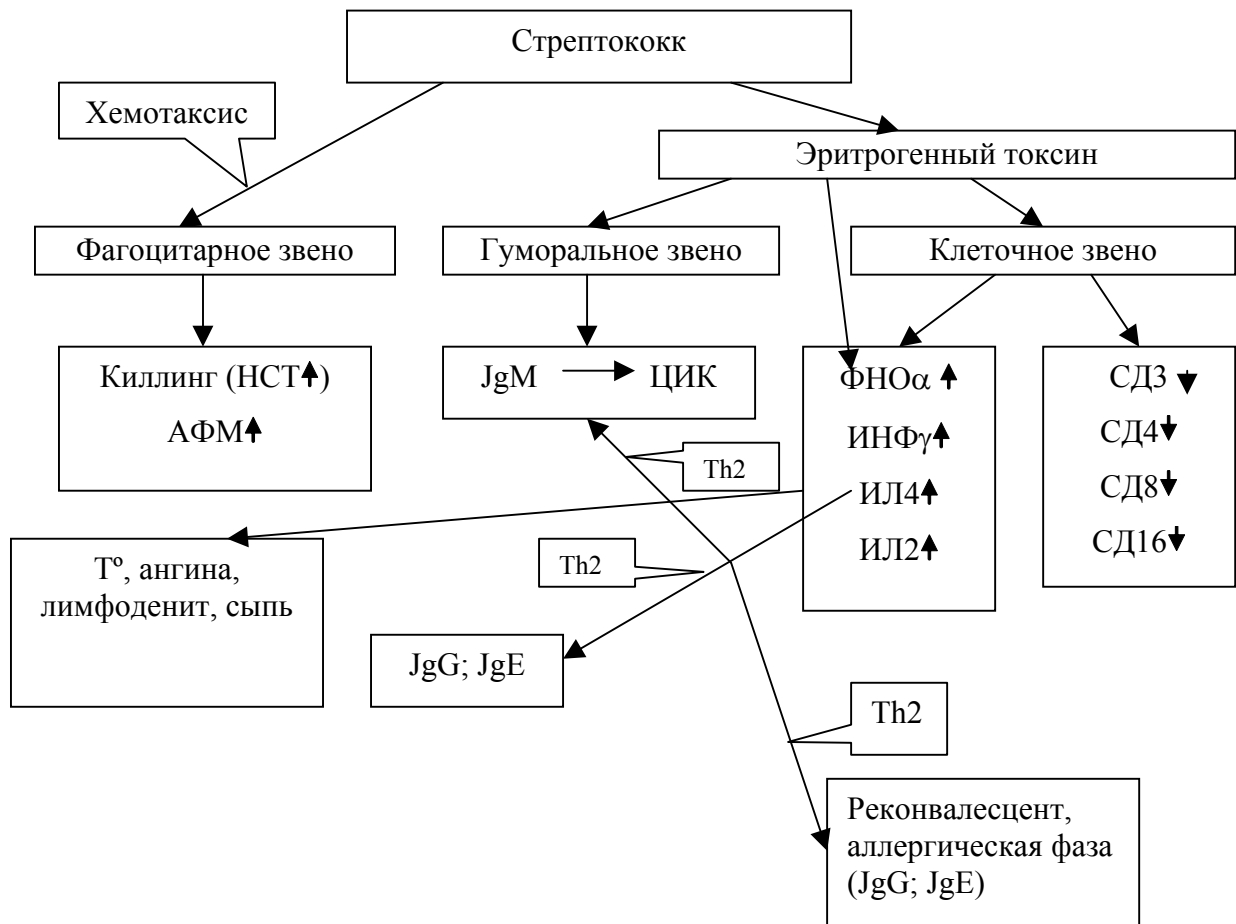


Рис. 6. Изменение иммунологических показателей при скарлатине

При скарлатине в остром периоде отмечались нормальные или высокие показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, высокие показатели гуморального иммунитета (JgM, ЦИК), а СД3-лимфопения компенсировалась высокой численностью субпопуляций СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины: ФНО α , активирующий макрофаги и гранулоциты; ИЛ2, активирующий Th1; ИЛ4, стимулирующий синтез JgE и JgG. Можно допустить, что действие иммунокомпетентных клеток происходит за счет контактных клеточных реакций, когда факторы, несущие информацию (цитокины), не секретируются во внешнюю среду, а остаются связанными с наружной поверхностью клетки. Они представляются клеткам мишенями путем воздействия на их поверхностные рецепторы только при непосредственном межклеточном контакте, не исключается, что при