

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

with 5-nitrofurans (enterofuryl and furazolidon) on intestinal microbiocenosis at patients with shigellosis and acute intestinal infections (All) of mild severity degree, caused by conditionally-pathogenic microorganisms (CPM) has been carried out. It has been fixed that the inclusion into complex therapy of All promotes syndrome of antibacterial preparation enterofuryl, unlike furazolidon faster removal of intoxication symptoms, phenomena of flatulence, diarrhea and shortening of duration of disease acute

period. 5-daily course of medical treatment of shigellosis Sonnei and Flexneri and other All, caused by CPM with enterofuryl was effective accordingly in 80,0, 70,0 and 83,3 %, and with fourazolidon – only in 54,5, 53,8 and 66,7 % cases. Unlike furazolidon, enterofuryl has higher sanation efficiency in relation to shigellas and CPM (proteus, klebsiellaes, entero- and citrobacters) and is almost deprived negative influence on quantitative and quality ative composition of intestinal microflora.

© Курченко А.І., 2006  
УДК 616.211+617.711:056.3-056.7:57.083

**А.І. Курченко**

# РОЛЬ СТАФІЛОКОКОВИХ СУПЕРАНТИГЕНІВ У ПАТОГЕНЕЗІ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

*Стафілококові бактерійні токсини володіють здатністю суперантигенів активувати клітинний антиген-розпізнавальний рецептор Т-лімфоцитів у хворих на atopічний дерматит. Виявлено, що стафілококовий токсин синдрому токсичного шоку-1 (TSST-1) володіє вираженою здатністю активувати Т-лімфоцити хворих на atopічний дерматит порівняно з ентеротоксином В (SEB).*

Атопічний дерматит (АД) – це системне запальне захворювання шкіри, ведучою ланкою патогенезу якого є імунне порушення. Однією з основних причин розвитку запальної реакції при АД є відкрита нещодавно активізація Т-лімфоцитів, які інфільтрують шкіру [1]. Основною причиною такої активації Т-лімфоцитів багато дослідників вважають присутність на поверхні ураженої шкіри хворих великої кількості різноманітних бактерій, 90 % з яких складає золотистий стафілокок (*Staphylococcus aureus*) [2, 3].

Порівняно недавно була відкрита ціла серія імунологічно активних бактерійних білків, які володіють специфічними функціями та поєднаних під загальною назвою – суперантигени [4]. До цих білків були віднесені стафілококовий ентеротоксин В (SEB) та токсин-1 синдрому токсичного шоку

(TSST-1), стафілококовий ексфоліативний токсин (ExT) та ін. Суперантигени володіють унікальною здатністю стимулювати Т-лімфоцити через сегмент варіабельного ланцюга Т-клітинного антиген-розпізнавального рецептора (TCR). При цьому суперантигени здатні зв'язуватись з молекулами II класу головного комплексу гістосумісності HLA, імітуючи HLA-обмежене представлення антигенів через Т-клітинний антиген-розпізнавальний рецептор за відсутності самого антигенного пептиду в молекулі HLA [5]. Була висловлена думка, що активація Т-лімфоцитів у хворих на atopічний дерматит під дією бактерійних суперантигенів може відбуватися без попередньої переробки антигенів антиген-представляючими клітинами та презентації пептидів молекулами HLA [6].

Виходячи зі сказаного, метою дослідження стало вивчення *in vitro* проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові хворих на atopічний дерматит у відповідь на дію відомих стафілококових токсинів.

## Матеріали і методи

Під спостереженням перебувало 30 хворих на АД у стадії загострення захворювання. Діагноз АД ставили на підставі

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 2

Показники індексу активації клітин хворих на АД у відповідь на бактерійні токсини

Бактерійні токсини	Концентрації токсинів	Атопічний дерматит	Здорові донори
TSST-1	1000 ng/ml	28,9	9,6
	100 ng/ml	24,9	8,5
	10 ng/ml	23,7	7,9
	1 ng/ml	21,3	7,8
SEB	1000 ng/ml	1,8	16,6
	100 ng/ml	1,5	13,9
	10 ng/ml	1,0	11,5
	1 ng/ml	1,0	8,9

При співкультивуванні клітин хворих на АД з токсином-1 токсичного шоку в робочій концентрації від 1 до 100 ng/ml активна проліферація клітин спостерігалась у всіх пацієнтів з АД. При збільшенні концентрації токсину до 1 000 pg/ml активність клітин хворих з АД значно наростала порівняно з проліферативною активністю клітин, виділених у здорових донорів.

