

КОМПОЗИЦИЯ ТРЕХ МУРАМИЛПЕПТИДОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В ИММУНОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПИОДЕРМИИ

Калюжин О.В.¹, Летяева О.И.^{2,3}, Зиганшин О.Р.², Маркеева Д.А.³,
Блохина Ю.В.⁴, Феденко Е.С.⁵, Попилюк С.Ф.⁶

¹ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

³ Многопрофильная профессорская клиника «СитиМед» центра ООО «Экология здоровья», г. Челябинск, Россия

⁴ ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер», г. Челябинск, Россия

⁵ ФГБУ «Государственный научный центр „Институт иммунологии“» ФМБА России, Москва, Россия

⁶ ООО «Корус-Фарма» – резидент кластера «Биомедицинские технологии» фонда «Сколково», Москва, Россия

Резюме. Цель работы – оценить клиническую эффективность стандартизованной композиции трех мурамилпептидов, содержащих остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты (Полимурамил), и влияние этого иммуномодулятора на субпопуляционный состав лимфоцитов, функцию циркулирующих нейтрофилов и концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке крови у больных с хронической рецидивирующей пиодермией. 35 мужчин (34,5±10 лет) с обострением хронической пиодермии (остеофолликулит, фолликулит, сикоз, фурункулез) рандомизировали в две группы, сопоставимые по возрасту и клиническим проявлениям болезни. В группе сравнения (n = 17) пациенты получали стандартное лечение, в основной группе (n = 18), кроме того, – Полимурамил внутримышечно по 200 мг ежедневно с 1-го по 5-й день исследования. Общую оценку клинической эффективности лечения проводили на 14-й день, через 1 и 6 месяцев. При этом «значительным улучшением» считали индукцию и сохранение полной клинической ремиссии; «улучшением» – индукцию и сохранение частичной ремиссии; «отсутствием эффекта» – сохраняющиеся признаки воспалительного процесса и отсутствие ремиссии. Иммунологические показатели исследовали на 0-й и 14-й дни, через 1 и 6 месяцев. Добавление Полимурамила к стандартному лечению вызывало выраженную тенденцию к увеличению доли больных со «значительным улучшением» или «улучшением» на 14-й день исследования: суммарная доля пациентов с любым клиническим улучшением была на 24% выше, а относительное число больных с «отсутствием эффекта» – в пять раз ниже, чем в группе сравнения (p = 0,076). Тренд по повышению клинической эффективности по указанным критериям сохранялся через 1 и 6 месяцев наблюдения. Через полгода доля пациентов без пустул/фурункулов в основной группе (9 из 18) превышала таковую в группе сравнения (3 из 17) (p = 0,047). Существенных межгрупповых отличий и динамики показателей функции нейтрофилов, субпопуляционного состава лимфоцитов и концентраций иммуноглобулинов в сыворотке крови не выявлено. Вместе с тем в основной группе через 6 месяцев отмечали тренд к повышению абсолютного числа Т-клеток за счет CD3⁺CD4⁺ субпопуляции, а также концентрации IgA в сыворотке крови. Результаты работы в совокупности с ра-

Адрес для переписки:

Калюжин Олег Витальевич
ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения РФ
119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2.
Тел.: 8 (916) 604-58-50.
Факс: 8 (499) 248-01-81.
E-mail: kalyuzhin@list.ru

Address for correspondence:

Kalyuzhin Oleg V.
First Moscow State I. Sechenov Medical University
119991, Russian Federation, Moscow, Trubetskaya str., 8,
bldg 2.
Phone: 7 (916) 604-58-50.
Fax: 7 (499) 248-01-81.
E-mail: kalyuzhin@list.ru

Образец цитирования:

О.В. Калюжин, О.И. Летяева, О.Р. Зиганшин,
Д.А. Маркеева, Ю.В. Блохина, Е.С. Феденко,
С.Ф. Попилюк «Композиция трех мурамилпептидов
грамотрицательных бактерий в иммунотерапии
хронической пиодермии» // Медицинская иммунология,
2019. Т. 21, № 6. С. 1187-1196.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1187-1196

© Калюжин О.В. и соавт., 2019

For citation:

O.V. Kalyuzhin, O.I. Letyaeva, O.R. Ziganshin,
D.A. Markeeva, Yu.V. Blokhina, E.S. Fedenko, S.F. Popilyuk
“A combination of three muramyl peptides derived from gram-
negative bacteria in immunotherapy of chronic pyoderma”,
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2019, Vol. 21, no. 6, pp. 1187-1196.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1187-1196

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1187-1196

нее опубликованными данными свидетельствуют о способности Полимурамила ускорять регрессию клинических проявлений и индуцировать стойкую ремиссию хронической пиодермии. При этом дизайн настоящего исследования и сроки взятия биологических образцов для лабораторных исследований не позволили зарегистрировать существенные сдвиги большинства изученных системных иммунологических показателей под влиянием иммуномодулятора, за исключением ранее описанной модуляции уровня про- и противовоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: хроническая пиодермия, инфекция кожи, мурамилпептиды, мезо-диаминопимелиновая кислота, иммуномодулятор, клиническая эффективность, функция нейтрофилов, субпопуляции лимфоцитов, иммуноглобулины

A COMBINATION OF THREE MURAMYL PEPTIDES DERIVED FROM GRAM-NEGATIVE BACTERIA IN IMMUNOTHERAPY OF CHRONIC PYODERMIA

Kalyuzhin O.V.^a, Letyaeva O.I.^{b,c}, Ziganshin O.R.^b, Markeeva D.A.^c, Blokhina Yu.V.^d, Fedenko E.S.^e, Popilyuk S.F.^f

^a First Moscow State I. Sechenov Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^c Multi-profile Professorial Clinic CityMed, "Ecology of Health" Center, Chelyabinsk, Russian Federation

