

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

*На правах рукописи*

**РАШАД ТОФИК оглы ИСАЕВ**  
**ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА УГРЕВОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ**  
**ИНФИЦИРОВАНИИ ЭЛЕМЕНТОВ АКНЕ**  
**СМЕШАННОЙ МИКРОБИОТОЙ**

2414.01 – Микробиология

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации на соискание ученой степени доктора  
философии по медицине

Баку – 2014

Диссертационная работа выполнена на базе кафедры Микробиологии и иммунологии Азербайджанского Медицинского Университета.

**Научный руководитель:**

З.д.н., д.м.н., профессор

**Караев З.О.**

**Научный консультант:**

Д.м.н., профессор

**Махмудов Ф.Р.**

**Официальные оппоненты:**

З.д.н., д.м.н., профессор

**Садыхова Ф.А.**

Д.ф.м., досент

**Аскерова Р.Х.**

**Ведущая организация:** Национальный Научно-Исследовательский Институт Медицинской Профилактики им. В.Ахундова (отдел микробиологии и эпидемиологии)

Защита диссертации состоится «23\_\_»\_05\_\_\_\_\_2014 г. в \_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета FD.03.014 при Азербайджанском Медицинском Университете

Адрес: AZ1022, Баку, ул. Бакиханова,23

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Азербайджанского Медицинского Университета

Автореферат разослан «\_\_»\_\_\_\_\_2014 года.

Ученый Секретарь Диссертационного

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность исследования.** Угревая болезнь (УГБ) - широко распространенный дерматоз человека, являющийся важной медико-социальной проблемой. Согласно различным литературным источникам, проявления акне имеют место у 60% - 80% - 96% - 100% лиц юношеского возраста. Частота развития и продолжительность течения этого заболевания у женщин и мужчин имеют свои особенности. Так, у девочек акне возникает и прекращается раньше, чем у мальчиков. Пик частоты возникновения акне у девушек наблюдается в возрасте 13 -14 лет, у юношей - в 15-16 лет. Средняя и тяжелая форма УГБ обнаруживается приблизительно у 20% людей молодого возраста, по большей части - у юношей. У 5-10% пациентов акнеформные элементы сохраняются и в зрелом возрасте.

В патогенезе УГБ основные изменения происходят в сально-волосном фолликуле (СВФ). Согласно современным представлениям, основные причины развития УГБ состоят в нарушении функции СВФ, заключающееся в повышенном образовании кожного сала с повышением его вязкости и фолликулярном гиперкератозе, развивающимися под действием андрогенов, что приводит к закупорке протока сальной железы и благоприятствует размножению *P.acnes* – к развитию воспалительных реакций. А поступление антигенов *P.acnes* в толщу дермы вызывает ответную воспалительную реакцию, протекающих чаще всего по типу замедленной гиперчувствительности.

В воспаленных элементах акне часто находят ассоциации различных микроорганизмов. Микст-инфекционирование выявляется более чем у половины больных УГБ. В патологических очагах и прилегающих к ним областях помимо *P.acnes* встречаются *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Malassezia furfur*, *Candida albicans* и др. Частота выделения отдельных видов патогенов в различных странах и регионах существенно варьирует.

Если *P.acnes* признается ведущим микроорганизмом, способствующим развитию воспаления при УГБ, то относительно роли других микроорганизмов в патогенезе заболевания вопрос остается открытым в связи с малочисленностью исследований, посвященных данной проблеме.

Лечение УГБ обычно длительное и не всегда достаточно эффективное. Углубленное исследование особенностей развития УГБ при микст - инфицировании элементов акне позволит расширить

представление о патогенезе УГБ и создаст предпосылки к более эффективному лечению заболевания.

При инфицировании угревых элементов смешанной микробиотой наблюдается более тяжелое течение УГБ, однако, причины этого феномена остаются не ясными.

**Цель исследования.** – Целью работы состояла в определении влияния бактериальной и грибковой микробиоты, ассоциированной с *P. acnes*, на особенности патогенеза УГБ у мужчин.

**Задачи исследования:**

- определить частоту контаминации элементов акне отдельными видами микроорганизмов;
- выделить наиболее часто встречающиеся ассоциации микроорганизмов у больных УГБ;
- исследовать функциональную активность полиморфноядерных нейтрофилов у больных с моно- и смешанной инфекцией элементов акне, изучить субпопуляционный состав лимфоцитов у больных с моно- и смешанной инфекцией элементов акне;
- исследовать I, III и IV типы аллергических реакций к антигенам микроорганизмов - ассоциантов *P. acnes*;
- определить чувствительность микробиоты воспалительных очагов акне к антибиотику и провести сравнительное исследование эффекта эритромицина и изотретинона на ТЛР2 и ТЛР4 моноцитов периферической крови больных УГБ.

**Научная новизна.** Впервые проведено исследование особенностей патогенеза УГБ в зависимости от вида возбудителей, инфицирующих воспаленные очаги акне. Обследованы больные с моноинфекцией *P. acnes*, смешанной бактериальной инфекцией, вызванной *P. acnes* в сочетании с *S. aureus*, а также – кандидо-бактериальной инфекцией, обусловленной *P. acnes*, *S. aureus* и *C. albicans*.

