

Оценка и клиническое значение состояния рецепторов нейтрофилов у детей с гнойно-септическими заболеваниями

*Н.Д. Титова, **В.И. Новикова

* Белорусский государственный медицинский университет, Минск

** Витебский государственный медицинский университет, Витебск

Evaluation and clinical significance of neutrophils receptor state in the children with septic diseases

*N.D. Titova, **V.I. Novikova

* Belarus State Medical University

** Vitebsk State Medical University

Аннотация

Изучены рецепторы нейтрофилов, которыми они взаимодействуют с иммунологически активными факторами (Fc-фрагментами IgG, IgM, C3-комплементом и др.). Для приготовления диагностикумов, выявляющих Fc-рецепторы, использовали резусотрицательные эритроциты крови группы АВ (IV), которые одновременно несут антигены А и В, покрывали их IgG и IgM антителами. Разработан метод выявления иммуноглобулин-несущих нейтрофилов с использованием моноспецифических антисывороток. Проведено клинико-лабораторное обследование 75 новорожденных и детей раннего возраста, больных гнойно-септическими заболеваниями. Отсутствие или резкое увеличение количества нейтрофилов, несущих иммуноглобулины, является неблагоприятным прогностическим признаком. При улучшении клинического состояния отмечалась положительная динамика в показателях, характеризующих рецепторы нейтрофилов.

При септикопиемии и септицемии у детей имелись различные изменения в составе субпопуляций нейтрофилов. При септицемии было увеличено количество IgG⁺-нейтрофилов по сравнению с септикопиемией. Обычно уменьшалось общее количество некоторых рецептор-несущих нейтрофилов. Для детей возрастом 10 дней – 3 мес была характерна вариабельность изменений рецептор-несущих субпопуляций нейтрофилов в отличие от детей 3-9 мес. Субпопуляция, имеющая ЭС⁺, Fcγ⁺-рецепторы увеличивалась. Отсутствие или резкое увеличение количества нейтрофилов, несущих иммуноглобулины, является неблагоприятным прогностическим признаком, причем значительные изменения могли касаться одного или нескольких рецепторов нейтрофилов. У умершей и очень тяжелых больных обнаружен стойкий дефицит IgM⁺ и IgA⁺ нейтрофилов, который сопровождался наиболее тяжелым течением сепсиса, иногда с летальным исходом.

Ключевые слова

Гнойно-септические заболевания, Fc-рецепторы, C3-рецепторы нейтрофилов, дети

Summary

Clinical and laboratory examination was carried in 75 newborns and children of an early age with septic diseases. Absence or sharp increase neutrophile quantity is a disadvantageous prognostic sign. In case of improvement of clinic positive dynamics was observed in indexes caractereising receptors of neutrophils. The variation of changes were observed in one or several receptors of neutrophile. Stable defisiensiy of IgM⁺ and IgA⁺ neutrophils was revealed in lethal cases or in severe courses.

Key words

Septic diseases, Fc-receptors, C3-receptors of neutrophils, children.

Ведущее значение в невосприимчивости к условно-патогенным микробам имеет состояние системы иммунитета организма, которое определяется функционированием лимфоидной, гранулоцитарной и мононуклеарно-макрофагальной клеточных систем и гуморальных (антитела, комплемент и другие) факторов иммунитета [1, 2]. Естественная элиминация условно-патогенных возбудителей в значительной степени зависит от фагоцитарной активности лейкоцитов [2, 3]. Последняя, в свою очередь, определяется состоянием различных рецепторов лейкоцитов, участвующих не только в непосредственном связывании возбудителя, но, что не менее важно, и во взаимодействии между различными типами лейкоцитов, обеспечивающем их взаимную активацию в инфекционном процессе [4, 5, 6]. Поэтому состояние биологически активных структур, в частности различных рецепторов поверхности нейтрофилов, во многом определяет резистентность к инфекции [2, 5, 6].

Гранулоциты и мононуклеарные фагоциты имеют рецепторы, которыми они взаимодействуют с лимфоцитами и иммунологически активными факторами (антигенами, комплексом антиген-антитело, комплементом и др.). Эти рецепторы являются маркерами клеток, характеризующими их функциональную активность и позволяющими классифицировать их по популяциям и субпопуляциям. Важными являются рецепторы для Fc-фрагментов иммуноглобулинов, компонентов комплемента, цитокинов, для ксеногенных эритроцитов барана (ЭБ) и эритроцитов мыши (ЭМ). Связывая своими Fc-рецепторами иммуноглобулины сыворотки крови, эти клетки могут нести их на своей поверхности. Когда эти иммуноглобулины (преимущественно IgG и IgA) имеют специфичность антител, их называют цитотфильными (гомоцитотропными) антителами. На нейтрофилах имеются также рецепторы для IgA (Fc α), IgM (Fc μ) [5, 6, 7] и низкоаффинные Fc γ RII (CD32) и Fc γ RIII (CD16) рецепторы как и на большинстве других лейкоцитов. Высокоаффинный Fc γ RI (CD64) и IgE (Fc ϵ) появляются на нейтрофилах после активации. Методы, выявляющие рецепторы гранулоцитов: иммунофлюоресценция для выявления иммуноглобулинов, различные тесты розеткообразования и оценка экспрессии молекул CD с помощью МАТ [5, 6, 7].

При воспалении нейтрофилы теряют рецепторы «покоя», и на них усиливается экспрессия рецепторов активации Fc γ RI, цитокиновых, CR3, а также молекул адгезии LeuCAM, молекул интегринов. Рецепторы CR3 (CD11b/CD18), а также CR1 (CD35) – важные структуры адгезии, связы-

вающие компоненты активированного комплекса. Их экспрессия усиливается при инфекциях, под влиянием эндотоксинов.

Мы нашли, что число гранулоцитов, образующих розетки с ЭБ (CD2) и ЭМ, значительно варьирует (от 10 до 40%) как у больных, так и здоровых лиц [7]. Биоактивные рецепторы лимфоцитов, связывающие структуры эритроцитов, являются молекулами адгезии и относятся к системе «образраспознающих» рецепторов, подобно Toll-рецепторам для микробов [2]. Среди розеткообразующих гранулоцитов в одних случаях преобладают нейтрофилы. Сходная ситуация наблюдается и при выявлении методами розеткообразования рецепторов для Fc-фрагмента IgG и для C3-компонента комплемента. Число их меняется в онтогенезе и при патологии [7]. При гнойно-септических заболеваниях у детей и взрослых встречались транзиторные и стойкие дефициты некоторых рецепторнесущих субпопуляций нейтрофилов [8, 9]. Улучшение клинического состояния сопровождалось положительной динамикой показателей, характеризующих нейтрофилы. Поэтому состояние рецепторного аппарата гранулоцитов отражает клиническое течение гнойно-септического процесса [8, 9].

Нами были изучены адгезивные рецепторы нейтрофилов, связывающие различные ксеногенные эритроциты (барана, мыши и др.), а также их Fc γ , Fc μ и иммуноглобулиновые рецепторы. Наличие соответствующего рецептора указывает на степень дифференцировки нейтрофила, его функциональную активность. Поэтому по экспрессии определенных рецепторов, т.е. фенотипу, нейтрофилы можно делить на популяции и субпопуляции подобно лимфоцитам.

Целью исследования была разработка методов характеристики рецепторов гранулоцитов (нейтрофилов) для оценки иммунного статуса при гнойно-септических заболеваниях у детей. Это позволяло определить недостаточность иммунологической реактивности у детей с целью ранней диагностики и профилактики «пресепсиса», состояний, угрожаемых по сепсису, и контроля за лечением в динамике болезни.

Материал и методы исследования

Нами проведены клинико-лабораторное обследование 75 новорожденных и детей раннего возраста, больных гнойно-септическими заболеваниями (сепсисом, острой деструктивной пневмонией, больных с локальной формой стафилококковой инфекции). Больные получали обычную антибактериальную терапию. В качестве контрольной группы было обследовано 33 новорож-

денных и здоровых детей раннего возраста. Обследование больных начиналось на 5-е сутки заболевания и продолжалось в периоды разгара и клинического выздоровления.