^d Chelyabinsk Regional Clinical Dermato-venereal Dispensary, Chelyabinsk, Russian Federation

^e National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

^f Corus-Pharma Ltd – Resident of Skolkovo Foundation, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the present study was to evaluate the clinical efficacy of a standardized combination of three muramyl peptides containing a residue of meso-diaminopimelic acid (Polymuramyl), as well as effects of this immunomodulator on the lymphocyte subpopulation profile, function of circulating neutrophils, and concentrations of serum immunoglobulins in the patients with chronic recurrent pyoderma. Thirty-five men (34.5 ± 10 years) with exacerbation of chronic pyoderma (osteofolliculitis, folliculitis, sycosis, furunculosis) were randomized into two groups matched by age and clinical manifestations of the disease. In the comparison group ($n = 17$), the patients received standard treatment. In the main group ($n = 18$), in addition to the same standard treatment, the patients received intramuscular injections of Polymuramyl at a dose of 200 mg daily from day 1 to 5 of the study. The overall assessment of the treatment efficacy was performed on the day 14, and at 1 and 6 months of observations. Induction and maintenance of complete clinical remission were assessed as "significant improvement"; induction and maintenance of partial remission were considered to be "improvement"; persistent signs of skin inflammation and lack of remission were assessed as "lack of effect". Immunological parameters were studied on days 0 and 14, and then at 1 and 6 months of the study. Addition of Polymuramyl to the standard treatment caused a marked tendency towards increased proportion of the patients with «significant improvement» or «improvement» on the day 14: total ratio of the patients with any clinical improvement was 24% higher, and the relative number of the patients with "lack of effect" was five-fold lower than in the comparison group ($p=0.076$). A trend towards improved clinical efficacy, according to the above criteria, was maintained after 1 and 6 months of the study. At 6 months of the follow-up, the proportion of patients without pustules/furuncles in the main group (9 out of 18) exceeded that in the comparison group (3/17, $p = 0.047$). Significant inter-group differences and dynamics of indicators of neutrophil functions, subpopulation composition of lymphocytes and concentrations of immunoglobulins in serum were not detected. However, in the main group after the 6-month observation, there was an upward trend in the absolute number of T-cells due to CD3⁺CD4⁺ subpopulation, as well as serum IgA concentration. The results of this study are in accordance with previously published data, thus indicating the ability of Polymuramyl to accelerate regression of clinical manifestations of chronic pyoderma and induce sustained remission of this disease. At the same time, the design of present investigation and the timing of taking biological samples for laboratory tests did not allow to register significant changes in most of the studied systemic immunological parameters under the influence of immunomodulator, except for the previously described modulation at the level of pro- and anti-inflammatory cytokines.

Keywords: chronic pyoderma, skin infection, muramyl peptides, meso-diaminopimelic acid, immunomodulator, clinical efficacy, function of neutrophils, lymphocyte subpopulations, immunoglobulins

Введение

Пиодремии – зонтичный термин, объединяющий различающиеся по глубине поражения и клиническим проявлениям гнойно-воспалительные болезни кожи, течение которых зависит, с одной стороны, от свойств инфекционных агентов, с другой – от адекватности/эффективности иммунного ответа зараженного макроорганизма. Наиболее часто в качестве возбудителей пиодермии выступают представители родов *Staphylococcus* (*S. aureus*, реже – *S. epidermidis*) и *Streptococcus* (*S. pyogenes*). Эти бактерии привлекают к себе внимание не только как причина разнообразных, в том числе инвазивных, инфекционных болезней, но и как микроорганизмы, которые способны индуцировать и/или потенцировать дефекты различных звеньев противинфекционной защиты. По многим направлениям выигрывая эволюционную гонку вооружений с совершенствующейся системой защитных реакций хозяина, стафилококки и стрептококки научились уклоняться как от адаптивных, так и от врожденных иммунных механизмов [17]. *S. aureus* индуцирует целый ряд биохимических каскадов, в частности связанных с продукцией стафопаина В, вызывающих быструю апоптозоподобную гибель моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов [20]. *S. pyogenes* блокирует слияние фагосом с лизосомами в макрофагах, превращая эти клетки в резервуар для выживания и плацдарм для заражения новых клеток [13]. Кроме того, представители родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* манипулируют естественными механизмами иммунодемпфирования (то есть подавления избыточных иммунных реакций), связывая рецепторы с внутриклеточным ингибирующим мотивом ИТ1М и тем самым угнетая врожденные защитные механизмы макроорганизма [21]. Ключевыми чертами указанных бактерий является способность длительно колонизировать различные биотопы организма хозяина и вызывать рецидивирующие инфекции кожи и мягких тканей, не приводящие к формированию эффективной иммунной памяти и устойчивости к повторным заболеваниям.

В этой связи не вызывает сомнений востребованность иммуномодуляции как составной части комплексного лечения больных хроническими формами пиодермии, что актуализируют рациональный выбор эффективных средств восстановления антибактериальной защиты в коже и подкожной клетчатке.

В последнее 10-15 лет достаточно много работ было посвящено изучению роли цитозольных NOD-подобных рецепторов во врожденном иммунном ответе [16], а модуляция NOD1- и NOD2-зависимых сигналов рассматривается как одна

из перспективных стратегий в лечении целого ряда инфекционных заболеваний человека [3, 8]. NOD1 и NOD2 экспрессируются многими клетками, локализующимися в коже и подкожной клетчатке, в том числе моноцитами/макрофагами и дендритными клетками [10]. Кератиноциты человека, являющиеся ключевыми клетками врожденного иммунного ответа против *S. aureus* в коже [7], также экспрессируют NOD1 [12] и NOD2 [14].

Нейтрофилы человека экспрессируют NOD2, но не NOD1 [11]. Вместе с тем NOD1-агонисты, индуцируя выработку хемокинов, опосредованно мобилизуют нейтрофилы в зоны бактериальной инвазии [15].