Впервые показано, что бактериальное инфицирование элементов акне *P. acnes*, а также - *P. acnes* в сочетании с *S. aureus* стимулирует на моноцитах периферической крови преимущественно экспрессию ТЛР2. Кандидо- бактериальные инфекции сопровождаются стимуляцией экспрессии ТЛР2 и ТЛР4.

Впервые установлено, что у больных УГБ инфицированию элементов акне грибом *C. albicans* способствует угнетение киллинговой активности и резервных возможностей полиморфноядерных нейтрофилов.

Впервые выявлено, что по сравнению с моноинфекцией, при микст-инфекцировании угревых элементов имеет место более значительное увеличение в циркуляции количества нулевых (ни Т-, ни В) лимфоцитов. Наиболее выражен этот феномен при кандидо-бактериальном инфицировании.

Впервые показано, что микст-инфицирование элементов акне повышает вероятность сенсибилизации организма к инфекционным агентам, сопутствующим *P.acnes*. На антигены *S.aureus* может развиваться реакция гиперчувствительности I и III типов, на антигены *C.albicans* - I, III и IV типы аллергических реакций.

**Практическое значение работы.** При смешанных инфициях элементов акне повышается вероятность сенсибилизации организма к инфекционным агентам, сопутствующим *P.acnes*. К антигенам *S.aureus* могут развиваться I и III типы гиперчувствительности, к антигенам - *C.albicans* - I, III и IV типы аллергических реакций. С целью профилактики алергизации организма необходима адекватная антимикробная терапия, способствующая элиминации *S.aureus* и *C.albicans* из очагов поражения.

Штаммы бактерий *P.acnes* и *S.aureus*, выделенные из патологических очагов больных УГБ, часто проявляют резистентность к антибиотикам (эритромицину, тетрациклину, клиндамицину). Культуры гриба *C.albicans*, инфицирующих элементы акне, в 100% случаев чувствительны к флуконазолу и в 97,5% случаев – к клотримазолу. Полученные сведения свидетельствуют о необходимости определения чувствительности к противобактериальным антибиотикам перед назначением их больным.

Показано, что эритромицин увеличивает экспрессию TLR2 на моноцитах периферической крови больных УГБ. Учитывая, что стимуляция этих рецепторов чаще всего приводит к развитию иммунных реакций по Th2 типу, необходимо ограничить назначение этого лекарственного средства лицам с аллергическими заболеваниями, протекающими по типу ГНТ реакций.

**Внедрение результатов работы.** Полученные результаты широко используется в учебном процессе кафедры Микробиологии и иммунологии АМУ, а также при клинико-диагностических исследованиях, проводимых в лаборатории Клинической Микробиологии данной кафедры.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на заседании сотрудников кафедры Микробиологии и

иммунологии АМУ, а также с участием других профильных кафедр университета: кафедры Дерматовенерологии, Инфекционных заболеваний, Общей гигиены и экологии, Эпидемиологии (15.01.2014). Фрагменты диссертации доложены на заседании Республиканского Научного общества «Иммунитет и инфекция» (июнь, 2013г., Баку), на итоговой Научной Конференции АМУ, декабрь, 2013, диссертация обсуждена на апробационном семинаре при специализированном совете FD 03.014 АМУ (18.03.2014г.).

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 131 стр. и состоит из введения, 4 глав (I – обзор литературы, II – материалы и методы, III – результаты собственных исследований, IV – обсуждение полученных результатов и заключение, выводов, практических рекомендаций и список литературных источников. Диссертация содержит 13 таблиц, 9 рисунков. Указатель литературы включает 110 источника.

**Публикация.** По материалам диссертации опубликованы 7 научных работ, из которых 2 в изданиях зарубежья.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. У больных УГБ в большинстве случаев инфицирование угревых элементов происходит смешанной микробиотой. Моноинфекция элементов акне чаще всего вызвана *P.acnes*. При смешанных инфекциях обнаружена высокая частота ассоциаций *P.acnes* с *S.aureus* и *P.acnes* с *S.aureus* и *C.albicans*.

2. При бактериальных инфекциях угревых элементов, обусловленных *P.acnes* и *P.acnes* в комбинации *S.aureus* отмечается снижение фагоцитарной активности полиморфноядерных нейтрофилов, наиболее выраженное при микст-инфекции. Значительное угнетение киллингового эффекта нейтрофилов и их резервных возможностей способствует развитию суперинфекции, обусловленной *C.albicans*.

3. УГБ сопровождается выраженными изменениями популяционного состава лимфоцитов, характеризующимися снижением количества клеток с маркерами CD3+, CD4+, CD4+CD25+ и иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+ и возрастанием числа нулевых лимфоцитов. Данные изменения наиболее значительны у больных с кандидо-бактериальным инфицированием угревых элементов.

4. Развитие суперинфекций, обусловленных *S.aureus* и *C.albicans*, может вызывать сенсibilизацию организма к этим патогенам. *S.aureus* может вызывать повышенную чувствительность организма, протекающую по I и III типам аллергической реакции, *C.albicans* - I, III и IV типам.