скарлатине эритрогенный токсин, как суперантиген, в начальном периоде болезни активирует иммунокомпетентные клетки, которые экспрессируют огромное количество цитокинов, способствующих не только формированию иммунитета, но и приводящих к нарушению гомеостаза макроорганизма (ФНО α , ИФН γ , ИЛ2), с развитием не только общих инфекционных симптомов, но и местных (ангина, сыпь), формирующих гуморальные и противовоспалительные реакции (рис. 6).

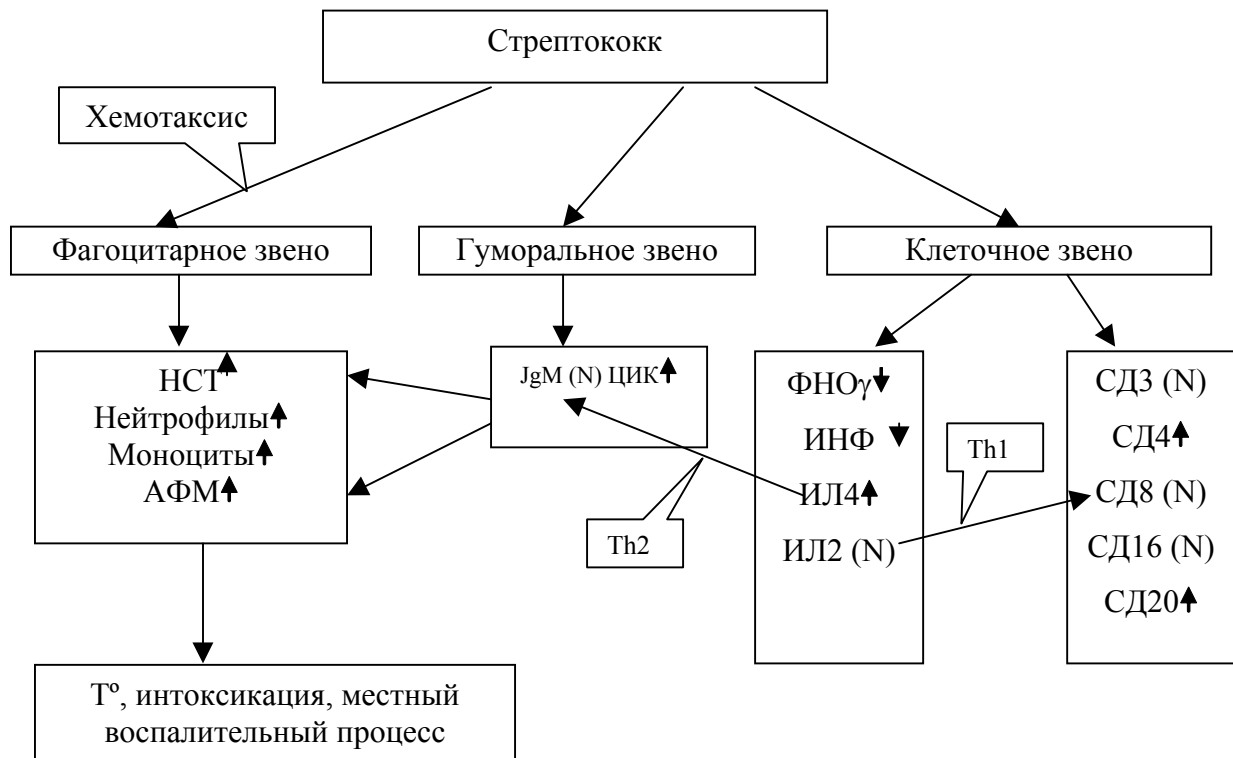


Рис. 7. Изменение иммунологических показателей при рожистом воспалении

В период реконвалесценции при рожистом воспалении и скарлатине показатели СД3/ИЛ2, СД3/ γ ИФН стим. соответствуют норме, отличие заключается в уровне СД3/ γ ИФН спон., который при рожистом воспалении значительно выше. Высокие показатели СД3/ γ ИФН по сравнению с СД3/ИЛ4 обеспечивают активность Th1-типа, что может формировать рецидивирование заболевания (рис. 7).

