

# Характеристика соотношения маркеров активации и апоптоза в крови пациентов с демодикозной инвазией

Кусая Н.В., Маркелова Е.В., Юцковский А.Д.

ГОУ ВПО ВГМУ Росздрава, Владивосток

## ХАРАКТЕРИСТИКА СПІВВІДНОШЕННЯ МАРКЕРІВ АКТИВАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ В КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З ДЕМОДИКОЗНОЮ ІНВАЗІЄЮ

Кусая Н.В., Маркелова О.В., Юцківській А.Д.

Досліджено імунологічні показники у 125 пацієнтів з демодикозом. Показано, що при розвитку демодикозної інвазії несприятливим вважається підвищення рівня *CD25+*, *HLA-DR+*, *CD95+* маркерів, зниження співвідношень *CD4+/CD95+*, *CD8+/CD95+*, підвищення співвідношень *CD16+/CD95+*, *CD22+/CD95+*, *CD25+/CD95+*. Зроблено висновок про те, що підвищення маркерів активації і готовності до апоптозу може свідчити про поширеність і тяжкість патологічного процесу, асоційованого з демодикозною інвазією і переважним розвитком імунної відповіді за змішаним типом.

## DESCRIPTION OF THE ACTIVATION AND APOPTOSIS MARKERS CORRELATION IN BLOOD OF PATIENTS WITH DEMODECTIC INVASION

Kusaya N.V., Markelova E.V., Yutskovskiy A.D.

The immunological indices have been explored at 125 patients with demodicosis. It is shown that under development of demodectic invasion the increase of the level of *CD25+*, *HLA-DR+*, *CD95+* markers, decline of the correlations *CD4+/CD95+*, *CD8+/CD95+*, increase of the correlations *CD16+/CD95+*, *CD22+/CD95+*, *CD25+/CD95+* are considered unfavorable. A conclusion is done that the activation markers' increase and readiness to apoptosis can be evidence of the dissemination and severity of the pathological process associated with demodectic invasion and prevailing development of immune answer of mixed type.

Заболевания, обусловленные паразитированием клещей-железниц называют демодикозом. Данная патология характеризуется длительным рецидивирующим течением и преимущественной локализацией на коже лица, что является физической и психоэмоциональной проблемой для пациента [1, 2].

В общей структуре заболеваний кожи демодикоз составляет около 3 %, а в структуре акнеформных дерматозов – более 10 % [3]. Между тем вопрос о степени патогенности клещей всё ещё неоднозначно расценивается исследователями. Так, одни полагают, что клещи рода Демодекс могут существовать на коже, не вызывая патологических изменений; вызывать развитие дерматоза; отягощать течение фоновых заболеваний кожи (акне, розацеа) [4]. Другие же расценивают клеща, как резидуального представителя микрофлоры кожи [5].

Вместе с тем у многих исследователей не вызывает сомнения, что клещ sensibilizует продуктами своей жизнедеятельности с развитием выраженной воспалительной реакции [6, 7].

Имеются данные, что процессы, происходящие в эпидермисе и дерме, находят отражение в иммунном ответе всего организма [2]. Иммунные механизмы в эпидермисе устанавливают равновесие между sensibilizующими и стабилизирующими сигналами, что ведет к эффективному иммунологическому представлению гаптенов, микробов и опухолевых антигенов [8].

Распознавание и элиминация антигена и развитие иммунных реакций по гуморальному или клеточному типу реагирования, как известно, составляют основную функцию лимфоцитов. Они достоверно отличаются по генетическим и функциональным характеристикам, дифференцируют их по поверхностным мембранным (дифференцировочным) маркерам – *CD* антигенам. Именно анализ количества клеток, определение вида *CD* маркеров, позволяют характеризовать тип, силу и характер иммунного ответа. Оценка субпопуляций лимфоцитов в сыворотке крови пациентов с демодикозом, свидетельствующей о снижении содержания абсолютного и относительного числа

содержания *T*-лимфоцитов, посвящено немало исследований [9, 10]. Между тем, принимая во внимание факт, что клетками, стимулирующими антителообразование и цитотоксичность, являются *T*-лимфоциты, несущие дифференцировочные антигены *CD3+/CD25+* и *CD3+/HLA-DR+*, а изменение уровня этих показателей характеризует функциональное состояние *T*-лимфоцитов, осуществляется контроль за реализацией иммунного ответа, мы сочли целесообразным оценить соотношение маркеров активации и апоптоза в сыворотке крови пациентов с демодикозом, что и стало целью исследования.