5. Бактерии *P.acnes* и *S.aureus*, выделяемые из угревых элементов, часто обладают резистентностью к антибиотикам (эритромицину, тетрациклину, клиндамицину). Штаммы культур гриба *C.albicans*, выделенные из патологических очагов обычно высокочувствительны к флуконазолу и клотримазолу.

6. Бактериальное инфицирование элементов акне *P.acnes*, а также - *P.acnes* в ассоциации с *S.aureus* стимулирует на моноцитах экспрессию ТЛР2, при кандидо- бактериальной инфекции отмечается стимуляция экспрессии ТЛР2 и ТЛР4.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования:** Исследования состояли из двух этапов. На первом этапе для определения возбудителей, наиболее часто инфицирующих элементы акне, было обследовано 256 пациентов УГБ с различной степенью тяжести течения заболевания. Второй этап работы включал обследование 136 мужчин с УГБ, у которых элементы акне были инфицированы *P.acnes* (40 человек-II группа), *P.acnes* в ассоциации с *S.aureus* (54 больных-III группа), а также - *P.acnes* в сочетании с *S.aureus* и *Candida albicans* (42 пациента-IV группа). В качестве контроля обследовали 30 практически здоровых доноров мужского пола (I группа). Возраст обследованных пациентов –от 16-27 лет. В течение 2 месяцев перед обследованием больные не использовали медикаментозного лечения. Всем пациентам проводилось клинико-микробиологическое, микологическое и иммунологическое обследование. Клиническое исследование больных проводилось нами по традиционной схеме. При этом оценку степени тяжести УГБ проводили соответственно известной шкале С.Н.Сook соавторами в модификации В.С.Allen и J.G.Smith (1982). Шкала позволяет на основании клинических проявлений, а именно, общей площади поражения, количества и особенностей высыпных элементов по 8 бальной системе, дать оценку степени тяжести.

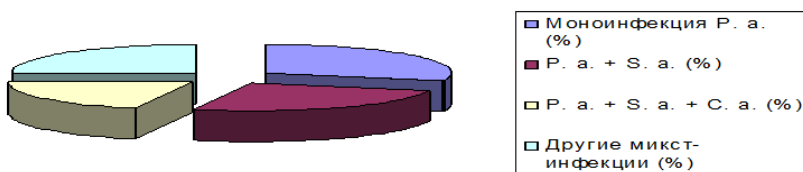
Иммунологическое обследование больных и лиц контрольной группы включало изучение функциональной-поглотительной и киллинговой активности полиморфноядерных нейтрофилов (ПЯН), популяционного состава лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD25+) периферической крови (метод иммунофлуоресцентного анализа), определение содержания IgE и IgG в сыворотке крови (метод иммуноферментного анализа), циркулирующих иммунных комплексов-ЦИК

(метод преципитации полиэтиленгликолем), повышенной чувствительности организма к патогенам, сопутствующим *P.acnes* при смешанных инфекциях (*S.aureus* и *C.albicans*), а также исследование эффекта эритромицина и изотретинона на экспрессию TLR-2 и TLR-4 моноцитов периферической крови (метод иммунофлюоресцентного анализа).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы Excel. Вычисляли средние арифметические величины (M), средние квадратичные отклонений (m). Достоверными считали значимость  $P \leq 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение:** Первоначально нами было обследовано 256 больных. Всего от них из элементов акне было выделено 514 различных культур микроорганизмов. При этом наиболее часто выделялся *P.acnes* – в 239 случаях (46,5%), следующими микроорганизмами по частоте выделения из очагов поражения были *S.aureus* (19,1%) и *S.epidermidis* (12,1%). Другие бактерии выделялись существенно реже. У части больных были высеяны грибы *C.albicans* и *M.furur*, которые составили 12,1% и 5,8%, соответственно от суммарного количества выделенных штаммов микроорганизмов.

Обращает на себя внимание, что исследование инфицирование патологических элементов акне встречалось как одним микроорганизмом (моноинфекция), так и двумя и более патогенами одновременно (микст-инфекция). При моноинфекциях, как правило, высевался *P.acnes*, преобладало же количество лиц со смешанным инфицированием патологических очагов (рис.1).



Примечание: *P. a.* - *P.acnes*; *S. a.* - *S.aureus*; *C. a.* - *C.albicans*.

Рис. 1. Моно- и смешанные инфекции у больных УЗБ

Если моноинфекция была обнаружена у 41,8% больных, то смешанная – у 58,2% пациентов. При смешанных инфекциях элементов акне наиболее часто встречалось сочетание *P.acnes* с *S.aureus* - 36,2% от числа больных со смешанными видами инфекций и *P.acnes* +



*S.aureus* + *C.albicans* - 28,2%. Суммарное количество микст-инфекций, вызванных другими сочетаниями микроорганизмов составляло 35,6%.

У 5,5% (14 случаев) обнаружен *S.aureus* при бактериологических анализах орофарингиальных материалов. У 50,4% (129 больных) обнаружены нарушения видового и количественного состава кишечной микрофлоры, при этом у 31,6% из них выявлена повышенная пролиферация грибов рода *Candida*, у 6,2% пациентов грибы этого рода обнаружены в зеве.