Доказано участие NOD2-зависимых сигналов во врожденной защите от стафилококкового поражения кожи [19] и заживлении кожных ран [8].

Вышесказанное предопределило выбор иммуномодулятора Полимурамила как средства иммунотерапии хронической рецидивирующей пиодермии. Он представляет собой стандартизованную композицию трех природных мурамилпептидных фрагментов пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных бактерий, которые являются агонистами NOD1 и NOD2 [9]. Показания к клиническому применению этого препарата включают различные формы пиодермии и вторичные иммунодефицитные состояния, проявляющиеся инфекционно-воспалительными хроническими и рецидивирующими процессами кожи.

Недавно завершено пострегистрационное исследование по оценке клинической и иммуномодулирующей активности Полимурамила у больных хронической рецидивирующей пиодермией. Предварительные данные этой работы опубликованы [4]. Вместе с тем целый ряд клинических и особенно иммунологических показателей остались за рамками указанной статьи.

Цель настоящей работы – представить окончательные, ранее не опубликованные данные исследования клинико-иммунологической эффективности Полимурамила у больных с хронической рецидивирующей пиодермией с акцентом на системные иммунологические показатели.

Материалы и методы

Исследование проведено как открытое двухцентровое рандомизированное испытание. У всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании.

Клиническими базами исследования являлись Многопрофильная профессорская клиника «СитиМед» центра ООО «Экология здоровья» (г. Челябинск) и ГБУЗ «Челябинский областной

клинический кожно-венерологический диспансер» (г. Челябинск).

Лабораторные исследования выполнены в клиничко-диагностической лаборатории Многопрофильной профессорской клиники «Сити-Мед» центра ООО «Экология здоровья» (г. Челябинск) и центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Челябинск).

Полимурамил предоставлен для исследования ООО «Корус Фарм» в виде ампул по 0,5 мл, содержащих 200 мкг стандартизованной композиции трех мурамилпептидов, полученных из пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

В исследование включено 35 мужчин в возрасте 32 (27-40; 22-62) лет с обострением хронической рецидивирующей пиодермии (остеофолликулит, фолликулит, сикоз, фурункулез).

Критерии включения, невключения и исключения описаны ранее [4].

Распределение больных по группам проводилось случайным образом:

1) группа сравнения (17 человек), в которой пациенты получали стандартную терапию, включающую топические антибактериальные (фузидовая кислота в форме 2-процентного крема или мази наружно на область высыпаний 3-4 раза в сутки в течение 7-14 дней) и антисептические средства (фукорцин наружно на область высыпаний 3-4 раза в сутки в течение 7-14 дней), а при необходимости (при распространенном процессе и/или поражении лица) – системно действующие антибактериальные препараты (доксциклина моногидрат 100 мг перорально 2 раза в сутки в течение 10 дней);

2) основная группа (18 человек), в которой больные в дополнение к стандартной терапии, описанной выше, получали внутримышечно Полимурамил по 200 мг ежедневно в течение 5 суток (1-й – 5-й дни исследования).

За 1 день до начала лечения (0-й день) у всех включенных в исследование больных собирали полный медицинский анамнез; осуществляли физикальный осмотр с фотофиксацией и дерматоскопией, клинический анализ крови, посев из фурункула (при возможности взятия материала).

Каждый день с 0-го по 7-й день, затем на 14-е сутки, через 1 и 6 месяцев исследования оценивали клинические симптомы пиодермии, в том числе подсчитывали число пустул/фурункулов в стадии нагноения и инфильтрации.

Критерии общей оценки клинической эффективности

Клинические результаты проводимого лечения на 14-й день, через 1 и 6 месяцев исследова-

ния оценивали как «значительное улучшение», «улучшение», «без эффекта» в соответствии с критериями, детально описанными ранее [4]. Кратко, значительным улучшением считали индукцию и сохранение полной клинической ремиссии; улучшением – индукцию и сохранение частичной ремиссии; без эффекта – сохраняющиеся признаки воспалительного процесса и отсутствие ремиссии.

Методы иммунологических исследований

Образцы крови для изучения иммунологических показателей отбирали на 0-й и 14-й день, через 1 и 6 месяцев исследования.

Функциональную активность нейтрофилов периферической крови определяли по их способности поглощать частицы латекса с вычислением фагоцитарного индекса (доли активно фагоцитирующих нейтрофилов) и фагоцитарного числа (среднего числа поглощенных микросфер латекса одним фагоцитом) [1].

Способность нейтрофилов к кислородзависимому киллингу определяли в тестах по спонтанному и индуцированному восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) [5].

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови определяли методом проточной цитофлуориметрии [6] с помощью цитометра FC 500 Cytomics и двух-четырёх-параметрических реагентов линии IQ Test производства компании Beckman Coulter.

Уровень иммуноглобулинов А, G и M определяли турбидиметрическим методом с использованием реагентов фирмы Human согласно инструкции производителя.

Условной нормой иммунологических показателей считали референсные значения, принятые в клиничко-диагностической лаборатории Многопрофильной профессорской клиники «Сити-Мед» центра ООО «Экология здоровья» (г. Челябинск).

Статистическая обработка результатов

Полученные данные обработаны в программе Statistica 10 (StatSoft, США). Количественные характеристики представлены в тексте и таблицах в виде «Медиана (25-й – 75-й процентиля; минимум – максимум)». Значимость отличий количественных показателей независимых выборок определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни, зависимых выборок – критерия Вилкоксона. Значимость отличий независимых выборок по качественным признакам оценивали с помощью точного критерия Фишера, зависимых выборок – критерия Мак-Немара. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$. При $0,05 \leq p < 0,1$ констатировали статистическую тенденцию к различию выборок.