**Материалы исследования.** Обследовано 125 пациентов (93 женщины и 32 мужчины в возрасте от 16 до 54 лет) с различными формами воспалительных заболеваний кожи лица, наблюдавшихся на базе МУПВ «Врачебная косметологическая лечебница». Длительность заболевания составляла от 2 месяцев до 10 лет и зависела от вида дерматоза:

- в группе с демодикозом она составила  $5,26 \pm 0,78$  месяца;
- на фоне угревой болезни –  $26,79 \pm 3,84$ ;
- на фоне розацеа –  $35,83 \pm 4,11$  месяца.

В группы исследования включались пациенты с обострением заболевания сроком от 14 до 30 дней. Группу контроля составили 50 здоровых добровольцев (студенты медуниверситета, клиенты станции переливания крови). Все пациенты обследованы по стандартной методике с одновременным тщательным анализом анамнеза, клинических и лабораторных показателей. Диагноз устанавливали на основании жалоб, анамнеза заболевания, клинико-лабораторных данных, общеклинических и специальных методов исследования. У всех наблюдаемых пациентов диагноз подтвержден данными соскоба, с верификацией типовой принадлежности возбудителя, количественными показателями и оценкой степени активности демодекса. Пациенты консультированы смежными специалистами: гастроэнтерологом, гинекологом, аллергологом-иммунологом.

Исходя из состояния кожного покрова, основного ведущего клинического признака наблюдавшихся больных, мы разделили их на 4 группы:

- 1 группу составили 30 пациентов с проявлением преимущественно в центральной «Т» зоне (лоб, нос, медиальные поверхности щек и подбородок), не имеющие до этого патологических изменений на коже;
- 2 группу – 37 пациентов с вторичным демодикозом на фоне акне, с преимущественной

локализацией процесса на коже лба, латеральной поверхности щек, шеи;