Представлял интерес изучение у больных с разной тяжестью течения частоту распространения моно- и смешанных инфекций, обусловленных *P.acnes*, *S.aureus* и *C.albicans*. Выявлена при этом определенная зависимость между частотой обнаружения моноинфекций, вызванной *P.acnes* и смешанных инфекций, обусловленных *P.acnes* + *S.aureus*, а также *P.acnes* + *S.aureus* + *C.albicans* с одной стороны и тяжестью течения УГБ с другой. Среди больных с тяжестью заболевания, соответствующей 2–4 баллам шкалы Cook преобладало моноинфицирование очагов акне, в то время как при утяжелении течения заболевания прогрессивно увеличивалась частота микст-инфицирования элементов акне, достигая максимальных значений при наиболее тяжелых формах, соответствующих 7–8 баллам (таблица 1).

Таблица 1

Особенности клинического течения УГБ  
у отдельных групп больных

Группа больных	Оценка симптомов в баллах	Кол-во чел. (%)
II	3 - 4	24 (60)
	5 - 6	10 (25)
	7 - 8	6 (15)
III	3 - 4	19 (35,2)
	5 - 6	24 (44,4)
	7 - 8	21 (38,9)
IV	3 - 4	10 (23,8)
	5 - 6	15 (35,7)
	7 - 8	17 (40,5)

Как следует из представленных в таблице данных, среди больных II группы (моноинфекция, обусловлена *P.acnes*) 24 человека (60%) имели 3-4 степени градации, 10 (25%) – 5–6 степени, 6 человек

(15%) – 7- 8. В группе III (микст-инфекция, обусловленная ассоциацией *P.acnes* и *S.aureus*). 19 пациентов (35,2%) имели 3-4 степени, 24 человека (44,4%) – 5–6 степени, 21 человека (38,9%) – 7–8 степени. У больных IV группы (микст-инфекция, вызванная ассоциацией *P.acnes*, *S.aureus* и *C.albicans*) у 10 пациентов (23,8%) имела место 3-4 степени градации, у 15 пациентов (35,7%) – 5–6 степени, у 17 пациентов (40,5%) – 7–8 степени.

Далее нами была изучена иммунная реактивность организма больных УГБ и особенность повышенной чувствительности в отношении патогенов, наиболее часто выявлявшихся в ассоциации с *P.acnes*.

При УГБ у части больных отмечают нарушение функциональной активности ПЯН, однако роль этих нарушений в патогенезе заболевания остается не достаточно ясной (в этой исследованиях в качестве фагоцитарного объекта были использована бластоспоры *C.albicans*).

Нами были изучены поглотительная и киллинговая активность нейтрофилов крови у пациентов, а также - образование этими клетками активных форм кислорода. Результаты представлены в таблице 2.

Как следует из представленных в таблице 2 данных, в сыворотке крови донора у контрольной группы пациентов фагоцитарный индекс составил  $70,2 \pm 2,14\%$ , фагоцитарное число –  $1,8 \pm 0,08$  клеток. У всех групп больных наблюдалась тенденция к снижению фагоцитарного индекса. При исследовании поглотительной активности в ауто-сыворотке фагоцитарный индекс в группе здоровых доноров определялся в пределах  $69,8 \pm 2,29\%$ . Среди больных отмечались снижение этого показателя, наиболее значимое – у пациентов III и IV групп ( $58,2 \pm 2,15\%$  и  $62,1 \pm 2,19\%$  соответственно).

При исследовании переваривающей активности фагоцитов, наиболее высокие значения киллинга гриба отмечались у больных II и III групп. Через 30мин инкубации число нежизнеспособных клеток гриба у II группы больных равнялось  $31,4 \pm 3,74\%$ , у III группы пациентов -  $32,7 \pm 4,15\%$ , через 60мин -  $32,1 \pm 2,23\%$  и  $34,2 \pm 3,72\%$  соответственно, Это существенно превышало соответствующие показатели киллинга гриба в контрольной группе и отражало активацию фагоцитов. Наименьший уровень киллинга гриба отмечались у больных IV группы. Через 30мин инкубации лейкоцитов с *C.albicans* количество нежизнеспособных клеток гриба составляло  $19,1 \pm 1,47\%$ ,

через 60мин -  $21,4 \pm 1,19$ , что было достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже как соответствующих значений как контрольной группы, так и больных II и III групп.