Субпопуляции СД3-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины, при скарлатине в остром периоде превышают нормативные показатели (ИЛ4, ИЛ2, ФНО α), при рожистом воспалении они соответствуют нормативным показателям, кроме ИЛ4. Индекс поляризации при стрептококковой инфекции - скарлатине и рожистом воспалении, имел отрицательное значение, что отражает преобладание Th2-типа.

Сопоставляя иммунологические показатели при стрептококковой инфекции с различными клиническими вариантами болезни, мы установили, что общими иммунологическими закономерностями среднетяжелой формы скарлатины, флегмоны, рожистого воспаления являются нейтрофилез, повышение супероксидной активности нейтрофилов, высокие показатели фагоцитарной активности моноцитов и ЦИК.

Выявленные нами иммунологические данные не отражали супрессивного действия антигенов стрептококка на фагоцитарную активность и на показатели гуморального иммунитета. При определении численности субпопуляций лимфоцитов в остром периоде скарлатины и рожистого воспаления, было установлено, что в обеих инфекциях преобладали СД3+ИЛ4 над СД3+ИНФ γ . Индекс поляризации (ИП = (ИНФ γ – ИЛ4)/ИЛ4) имел отрицательное значение, что указывало на преобладание в остром периоде иммунологических реакций по Th2-типу, которое отражало формирование гуморального иммунитета и реакцию, способствующую

уменьшению воспаления.

Таким образом, мы определили, что обеих формах стрептококковой инфекции в остром периоде доминирующую роль играют фагоцитарное и гуморальное звенья иммунитета, однако перестройка клеточного звена иммунитета существенно отличалась при скарлатине среднетяжелой формы. В случаях при низких значениях показателей клеточного иммунитета (СДЗ, СД8, СД16, СД4) отмечалось повышение численности субпопуляций СДЗ-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ФНО α , ИФН γ), в то время как при рожистом воспалении содержание численности СДЗ+ФНО α + ИФН γ было снижено (табл. 4, 5).

Полученные данные не исключают, что при скарлатине под влиянием эритрогенного токсина в разгар болезни происходит увеличение численности этих субпопуляций СДЗ-лимфоцитов (ФНО α , ИФН γ), повышающих содержание супероксидных и нитроксидных радикалов (ИФН γ), активирующих эпителий и лейкоцитиндуцирующих продукцию противовоспалительных цитокинов, которые обладают аллергическим действием (ФНО α).

В терапии у 50% детей со среднетяжелой формой скарлатины и рожистого воспаления был использован ликолипид. При сравнении клинических симптомов скарлатины у больных, получавших ликолипид, и без иммунокоррекции было установлено, что длительность лихорадочного периода не менялась и составляла $3,0 \pm 1,0$ сут. Сыпь сохранялась $4,0 \pm 0,9$ сут. Региональный подчелюстной лимфаденит сохранялся длительно в обоих случаях. При рожистом воспалении клиническая картина в этих группах детей не менялась.

Использование ликолипида при лечении скарлатины существенно не повлияло на фагоцитарное, гуморальное звенья иммунитета.