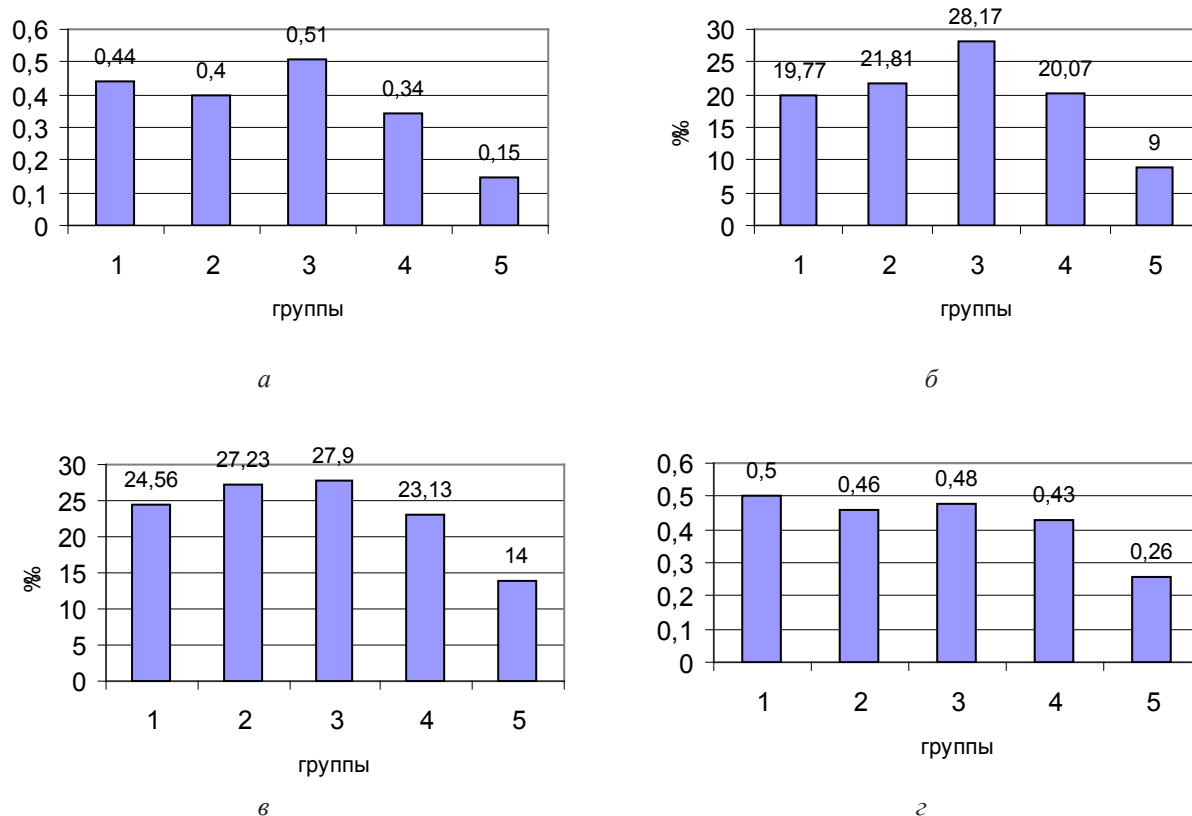
- 3 группу – 23 пациента с вторичным демодикозом на фоне розацеа;
- 4 группу составили 35 пациентов с легкой и среднетяжелой угревой болезнью, без признаков клещевой инвазии.

**Результаты и обсуждения.** При анализе дифференцировочного маркера *CD25+* клеток выявлено достоверное повышение как относительных, так и абсолютных показателей во всех группах исследования. Так, наибольшие значения зарегистрированы в группе больных с вторичным демодикозом на фоне розацеа (относительные –  $28,17 \pm 2,54$  %; абсолютные –  $0,51 \pm 0,06 \times 10^9$ /л;  $p < 0,001$ ), причем они статистически значимо отличались от показателей в группе с угревой болезнью (соответственно,  $20,07 \pm 1,44$  % и  $0,34 \pm 0,02 \times 10^9$ /л,  $p < 0,01$ ). Есть сведения, что одним из этиопатогенетических факторов развития розацеа является нарушение со стороны желудочно-кишечного тракта, такие как активизация патогенной флоры и нарушение в выработке вазоактивного пептида и других гормоноподобных веществ, что приводит к неоангиогенезу; по нашему мнению, повышение рецепторов к ИЛ-2 может косвенно подтверждать данный процесс. Также в исследовании были выявлены достоверные различия относительных величин между группами с первичным демодикозом и вторичным демодикозом на фоне розацеа ( $19,77 \pm 2,08$  % и  $28,17 \pm 2,54$  %, соответственно) и абсолютных показателей в группах с первичным демодикозом и угревой болезнью ( $0,44 \pm 0,03 \times 10^9$  и  $0,34 \pm 0,02 \times 10^9$ ,  $p < 0,05$ ) (Рис. 1, а, б).

Другим важным показателем функциональной активности состояния *T*-лимфоцитов является *HLA-DR+*. В результате исследования выявлено достоверное повышение *HLA-DR+* во всех группах сравнения как относительных, так и абсолютных значений. Так, наибольший показатель зафиксирован в группе пациентов с демодикозом на фоне розацеа –  $27,9 \pm 2,07$  % в сравнении с  $14,00 \pm 0,5$  % в крови здоровых ( $p < 0,001$ ). И наоборот, наиболее низкий, среди показателей групп исследования, отмечен в группах больных:

- с угревой болезнью –  $23,13 \pm 1,29$  % ( $p < 0,001$ );
- с демодикозом –  $24,56 \pm 1,1$  % ( $p < 0,001$ );
- с демодикозом на фоне угревой болезни –  $27,23 \pm 4,04$  % ( $p < 0,01$ ).