Таблица 2

*Функциональная активность нейтрофилов крови больных УгБ*

Группы больных/ функциональная активность	I	II	III	IV
Фагоцитарное индекс в СД (%)	$70,2 \pm 2,14$	$67,3 \pm 2,96$	$65,2 \pm 2,59$	$65,9 \pm 2,24$
Фагоцитарный число в СД	$1,8 \pm 0,08$	$1,7 \pm 0,09$	$1,8 \pm 0,10$	$1,8 \pm 0,07$
ФИ в АС (%)	$69,8 \pm 2,29$	$65,4 \pm 2,17$	$58,2 \pm 2,15$	$62,1 \pm 2,19$
ФЧ в АС	$1,9 \pm 0,09$	$2,2 \pm 0,07$	$2,0 \pm 0,10$	$2,1 \pm 0,08$
Киллинг (%)				
через 30 мин	$26,2 \pm 2,14$	$31,4 \pm 3,74$	$32,7 \pm 4,15$	$19,1 \pm 1,47$
через 60 мин	$28,6 \pm 3,51$	$32,1 \pm 2,23$	$34,2 \pm 3,72$	$21,4 \pm 1,19$
НСТ-тест (у. ед.)				
спонт.	$9,3 \pm 0,87$	$13,9 \pm 2,29$	$13,1 \pm 2,07$	$15,6 \pm 2,14$
индуцир.	$12,9 \pm 2,19$	$18,3 \pm 3,21$	$17,9 \pm 4,12$	$16,4 \pm 2,15$
РК	$1,7 \pm 0,16$	$1,6 \pm 0,18$	$1,5 \pm 0,19$	$1,0 \pm 0,21$
РАН	$3,6 \pm 0,41$	$4,4 \pm 0,45$	$4,8 \pm 0,52$	$0,8 \pm 0,11$

*Примечание: РК- резервный коэффициент; РАН- реактивность нейтрофилов; СД- сыворотка донора; АС- ауто сыворотка*

Известно, что основная роль в переваривании фагоцитарного объекта принадлежит кислород-зависимым цитотоксическим механизмам фагоцитов. Чтобы решить вопрос о степени активации внутриклеточных кислородозависимых механизмов, нами было проведено исследование НСТ-теста, основанного на способности фагоцита восстанавливать поглощенный растворимый краситель нитросиний тетразолий в нерастворимый диформазаан, который распределяется в виде гранул, окрашенных в темно-синий цвет.

Исследования показали, что у всех групп больных имело место увеличение спонтанного НСТ-теста по сравнению с показателями контроля. Так, если в контрольной группе средние значения этого показателя равнялись  $9,3 \pm 0,87$  у. ед., то среди больных УгБ они составляли от  $13,1 \pm 2,29$  у. ед. у больных II группы до  $15,6 \pm 2,14$  у. ед. у IV группы пациентов.

Таким образом при УГБ развитие смешанной бактериальной инфекции способствует нарушению поглотительной активности ПЯН, обусловленное видимо сывороточными факторами, скорее всего недостаточностью опсонинов. Нарушение переваривающей активности фагоцитов, обусловленное снижением резерва внутриклеточных кислородозависимых механизмов способствует развитию кандидо-бактериальной микст-инфекции, вызванной *P.acnes* в ассоциации с *S.aureus* и *C.albicans*.

На следующем этапе работы мы исследовали основные субпопуляции Т- лимфоцитов у больных УГБ. При этом также были выявлены существенные различия в количестве лимфоцитов и их отдельных субпопуляций у обследованных больных. Наибольшее количество лимфоцитов CD3+ было выявлено у здорового контингента (71,3±4,16%). Среди больных акне обнаруживалось значительное снижение этой популяции клеток. Так, у больных II группы количество Т-лимфоцитов составило 67,7±6,19%, у пациентов III и IV групп этот показатель составляло 62,9±4,11% и 55,7±4,76% соответственно, что было достоверно ( $p<0,05$ ) ниже величин контрольной группы. Количество CD4+ лимфоцитов снижалось при утяжелении течения заболевания. Если у практически здоровых лиц число клеток CD4+ составляло 46,8±3,25%, то у больных II и III групп - 42,3±2,11% и 34,9±2,76%. Наименьшее число клеток с маркером CD4+ обнаружено у IV группы больных - 28,9±2,21%. Относительно количество CD8+ лимфоцитов, напротив, выявили тенденцию к возрастанию при увеличении численности микроорганизмов в очагах поражения. Напротив, со стороны CD4+CD25+ отмечена тенденция к снижению этих клеток при УГБ. Так, если в контрольной группе количество CD4+CD25+ составляло 4,5±1,09%, то у больных II, III и IV групп этот показатель составлял 4,2±1,12%, 4,0±1,21% и 4,1±1,17% соответственно.

Обращал на себя внимание факт, что у пациентов с УГБ было отмечено увеличение относительное количество 0-лимфоцитов (ни Т-, ни В- клеток)-от 16,4±1,19% у больных II группы до 20,9±2,21% и 26,7±2,78% у пациентов III и IV групп, в контроле-13,5±1,11%.

С увеличением количества микробных ассоциантов *in situ* прогрессивно снижался иммунорегуляторный индекс CD4+/ CD8+ от 1,9±0,15 в контрольной группе до 1,1±0,10 у больных *Acne vulgaris* IV группы, т.е. имело место значительное нарушение соотношения между отдельными их субпопуляциями, что свидетельствует о дисрегуляторных сдвигах, происходящих в Т-системе иммунитета.

У больных УГБ при исследовании повышенной чувствительности организма к патогенам, аллергической реакции III (иммуно-комплексного) типа работа состояла из трех этапов: изучение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), определение концентрации С3 и С4 компонентов комплемента и исследование специфических ЦИК, включавших антигены *S.aureus* и *C.albicans*.