Результаты и обсуждение

Рандомизация привела к формированию вполне сопоставимых выборок больных. Так, не выявлено математически подтвержденных отличий между группой сравнения и основной группой по возрасту (соответственно, 31 (26-40; 24-54) и 32 (27-40; 22-62) года), анамнестическим данным, в том числе по частоте рецидивов пиодермии в течение предыдущего года, числу пустул/фурункулов до лечения (соответственно, 8 (3-12; 1-25) и 16,5 (3-20; 1-30)) и другим исходным клиническим и лабораторным параметрам [4].

Все включенные в исследование пациенты завершили его в соответствии с протоколом. Не зарегистрировано ни одного случая непереносимости Полимурамила и нежелательных явлений, связанных с проводимым лечением.

При добавлении Полимурамила к стандартному лечению обострения хронической пиодермии обнаружен явный тренд к увеличению доли больных со значительным улучшением или улучшением на 14-й день исследования. В основной группе суммарная доля больных с любым клиническим улучшением была на 24% выше, чем в группе сравнения. Полимурамил в пять раз снижал относительное число больных с отсутствием эффекта от проведенного комплексного лечения. Однако значимость вышеуказанных различий соответствовала лишь уровню статистической тенденции (рис. 1).

Указанные тренды сохранялись в течение всего периода наблюдения (через 1 и 6 месяцев ис-

следования). Так, через 1 месяц в основной группе доля больных со значительным улучшением более чем в два раза превышала таковую в группе сравнения, что математически было очень близко к уровню, когда можно констатировать статистическую тенденцию к отличию ($p = 0,102$). И через 1, и через 6 месяцев наблюдения доля больных с отсутствием эффекта от проведенного лечения снижалась под влиянием иммуномодулятора более чем в два с половиной раза; однако степень различий между группами не достигала порога математически подтвержденной значимости, что можно по крайней мере отчасти объяснить небольшим количеством пациентов в группах (рис. 1).

Данные о более стремительном и стойком снижении числа пустул/фурункулов у больных, получавших Полимурамил в дополнение к стандартному лечению, были уже опубликованы [4]. Однако ранее при оценке способности иммуномодулятора увеличивать долю пациентов, у которых отсутствуют элементы пиодермии через 6 месяцев от начала исследования, использован двухсторонний точный критерий Фишера, что позволило зафиксировать положительный эффект Полимурамила по указанному параметру лишь на уровне статистической тенденции. В результате критического пересмотра варианта математической обработки этого фрагмента исследования в настоящей работе применен более уместный односторонний точный критерий Фишера. В итоге выявлено статистически значимое межгрупповое различие по доле пациентов

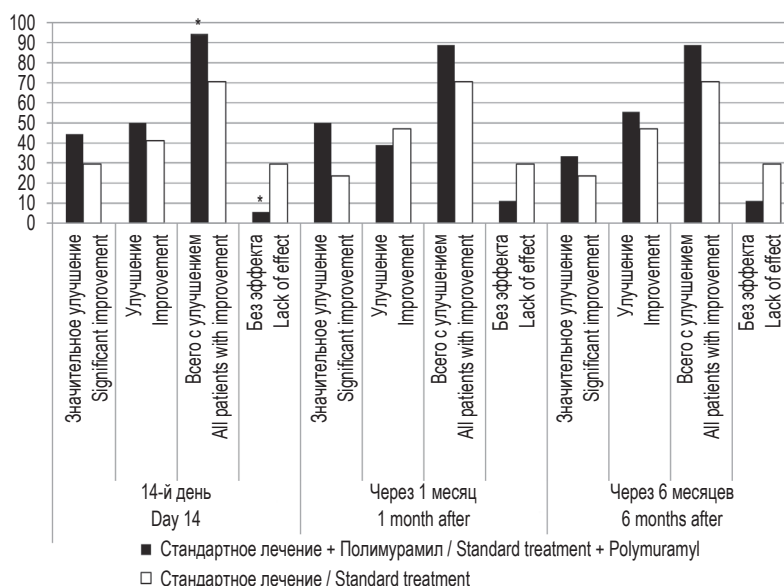


Рисунок 1. Доли больных с разным эффектом от проводимого лечения (%)

Примечание. Статистическая значимость отличий от показателей больных, получавших стандартное лечение (точный критерий Фишера): * – $p = 0,076$.

Figure 1. The proportion of patients with different effects of the treatment (%)

Note. Statistical significance of differences from indicators of patients receiving standard treatment (Fisher's exact test): *, $p = 0.076$.

без пустул/фурункулов через полгода: 9 из 18 и 3 из 17, соответственно, в основной группе и группе сравнения ($p = 0,047$).

Индукцию длительной ремиссии заболевания под влиянием короткого курса применения Полимурамила можно рассматривать как проявление NOD-опосредованного репрограммирования клеток врожденного иммунитета и формирования стойкого состояния повышенной сопротивляемости инфекциям, то есть феномена «тренированного иммунитета» [2].

Показатели спонтанной активности нейтрофилов по восстановлению НСТ исходно и в те-

чение всего исследования были в рамках референсных значений у подавляющего большинства включенных в исследование больных. До начала лечения и на 14-й день наблюдения медиана индекса спонтанного восстановления НСТ немного выходила за нижнюю границу условной нормы в обеих группах. Через полгода в группе сравнения этот индекс входил в диапазон референсных значений, тогда как у больных, получавших Полимурамил, даже несколько снижался. При этом не выявлено математически подтвержденных изменений внутри групп и различий между группа-

ТАБЛИЦА 1. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ПИОДЕРМИЕЙ НА ФОНЕ РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 1. FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES IN PYODERMA PATIENTS RECEIVING DIFFERENT TREATMENT OPTIONS