Количественную характеристику популяций лимфоцитов и гранулоцитов крови детей производили, используя методы, характеризующие рецепторы этих клеток [7]. Для этого использовали реакции розеткообразования с нативными эритроцитами (барана, мышей, человека, собаки и др.) и с эритроцитами, нагруженными иммунологически активными реагентами (комплементом, агрегированным иммуноглобулином, антителами против иммуноглобулинов человека М, А классов). Эти методы позволяли определять количество Т- и В-лимфоцитов, некоторые их субпопуляции, а также субпопуляции гранулоцитов в небольших объемах крови [7]. В данном исследовании методы были разработаны или модифицированы нами для обследования детей.

Особенности определения некоторых рецепторов нейтрофилов

Рецепторы адгезии для ЭБ и ЭМ, которые имеются на всех гранулоцитах, определяли методами розеткообразования, так же как с лимфоцитами в суспензии лейкоцитов [7, 9].

Выявление нейтрофилов, имеющих Fc γ и Fc μ -рецепторы

Для приготовления диагностикумов, выявляющих Fc-рецепторы, использовали резусотрицательные эритроциты крови группы АВ (IV), которые одновременно несут антигены А и В [7]. Эритроциты отмывали изотоническим раствором хлорида натрия и фиксировали в 6% растворе формалина, для чего их инкубировали в течение 3 ч при 37°C, а затем 12 ч при 22°C. Отмытые формализированные эритроциты хранили в присутствии 0,02% раствора азиды натрия.

Из сывороток крови доноров I группы, в которых титр агглютининов а и в составляет 1:128 и 1:1024, выделяли иммуноглобулины классов G и M. IgM выделяли с помощью хроматографии эуглобулиновой фракции сыворотки крови на сефадексе G200.

Чистые IgG антитела выделяли при хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе обычным методом. Чистоту IgM, IgA и IgG проверяли с помощью иммуноэлектрофореза с моноспецифическими антисыворотками.

Суспензию формализированных АВ-эритроцитов (2%) смешивали с IgM- или IgG-фракциями, содержащими изоантитела, и инкубировали в течение 90 мин при 20°C. Оптимальный титр антител составляет: для IgM 1:8, IgG 1:16. Диагностикумы отмывали изотоническим раствором

хлорида натрия 2 раза и разводили до 1% суспензии. Изоантитела не агглютинировали формализированные эритроциты. Срок годности диагностикумов составил не менее 4 нед (при 4°C в присутствии азиды натрия).

Наличие иммуноглобулинов соответствующих классов на эритроцитах доказано нами с помощью метода иммунофлюоресценции с моноспецифическими сыворотками против человека, а также в реакциях агглютинации. Чистые IgM и IgG ингибировали розеткообразование лимфоцитов только с диагностикумами, несущими соответствующие иммуноглобулины.

Идентификация лейкоцитов (нейтрофилов), несущих на поверхности иммуноглобулины различных классов

Распределение и динамика нейтрофилов, связавших своими Fc-рецепторами иммуноглобулины разных классов (Ig+-нейтрофилы), не изучены при гнойно-септических заболеваниях у детей. Нами разработан метод выявления иммуноглобулин-несущих нейтрофилов с использованием моноспецифических бараньих антисывороток против иммуноглобулинов классов G, M, A человека (производство Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, Москва).

Из антисывороток выделяли γ -глобулин. Одновременно его выделяли из нормальной бараньей сыворотки /контроль/. Необходимо, чтобы при выделении агрегация глобулина была минимальной. Мы использовали также цельные антисыворотки /без выделения глобулина/ с удовлетворительными результатами. Однако, тогда чувствительность метода ниже. Препараты антител абсорбировали клетками лимфатических узлов мышей /связывание через Fc-часть агрегированного глобулина, затем дважды центрифугировали при 10000 об/мин 30 минут.

Для обработки антителами использовали эритроциты барана или человека, так как после фиксации глютаровым альдегидом они не образуют спонтанных розеток. Обычно использовали эритроциты I-й группы крови человека. Их многократно отмывали физиологическим раствором до исчезновения белка в надосадочной жидкости /проверка при 280 нм/ и разводили до 50% суспензии (осадок 100%). К 50% суспензии эритроцитов добавляли трехкратный объем 0,25% нейтрализованного глютарового альдегида и инкубировали 3 часа при 37°C при постоянном помешивании, а затем ночь при 4°C. Концентрацию белка в сыворотке или ее иммуноглобулиновой фракции устанавливали равной 2-5 мг/мл белка. К 1 мл ее добавляли

0,1 мл ацетатного буфера рН 3,8, а затем 0,1 мл 2,5% глютарового альдегида и инкубировали 3 часа при 37°C. Одновременно к эритроцитам добавляли 0,25% его раствор и тоже инкубировали их. Эритроциты отмывали. К 10% их суспензии в среде добавляли равный объем антисыворотки и инкубировали 3 часа при 37°C. Смесь отмывали 3 раза физиологическим раствором. Эритроциты, обработанные антителами, испытывали в реакциях на специфичность взаимодействия с соответствующими реагентами (см. ниже).

Антитела против иммуноглобулинов G, M, A «сшивали» с отдельной порцией эритроцитов.

Обработанные эритроциты проверяли на специфичность их взаимодействия с иммуноглобулинами соответствующих классов:

1. Эритроциты, обработанные антителами против одного класса иммуноглобулинов агглютинировались под влиянием иммуноглобулина только этого, но не другого класса.

2. После абсорбции сыворотки человека эритроцитами, несущими антитела против одного класса иммуноглобулинов, антисыворотка против такого класса иммуноглобулина не реагировала в реакции преципитации с абсорбированной сывороткой человека.

3. Предварительная инкубация испытуемых лейкоцитов с классовоспецифической антисывороткой отменяла у них способность к образованию розеток с эритроцитами, несущими иммуноглобулин соответствующего класса.

4. Розетки не образовывались или их было минимальное количество (1-2%) при инкубации лимфоцитов с эритроцитами, обработанными нормальным бараньим глобулином.

Для реакции использовали обычные суспензии лейкоцитов в концентрации 2-4 млн/мл. Однако, лейкоциты могли связывать эритроциты, обработанные иммуноглобулином за счет его Fc-части. Для исключения такой возможности суспензии лейкоцитов обрабатывали азидом натрия или формальдегидом, подавляющими активность их Fc-рецептора, но не влияющими на их иммуноглобулиновые рецепторы. Азид натрия добавляли к суспензии лейкоцитов в концентрации 0,1%. Для обработки клеток формальдегидом использовали 1% раствор нейтрального формалина, приготовленного на фосфатном буфере рН 7,2 содержащем 0,15 M NaCl.

0,1-0,25 мл 0,5% каждой суспензии эритроцитов, обработанных антителами против различных классов иммуноглобулинов смешивали с равным объемом суспензии лейкоцитов крови (2-4 млн/

мл). Использовали клетки, обработанные азидом и фиксированные формалином. Одновременно ставили реакции с эритроцитами, обработанными нормальным бараньим глобулином, а также контроль на специфичность реакции. На каждую пробу ставили 3-4 пробирки. Смесь инкубировали при 37°C 15 минут, затем центрифугировали при 500 об/мин и инкубировали ночь при 4°C. Инкубация на холоду увеличивала число образующихся розеток этого типа и способствовала их стабилизации. После инкубации осадок ресуспендировали, фиксировали глютаровым альдегидом, делали мазки, окрашивали их и подсчитывали процент и абсолютное число розеткообразующих нейтрофилов.

Идентификация нейтрофилов, имеющих рецепторы для C3-компонентов комплемента (C3+-нейтрофилов)

Метод с использованием эритроцитов и антиэритроцитарных антител

К 1-2% отмытой суспензии эритроцитов голубя добавляли равный объем кроличьей антисыворотки в разведении в 1,5-2 раза превышающем ее титр, инкубировали 30 мин при 37°C, осторожно помешивая суспензию качанием пробирок. Затем отмывали раствором Хенкса, центрифугируя при 500 об/мин 5 минут и добавляли равный объем комплемента в разведении 1:10-1:20. Инкубировали 20 минут при 37°C, снова отмывали и разводили для использования. Мы рекомендуем повторно добавлять антисыворотку в меньшем разведении, близком гемолитическому титру и снова повторять процедуры как описано. Постепенное «наращивание» антител и комплемента на эритроцитах не вызывает их лизиса, но создает высокую концентрацию реагентов на их поверхности. После обработки эритроциты отмывали три раза раствором Хенкса. При отмывании их центрифугировали не более, чем при 500 об/мин 5 минут, чтобы не вызвать агглютинации эритроцитов. Приготавливали 0,5% суспензию эритроцитов и просматривали ее под микроскопом. При наличии агглютинации суспензия непригодна. Суспензию использовали в течение суток.