Зовсім протилежні результати були отримані при співкультивуванні клітин хворих на АД з різними робочими концентраціями стафілококового ентеротоксину В (SEB) - воно не збільшувало їх проліферативну активність порівняно з такою у клітин, виділених від здорових осіб (табл. 2).

Незважаючи на те, що мононуклеарні клітини периферичної крові хворих з АД легко доступні для вивчення *in vitro*, дослідження цих клітин в культурі виявилось технічно складним. Це було пов'язано з тим, що останні перебувають у різному стані та не здатні розмножуватись *in vitro* при звичайних методах культивування.

Для інтерпретації цієї нездатності були запропоновані два варіанти. Перший варіант припускає, що клітини, отримані від хворих з АД, можуть володіти високими вимогами до свого росту та розмноження *in vitro*. Другий варіант припускає, що у стані *in vitro* здатністю селективно розмножуватись володіють лише ті клітини, які знаходяться в активованому стані та експресують на своїй поверхні HLA-DR та CD25 (рецептор до інтерлейкіну 2). Таким чином, для того, щоб отримати культуру клітин периферичної крові хворих на АД з довгим терміном життя, необхідні ефективні стимулюючі компоненти, такі як рекомбінантні IL-2 та IL-4.

Однак, незважаючи на ці труднощі, нам вдалось створити умови для отримання достатньої кількості клітин у культурі, які можна було використовувати для подальшого дослідження їх проліферативної активності. Попередні роботи пока-

загальноновизнаних критеріїв, запропонованих Hanifin & Rajka. Хворі на АД мали атопічний анамнез захворювання та високі рівні загального та алерген-специфічного IgE в крові. Контрольну групу склали здорові донори (30 осіб).

Після отримання інформованої згоди кров хворих на АД та здорових донорів була взята для подальшого імунного дослідження.

Мононуклеари периферичної крові були виділені за стандартними методиками за допомогою центрифугування в градієнті щільності фіколл-ізопака. Клітини збирали та переносили для подальшої інкубації в 96-лункові планшети, які були заповнені культуральним середовищем RPMI-1640 з додаванням 10 % термоінактивованої фетальної бичачої сироватки, 100 од/мл пеніциліну, 100 мг/мл стрептомицину, 25 мкг *Herpes* та  $2,5 \cdot 10^{-5}$  М 2-меркаптоетанолу. Культуральний період загалом тривав 3 доби в атмосфері, яка містила 5 % CO<sub>2</sub>, та температурі інкубації 37 °C.

Як мітогени були використані конканавалін А (ConA) та фітогемаглютинін (ФГА), а також різні концентрації бактерійних токсинів - TSST-1 і SEB, виробництва фірми «Sigma» США.

Для вивчення проліферативної активності клітин крові хворих на АД використовувався <sup>3</sup>H-тимідин (<sup>3</sup>H-TdR), який додавали в кількості 1 μCi/на лунку за 14-16 год до дослідження. Клітини збирали на скловолокнистих фільтрах, а їх радіопоглинальну здатність вимірювали PHD-сцинтилярним рахівником. Результати дослідження виражали як середнє значення індексу стимуляції, який є співвідношенням між показниками активації клітин в дослідній групі та у групі без додавання мітогенів.

### Результати дослідження та їх обговорення

Мононуклеари периферичної крові, отримані від пацієнтів з АД, культивували зі звичайними мітогенними лектинами та стафілококовими токсинами в різних концентраціях.

Клітини крові хворих на АД давали відносно низьку мітогенну відповідь при співкультивуванні зі звичайними мітогенами порівняно з клітинами, отриманими від здорових донорів (табл. 1).

Таблиця 1

Показники індексу активації клітин хворих на АД у відповідь на мітогени

Мітогени	Атопічний дерматит	Здорові донори
ФГА	3,8	27,2
Con A	3,1	18,2

Можливість суперантигенної стимуляції клітин периферичної крові хворих на АД була підтверджена нами при вивченні дії стафілококових токсинів (табл. 2).