Показатель Indicator	Референсные значения Reference values	Стандартное лечение Standard treatment			Стандартное лечение + Полимурамил Standard treatment + Polymuramyl		
		0-й день Day 0	14-й день Day 14	Через 6 месяцев After 6 months	0-й день Day 0	14-й день Day 14	Через 6 месяцев After 6 months
НСТ – спонтанная активность (%) NBT, spontaneous activity (%)	0-15	4,5 (3,5-7,5; 2-9)	6 (3-9; 2-38)	7,5 (3-14; 3-20)	7 (2-11; 1-16)	8 (3-9; 1-34)	2,5 (2-5; 1-31)
НСТ – спонтанный индекс (у. е.) NBT, spontaneous index (c. u.)	0,10-0,15	0,065 (0,040-0,095; 0,02-0,11)	0,07 (0,04-0,11; 0,02-0,51)	0,13 (0,03-0,22; 0,03-0,33)	0,095 (0,02-0,15; 0,02-0,19)	0,085 (0,03-0,12; 0,01-0,45)	0,025 (0,02-0,05; 0,01-0,34)
НСТ – индуцированная активность (%) NBT, induced activity (%)	28-60	43 (34-55; 27-58)	43 (31-49; 27-75)	47,5 (40-58; 40-61)	40 (39-45; 27-56)	40 (34-44; 27-52)	43 (35,0-48,5; 30-63)
НСТ – индуцированный индекс (у. е.) NBT, induced index (c. u.)	0,4-1,5	0,57 (0,485-0,735; 0,37-0,99)	0,69 (0,56-0,85; 0,37-1,28)	0,755 (0,61-0,86; 0,61-0,98)	0,59 (0,49-0,72; 0,36-0,93)	0,6 (0,56-0,64; 0,37-0,98)	0,68 (0,545-0,795; 0,45-1,12)
Фагоцитарный индекс (%) Phagocytic index (%)	30-80	58 (53,5-65,5; 47-79)	65 (57-70; 54-88)*	65 (64-73; 57-75)	60,5 (54-67; 48-82)	62 (56-67; 46-75)	56,5 (50,5-67,0; 48-77)
Фагоцитарное число (у. е.) Phagocytic number (c. u.)	2-9	7,0 (6,95-8,65; 5,0-9,9)	7,9 (6,9-10,2; 5,6-10,8)	8,6 (6,4-9,2; 5,2-9,2)	7,4 (6,1-8,0; 4,6-10,5)	7,9 (7,0-8,7; 4,9-9,6)	6,2 (5,2-8,0; 5,2-10,4)

Примечание. Статистическая значимость отличий от показателей в 0-й день исследования (критерий Вилкоксона): * – $p = 0,049$.

Note. Statistical significance of differences from the indicators on day 0 of the study (Wilcoxon test): * – $p = 0.049$.

ТАБЛИЦА 2. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПИОДЕРМИЕЙ НА ФОНЕ РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 2. SUBPOPULATION COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PYODERMA PATIENTS RECEIVING DIFFERENT TREATMENT OPTIONS

Показатель Indicator	Референсные значения Reference values	Стандартное лечение Standard treatment			Стандартное лечение + Полимурамил Standard treatment + Polymuramyl		
		0-й день Day 0	14-й день Day 14	Через 6 месяцев After 6 months	0-й день Day 0	14-й день Day 14	Через 6 месяцев After 6 months
CD3⁺CD19⁻ клетки (%) CD3 ⁺ CD19 ⁻ cells (%)	61-85	67,4 (62,4-71,6; 59,9-74,5)	68,2 (63,5-72,6; 61,2-75,2)	66,9 (64,0-70,8; 57,2-77,0)	70,1 (65,5-71,0; 52,0-75,2)	70,0 (68,3-71,5; 39,2-78,7)	69,5 (67,2-75,3; 65,8-77,8)
CD3⁺CD19⁻ клетки (× 10⁶ клеток/л) CD3 ⁺ CD19 ⁻ cells (× 10 ⁶ cells/l)	946-2079	1400 (1283-1706; 1080-2461)	1399 (1221-1782; 1071-2052)	1310 (1117-1530; 1117-1993)	1296 (1080-1661; 651-2052)	1360 (1064-1670; 612-2581)	1537 (1300-1841; 948-2202)
CD3⁺CD4⁺ клетки (%) CD3 ⁺ CD4 ⁺ cells (%)	35-55	42,3 (32,3-45,8; 24,1-50,3)	39,4 (33,0-44,6; 23,0-49,8)	37,4 (32,3-49,0; 32,3-54,2)	40,1 (36,7-42,7; 33,5-48,7)	41,9 (39,2-44,5; 30,2-48,3)	42,7 (37,4-46,8; 31,7-54,9)
CD3⁺CD4⁺ клетки (× 10⁶ клеток/л) CD3 ⁺ CD4 ⁺ cells (× 10 ⁶ cells/l)	576-1336	836 (709-988; 645-1256)	750 (649-1098; 613-1370)	835 (539-999; 539-1338)	789 (560-913; 371-1316)	835 (645-1024; 371-1418)	917 (710-1165; 521-1554)
CD3⁺CD8⁺ клетки (%) CD3 ⁺ CD8 ⁺ cells (%)	19-35	25,6 (19,5-28,9; 13,2-35,8)	27,7 (21,1-31,7; 16,3-39,5)	23,7 (21,2-25,0; 16,1-29,5)	23,4 (19,0-30,1; 17,5-35,1)	25,8 (21,1-27,5; 16,6-37,5)	26,3 (19,9-29,8; 16,9-65,4)
CD3⁺CD8⁺ клетки (× 10⁶ клеток/л) CD3 ⁺ CD8 ⁺ cells (× 10 ⁶ cells/l)	372-974	507 (388-709; 279-1385)	582 (468-627; 397-1114)	418 (399-579; 349-705)	521 (335-641; 215-714)	473 (372-612; 215-804)	502 (460-593; 426-807)
CD4⁺/CD8⁺ (у. е.) CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (с. у.)	1,8-2,2	1,5 (1,10-2,15; 0,68-3,75)	1,38 (1,11-1,86; 0,59-2,93)	1,8 (1,30-2,42; 1,17-2,50)	1,66 (1,32-2,04; 0,96-2,57)	1,69 (1,42-1,92; 0,81-2,55)	1,58 (1,21-2,38; 1,09-3,25)
CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клетки (%) CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ cells (%)	1-6	2,1 (1,7-2,9; 1,6-6,0)	2,1 (1,6-3,6; 1,1-4,5)	2,4 (1,6-3,1; 1,4-4,4)	2,6 (2,2-4,1; 1,1-5,8)	2,4 (2,0-3,0; 1,5-4,5)	2,0 (1,7-2,7; 0,4-2,9)
CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клетки (× 10⁶ клеток/л) CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ cells (× 10 ⁶ cells/l)	7-165	47,5 (45,5-67,0; 31-115)	46 (38-65; 27-111)	48 (35-52; 26-105)	55,5 (31-70; 24-97)	43,5 (34-65; 28-100)	43,5 (29,0-58,5; 11-68)
CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клетки (%) CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ cells (%)	9-21	19,8 (17,5-23,9; 11,8-33,2)	18,7 (15,6-21,2; 10,0-24,9)	20,7 (18,1-22,6; 12,0-24,1)	20,7 (18,6-21,8; 11,8-38,1)	19,6 (17,1-22,1; 10,2-27,5)	18,1 (13,7-19,7; 12,3-21,0)
CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клетки (× 10⁶ клеток/л) CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ cells (× 10 ⁶ cells/l)	123-369	459 (329-638; 171-913)	345 (298-497; 171-601)	413 (377-494; 187-598)	386 (320-514; 171-778)	398 (295-479; 171-608)	374 (292-416; 270-486)
CD3⁺CD19⁺ клетки (%) CD3 ⁺ CD19 ⁺ cells (%)	7-17	9,9 (9,2-12,4; 5,1-13,4)	10,3 (9,0-13,6; 7,3-24,2)	9,7 (8,7-14,0; 8,7-18,6)	8,9 (7,4-10,3; 5,2-14,5)	9,7 (8,3-10,9; 4,4-13,2)	10,1 (8,5-11,6; 8,1-14,8)
CD3⁺CD19⁺ клетки (× 10⁶ клеток/л) CD3 ⁺ CD19 ⁺ cells (× 10 ⁶ cells/l)	111-376	209 (178-322; 109-386)	223 (176-361; 110-682)	207 (145-335; 145-461)	178 (119-206; 85-309)	177 (134-269; 61-380)	213 (165-262; 145-411)