К 0,1-0,2 мл суспензии лейкоцитов крови добавляли равный объем 0,5-1% суспензии эритроцитов, обработанных антителами и комплементом. Смеси помешивая инкубировали 10-20 минут при 37°C, а затем центрифугировали 5 минут при 500 об/мин и помещали их в ледяную баню. После ресуспендирования клетки фиксировали раствором глютарового альдегида и окрашивали галлоцианином, а затем подсчитывали процент розеткообразующих нейтрофилов.

Метод с использованием частиц зимозана, покрытых комплементом

500 мг зимозана кипятили 30 мин в 10 мл дистиллированной воды. Его отмывали в фосфатном буфере и разводили до 1 мг/мл. 4 мг зимозана добавляли к 0,5 мл свежей сыворотки мыши. Инкубировали, помешивая при 37°C 30 минут - 1 час, а затем ночь при 4°C. Частицы зимозана отмывали 5 раз 0,1% желатин-вероналовым буфером или трис-НСl буфером рН 7,5, содержащим 0,14 М NaCl (8,15 г NaCl и 1,21 г трис-/гидрокси-метиламинометана + 1 л дистиллированной воды, рН 7,5 устанавливали, добавляя концентрированную HCl). Для контроля использовали частицы зимозана инкубированные аналогично в свежей сыворотке человека, предварительно абсорбированной зимозаном (4 мг/мл) или в сыворотке прогретой при 56°C 30 минут. Равные объемы /по 0,1 мл/ частиц зимозана и суспензии лейкоцитов смешивали в пробирках или в микротитрационных пластинах (по 25 мкл), центрифугировали при комнатной температуре с ускорением 2000 до 5 минут, помещали в ледяную баню на 30 минут. Затем ресуспендировали, добавляли 0,5% толундиновый голубой или 0,2% трипановый синий и подсчитывали процент нейтрофилов, присоединивших больше двух частиц зимозана.

Результаты и обсуждение

1. Изменение рецепторов нейтрофилов при септикопиемии

1.1. Характеристика субпопуляций нейтрофилов при септикопиемии у детей 10 дней – 3 месяцев

В разгар септикопиемии у детей в возрасте 10 дней – 3 мес. в крови наблюдается относительный и абсолютный нейтрофилез. Количество лейкоцитов крови в 1,5-2 раза превышало нормальные показатели (табл. 1).

При обследовании больных в динамике оказалось, что через 7-10 дней количество лейкоцитов уменьшалось, а при выписке снижалось до уровня показателей здоровых детей (табл. 1). Абсолютное количество нейтрофилов с ЭБ-рецепторами (ЭБ⁺-нейтрофилы) было увеличено примерно в 3 раза ($p < 0,001$), а относительное – не изменялось, т.е. доля этой субпопуляции нейтрофилов среди остальных оставалась прежней. У 2-х больных количество этих нейтрофилов было резко увеличенным (36%; $3,450 \times 10^9/\text{л}$), а у одного – сниженным (4%; $72 \times 10^9/\text{л}$). При выздоровлении абсолютный показатель не отличается от нормы.

Относительное количество нейтрофилов, имеющих ЭМ⁺-рецептор (ЭМ⁺-нейтрофилы), в разгар септикопиемии имело тенденцию к снижению, но абсолютное их количество было увеличе-

но ($p < 0,05$) за счет лейкоцитоза. В процессе лечения относительное число ЭМ⁺-нейтрофилов уменьшалось ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. В период выздоровления указанные показатели практически нормализовались (табл. 1). Относительное количество ЭС⁺-нейтрофилов имело тенденцию к снижению, а абсолютное существенно не изменялось.

Абсолютное количество нейтрофилов, несущих иммуноглобулин G (IgG⁺-нейтрофилы), при септикопиемии увеличивалось ($p < 0,05$), но их доля среди остальных нейтрофилов существенно не изменялась (табл. 1). Субпопуляция этих нейтрофилов была резко увеличенной у 2-х больных (27% - $1,7 \times 10^9/\text{л}$), а у 2-х уменьшенной (2% - $0,07 \times 10^9/\text{л}$) и у одного отсутствовала. В период выздоровления абсолютное количество этих нейтрофилов нормализовалось. Аналогичные изменения претерпевали нейтрофилы, несущие IgM: абсолютное количество их, увеличенное в разгар сепсиса ($p < 0,05$), снижалось до нормы при выздоровлении. В разгар болезни у 2-х больных не выявлялись нейтрофилы, несущие IgM. Но они появлялись в период выздоровления. Наоборот, у одного больного эта субпопуляция была увеличенной (35%; $2,1 \times 10^9$ клеток в 1 л).

В период развернутых клинических проявлений в крови больных наблюдалась тенденция к снижению процента IgA⁺-несущих нейтрофилов (IgA-позитивных) и к увеличению их абсолютного количества в крови. Показатели не отличались от нормы в период выздоровления. Четверо больных имели отличия от этих средних данных. У 3-х больных показатели были выше среднего (19% - $1,7 \times 10^9$ клеток в 1 л), у одного – сниженными (2% - $0,063 \times 10^9$ клеток в 1 л) и у одного эти нейтрофилы отсутствовали. Приводим выписку истории болезни данной больной, у которой также отсутствовали нейтрофилы, несущие IgG и IgM, т.е. имелся дефицит иммуноглобулиннесущих нейтрофилов.

Клинический пример

Аня А. 3 мес., поступившей в клинику с рецидивирующим псевдофурункулезом, экссудативным диатезом, рахитом 1 ст.

Девочка родилась от III беременности, 3-х родов, массой тела 3400 г. Выписана из родильного дома на 10-е сутки из-за развившегося мастита у матери. Первый месяц жизни протекал вполне удовлетворительно, прибывала в весе, находилась на грудном вскармливании, психическое и физическое развитие соответствовало возрастной норме.

Таблица 1

Характеристика рецепторного аппарата нейтрофилов крови при септикопиемии у детей в возрасте 10 дней – 3 мес.

Рецепторы для:	Септикопиемия (n=14)			Здоровые (n=8)
	разгар болезни	через 7-10 дней	выздоровление	
ЭБ	21,4±2,8*	20,5±3,3	19,5±2,8	18±2,9
	1,6±0,24**	0,96±0,16	0,5±0,08	0,47±0,03
ЭМ	8±3,2	6±2,2	10±2,1	14±2,6
	0,58±0,06	0,29±0,05	0,27±0,07	0,34±0,024
ЭС	4±1,6		8±1,6	8±1,4
	0,29±0,06		0,2±0,03	0,18±0,05
Fc-IgG (Fcγ)	20±2,4		16±2,8	10±1,6
	1,5±0,1		0,4±0,06	0,2±0,09
FcIgM (Fcμ)	10±1,9		12,5±3,2	14±3,6
	0,72±0,1		0,33±0,05	0,35±0,06
ЭЧ-СЗ	8±2,1		8±1,9	4±1,2
	0,58±0,1		0,22±0,04	0,09±0,02
Зим.-СЗ	24±4,2		16±3,1	12±2,6
	1,8±0,22		0,44±0,08	0,24±0,07
Иммуноглобулиновые рецепторы:				
Н-IgG	6,4±0,8	8,2±1,8	8,0±1,7	8,0±1,6
	0,44±0,09	0,39±0,04	0,22±0,03	0,2±0,03
Н-IgM	4,2±1,2	4±0,9	4±1,4	10±1,7
	0,31±0,08	0,19±0,03	0,12±0,03	0,25±0,03
Н-IgA	4,8±1,6	4±1,1	8±1,7	9±1,7
	0,37±0,06	0,21±0,04	0,23±0,06	0,21±0,03
% и абсолютное количество нейтрофилов в 1 л крови	56±6,4	52±4,8	35±4,2	35±4,3
	7,2±0,34	4,8±0,24	2,6±0,25	2,4±0,2

Примечание:

* - процент розеткообразующих клеток

** - их абсолютное количество в млн клеток в 1 л крови

В скобках указано количество обследованных детей. Сокращения: ЭБ – эритроциты барана, ЭМ – эритроциты мышей, ЭС – эритроциты собаки, FcIgG – рецепторы для Fc фрагментов IgG (Fcγ) и соответственно IgM (Fcμ); ЭЧ-СЗ – эритроциты человека (фиксированные), покрытые комплементом; Зим.-СЗ – зимозан, покрытый комплементом; Н-IgG – нейтрофилы, несущие IgG; Н-IgM – нейтрофилы, несущие IgM; Н-IgA – нейтрофилы, несущие IgA.