Общее количество ЦИК нами было изучено методом преципитацией в 4% ПЭГ 6000. Данная концентрация раствора полиэтиленгликоля была выбрана в связи с тем, что такой раствор осаждает не только крупные ЦИК, но и иммунные комплексы средней молекулярной массы (Digeon M., Laver M., Riza J., et.al, 2007). Установлено, что в контрольной группе уровень ЦИК составлял  $64,2 \pm 3,19$  у. ед. ОП. Во всех трех исследуемых группах больных отмечено существенное повышение уровня ЦИК (от  $77,3 \pm 6,74$  у. ед. ОП до  $91,4 \pm 9,87$  у.ед. ОП). Среди больных наименьший уровень ЦИК- $77,3 \pm 6,74$  у. ед. ОП-обнаруживался при моноинфицировании патологических очагов *P.acnes*. Наиболее высокие значения уровня этого показателя ( $91,4 \pm 9,87$  у.ед. ОП) обнаруживались у больных III группы с инфицированием очагов acne смешанной бактериальной микробиотой (*P.acnes* в сочетании с *S.aureus*).

Поскольку в механизме реализации аллергической реакции III типа участвует систем комплемента нами было изучено количество С3 и С4 компонентов в сыворотке крови больных. В контрольной группе концентрация С3 компонента комплемента составляла  $112,4 \pm 23,17$  мг/дл, С4 компонента -  $39,6 \pm 4,12$  мг/дл. У больных II группы с моноинфекцией количество обоих протеинов было больше контрольных значений (для С3 компонента  $178,7 \pm 26,21$  мг/дл, для С4- компонента -  $48,9 \pm 3,86$  мг/дл). У больных III группы средние значения концентрации С3 и С4 компонентов были существенно ниже, чем у больных с моноинфекцией. У пациентов IV группы была выявлена наименьшая концентрация С3 протеина, хотя уровень С4 компонента комплемента был снижен менее существенно, чем у больных III группы.

У большинства больных II группы концентрация С3 и С4 компонентов комплемента была повышена, что отражало наличие воспалительного процесса в организме. Снижение концентрации С3 и С4 компонентов комплемента у больных обнаруживалось лишь у 5% и 7,5% соответственно. У III группы пациентов наиболее часто определялось снижение уровня обоих компонентов комплемента в сыворотке крови: у 55,6% и 48,1% больных соответственно. Это могло

свидетельствовать, прежде всего, об активации системы комплемента классическим путем. В IV группе больных снижение уровня C3 отмечено у 33,3%, в то время как низкие концентрации C4 отмечались существенно реже – в 21,4% случаев, что свидетельствует об активации системы комплемента классическим путем, у значительной части пациентов происходила активация через C3. Учитывая, что *S.albicans* и бескапсульные варианты *S.aureus* могут активировать комплемент альтернативным путем, помимо классического, т.е. без участия C1, C2 и C4 компонентов.

Нами у больных УГБ в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) было изучено гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) с использованием при этом митогенов и антигенов (ФГА в дозах 1,0;5,0;10,0;15,0 мкг/мл и антигена *S.albicans*). При этом у больных УГБ имело место снижение РБТЛ и ФГА. В максимальной степени этот эффект наблюдался при смешанных инфекциях, обусловленных сочетанием *P.acnes*, *S.aureus* и *S.albicans*. Наибольшее число положительных РБТЛ на антител *S.albicans* обнаружено у больных IV группы с кандидо-бактериальным инфицированием элементов акне: в 23 случаях из 42 обследованных лиц, что составляло 54,8%.

Результаты исследования чувствительности *P.acnes*, *S.aureus* и *S.albicans* к антимикробным препаратам показали их широкие колебания к тестируемым препаратам, а также высокую частоту встречаемости резистентных штаммов бактерий. Так, чувствительность выделенных культур *P.acnes* к тетрациклину выявлена в 36,0% случаев, к эритромицину – 54,5% штаммов, к клиндамицину – в 57,4%. У штаммов *S.aureus* чувствительность к тетрациклину выявлена у 50,0% случаев, к эритромицину – в 55,2%, к клиндамицину – 62,5% случаев. В остальных случаях бактерии были низко чувствительными или резистентными к исследуемым препаратам. Исследования показали высокую чувствительность штаммов *S.albicans* к антимикотическим препаратам к флуконазолу-100%, к клотримазолу – 97,5%.

До сих пор в нашей стране не было изучены случаи антибиотикорезистентности *P.acnes* и частота ее распространения у больных с *A.vulgaris*. В результате нашего исследования было выяснено, что именно антибиотики тетрациклинового ряда способствуют развитию резистентности у пропионабактерий, что обусловлено наиболее частым применением этих антибиотиков при лечении *A.vulgaris*. Этим и объясняется наибольшая резистентность у

больных к антибиотикам тетрациклинового ряда, и меньшая устойчивость к эритромицину и клиндамицину. Резистентность к *P.acnes*, развившаяся в результате антибиотикотерапии, используемой при лечении угревой болезни, способствует также и развитию вторичных инфекций, наиболее частым возбудителем которых является *S.aureus*.