ТАБЛИЦА 3. КОНЦЕНТРАЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПИОДЕРМИЕЙ НА ФОНЕ РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 3. CONCENTRATION OF IMMUNOGLOBULINS IN THE SERUM OF PATIENTS WITH PYODERMA RECEIVING DIFFERENT TREATMENT OPTIONS

Показатель Indicator	Референсные значения Reference values	Стандартное лечение Standard treatment			Стандартное лечение + Полимурамил Standard treatment + Polymuramyl		
		0-й день Day 0	14-й день Day 14	Через 6 месяцев After 6 months	0-й день Day 0	14-й день Day 14	Через 6 месяцев After 6 months
IgA (г/л) g/l	0,7-4,0	2,43 (2,04-3,08; 1,56-3,4)	2,89 (1,76-3,11; 1,48-3,26)	1,67 (1,37-3,11; 1,48-3,26)	1,97 (1,60-2,67; 1,49-4,18)	1,99 (1,76-2,97; 1,51-4,20)	2,25 (1,82-2,93; 1,72-3,99)
IgG (г/л) g/l	7-16	11,4 (10,6-12,1; 9,0-13,6)	11,6 (10,1-12,8; 8,8-15,2)	10,5 (9,6-11,8; 9,6-12,0)	11,5 (10,7-12,8; 7,1-20,6)	11,3 (10,6-12,8; 9,1-15,4)	11,2 (10,5-13,0; 10,1-13,8)
IgM (г/л) g/l	0,4-2,3	1,3 (0,60-1,54; 0,46-1,76)	1,13 (0,70-1,66; 0,42-1,97)	0,98 (0,60-1,62; 0,47-1,97)	0,9 (0,69-1,11; 0,38-2,07)	0,99 (0,62-1,39; 0,45-2,94)	0,93 (0,75-1,06; 0,47-1,54)

ми по активности и индексу спонтанного восстановления НСТ нейтрофилами (табл. 1).

Не установлено значимых исходных сдвигов, существенной динамики и межгрупповых различий и при оценке индуцированного восстановления НСТ нейтрофилами (табл. 1).

Фагоцитарный индекс и фагоцитарное число нейтрофилов также были в пределах референсных значений и не отличались между группами (табл. 1).

То, что клиническая действенность Полимурамила не сопровождалась вполне ожидаемыми значительными изменениями функциональной активности циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов, можно объяснить особенностями дизайна исследования: отбор образцов крови для повторных иммунологических тестов выполняли через 9 дней (14-й день исследования) и полгода после окончания курса внутримышечных инъекций Полимурамила, когда прямые и опосредованные иммунокорректирующие эффекты иммуномодулятора в отношении функции короткоживущей популяции циркулирующих нейтрофилов и их предшественников могли нивелироваться другими эндогенными и экзогенными факторами.

Тенденцию к падению активности и индекса спонтанного НСТ-теста в основной группе через полгода наблюдения можно связать с клинической ремиссией заболевания и снижением выраженности стимулов для нейтрофилов со стороны патогенных микробов.