На втором месяце жизни на волосистой части головы появились гнойники, вскрылись самостоятельно, некоторое время самочувствие оставалось не измененным, затем повысилась температура, ребенок стал вялым, появился неустойчивый стул, в весе перестала прибавать, псевдофурункулы стали появляться на лице, конечностях. Проводилось лечение антибиотиками в домашних условиях, эффекта не было, в крови определялся лейкоцитоз и ребенка направили в стационар. В первые дни пребывания в больнице состояние оценивалось как средней тяжести, пониженного питания, бледные кожные покровы, на щеках и за ушами проявления экссудативного диатеза, голова деформирована, кости мягкие, большой родни-

чок 3,5x3,5 см, затылок облысевший. Сердце, легкие без особенностей, печень выступает из под края реберной дуги на 3 см, пальпируется селезенка, стул 2-3 раза в сутки с небольшим количеством слизи. В посевах крови при поступлении был обнаружен патогенный золотистый стафилококк, в слизи, взятой из гортани, из содержимого гнойника также был выделен патогенный стафилококк, затем его выделили в посевах из кала. Реакция агглютинации с сывороткой больной была положительной в динамике заболевания в разведении 1:200. В крови определялся высокий лейкоцитоз (24×10^9 клеток/л), нейтрофилез и палочкоядерный сдвиг, со стороны красной крови – анемия. На основании клиники и данных бактери-

ологического и серологического исследований был поставлен диагноз: стафилококковый сепсис, септикопиемическая форма.

Проводимая комплексная терапия с включением антибиотиков направленного действия и специфических средств эффекта не давала. У ребенка продолжала нарастать интоксикация, анемия, держались изменения белой крови. Через 24 дня пребывания в клинике у девочки повысилась температура до 39°, появился кашель, стала нарастать дыхательная недостаточность, справа дыхание перестало прослушиваться, рентгенологически выявлен пиопневмоторакс. Ребенок переведен в хирургическое отделение. Правая плевральная полость была дренирована, выделилось немного гноя и воздуха, ребенку была налажена активная аспирация содержимого плевральной полости. Легкое впоследствии расправлялось плохо, через несколько дней после дренирования начался некроз тканей вокруг дренажа, еще через несколько дней развился остеомиелит VI и VII ребра. Затем у ребенка усиливается цианоз лица, на груди появляется четкий венозный рисунок, признаки вторичной сердечной слабости, увеличилась печень. В моче имелись лейкоциты в большом количестве, зернистые и гиалиновые цилиндры, белок. Ребенок погиб на фоне нарастающей гнойной интоксикации и острой дыхательной недостаточности. Патологоанатомически подтвержден диагноз: сепсис, стафилококковая деструкция легких (СДЛ), правосторонний пиопневмоторакс, флегмона средостения, остеомиелит VI-VII ребер.

Иммунологическое обследование данной больной представлено в таблице 2.

Результаты исследования показывают, что у больной наблюдалось отсутствие IgM- и IgA-несущих нейтрофилов, при нормальном количестве В-лимфоцитов и сниженном относительном количестве Т-лимфоцитов. Так как только такое снижение количества лимфоцитов не могло явиться основной причиной безуспешного лечения, можно полагать, что дефицит Ig⁺-нейтрофилов лежал в основе данного септикопиемического инфекционного процесса.

Следовательно, у больной наблюдался стойкий иммунодефицит IgM⁺- и IgA⁺-нейтрофилов.

При септикопиемии у детей данной группы имелись изменения и в других субпопуляциях нейтрофилов.

Достоверно увеличивалось относительное ($p < 0,05$) и абсолютное количество Fc γ -нейтрофилов в разгар заболевания, но снижалось почти до нормы при выздоровлении (табл. 1). Аналогичные изменения наблюдались и с Fc μ -нейтрофилами. Методом с зимозаном обнаружено увеличение ($p < 0,01$) относительного и абсолютного количества нейтрофилов с рецепторами для компонента, причем абсолютный показатель имел тенденцию к увеличению в период выздоровления.

Таким образом, изменения в составе популяций нейтрофилов у большинства больных не указывали на стойкий вторичный иммунодефицит, а скорее являлись преходящими. Лишь у одной умершей больной имелся стойкий дефицит IgM- и IgA-положительных нейтрофилов.

1.2. Рецепторы нейтрофилов при септикопиемии у детей в возрасте 3-9 месяцев

На высоте заболевания у детей данной группы увеличивалось количество нейтрофилов в крови по сравнению с нормой (табл. 3) ($p < 0,01$ -

Таблица 2

Время обследования	Процент – количество (млн/л): в числителе – лимфоцитов, в знаменателе – нейтрофилов у больной Ани А.					
	Всего	ЭБ	ЭМ	Н-IgG	Н-IgM	Н-IgA
При поступлении	30-5,0	18-0,9	14-0,7	6-0,3	10-0,5	10-0,5
	58-9,6	14-1,3	16-1,5	4-0,38	0	0
Через 2 недели	35-8,40	20-1,1	18-1,5	8-0,67	8-0,67	10-0,84
	62-14,8	12-1,77	12-1,77	6-0,88	0	0
Формирование СДЛ	40-7,2	22-1,58	10-0,72	8-0,57	8-0,57	8-0,57
	55-9,9	12-1,18	10-0,99	8-0,59	0	0

0,001). В период выздоровления оно снижалось до величин здоровых детей. Процент ЭБ-рецепторнесущих нейтрофилов был постоянным на протяжении всего заболевания и не отличался от нормы. Однако абсолютное их количество было увеличено ($p < 0,01$), но только в разгар сепсиса. Аналогичные изменения претерпевала субпопуляция, имеющая ЭМ-рецепторы (табл. 3): только в разгар болезни было увеличено их абсолютное количество ($p < 0,01$), остальные показатели достоверно не изменялись. Только у 2-х больных показатели ЭМ⁺-нейтрофилов были снижены (4% – $0,31 \times 10^9$ клеток в 1 л). Относительное содержание количества нейтрофилов с ЭС-рецепторами в разгар септикопиемии имело тенденцию к снижению, а абсолютное не изменялось.

В разгар болезни имелась тенденция к уменьшению количества Ig-несущих нейтрофилов (табл. 3). У 2-х больных такие нейтрофилы не выявлялись, а у одного их количество было резко увеличено (18% – $1,125 \times 10^9$ клеток в 1 л). В период выздоровления имелось уменьшение абсолютного количества IgG-несущих нейтрофилов (табл. 3).

Среднее число IgM-несущих нейтрофилов в разгар сепсиса не отличалось от показателей здоровых детей. У одного больного такие нейтрофилы не выявлялись. Повторное обследование через 10 дней тоже не выявило у него этих нейтрофилов. При выздоровлении средние величины IgM-несущих нейтрофилов не отличалось от нормы.