Таблица 4

Фагоцитарное звено иммунитета при среднетяжелой форме скарлатины и рожистого воспаления у детей старше 3 лет

Показатели фагоцитарного звена иммунитета	Скарлатина M \pm m		Рожистое воспаление M \pm m		Норма
	ликолипид (+)	ликолипид (-)	ликолипид (+)	ликолипид (-)	
Лейкоциты	8,27 \pm 0,89	9,48 \pm 0,76*	7,9 \pm 0,6	8,16 \pm 0,56	7,0 \pm 0,2
Гранулоциты	4,59 \pm 0,82	5,18 \pm 0,79*	3,98 \pm 0,38	4,16 \pm 0,42	3,4 \pm 0,2
Моноциты	0,43 \pm 0,06	0,62 \pm 0,05*	0,5 \pm 0,04*	0,55 \pm 0,06*	0,35 \pm 0,03
Афнейтрофилы	3,92 \pm 0,79	4,55 \pm 0,66	4,0 \pm 0,2	3,67 \pm 0,28	3,5 \pm 0,4
Афмоноциты	0,39 \pm 0,07	0,52 \pm 0,04*	0,36 \pm 0,05*	0,39 \pm 0,04*	0,21 \pm 0,04
НСТ спон.	25,85 \pm 4,31*	14,38 \pm 2,37	14,0 \pm 0,99*	13,14 \pm 0,97	10,1 \pm 1,3
НСТ стим.	13,02 \pm 2,6	24,38 \pm 3,84	2,16 \pm 1,90*	23,14 \pm 1,95	18,3 \pm 4,3

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с нормой;

** - $p < 0,05$ при сравнении скарлатины с рожистым воспалением.

При рожистом воспалении и скарлатине использование ликолипида не повлияло на увеличение моноцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, регистрировался высокий НСТ спон. тест (табл. 4).

Гуморальное звено иммунитета при среднетяжелой форме скарлатины и рожистом воспалении у детей старше 3 лет

Показатели гуморального звена иммунитета	Скарлатина, М±m		Рожистое воспаление, М±m		Норма
	ликопид (+)	ликопид (-)	ликопид (+)	ликопид (-)	
Лимфоциты	3,28±0,31*	2,64±0,25*	3,2±0,1	3,46±0,19*	2,9±0,12
CD20	0,49±0,07	0,63±0,06*	0,5±0,05	0,49±0,06	0,49±0,03
JgA	1,14±0,14	1,14±0,17	1,11±0,14	1,2±0,12	1,1±0,05
JgM	2,16±0,34*	1,84±0,18*	2,15±0,83	2,33±0,74	0,9±0,07
JgG	10,05±1,24	11,91±1,52	11,6±0,95*	11,91±0,75*	9,5±0,27
ЦИК	65,00±8,54*	103,38±14,54*	52,6±8,0*	54,71±5,67*	31,3±3,4

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с нормой.

Гуморальное звено иммунитета при скарлатине и рожистом воспалении не зависело от использования ликопида. В обоих случаях регистрировались высокие показатели JgM, JgG и ЦИК (табл. 5).