Наибольшие абсолютные значения зарегистрированы в группе больных с демодикозом –  $0,50 \pm 0,03 \times 10^9$ /л против  $0,26 \pm 0,03 \times 10^9$ /л в крови



Группы: 1 – демодикоз;  
 2 – демодикоз / угревая болезнь;  
 3 – демодикоз / розацеа;  
 4 – угревая болезнь;  
 5 – здоровые.

- а) абсолютные значения  $CD25^+$  в исследуемых группах (группам 1-4 соответствует  $p < 0,001$ );  
 б) относительные значения  $CD25^+$  в исследуемых группах (группам 1-4 соответствует  $p < 0,001$ );  
 в) относительные значения  $HLA-DR^+$  в исследуемых группах (группам 1, 3, 4 соответствует  $p < 0,001$ ; группе 2 –  $p < 0,01$ );  
 г) абсолютные значения  $HLA-DR^+$  в исследуемых группах (группам 1, 3 соответствует  $p < 0,001$ ; группам 2, 4 –  $p < 0,01$ );

Рисунок 1. Абсолютные (в  $10^9/л$ ) и относительные (%) значения  $CD25^+$  и  $HLA-DR^+$  в исследуемых группах здоровых ( $p < 0,001$ ) (Рис. 1, в, г).

Структурно-функциональный гомеостаз клеток и тканей состоит из сложного запрограммированного взаимодействия процессов обновления и отмирания клеток. Запрограммированная гибель клеток – апоптоз; значение апоптоза в поддержании гомеостаза трудно переоценить. Показатель отражает уровень негативной активации и готовности к апоптозу лимфоцитов, гранулоцитов, моноцитов. По уровню клеток, экспрессирующих этот маркер, можно судить о тяжести воспалительного процесса [11]:

- при повышении количества  $CD95^+$  возможно развитие аутоиммунного типа патологии;

- при снижении характерны лимфопролиферативные процессы.

В результате исследования нами выявлено статистически значимое повышение  $CD95^+$  в группе больных с первичным демодикозом и угревой болезнью, причем у пациентов с угревой болезнью уровень  $CD95^+$  превышал значения у пациентов с демодикозом как абсолютных, так и относительных показателей ( $1,32 \pm 0,41 \times 10^9/л$ ,  $22,77 \pm 1,84 \%$  и  $0,41 \pm 0,04 \times 10^9/л$ ,  $19,57 \pm 0,75 \%$ , соответственно,  $p < 0,05$ ).

По данным корреляционного анализа маркеров активации и апоптоза, выявлены следующие изменения:

а) в группе пациентов с первичным демодикозом выявлена:

- обратная корреляционная связь между  $CD8+$  и  $CD95+$  ( $r_s = -0,77, p < 0,05$ );

- прямая корреляционная связь между:

1)  $CD25+$  и  $CD95+$  ( $r_s = 0,96, p < 0,005$ );

2)  $CD16+$  и  $CD95+$  ( $r_s = 0,72, p < 0,05$ );

- отсутствие связи между:

1)  $CD4+$  и  $CD95+$  ( $r_s = 0,54, p > 0,05$ );

2)  $CD22+$  и  $CD95+$  ( $r_s = 0,72, p > 0,05$ );

б) в группе пациентов с вторичным демодикозом на фоне угревой болезни корреляционной связи между  $CD4+$  и  $CD95+$ ,  $CD8+$  и  $CD95+$ ,  $CD16+$  и  $CD95+$ ,  $CD22+$  и  $CD95+$ ,  $CD25+$  и  $CD95+$  выявлено не было;