Таблица 3

Динамика рецептор-несущих субпопуляций нейтрофилов при септикопиемии у детей 3-9 месяцев

Рецепторы для:	Септикопиемия (n=16)			Здоровые (n=6)
	разгар	в динамике через 10-15 дней	выздоровление	
ЭБ	22±3,7*	20,5±2,2	21,4±3,4	21,5±3,7
	1,6±0,28**	0,85±0,14	0,71±0,1	0,82±0,08
ЭМ	12±2,1	14±3,5	12±2,6	10,4±2,8
	0,92±0,17	0,59±0,11	0,4±0,09	0,38±0,08
ЭС	4±1,9		6±0,9	8±2
	0,32±0,065		0,19±0,045	0,31±0,078
Fc-γ	24±2,9		20±1,8	16±3,1
	1,7±0,27		0,65±0,1	0,45±0,04
ЭЧ-С3	12±2,1		8±1,7	6±2,8
	0,98±0,12		0,24±0,06	0,22±0,08
Зим.-С3	4±1,8		8±1,9	14±2,9
	0,3±0,07		0,21±0,07	0,5±0,06
Иммуноглобулиновые рецепторы:				
H-IgG	4±2,2	6±2,1	4±1,7	9,2±2,5
	0,29±0,08	0,25±0,08	0,13±0,06	0,39±0,087
H-IgM	4±2,3	4±1,7	8±1,9	7±1,9
	0,31±0,09	0,17±0,038	0,24±0,08	0,3±0,07
H-IgA	2±0,8	4,5±1,7	8±2	7,6±1,7
	0,16±0,04	0,18±0,04	0,25±0,06	0,28±0,078
% и количество				
нейтрофилов в 1 л крови	58±7,4	40±3,2	28±6,4	38,6±4,2
	7,54±0,34	4,1±0,16	3,1±0,18	3,8±0,37

Примечание:

* - процент РОК

** - их абсолютный показатель в млн клеток в 1 л крови

В скобках указано количество обследованных детей.

Сокращения: см. табл. 1

Процент IgA-несущих нейтрофилов в разгар септикопиемии был уменьшен и имелась тенденция к угнетению их абсолютного количества (табл. 3). У одного больного такие нейтрофилы не были обнаружены даже при повторном обследовании через 2 недели. Средние показатели этих нейтрофилов перед выпиской были в пределах возрастной нормы.

Оба показателя нейтрофилов, имеющих Fc γ -рецепторы увеличивались ($p < 0,05-0,001$) (табл. 3). Тенденция к увеличению числа этих клеток имелась и при выздоровлении детей. Примерно такие же изменения наблюдались и с нейтрофилами, несущими рецептор для комплемента (табл. 3).

Таким образом, у большинства больных данной группы наблюдалось лишь увеличение абсолютного количества нейтрофилов, несущих рецепторы, в основном за счет лейкоцитоза. Доля каждой из их субпопуляций среди других была довольно постоянной в динамике заболевания. Четкое увеличение относительных и абсолютных величин было характерно только для субпопуляций, имеющих Fc γ и C3-рецепторы, что указывает на «самостоятельность» этой субпопуляции нейтрофилов. Лишь у нескольких больных имелось значительное увеличение относительных и абсолютных показателей нейтрофилов с ЭБ⁺, ЭМ⁺ и Ig⁺ рецепторами. У некоторых больных временно не выявлялись нейтрофилы, несущие один из иммуноглобулинов.

1.3. Рецепторы нейтрофилов при септикопиемии у детей в возрасте 9-15 месяцев

В этот возрастной период у больных, как и в предыдущие периоды, отмечен нейтрофилез по относительным и абсолютным показателям. Нормализация уровня нейтрофилов наступала при выздоровлении. Как и в предыдущих группах больных, в данной наблюдались стабильные показатели процента ЭБ⁺-нейтрофилов, но в разгар болезни было увеличено их абсолютное количество (табл. 4).

У больных данной возрастной группы увеличивалось абсолютное количество ЭМ⁺-нейтрофилов, т.е. имеющих рецепторы для эритроцитов мышшей (табл. 3, $p < 0,001$). Это увеличение сохранялось в динамике заболевания и в период выздоровления.

В разгар септикопиемии субпопуляция нейтрофилов, несущая ЭС-рецепторы, не увеличивалась, относительное число её клеток среди остальных даже имело тенденцию к снижению. Однако, увеличивалось количество Fc γ -лимфоцитов и не снижалось до нормы при выздоровлении (табл. 4). Для Fc μ -нейтрофилов характерно было

даже снижение их относительного содержания. Увеличивались в разгар болезни оба показателя нейтрофилов, имеющих рецептор для частиц зимозана, покрытых комплементом, но другим методом выявлено только увеличение их абсолютного количества (табл. 4).

Среднее абсолютное количество IgG-несущих нейтрофилов в разгар сепсиса было увеличенным (табл. 4, $p < 0,05$). Однако их процент среди остальных субпопуляций был снижен ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. Показатели в группе в целом были неоднородными. Так, у 2-х больных абсолютное количество IgG⁺-нейтрофилов было резко увеличено (14% – $1,1 \times 10^9$ клеток в 1 л крови), а у одного больного они отсутствовали. У последнего при выздоровлении имелось только 2% – $0,046 \times 10^9$ клеток в 1 л. У остальных в этот период показатели нормализовались (см. табл. 4).

Относительное содержание IgM⁺-нейтрофилов в разгар септикопиемии у больных этого возраста было уменьшено ($p < 0,05$) и, несмотря на лейкоцитоз, не было увеличения их абсолютного количества (табл. 4). Это указывает на угнетение данной субпопуляции (IgM⁺-несущей) нейтрофилов при септикопиемии. Их показатели у большинства больных нормализовались в период выздоровления (табл. 4). Представляет интерес динамика показателей этих нейтрофилов у отдельных больных. Так, у больного С., возраст – 11 месяцев, в разгар клинических проявлений IgM⁺-нейтрофилы отсутствовали, через 2 недели после интенсивного лечения, при положительной динамике результат исследования оставался прежним, и лишь по выздоровлении через 1,5 месяца было обнаружено 2% – $0,055 \times 10^9$ клеток /л, т.е. значительно меньше нормального уровня.

В разгар болезни относительное количество IgA⁺-нейтрофилов имело тенденцию к снижению, однако за счет лейкоцитоза их абсолютное количество было увеличено ($p < 0,05$). Перед выпиской больных показатели соответствовали уровню этих клеток у здоровых детей.

Если считать, что каждый нейтрофил несет какой-то один рецептор и суммировать процентное количество всех субпопуляций нейтрофилов, то окажется, что в разгар септикопиемии в данной группе выявлялось около 55% рецептор-несущих нейтрофилов, при выздоровлении – 60%, а у здоровых детей – 67%. Аналогичная картина наблюдалась при септикопиемии и в предыдущих 2-х возрастных группах. В группе детей 10 дней-3 мес. в разгар болезни суммарный процент рецептор-несущих нейтрофилов был 44%, при выздоровлении – 49,5%, а у здоровых детей – 54%. В группе детей 3-9 месяцев этот показатель соот-

Таблица 4

Динамика количественных показателей рецептор-несущих нейтрофилов при септикопиемии у детей в возрасте 9-15 месяцев

Рецепторы для:	Септикопиемия (n=16)			Здоровые (n=5)
	разгар заболевания	в динамике через 10-15 дней	выздоровление	
ЭБ	24,5±4,2	22,8±3,2	22,5±4,1	21±2,9
	1,84±0,31	1,11±0,2	0,55±0,088	0,53±0,06
ЭМ	14,5±3,2	14,5±2,7	16,8±3,5	14±2,6
	1,1±0,21	0,76±0,1	0,46±0,08	0,28±0,07
ЭС	4±1,9		10±2,2	10±1,9
	0,32±0,07		0,27±0,07	0,21±0,05
Fc-γ	22,8±3,2		20±2,1	14±2,1
	1,72±0,24		0,5±0,08	0,3±0,08
Fcμ	6±2,1		10±1,4	14±2,4
	0,45±0,07		0,27±0,07	0,3±0,07
ЭЧ-СЗ	8±2,0		6±1,2	8±1,9
	0,65±0,09		0,2±0,04	0,17±0,04
Зим.-СЗ	26±3,2		14±3	14±2,6
	2,6±0,38		0,36±0,088	0,31±0,08
Иммуноглобулиновые рецепторы:				
Н-IgG	6±2,0	8±2,1	10±2,1	12±1,8
	0,5±0,06	0,41±0,05	0,28±0,067	0,25±0,037
Н-IgM	3,8±1,2	4,2±1,9	8,5±1,9	10±2,2
	0,31±0,08	0,21±0,04	0,28±0,04	0,22±0,03
Н-IgA	6±2,2	6±2,8	10±2,1	10±2,3
	0,49±0,07	0,3±0,044	0,27±0,065	0,2±0,043
% и количество				
нейтрофилов	68±6,4	54±7,0	39±4,3	29,8±4,2
в 1 л крови	8,1±0,38	5,2±0,34	2,6±0,23	2,1±0,22

Примечание:

* - процент РОК

** - их абсолютный показатель в млн клеток в 1 л крови

В скобках указано количество обследованных детей.