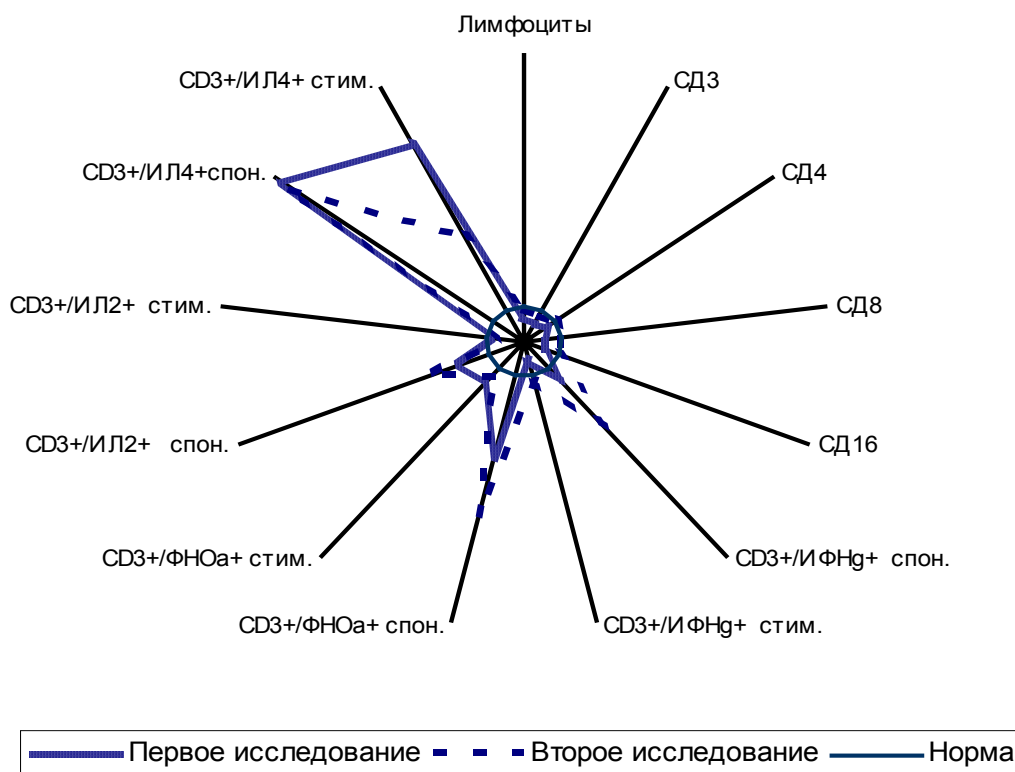


Рис. 8. Показатели клеточного звена иммунитета при лечении скарлатины с использованием ликопида

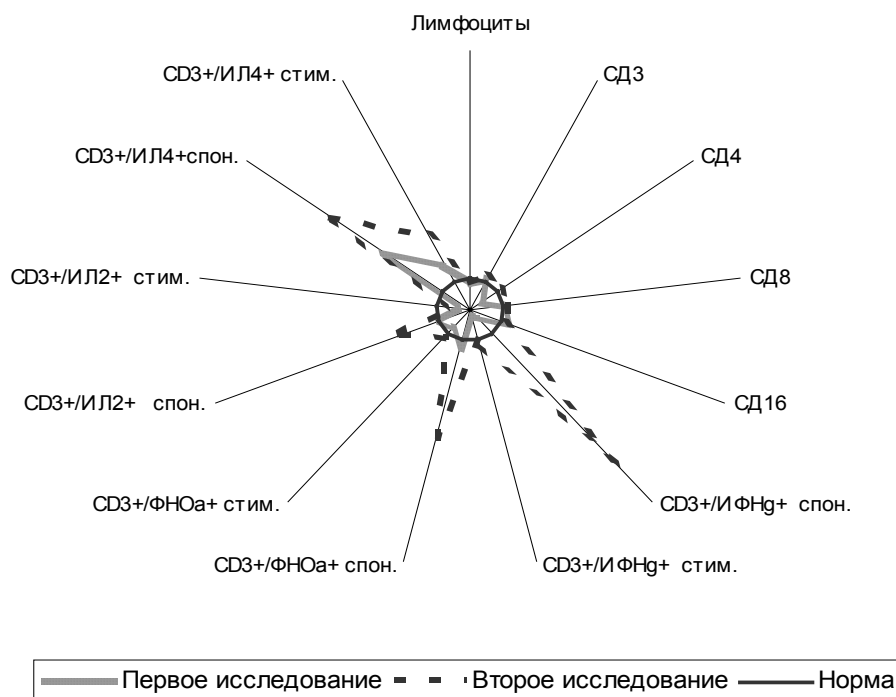


Рис. 9. Показатели клеточного звена иммунитета при лечении розового воспаления с использованием ликопида

При розовом воспалении и скарлатине увеличиваются показатели клеточного звена в группе больных, пролеченных ликопидом, что свидетельствует о целесообразности применения препарата при лечении этих заболеваний (рис. 8, рис. 9).

При исследовании иммунологического статуса выявлены незначительные нарастания СДЗ, ИФNg и ФНОα.

В клеточном звене отмечались более высокие показатели СДЗ и ИФNg и ФНОα. На фоне лечения ликопидом скарлатины регистрировалось восстановление клеточного звена иммунитета без изменения их функционального состояния, о чем свидетельствовали высокие показатели СДЗ-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины. При розовом воспалении происходит нарастание численности СДЗ-лимфоцитов, ИФNg ($\chi^2=3,7$; $p<0,05$), не наблюдается рецидивирования заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Скарлатина у детей сохраняет свой клинический симптомокомплекс: ангина, лимфаденит, сыпь, – выраженность которых зависит от формы тяжести болезни.