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

зали, що основна частина клітин (до 80 %), виділена у хворих на АД, була представлена CD3<sup>+</sup> Т-лімфоцитами. При цьому 75 % цих клітин експресували на своїй поверхні маркер CD4 [1].

Як виявилось, ці клітини володіють здатністю активно проліферувати у відповідь на дію різноманітних бактерійних токсинів *in vitro* [7]. Здатність клітин АД до проліферації у відповідь на дію стафілококових токсинів, таких як TSST-1, може означати, що мікробні суперантигени можуть відігравати важливу роль у патогенезі цього хронічного алергічного захворювання. Уражена шкіра atopічних пацієнтів є унікальним органом, який постійно піддається впливу різних патогенних факторів довкілля, у тому числі й бактерійних. Хронічна колонізація ураженої шкіри хворих на АД штамми бактерій *S. aureus* відмічена багатьма авторами, може призводити до періодичної активізації шкірного запального процесу. Це підтверджується зменшенням інтенсивності захворювання при застосуванні хворими місцевих і системних антибактерійних препаратів [8].

Як виявилось, бактерійні токсини, які володіють властивостями суперантигенів, можуть викликати *in vivo* активізацію Т-лімфоцитів периферичної крові, які мають виражене споріднення до епідермісу [9]. Наші дослідження підтвердили наявність у хворих на АД такої, володіючої тропізмом до шкіри, генерації Т-лімфоцитів, які здатні експресувати хомінг рецептор під назвою шкірний лімфоцитарний антиген (CLA) [10]. Незважаючи на відносно слабку загальну проліферативну активність окремих мононуклеарів периферичної крові, хронічна бактерійна колонізація шкіри хворих на АД може сприяти енергійній експансії клітин у вогнище запалення. Раніше повідомлялось, що дія бактерійних токсинів може призводити до посилення продукції IL-1 кератиноцитами епідермісу в умовах АД [11]. Було виявлено, що у відповідь на дію бактерійних токсинів в умовах шкірного запалення при АД здатність презентувати антиген набувають не тільки клітини Лангерганса, але й кератиноцити [4].

Ці спостереження дозволяють припускати, що епідерміс хворих на АД може бути середовищем для активізації та проліферації Т-лімфоцитів на тлі хронічного місцевого впливу суперантигенних бактерійних токсинів.

### Висновки

1. Стафілококовий токсин-1 токсичного шоку (TSST-1) значно підвищував індекс активізації

лімфоцитів, що були виділені з крові хворих на atopічний дерматит, порівняно з індексом активізації у здорових донорів.

2. Ентеротоксин В (SEB) стафілококу не впливав на індекс активізації лімфоцитів хворих на atopічний дерматит *in vitro*.

### Література

1. Skov L., Olsen J.V., Giorno R. et al. Application of staphylococcal enterotoxin B on normal and atopic skin induces upregulation of T cells via a superantigen-mediated mechanism // J. Allergy Clin. Immunol. - 2000. - V. 105. - P. 820-826.
2. Leyden J.J., Marples R.R., Kligman A.M. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis // Br. J. Dermatol. - 1974. - V. 90. - P. 525-530.
3. Hanifin J.M., Rogge J.L. Staphylococcal infections in patients with atopic dermatitis // Arch. Dermatol. - 1977. - V. 113. - P. 1383-1386.
4. Michie C.A., Davis T. Atopic dermatitis and staphylococcal superantigens [letter] // Lancet. - 1996. - V. 347. - P. 324.
5. Bunikowski R., Mielke M.E.A., Skarabis H. et al. Evidence for a disease promoting effect of *S aureus*-derived exotoxins in atopic dermatitis // J. Allergy Clin. Immunol. - 2000. - V. 105. - P. 814-819.
6. Strickland I., Hauk P.J., Trumble A.E. et al. Evidence for superantigen involvement in skin homing of T cells in atopic dermatitis // J. Invest. Dermatol. - 1999. - V. 112. - P. 249-253.
7. Cho S.-H., Strickland P.T., Tomkinson A. et al. Preferential binding of *Staphylococcus aureus* to sites of allergic skin inflammation using a murine model [abstract] // J. Allergy Clin. Immunol. - 2000. - V. 105. - S166. - Abstract 504.
8. Lever R., Hadley K., Downey D., Mackie R. Staphylococcal colonization in atopic dermatitis and the effect of topical mupirocin therapy // Br. J. Dermatol. - 1988. - V. 119. - P. 189-198.
9. Leung D.Y.M., Gatley M., Trumble A. et al. Bacterial superantigens induce T cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen, via stimulation of interleukin 12 production // J. Exp. Med. - 1995. - V. 181. - P. 747-753.
10. Курченко А.И., Дранник Г.Н., Курченко И.Ф. Особенности проявления экспрессии CLA-антигена Т-лимфоцитами периферической крови больных хронической формой atopического дерматита // Иммунология та алергологія. - 2005. - № 4. - С. 87-90.
11. Herz U., Schnoy N., Borelli S. et al. A human-SCID mouse model for allergic immune response bacterial superantigen enhances skin inflammation and suppresses IgE production // J. Invest. Dermatol. - 1998. - V. 110. - P. 224-231.