Сокращения: см. табл. 1.

ветственно равнялся 44%, 53% и 56%. Следовательно, в разгар септикопиемии у больных в крови уменьшалось количество рецептор-несущих нейтрофилов и, видимо, увеличивалось число малодифференцированных клеток, не имеющих рецепторов. Нормализация показателей субпопуляций рецептор-несущих нейтрофилов в основном совпадала с периодом улучшения или клинического выздоровления. Однако у некоторых больных имелся стойкий дефицит Ig-несущих субпопуляций нейтрофилов, вплоть до отсутствия IgG, IgM или IgA-несущих нейтрофилов не только в разгар сепсиса, но и через 10-14 дней после лечения. Перед выпиской из стационара таких больных Ig-несущие нейтрофилы появля-

лись в очень малом количестве. По-видимому, у этих больных имелся дефект связывания соответствующих иммуноглобулинов с поверхностью нейтрофилов, обусловленный или недостаточной экспрессией Fc-рецепторов на нейтрофилах или отсутствием цитотфильных субклассов иммуноглобулинов.

Между тем, наличие таких иммуноглобулинов, особенно еще имеющих свойства антител, на поверхности нейтрофилов крайне необходимо для их повышенной фагоцитарной активности, потому что нейтрофилы, не имеющие цитотфильных антител, менее функционально полноценны. Как указывалось в предыдущем разделе, лечение больной с дефектом Ig-несущих нейтрофилов было безуспешным.

2. Динамика субпопуляций нейтрофилов при септицемии

2.1. Особенности рецепторов нейтрофилов при септицемии у детей в возрасте 10 дней-3 месяцев

В разгар сепсиса у больных этой группы наблюдалось увеличение ($p < 0,001$) количества нейтрофилов в крови. Однако через 7-10 дней после обычного лечения их показатели нормализовались (табл. 5). Процент ЭБ⁺-нейтрофилов на высоте заболевания снижался ($p < 0,05$), но их абсолютное количество увеличивалось ($p < 0,05$) за счет лейкоцитоза. В процессе лече-

ния (через 7-10 дней) относительное количество этих клеток не отличалось от показателей здоровых детей. В период выздоровления имела тенденция к увеличению ЭБ⁺ субпопуляции нейтрофилов.

Относительное содержание субпопуляции ЭМ⁺-нейтрофилов в крови детей уменьшалось ($p < 0,05$), т.е. она угнеталась, но абсолютное их количество за счет лейкоцитоза не отличалось от нормы (табл. 5). В процессе лечения через 7-10 дней наблюдалось уменьшение ($p < 0,01$) абсолютного количества клеток этой субпопуляции и

Таблица 5
Динамика рецепторнесущих субпопуляций нейтрофилов при септицемии у детей 10 дней – 3 месяцев

Рецепторы для:	Септикопиемия (n=17)			Здоровые (n=8)
	разгар болезни	через 7-10 дней	выздоровление	
ЭБ	10±1,9*	14±2,9	24±2,8	18±2,9
	0,74±0,09**	0,33±0,1	0,65±0,1	0,47±0,03
ЭМ	6,4±1,7	7±2,4	12±3,0	14±2,6
	0,45±0,059	0,17±0,09	0,34±0,08	0,34±0,024
ЭС	16±2,4		8±2,2	8±1,4
	1,2±0,09		0,19±0,09	0,18±0,05
Fcγ	22±2,3		20±3,8	10±1,6
	1,6±0,1		0,44±0,08	0,2±0,09
Fcμ	6,6±1,3		12,8±1,9	14±3,6
	0,49±0,08		0,28±0,09	0,35±0,06
ЭГ-С3	9±1,8		4,5±1,6	4±1,2
	0,72±0,08		0,11±0,08	0,09±0,02
ЭЧ-С3	10±2,7		16±3,4	17±4,8
	0,69±0,09		0,36±0,11	0,24±0,098
Зим.-С3	6±2,8			12±2,6
	0,4±0,1			0,24±0,07
ФГА	20±3,3		24±4,7	22±4,8
	1,3±0,14		0,54±0,14	0,51±0,098
Иммуноглобулиновые рецепторы:				
Н-IgG	8±2,1	12±2,9	8±1,8	8±1,8
	0,58±0,08	0,26±0,05	0,2±0,03	0,2±0,03
Н-IgM	8,8±3,0	14,8±3,1	12±2,7	10±1,7
	0,59±0,08	0,31±0,1	0,32±0,1	0,25±0,03
Н-IgA	6,9±1,8	10±2,9	8±2,0	9±1,7
	0,51±0,09	0,24±0,08	0,21±0,09	0,21±0,03
% и абсолютное				
количество клеток в 1 л крови	56±6,4	52±4,8	35±4,2	35±4,3
	7,2±0,34	4,8±0,24	2,6±0,25	2,4±0,2

Примечание:

* - процент РОК

** - их абсолютный показатель в млн клеток в 1 л крови

В скобках указано количество обследованных детей.

Сокращения: см. табл. 1. ЭГ-С3 – эритроциты голубя, покрытые комплементом.

только при выздоровлении их показатели были такими же как у здоровых.

Субпопуляция нейтрофилов, имеющая рецепторы для эритроцитов собак (ЭС), была в разгар болезни представлена большим числом клеток ($p < 0,01$) и её доля среди остальных субпопуляций увеличивалась (табл. 5). В период выздоровления показатели нормализовались (табл. 5).

На нейтрофилах детей имелись рецепторы для Fc-фрагментов IgG (Fcγ) и IgM (Fcμ) (табл. 5), так как нейтрофилы связывали фиксированные эритроциты барана, покрытые бычьим сывороточным альбумином и антителами IgG или IgM к этому альбумину (табл. 5). Количество нейтрофилов с Fcγ-рецепторами при септицемии было увеличено ($p < 0,05$). В период клинического выздоровления их количество уменьшалось, но превышало нормальный уровень (табл. 5).

Относительное содержание нейтрофилов, несущих Fcμ-рецептор, было уменьшено, а абсолютное количество не изменялось в связи с лейкоцитозом. Возможно уменьшение Fcμ-рецепторнесущей субпопуляции связано с увеличением количества клеток Fcγ субпопуляции.

Рецепторы для комплемента (С3) определяли на нейтрофилах тремя методами (табл. 5): с помощью фиксированных эритроцитов, покрытых БСА, антителами к нему и комплементом (Ат-С3), с фиксированными эритроцитами, покрытыми комплементом – С3 (ЭЧ-С3), с зимозаном, обработанным комплементом (Зим.-С3). Несмотря на некоторые отличия полученных результатов, в основном они были сходными: в разгар септицемии абсолютное количество С3-рецептор-несущих нейтрофилов увеличивалось, относительное – достоверно не изменялось. При выздоровлении показатели соответствовали возрастной норме (табл. 5).

Нейтрофилы имели рецептор для ФГА, т.к. связывали фиксированные эритроциты, покрытые им (табл. 5). В разгар септицемии было увеличено только абсолютное количество этих клеток, при постоянном их относительном количестве в динамике заболевания (табл. 5).

Средний процент нейтрофилов, несущих иммуноглобулины классов G, M, A достоверно не изменялся в динамике заболевания, а абсолютное количество их было увеличено. Однако за средними показателями скрывалась значительная гетерогенность показателей. Так, например, у 2-х больных в разгаре заболевания было резко увеличено количество IgG⁺-нейтрофилов (24% – $2,38 \times 10^9$ кл/л). У других 2-х больных не выявлялись IgM⁺-нейтрофилы. Двое больных имели рез-

ко увеличенную субпопуляцию IgA⁺-нейтрофилов ($26,5-2,38 \times 10^9$ кл/л).