в) в группе пациентов с вторичным демодикозом на фоне розацеа выявлена сильная обратная связь между:

-  $CD8+$  и  $CD95+$  ( $r_s = -0,98, p < 0,01$ );

-  $CD22+$  и  $CD95+$  ( $r_s = -0,89, p < 0,05$ );

-  $CD25+$  и  $CD95+$  ( $r_s = -0,98, p < 0,01$ );

корреляционной связи между  $CD4+$  и  $CD95+$ ,  $CD16+$  и  $CD95+$  выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

г) в группе пациентов с угревой болезнью выявлены корреляционные связи между:

-  $CD22+$  и  $CD95+$  ( $r = 0,53, p < 0,05$ );

-  $CD16+$  и  $CD95+$  ( $r = 0,36, p < 0,05$ );

между другими маркерами корреляционной связи выявлено не было.

Таким образом, анализируя полученные данные, выявили корреляционную зависимость между  $CD95+$  и другими маркерами лимфоцитов:

-  $CD8+$ ,  $CD25+$  – в группах пациентов с демо-

дикозом и демодикозом на фоне розацеа;

-  $CD16+$  и  $CD95+$  – в группах пациентов с демодикозом и угревой болезнью;

-  $CD22+$  и  $CD95+$  – в группах пациентов с демодикозом на фоне розацеа и угревой болезнью, –

и отсутствие зависимости между  $CD4+/CD95+$  во всех группах обследованных больных. В группе с демодикозом на фоне угревой болезни корреляционной зависимости выявлено не было. Данные показатели могут указывать на усиление активации и, в то же время, готовности к апоптозу для поддержания динамического равновесия, тогда как в группе с демодикозом на фоне угревой болезни данные показатели могут указывать на недостаточность взаимосвязей иммуноактивированных клеток в результате длительного подострого течения дерматоза на фоне низких антигенных нагрузок клеща.

Также для оценки оппозиционных маркеров лимфоцитов нами были проанализированы их соотношения относительно один другого. В результате исследования обнаружено, что соотношение  $CD4+/CD95+$  достоверно не отличалось у пациентов обследованных группах по сравнению с группой контроля ( $p > 0,05$ ), за исключением больных с демодикозом на фоне розацеа (табл. 1). Соотношение  $CD8+/CD95+$  превышало показатели здоровых обследованных в группе пациентов с угревой болезнью и достоверно снижалось в группе пациентов с демодикозом на фоне розацеа ( $p < 0,05-0,001$ ), причем этот показатель был достоверно ниже, чем в группе пациентов с демодикозом. Соотношения  $CD16+/CD95+$ ,

Таблица 1 - Соотношение маркеров активации и апоптоза у пациентов исследуемых групп

Группы обследованных	$\frac{CD4+}{CD95+}$	$\frac{CD8+}{CD95+}$	$\frac{CD16+}{CD95+}$	$\frac{CD22+}{CD95+}$	$\frac{CD25+}{CD95+}$
Здоровые	1,7±0,25	1,1±0,03	0,51±0,02	0,49±0,01	0,33±0,05
Больные с демодикозом	2,00±0,29	1,49±0,22 $p_2-p_4 < 0,01$	1,33±0,24***	1,63±0,28 ****	1,4±0,26****
Больные с демодикозом на фоне угревой болезни	1,88±0,35	1,5±0,36	0,82±0,11** $p_3-p_5 < 0,05$	1,24±0,24***	1,2±0,23****
Больные с демодикозом на фоне розацеа	0,66±0,08**	0,56±0,09**** $p_2-p_4 < 0,001$	1,02±0,04**** $p_3-p_4 < 0,001$	0,77±0,12* $p_4-p_5 < 0,001$	0,99±0,15****
Больные с угревой болезнью	2,17±0,44	1,63±0,25*	1,48±0,24****	1,19±0,2 ****	1,06±0,16****

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ;

\*\* –  $p < 0,01$ ;

\*\*\* –  $p < 0,005$ ;

\*\*\*\* –  $p < 0,001$ ;

$p_2-p_4$  – демодикоз/демодикоз на фоне розацеа;

$p_3-p_4$  – демодикоз на фоне акне/демодикоз на фоне розацеа;

$p_3-p_5$  – демодикоз на фоне акне/угревая болезнь;

$p_4-p_5$  – демодикоз на фоне розацеа/угревая болезнь.