Абсолютное и относительное число клеток разных субпопуляций циркулирующих лимфоцитов (табл. 2) и показатели гуморально-

го звена иммунитета (табл. 3) у подавляющего большинства больных обеих групп не выходили за рамки условной нормы в течение всего исследования. Исключение составляли только CD3⁺CD16⁺CD56⁺ клетки, медиана абсолютного количества которых исходно несколько превышала верхнюю границу референсного диапазона и в дальнейшем колебалась около этого же уровня вне существенной зависимости от варианта проведенного лечения (табл. 2).

Не выявлено статистически значимых межгрупповых отличий субпопуляционного состава лимфоцитов и концентраций основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови на фоне высокой индивидуальной вариативности этих показателей. Вместе с тем у больных основной группы, в отличие от таковых группы сравнения, через 6 месяцев исследования отмечали тренд к повышению абсолютного числа Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻ клеток) в крови за счет CD3⁺CD4⁺ субпопуляции (табл. 2), а также концентрации IgA в сыворотке крови (табл. 3).

Не вызывает сомнений актуальность дальнейшего поиска высокоинформативных иммунологических критериев диагностики, прогноза и оценки эффективности лечения хронической пиодермии. Вместе с тем результаты работы в целом говорят о клиническом приоритете при назначении и мониторинге действенности иммуностимулирующих препаратов при заболеваниях, связанных с вторичной недостаточностью противомикробной защиты. Во-первых, сдвиги системных показателей клеточного и гуморального иммунитета, за редкими исключениями, не могут быть самостоятельными критериями

назначения иммунокорректирующих средств. Вторых, изменения (в том числе нормализация) иммунологических параметров в большинстве клинических ситуаций едва ли могут отражать эффективность лечения хронических рецидивирующих инфекций. Первому и второму препятствуют: 1) широкий диапазон условно нормальных значений, а также высокая индивидуальная вариативность иммунологических показателей; 2) недостаточная ясность того, какое (флогогенное или защитное?) значение имеют исходные и/или вызванные иммунокорректирующей терапией иммунологические сдвиги у пациентов; 3) сложный многогранный характер взаимодействий между меняющимися на фоне проводимого ле-

чения саногенетическими/патогенетическими процессами и биологическими эффектами самих иммуномодуляторов.

Таким образом, подтверждена клиническая эффективность Полимурамила в лечении обострений и индукции ремиссии хронической рецидивирующей пиодермии. При этом в рамках дизайна настоящего исследования и выбранных сроков взятия биологических образцов для лабораторных исследований иммуномодулятор существенно не изменял большинство изученных системных иммунологических показателей, за исключением ранее описанной модуляции уровня про- и противовоспалительных цитокинов [4].

Список литературы / References

1. Гончаров А.Г., Фрейншлин И.С., Смирнов В.С., Ботвиньева В.В., Шупленцева В.В., Ариненко Р.Ю. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного статуса: Практикум / Под общ. ред. М.Г. Романцева. Калининград: Калининградский университет, 1997. 73 с. [Goncharov A.G., Freindlin I.S., Smirnov V.S., Botvineva V.V., Shchuplentseva V.V., Arinenko R.Yu. Fundamentals of clinical immunology and methodological approaches to the assessment of the immune status: Practicum. Ed. by M.G. Romantsev]. Kaliningrad: Kaliningrad University, 1997. 73 p. (In Russ.)]
2. Калюжин О.В. Феномен тренированного иммунитета и механизмы действия неспецифических иммуномодуляторов // Российский аллергологический журнал, 2015. № 4. С. 45-51. [Kalyuzhin O.V. The trained immunity phenomenon and mechanisms of action of non-specific immunomodifiers. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Allergology Journal*, 2015, no. 4, pp. 45-51. (In Russ.)]
3. Караулов А.В., Калюжин О.В. Сфера применения мурамилпептидов в рамках основных подходов к иммунотерапии/иммунопрофилактике инфекционных болезней // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика, 2013. Т. 17, № 5. С. 3-15. [Karaulov A.V., Kalyuzhin O.V. Sphere of muramyl dipeptide application within the major approaches to immunotherapy/prophylaxis of infectious diseases. *Fiziologiya i patologiya immunoj sistemy. Immunofarmakogenomika = Physiology and Pathology of the Immune System. Immunopharmacogenomics*, 2013, Vol. 17, no. 5, pp. 3-15. (In Russ.)]
4. Летяева О.И., Зиганшин О.Р., Маркеева Д.А., Блохина Ю.В., Алексеева Н.Ю., Баранова Н.И., Калюжин О.В. Клиническая и цитокин-модулирующая эффективность композиции трех мурамилпептидов, содержащих остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты, при хронической пиодермии // Русский медицинский журнал, 2018. № 8 (I). С. 9-13. [Letyaeva O.I., Ziganshin O.R., Markeeva D.A., Blokhina Yu.V., Alekseeva N.Yu., Baranova N.I., Kalyuzhin O.V. Clinical and cytokine-modulating efficacy of a composition of three muramylpeptides containing a meso-diaminopimelic acid residue in the chronic pyoderma. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*, 2018, no. 8 (I), pp. 9-13. (In Russ.)]
5. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии. Н. Новгород: Нижегородская государственная медицинская академия, 2003. 272 с. [Mayansky A.N. Lectures on immunology]. N. Novgorod: N. Novgorod State Medical Academy, 2003. 272 p.
6. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S., Baidun L., Zurochka A., Totolyan A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytometer analyzers" (draft). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.
7. Bitschar K., Wolz C., Krismer B., Peschel A., Schitteck B. Keratinocytes as sensors and central players in the immune defense against *Staphylococcus aureus* in the skin. *J. Dermatol. Sci.*, 2017, Vol. 87, no. 3, pp. 215-220.
8. Campbell L., Williams H., Crompton R.A., Cruickshank S.M., Hardman M.J. Nod2 deficiency impairs inflammatory and epithelial aspects of the cutaneous wound-healing response. *J. Pathol.*, 2013, Vol. 229, pp. 121-131.
9. Dagil Y.A., Arbatsky N.P., Pashenkov M.V., Alkhasova B.I., Lvov V.L., Mazurov D.V. The Dual NOD1/NOD2 Agonism of Muropeptides Containing a Meso-Diaminopimelic Acid Residue. *PLoS ONE*, 2016, Vol. 11, no. 8, e0160784. doi:10.1371/journal.pone.0160784.
10. Fritz J.H., Girardin S.E., Fitting C., Werts C., Mengin-Lecreux D., Caroff M., Cavallion J.M., Philpott D.J., Adib-Conquy M. Synergistic stimulation of human monocytes and dendritic cells by Toll-like receptor 4 and NOD1- and NOD2-activating agonists. *Eur. J. Immunol.*, 2005, Vol. 35, no. 8, pp. 2459-2470.
11. Ekman A.K., Cardell L.O. The expression and function of Nod-like receptors in neutrophils. *Immunology*, 2010, Vol. 130, no. 1, pp. 55-63.
12. Harder J., Núñez G. Functional expression of the intracellular pattern recognition receptor NOD1 in human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2009, Vol. 129, no. 5, pp. 1299-1302.