Таким образом, динамика изменений при септицемии разных рецепторов на нейтрофилах была различной. Эти изменения можно объединить в четыре однородные группы, которые, по-видимому, отражали динамику каких-то 4-х основных субпопуляций нейтрофилов. Увеличение в разгар сепсиса абсолютного числа рецептор-несущих нейтрофилов при постоянном относительном количестве было характерно для 1-й основной их субпопуляции, несущей несколько описанных нами рецепторов (С3⁺, ФГА⁺). Это увеличение было обусловлено лейкоцитозом. В то же время, относительное число нейтрофилов с некоторыми рецепторами (ЭБ⁺, ЭМ⁺, FcIgM⁺) уменьшалось, что указывало на угнетение этой 2-й «основной» субпопуляции, т.к. нормальные абсолютные их величины были обусловлены лейкоцитозом. Для 3-й основной субпопуляции нейтрофилов (её рецепторы ЭС⁺, Fcγ) было характерно увеличение как абсолютного, так и относительного количества нейтрофилов, т.е. истинная её стимуляция. 4-я субпопуляция характеризовалась сохранением увеличения количества нейтрофилов в период выздоровления (её рецепторы – Fcγ).

2.2. Особенности фенотипа нейтрофилов при септицемии у детей в возрасте 3-9 месяцев

Количество всех нейтрофилов в крови этих детей было увеличено в разгар заболевания и снижалось до нормального уровня уже в течение 10-14 дней под влиянием лечения.

В целом можно отметить, что изменение рецепторов нейтрофилов в данной возрастной группе были меньше выражены, чем в предыдущей (табл. 6).

Отмечено достоверное увеличение абсолютного количества ($p < 0,05$) ЭБ⁺-нейтрофилов, ЭМ⁺-нейтрофилов, ЭС⁺-нейтрофилов при относительном нормальном их содержании (см. табл. 6). Для нейтрофилов, имеющих ЭС⁺-рецептор, было характерно увеличение как абсолютного, так и относительного их количества. Аналогичным изменениям подвергались субпопуляции нейтрофилов, имеющие Fcγ-рецепторы и рецептор для комплемента (метод с Ат-С3). Их показатели, абсолютные и относительные, тоже были увеличены в разгар болезни ($p < 0,05-0,001$). Это указывает на то, что субпопуляция, имеющая Fcγ-рецептор, отличается от предыдущих. Для всех перечисленных субпопуляций нейтрофилов была характерна нормализация показателей уже при улучшении состоя-

Таблица 6

Динамика рецепторнесущих субпопуляций нейтрофилов при септицемии у детей 3-9 месяцев

Рецепторы для:	Септикопиемия (n=12)			Здоровые (n=6)
	разгар болезни	через 7-10 дней	выздоровление	
ЭБ	21,4±3,1*	19,4±2,8	23,5±3,4	21,5±3,7
	1,7±0,1**	0,8±0,1	0,76±0,12	0,82±0,08
ЭМ	8,2±2,8	10±2,2	10±2,4	10,4±2,8
	0,62±0,087	0,43±0,09	0,34±0,09	0,38±0,08
ЭС	18±2,3	14±2,8	10,5±2,1	8±2
	1,29±0,21	0,57±0,15	0,34±0,1	0,31±0,07
Fcγ	24±4,2		14±3,1	16±3,1
	1,89±0,13		0,36±0,08	0,45±0,04
ЭГ-С3	18±3,8		8±1,9	6±2,8
	1,29±0,19		0,2±0,08	0,22±0,08
ЭЧ-С3	12±2,8		12±3,4	14±2,6
	0,98±0,12		0,29±0,88	0,53±0,098
Зим.-С3	12±2,7		14±3,1	14±2,9
	1,0±0,2		0,34±0,11	0,5±0,06
Иммуноглобулиновые рецепторы:				
Н-IgG	6,5±3,3	6±2,8	8±2,5	9,2±2,5
	0,39±0,075	0,25±0,06	0,28±0,07	0,39±0,087
Н-IgM	6,2±1,9	8,0±1,9	8±2,1	7±1,9
	0,38±0,1	0,34±0,12	0,27±0,11	0,3±0,07
Н-IgA	6,4±1,9	6±1,8	6,5±1,9	7,6±1,7
	0,38±0,12	0,25±0,09	0,22±0,098	0,28±0,078
% и абсолютное				
количество клеток	58±5,2	48±5,4	35±4,2	38,6±4,2
в 1 л крови	7,83±0,23	4,1±0,21	3,3±0,3	3,8±0,37

Примечание:

* - процент РОК

** - их абсолютный показатель в млн клеток в 1 л крови

В скобках указано количество обследованных детей.

Сокращения: см. табл. 1.

ния в процессе лечения ещё до полного клинического выздоровления.

Следовательно, для данной возрастной группы было характерно значительное постоянство относительных показателей рецептор-несущих нейтрофилов, за исключением их субпопуляции, имеющей ЭС⁺ и Fcγ-рецепторы. Учитывая то, что аналогичные изменения (т.е. истинную стимуляцию и увеличение относительного и абсолютного количества) эти нейтрофилы претерпевали и в предыдущей возрастной группе (10 дн-3 мес) больных септицемией детей можно считать, что нейтрофилы, имеющие эти рецепторы, представляют собой субпопуляцию, избирательно стимулируемую при данном инфекционном процессе.

Таким образом, при септицемии у детей выявлялась, избирательно стимулируемая субпопуля-

ция нейтрофилов с фенотипом (ЭС⁺, Fcγ), увеличение относительных и абсолютных показателей которой характерно для данной формы сепсиса. Обнаружены отличия в реактивности нейтрофилов и динамики их других субпопуляций при септицемии у детей разного возраста: для детей 10 дней - 3 мес, была характерна значительная полиморфность изменений показателей рецептор-несущих субпопуляций нейтрофилов как в сторону увеличения, так и снижения. Изменения у детей 3-9 мес. были более однородными, характерными только для одной субпопуляции нейтрофилов, при значительном постоянстве показателей других субпопуляций нейтрофилов. Это указывает на изменение у больных соотношений между различными суб-

популяциями нейтрофилов, имеющими различный фенотип.

3. Особенности изменений рецепторного аппарата нейтрофилов при разных формах сепсиса у детей

Как уже указывалось, состояние рецепторов нейтрофильных лейкоцитов зависело от тяжести инфекционного процесса, клинической формы заболевания и изменялось в динамике болезни. В острый период заболевания у детей (в возрасте до 3 мес) абсолютное количество нейтрофилов в 1 л крови при септицемии было несколько большим, чем при септикопиемической форме сепсиса, а процентное содержание одинаковым. Анализ рецепторов нейтрофилов проводили с учетом этих показателей. Нейтрофилы, несущие рецепторы для эритроцитов мышей, встречались в большем количестве при септикопиемии, а с рецепторами для эритроцитов человека и особенно собаки, наоборот, – при септицемии.

Нейтрофилы с ЭВ-рецепторами. При септицемии у детей до 3-х месяцев абсолютное и относительное количество ЭВ⁺-нейтрофилов было меньше ($p < 0,05-0,001$), чем при септикопиемии (табл. 7).

Нейтрофилы с ЭМ⁺-рецепторами. Не обнаружено достоверных отличий показателей этих нейтрофилов при 2-х формах сепсиса у детей 10 дн.-3 мес. Абсолютное количество этих клеток было больше ($p < 0,05$) в разгар септикопиемии по сравнению с септицемией (табл. 7) у детей 3-9 мес.