CD22+/CD95+, CD25+/CD95+ достоверно превышали эти индексы в группе здоровых по сравнению со всеми группами обследованных пациентов ( $p < 0,05-0,001$ ) (табл. 1).

Таким образом, в результате исследования установлено, что при развитии демодикозной инвазии неблагоприятным считается:

- повышение уровня CD25+, HLA-DR+, CD95+ маркеров;
- снижение соотношений CD4+/CD95+, CD8+/CD95+;
- повышение соотношений CD16+/CD95+,

CD22+/CD95+, CD25+/CD95+.

Повышение маркеров активации и готовности к апоптозу может свидетельствовать о распространенности и тяжести патологического процесса, ассоциированного с демодикозной инвазией и преимущественным развитием иммунного ответа по смешанному типу. Представляется актуальным изучение взаимосвязи между типом иммунного реагирования и тяжестью патологического процесса у различных групп населения, а также изучение влияния данного типа иммунного реагирования на течение заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вострокнутова Т.М. Клещи-железницы и проблемная кожа лица / Т. М. Вострокнутова, М. А. Мокроносова // Лечащий врач. - 2007. - № 9. - С.10-12.
2. Akilov O. E. A clinico-patological of human demodocosis / O. E. Acilov, Yuri S. Butov, Kosta Y. Mumcuoglu // J. der Deutschen Dermatologisch-Gesellschaft. - 2005. - Bd. 8. - S. 607-614.
3. Самцов А.В. Акне и акнеформные дерматозы / А. В. Самцов. - М: ООО «ЮТКОМ», 2009. - 288 с.
4. Бутов Ю.С. Клинические особенности и вопросы классификации демодикоза кожи / Ю.С. Бутов, О.Е. Акилов // Рос. журн. кожн. и венерич. болезней. - 2003. - № 2. - С.53-58.
5. Верхогляд И.В. Современная антипаразитарная терапия демодикоза / И.В. Верхогляд // Клинич. дерматол. венерол. - 2006. - № 4. - С.89-90.
6. Гумерова Е.И. Результаты исследований местного иммунитета при демадекозном блефароконъюнктивите / Е.И. Гумерова, В.Б. Мальханов, Н.Е. Шевчук // Вестн. офтальмологии. - 2004. - № 5. - С. 16-18.
7. Бутов Ю.С. Опыт применения крема розамет при лечении некоторых дерматозов / Ю.С. Бутов, Е.Н. Волкова // Вестн. дерматол. венерол. - 2005. - № 6. - С. 52-54.
8. Родионов А.Н. Дерматогистопатология: Руковод. для врачей. /А.Н. Родионов, К.И. Разнатовский - СПб., 2006. - 224 с.
9. Ягофаров Ф.Ф. Иммунореабилитация больных демодикозом / Ф.Ф. Ягофаров // Тез. докл. 4 Междунар. конгр. «Иммунореабилитация и реабилитация в медицине». - Сочи, 5-9 июля 1998 г. // Int. J. Immunorehabil. - 1998. - № 8 - С. 45.
10. Forton F. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin-surface biopsy / F. Forton, B. Siys // Bt. J. Dermatology. - 1993. - P. 650-659.
11. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А. Никулин. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 376 с.
12. Юцковский А.Д. Дерматозы лица: клинико-патогенетические и иммунологические аспекты / А.Д. Юцковский, Я.А. Юцковская, Н.В. Кусая, Е.В. Маслова, Н.Б. Метляева, Е.В. Наход // Тихоокеанский мед. журнал. - 2008. - № 3. - С. 78-82.