У обследуемых нами больных мы исследовали действие эритромицина и изотретинона на экспрессию TLR-2 и TLR-4 на моноцитах периферической крови, так как в последние годы доказана важная роль этих рецепторов в инфекционном процессе- вирусных, бактериальных и грибковых заболеваниях (Лебедев К.А., 2008; Dispenza M.C., Wolpert E.B., Gilliland K.Z., et al, 2012). Выяснилось, что при УГБ бактериальное инфицирование элементов акне *P.acnes*, а также *P.acnes* в сочетании с *S.aureus* стимулирует на моноцитах преимущественно экспрессию TLR-2, при кандидо-бактериальной ассоциации – происходит стимуляция экспрессии TLR -2 и TLR -4. Эритромицин стимулирует экспрессию TLR-2, изотретинон оказывает оппозитный эффект. Оба препарата не влияют на экспрессию TLR-4.

Усиление экспрессии моноцитами периферической крови TLR-2 у больных с угревой болезнью, указывает на нарушение первичного иммунного ответа к *P.acnes* у больных с *A.vulgaris*. Применяемый в ходе наших исследований изотретиноин понижая экспрессию TLR-2 моноцитами, нормализует иммунный ответ у больных с угревой сыпью, что способствует переходу заболевания в фазу ремиссии. Данное изменение продолжается и в течение 6 месяцев после прекращения лечения, что является подтверждающим фактором длительного действия изотретиноина. Снижение экспрессии TLR-2 не происходит постоянно, но происходит в течение длительного времени, что способствует формированию адаптивного иммунитета и угнетению деятельности сальных желез, развивающихся с возрастом.

## ВЫВОДЫ

1. У большинства больных УГБ в большинстве случаев инфицирование элементов акне происходит преимущественно смешанной микробиотой. Среди смешанных инфекций часто встречаются ассоциации *P.acnes* с *S.aureus* и ассоциации *P.acnes* с *S.aureus* и *C.albicans*.

2. При УГБ развитию смешанной бактериальной инфекции, обусловленной *P.acnes* в ассоциации с *S.aureus* способствует нарушение поглотительной активности ПЯН, обусловленное сывороточными факторами. Нарушение переваривающей активности фагоцитов, обусловленное снижением резерва внутриклеточных кислородозависимых механизмов способствует развитию кандидо-бактериальной инфекции, вызванной *P.acnes* в ассоциации с *S.aureus* и *C.albicans*.
3. При УГБ имеют место выраженные изменения в популяционном составе лимфоцитов, характеризующееся снижением клеток с маркерами CD3+, CD4+ , CD4+CD25+ и иммунорегуляторного индекса CD4+/ CD8+ и возрастанием числа нулевых лимфоцитов. Данные изменения, как правило, наиболее значительны у больных с кандидо-бактериальным инфицированием угревых элементов.
4. У больных с микст-инфицированием элементов акне повышается вероятность сенсibilизации организма к инфекционным агентам, сопутствующим *P.acnes*. При алергизации организма *S.aureus* могут развиваться I и III типы гиперчувствительности. Инфицирование *C.albicans* может вызывать I, III и IV типы алергических реакций к антигену гриба
5. При УГБ установлена высокая частота инфицирования элементов акне штаммами бактерий *P.acnes* и *S.aureus*, резистентными к антибиотикам (эритромицину, тетрациклину, клиндамицину). Штаммы культур гриба *C.albicans*, выделенные из патологических очагов, обладают высокой чувствительностью к флуконазолу и клотримазолу.
6. Бактериальное инфицирование угревых элементов *P.acnes*, а также - *P.acnes* в сочетании с *S.aureus* стимулирует на моноцитах периферической крови преимущественно экспрессию TLR2, при кандидо-бактериальной инфекции отмечается стимуляция экспрессии TLR2 и TLR4.
7. Эритромицин вызывает экспрессию на моноцитах TLR2, изотретинон оказывает на TLR2 оппозитный эффект. Оба препарата не влияют на экспрессию TLR4.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**



1. Инфекционный фактор занимает важную роль в патогенезе УГБ: в 41,8% случаях у больных выявляется моноинфекция, в 58,2% микст-инфекция, вызванная ассоциацией *P.acnes* с другими микроорганизмами. Для больных этой группы свойственно тяжелое, хроническое клиническое течение заболевания, а также аллергизация организма, поэтому крайне важными при организации принципов эффективной терапии больных и проведении профилактических мероприятий является оценка данных особенностей.
2. С целью предупреждения антибиотикоустойчивости у больных с УГБ целесообразно назначение местных антибиотиков и ретиноидов для лечения легкой формы (комедонов). Для лечения тяжелых и средне тяжелых форм (комедон+папула+пустула) наряду с оральными антибиотиками рекомендуется назначать препарат местного действия (бензоил-пероксид–наименее резистентный местный антибактериальный препарат) и местные ретиноиды.
3. Изотретиноин нормализует иммунный ответ к *P.acnes* понижением моноцитами экспрессии TLR-2 у больных с УГБ, что способствует переходу заболевания в фазу ремиссии. Данное изменение продолжается и в течение 6 месяцев после прекращения лечения, что является подтверждающим фактором длительного действия изотретиноина. Поэтому в формах *Acne conglobate* и *Acne keloidalis*, обладающих устойчивостью к антибиотикотерапии, и вызывающих серьезные косметические дефекты, которые являются причиной тяжелых эмоциональных осложнений, целесообразно назначение лечения изотретиноином.