Нейтрофилы с Ig⁺-рецепторами. Не было отличий при разных формах сепсиса в динамике IgG⁺ нейтрофилов у детей в возрасте 10 дней-3 мес. В разгар септицемии у этих детей было увеличено ($p < 0,05$) абсолютное количество IgG⁺-нейтрофилов и имела тенденция к увеличению их относительного содержания. Аналогичная ситуация наблюдалась и с IgA⁺-нейтрофилами; их абсолютное количество тоже было увеличено ($p < 0,05$) при септицемии (табл. 7). У детей в возрасте 3-9 мес. в разгар болезни имела тенденция к увеличению количества IgG⁺-нейтрофилов при септицемии, оно же сохранялось и при выздоровлении. Показатели IgM⁺-нейтрофилов существенно не отличались при этих формах сепсиса. Однако относительное и абсолютное количество IgA⁺нейтрофилов было больше ($p < 0,05, -0,001$) в разгар септицемии. Следовательно, имела общую тенденцию – увеличение количества IgG, IgM, IgA-положительных нейтрофилов при септицемии по сравнению с септикопиемией.

Нейтрофилы с ЭС⁺-рецепторами. У детей 10 дн.-3 мес их количество было большим в разгар

септицемии по обоим показателям (табл. 7). В возрасте 3-9 мес. таких различий не наблюдалось.

Нейтрофилы с Fc⁺-рецепторами. Показатели Fc_g нейтрофилов не различались при 2-х формах сепсиса и были увеличены в разгар заболевания и снижались при выздоровлении. Однако при выздоровлении у детей 3-9 мес абсолютное количество было меньше при септицемии. Абсолютное количество Fc_γ-нейтрофилов было большим ($p < 0,05$) при септикопиемии у детей 3-10 мес. в разгар болезни.

Нейтрофилы с C3-рецепторами. В разгар септицемии у детей 10 дней-3 мес, этих клеток было меньше по обоим показателям при определении методом с зимозаном, покрытым комплементом. Наоборот, другим методом их выявлено несколько больше при септицемии, чем при септикопиемии.

Таким образом, при септикопиемии и септицемии у детей имелись различные изменения в составе субпопуляций нейтрофилов. Следовательно, при этих двух формах сепсиса нейтрофилы крови больных значительно различались по структурам мембран, связывающим ксеногенные эритроциты, и наличию иммуноглобулинов, что, по-видимому, обусловлено разной степенью дифференцировки. Обычно абсолютное количество нейтрофилов с этими рецепторами было несколько увеличенным по сравнению с показателями у здоровых детей, видимо в связи с увеличением количества лейкоцитов в крови. Обращало на себя внимание значительное колебание показателей у разных больных одной группы, что было особенно выраженным в отношении нейтрофилов, несущих рецепторы к ксеногенным эритроцитам. Большой интерес представляет распределение иммуноглобулиновых рецепторов на нейтрофилах при сепсисе. Эти рецепторы они, по-видимому, приобретают путем связывания иммуноглобулинов крови через свои Fc-рецепторы.

Данные свидетельствуют о том, что не только отсутствие, но и резкое увеличение количества нейтрофилов, несущих иммуноглобулины, является неблагоприятным прогностическим признаком, причем значительные изменения могли касаться одного или нескольких рецепторов нейтрофилов у разных больных, указывая на иммунодефицитное состояние.

В процессе лечения при улучшении клинического состояния отмечалась положительная динамика в показателях, характеризующих рецепторы нейтрофилов. В тех случаях, когда отсутствовали нейтрофилы с иммуноглобулиновыми рецепторами, они появлялись при улучшении состояния

больного. Резко увеличенное содержание нейтрофилов с некоторыми иммуноглобулиновыми и Fc-рецепторами снижалось до нормального уровня. При незначительном улучшении не было полной нормализации рецепторов нейтрофилов. Следовательно, состояние рецепторов нейтрофильных нейтрофилов взаимосвязано с особенностями клинического течения сепсиса у детей. По-видимому, недостаточная экспрессия этих рецепторов на нейтрофилах имеет большое значение в патогенезе септического процесса. Наряду с изменениями рецепторного аппарата нейтрофилов при сепсисе мы наблюдали значительные сдвиги в составе популяций Т- и В-лимфоцитов и особенно увеличение количества «нуль»-лимфоцитов, не имеющих рецепторов [7]. Можно полагать, что эти процессы взаимосвязаны и отражают важные механизмы патогенеза гнойно-септических заболеваний у детей, которые развиваются в условиях иммунодефектности рецепторов лимфоцитов и нейтрофилов.

Увеличение общего количества нейтрофилов с Fc-рецепторами при сепсисе не сопровождалось параллельным повышением числа IgG-несущих и IgM-несущих клеток, наиболее способных к фагоцитозу за счет антител этого класса. Это указывает на их функциональную неполноценность. Возможно, внутривенное введение IgG, связывающегося со свободными Fcγ-рецепторами нейтрофилов, может усиливать их функциональную, фагоцитарную активность. Определение рецепторного фенотипа нейтрофилов, в частности их Fcγ, Fcμ, Fcα, C3 (CD21) рецепторов

необходимо для оценки иммунного статуса больных с иммунодефицитами [7, 8, 9].

Выводы

1. При септикопиемии и септицемии у детей имелись различные изменения в составе субпопуляций нейтрофилов. Обычно уменьшалось общее количество некоторых рецептор-несущих нейтрофилов. Для детей возрастом 10 дней – 3 мес была характерна вариабельность изменений рецептор-несущих субпопуляций нейтрофилов в отличие от детей 3-9 мес. Субпопуляция, имеющая ЭС⁺, Fcγ⁺-рецепторы увеличивалась. Отсутствие или резкое увеличение количества нейтрофилов, несущих иммуноглобулины, является неблагоприятным прогностическим признаком, причем значительные изменения могли касаться одного или нескольких рецепторов нейтрофилов. У умершей больной и очень тяжелых больных обнаружен стойкий дефицит IgM⁺ и IgA⁺ нейтрофилов, который сопровождался наиболее тяжелым течением сепсиса. При септицемии было увеличено количество IgG⁺-нейтрофилов по сравнению с септикопиемией.

2. В процессе лечения при улучшении клинического состояния отмечалась положительная динамика в показателях, характеризующих рецепторы нейтрофилов. Резко увеличенное содержание нейтрофилов с некоторыми иммуноглобулиновыми и Fc-рецепторами снижалось до нормального уровня. При незначительном улучшении не было полной нормализации рецепторов нейтрофилов.

Таблица 7

Сопоставление изменений показателей субпопуляций нейтрофилов при разных формах сепсиса

Рецепторы для:	Сепсис, септикопиемия				Сепсис, септицемия			
	До 3 мес		3-9 мес		До 3 мес		3-9 мес	
	разгар	выздоровление	разгар	выздоровление	разгар	выздоровление	разгар	выздоровление
ЭБ	++		- +		↓+	⊥+		
ЭМ					↓		⊥⊥	
IgG							⊥	
IgM					⊥+		⊥	
IgA			↓↓	↓↓	⊥+		++	
Зим. С3	++	↓	↓↓		++		⊥	
Fcγ	++	↓	++	++	++	++	++	↓
Fcμ					↓+	↓		

Примечание: + - достоверное увеличение показателей; ⊥ - тенденция к увеличению; ↓ - снижение. Первый показатель – относительный, второй – абсолютный.

Литература

1. Новиков Д.К. Противобактериальный иммунитет. Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2002; №2: 5-10.
2. Новиков Д.К. Медицинская иммунология, Минск, «Высшая школа», 2005.
3. Покровский В.И., Авербах М.М., Литвинов В.И., Рубцов И.В. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс. М.; 1979.
4. Ройт А. и др. Основы иммунологии. М.: 1996.
5. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология, М.; 2000.
6. Ярилин А.А. Иммунология. М.; 1999.
7. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса, Витебск-Москва, 1996.
8. Новиков Д.К. Патология системы иммунитета, Москва, «НАМ», 2003.
9. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунология, ВГМУ, 2006.
10. Fijen C.A.P., Bredius R.G.M., Kuijper E.J. et al. The role of Fcγ receptor polymorphisms and C3 in the immune defence against *Neisseria meningitidis* in complement-deficient individuals. *Clin. and Exp. Immunol.* 2000; №2: 338-45.
11. Platonov A.E., Shipulin G.A., Vershinina I.V. et al. Association of human FcγRIIa (CD32) polymorphism with susceptibility to and severity of meningococcal disease. *Clin. Infect. Diseases.* 1998; №4: 746-50.

*Работа выполнена в рамках проекта 01.15 ГНТП РБ
«Лечебные и диагностические технологии»*