2. При современной скарлатине не происходит переход симпатикус-фазы в вагус-фазу, токсической стадии – в инфекционную.

3. В симпатикус-фазе при скарлатине отмечаются нормальные или высокие показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, высокие показатели JgM и ЦИК, СДЗ-, СД4-, СД8-лимфопения и высокая

численность субпопуляции CD3⁺-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины (ФНО α , ИЛ2, ИЛ4).

4. Для рожистого воспаления характерны: нейтрофилез, нормальные показатели фагоцитарной активности нейтрофилов, моноцитоз, повышение JgM, JgG, высокие показатели ЦИК и В-лимфоцитов, низкая численность субпопуляции CD3⁺-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины ИФ γ и ИЛ2, и высокие показатели ИЛ4.

5. При флегмоне значительно выше лейкоцитоз и гранулоцитоз, сохраняются лимфопения и моноцитоз, отмечается повышение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, увеличилось значение НСТ-теста. В гуморальном звене иммунитета при нормальном СД20 повышаются JgM и ЦИК, в клеточном звене иммунитета отмечается CD3⁻, CD8-лимфопения.

6. Общей иммунологической закономерностью стрептококковой инфекции, независимо от ее клинического варианта, является отсутствие супрессии фагоцитарного и гуморального звеньев иммунитета.

7. Изучение клинико-иммунологического влияния препарата «Ликопид» показало, что его целесообразно применять при скарлатине у детей, так как он повышает показатели клеточного звена иммунитета, не изменяя их функциональные свойства, на что указывают высокие значения CD3⁺-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины. Высокие показатели CD3⁺-лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины, во втором исследовании, на этапе выписки больных, позволяют предположить возникновение впоследствии иммунокомплексных состояний.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая отсутствие аллергических и бактериальных осложнений при легкой и среднетяжелой формах скарлатины можно рекомендовать амбулаторное лечение больных.

2. Практическим врачам необходимо обратить внимание на то, что при легкой и среднетяжелой формы скарлатины не регистрируется вагус-фаза.

3. Применение ликопида при лечении скарлатины целесообразно в связи с повышением показателей клеточного звена иммунитета без изменения их функциональных свойств, на что указывают высокие значения CD3⁺ лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фомин В.В. Иммунологические характеристики стрептококковой инфекции у детей [Текст] / В. В. Фомин, С. В. Пустынникова // Цитокины. Воспаление. Иммунитет : тез. докл. объединен. иммунологического форума; III съезда иммунологов России; VI нац. конгресса РААКИ; III Росс. конф., 31 мая–4 июня, 2004, Екатеринбург. – Екатеринбург, 2004. – С. 177.
2. Фомин В.В. Функциональное состояние фагоцитарного, гуморального, клеточного звеньев иммунитета при стрептококковой инфекции [Текст] /

- В.В. Фомин, С. В. Пустынникова // Уральский медицинский журнал. – 2007. – № 3 (31). – С. 532–533.
3. Фомин В. В. Иммунологические особенности стрептококковой инфекции у детей [Текст] / В. В. Фомин, С. В. Пустынникова // Современные технологии в педиатрии и детской хирургии : материалы IV Росс. конгр., 25–27 окт., Москва. – М., 2005. – С. 532–533.
 4. Клинико-иммунологические характеристики скарлатины у детей [Текст] / Т. И. Праздничкова, В. В. Фомин, С. В. Пустынникова // Иммунология Урала // Иммунология Урала. – 2003. – № 1 (3). – С. 55–56.
 5. Фомин В. В. Иммунологические особенности стрептококковой инфекции у детей [Текст] / В. В. Фомин, С. В. Пустынникова // Специализированная помощь детям в Екатеринбурге и Свердловской области : материалы науч.-практ. конф. – Екатеринбург, 2004. – С.43–45.

Пустынникова Светлана Владимировна

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И
ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ
ПРИ СТРЕПТОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

14.00.09 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГОУ ВПО УГМА Росздрава от 18.01.2008г.