**SUPERANTIGENIC STAPHYLOCOCCAL  
TOXINS IN PATHOGENESIS OF ATOPIC  
DERMATITIS**

A.I. Kurchenko

**SUMMARY.** Stimulation of T-cells by superantigenic bacterial toxins is selective for cells bearing

particular B chain variable (VB) gene segments of T-cell receptor (TCR). Staphylococcal toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) stimulates T-cells activity, and proliferative response of atopic dermatitis cells. Staphylococcal enterotoxin B (SEB) does not activate T-cells of patients with atopic dermatitis.

© Андрейчин С.М., Лихацька Т.В., 2006  
УДК 616.33/342-002+616.36-002-036.12-06:616.71-007.234-008.8

**С.М. Андрейчин, Т.В. Лихацька**

**МІНЕРАЛЬНА ЩІЛЬНІСТЬ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ  
КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНИЙ ГОМЕОСТАЗ У ХВОРИХ  
НА ХРОНІЧНЕ ЗАПАЛЬНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ  
ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ В ПОЄДНАННІ  
З ХРОНІЧНИМИ ГЕПАТИТАМИ**

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

*На підставі клінічного та лабораторно-інструментального моніторингу (включаючи денситометрію поперекового відділу хребта та проксимального відділу правої стегнової кістки) вивчено частоту формування остеопатій. Встановлено, що у хворих на хронічне запальне захворювання гастродуоденальної зони на тлі хронічних гепатитів відмічався значніший ступінь остеодefіциту порівняно з хворими лише на хронічне гастроуденіти.*

За висновком експертів ВООЗ, остеопороз (ОП) за поширеністю посідає третє місце після серцево-судинних захворювань і цукрового діабету [1, 2]. ОП - це системне захворювання скелету, що характеризується зниженням кісткової маси і порушенням мікроархітекtonіки кісткової тканини, які призводять до значного збільшення її крихкості і, як наслідок цього, збільшення ризику переломів [1]. Медична та соціальна значимість проблеми зумовлена ще тим, що перелом шийки стегна у 20,0 % людей похилого віку стає причиною смерті, а 50,0 % людей у подальшому залишаються інвалідами та потребують реабілітаційних заходів [3-5]. Так, в 1990 р. число переломів шийки стегнової кістки жителів Землі, згідно оцінки спеціалістів в області математичного моделювання, складало 1,7 млн

випадків; на початку цього століття – 2,5 млн, а до 2050 р. ця цифра може досягнути 6 млн. Крім цього, населення Землі поступово старіє [2, 6]. Вік є найбільш важливою детермінантою маси кістки, при цьому зниження маси трабекулярної кістки починається значно раніше, ніж кортикальної. З віком погіршується «якість старіння» та «якість функції», знижується здатність організму адекватно реагувати на ендогенні та екзогенні впливи. Можна стверджувати не тільки про загальні тенденції старіння населення як причину підвищення рівня захворюваності, а й про «помолодшання» самого остеопорозу в силу погіршення екологічної ситуації і генетичних порушень. У структурі змін мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) важливе місце посідає вторинний остеопороз.

Метою роботи було вивчення стану МЩКТ та кальцій-фосфорного гомеостазу у хворих на хронічне запальне захворювання гастроуденальної зони (ХЗЗГДЗ) на тлі ХГ.

**Матеріали і методи**

Для постановки діагнозу, крім клінічного методу, використали широкий спектр лабораторно-інструментальних ме-