13. Herten E., Johansson L., Wallin R., Schmidt H., Kroll M., Rehn A.P., Kotb M., Mörgelin M., Norrby-Teglund A. M1-protein dependent intracellular trafficking promotes persistence and replication of *Streptococcus pyogenes* in macrophages. *J. Innate Immun.*, 2010, Vol. 2, pp. 534-545. Kobayashi M., Yoshiki R., Sakabe J., Kabashima K., Nakamura M., Tokura Y. Expression of toll-like receptor 2, NOD2 and dectin-1 and stimulatory effects of their ligands and histamine in normal human keratinocytes. *Br. J. Dermatol.*, 2009, Vol. 160, no. 2, pp. 297-304.
14. Masumoto J., Yang K., Varambally S., Hasegawa M., Tomlins S.A., Qiu S., Fujimoto Y., Kawasaki A., Foster S.J., Horie Y., Mak T.W., Núñez G., Chinnaiyan A.M., Fukase K., Inohara N. Nod1 acts as an intracellular receptor to stimulate chemokine production and neutrophil recruitment *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 2006, Vol. 203, no. 1, pp. 203-213.
15. Mukherjee T., Hovingh E.S., Foerster E.G., Abdel-Nour M., Philpott D.J., Girardin S.E. NOD1 and NOD2 in inflammation, immunity and disease. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2019, Vol. 670, pp. 69-81.
16. Nizet V. Bacteria and phagocytes: mortal enemies. *J. Innate Immun.*, 2010, Vol. 2, no. 6, pp. 505-507.
17. Pashenkov M.V., Dagil Y.A., Pinegin B.V. NOD1 and NOD2: Molecular targets in prevention and treatment of infectious diseases. *Int. Immunopharmacol.*, 2018, Vol. 54, pp. 385-400.
18. Roth S.A., Simanski M., Rademacher F., Schröder L., Harder J. The pattern recognition receptor NOD2 mediates *Staphylococcus aureus*-induced IL-17C expression in keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2014, Vol. 134, no. 2, pp. 374-380.
19. Smagur J., Guzik K., Magiera L., Bzowska M., Gruca M., Thogersen I.B., Enghild J.J., Potempa J. A new pathway of staphylococcal pathogenesis: Apoptosis-like death induced by staphopain B in human neutrophils and monocytes. *J. Innate Immun.*, 2009, Vol. 1, pp. 98-108.
20. van Avondt K., van Sorge N.M., Meyaard L. Bacterial immune evasion through manipulation of host inhibitory immune signaling. *PLoS Pathog.*, 2015, Vol. 11, no. 3, e1004644. doi: 10.1371/journal.ppat.1004644.

Авторы:

Калюжин О.В. — д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Летяева О.И. — д.м.н., доцент, профессор кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»; врач-дерматовенеролог, Многопрофильная профессорская клиника «СитиМед» центра ООО «Экология здоровья», г. Челябинск, Россия

Зиганшин О.Р. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

Маркеева Д.А. — врач-дерматовенеролог, Многопрофильная профессорская клиника «СитиМед» центра ООО «Экология здоровья», г. Челябинск, Россия

Блохина Ю.В. — врач-дерматовенеролог ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер», г. Челябинск, Россия

Феденко Е.С. — д.м.н., профессор, заведующая отделением аллергологии и иммунопатологии кожи ФГБУ «Государственный научный центр „Институт иммунологии“» ФМБА России, Москва, Россия

Попилук С.Ф. — директор по инновациям ООО «Корус-Фарма» — резидента кластера «Биомедицинские технологии» фонда «Сколково», Москва, Россия

Authors:

Kalyuzhin O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Clinical Immunology and Allergy, First Moscow State I. Sechenov Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Letyaeva O.I., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Dermatovenereology, South Ural State Medical University; Dermatovenereologist, Multi-profile Professorial Clinic CityMed, “Ecology of Health” Center, Chelyabinsk, Russian Federation

Ziganshin O.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Dermatovenereology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Markeeva D.A., Dermatovenereologist, Multi-profile Professorial Clinic CityMed, “Ecology of Health” Center, Chelyabinsk, Russian Federation

Blokhina Yu.V., Dermatovenereologist, Chelyabinsk Regional Clinical Dermato-venereal Dispensary, Chelyabinsk, Russian Federation

Fedenko E.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Skin Allergy and Immunopathology, National Research Center — Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Popilyuk S.F., Director for Innovation, Corus-Pharma Ltd — Resident of Skolkovo Foundation, Moscow, Russian Federation

Поступила 01.04.2019

Отправлена на доработку 05.04.2019

Принята к печати 16.04.2019

Received 01.04.2019

Revision received 05.04.2019

Accepted 16.04.2019