## **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Р.Т.Исаев Изучение количества отдельных популяций лимфоцитов в периферической крови у больных угревой болезнью с микст – инфицированием очагов акне / *Allerqologiya, immunologiya və immunoreabilitasiya üzrə IV Azərbaycan Milli Konqresi*, 19-20 oktyabr, 2012, səh.123-125
2. Р.Т.Исаев *Acne vulgaris*-in müalicəsində antibakterial və antibakterial-retinoid kombinasiyasının effektivliyinin öyrənilməsi/ Əziz Məmmədkərim oğlu Əliyevin anadan olmasının 115 illiyinə həsr olunmuş konfransın materialları, Bakı, 2012, səh.414-415

3. Р.Т.Исаев Z.Ö.Qarayev Аллергические реакции у больных угревой болезнью с микст - инфицированием очагов акне/ “Azərbaycan Təbabətinin Müasir Nailiyyətləri” jurnalı, 2012-ci il, N4, səh.76-83
4. Р.Т.Исаев Особенности микробиоценоза угревых элементов у больных угревой болезнью/ Kliniçnoi ta laboratornoi medisini, 2012, tom 7, N4, səh.152-155
5. Р.Т.Исаев Функциональная активность нейтрофилов у больных угревой болезнью/ Azərbaycan Tibb jurnalı, Bakı, 2012, N4, səh.40-43
6. Р.Т.Исаев , Z.Ö.Qarayev Исследование эффекта эритромицина и изотретинона на экспрессию TLR2 и TLR4 моноцитами периферической крови у больных угревой болезнью/ Журнал «Проблемы Медицинской Микологии», том 15, №3, 2013, стр.25-27
7. Исаев Р.Т. Исследование повышенной чувствительности замедленного типа у больных угревой болезнью/ Sağlamlıq jurnalı, Bakı, 2013, N3, səh.141-145

## RƏŞAD TOFIQ OĞLU İSAYEV

# ACNE ELEMENTLƏRİNİN QARIŞIQ MİKROBIOTA İLƏ YOLUXDUĞU HALLARDA ACNE VULQARISIN PATOGENEZİNİN XÜSUSİYYƏTLƏRİ

### XÜLASƏ

Acne vulgaris hazırda əhalinin müxtəlif qrupları arasında geniş yayılmış dermatoloji xəstəlikdir. Bu xəstəliyin inkişaf və klinik davamlılıq xüsusiyyətləri gənclər, yaşlılar, həmçinin qadınlar və kişilər arasında ciddi fərqlənir. Çox hallarda Acne vulgaris ağır, xroniki klinik gedişatlı olmaqla terapevtik baxımdan ciddi problemlərin və çətinliklərin baş verməsinə səbəb olur. Bununla belə, bu xəstəliyin etiologiya və patogenezi kifayət qədər öyrənilməmiş, adekvat terapevtik və profilaktik tədbirlər hazırlanmamışdır.

Təqdim olunan işin əsas məqsədi Propionbacterium acnes, bakterial və göbələk assosiasiyalı Acne vulgaris xəstəliyinin patogenetik xüsusiyyətlərinin kompleks klinik-mikrobioloji, mikoloji və immunoloji metodlar vasitəsilə öyrənilməsi olmuşdur.

Tədqiqatlar iki mərhələdə aparılmışdır. I mərhələ 256 nəfər müxtəlif ağırlıqlı, klinik gedişatlı Acne vulgaris'li xəstələrdə daha çox müşahidə olunan mikroorqanizmlər-törədicilər öyrənilmişdir, II mərhələdə-Acne elementləri P.acnes'lə yoluxmuş 40 xəstənin (I qrup), P.acnes, S.aureus assosiasiyalı 54 xəstənin (II qrup) və P.acnes, S.aureus, C.albicans assosiasiyalı 42 xəstənin (III qrup) (cəmi 136 nəfər) patogenetik xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. Kontrol müayinələr 30 nəfər sağlam şəxslər üzərində aparılmışdır. Pasientlər 16-27 yaşlarda olmuşlar.

Acne vulgaris iltihablı hissələrdən ən çox (46,5%) P.acnes, nisbətən az- S.aureus, S.epidermidis (19,1 və 12,1%), C.albicans, M.furur (12,1 və 5,8%) aşkar edilmişdir. Bununla belə bir növ mikroorqanizmlərlə (monoinfeksiya) patoloji elementlərin yoluxması xəstələrin 41,8%-də, iki və daha çox növ mikroorqanizmlərlə (mikst infeksiya)-58,2% müşahidə edilmişdir. Acne vulgaris patoloji elementlərinin mikst infeksiyaları ən çox P.acnes+S.aureus (36,2%) mənşəli və P.acnes+S.aureus+C.albicans (28,2%) assosiasiyalı olmuşdur. Ümumilikdə digər növ mikroorqanizmlər assosiasiyalı mikst infeksiyalar 35,6% xəstələrdə aşkar edilmişdir.

Mikst infeksiyalı Acne vulgaris'in klinik gedişatının daha ağır, davamlı olduğu müəyyən edilmişdir. Həmçinin bu qrup xəstələrdən ayırd olunan P.acnes və S.aureus Acne vulgaris'in müalicəsində istifadə olunan klassik antibiotiklərə (eritromisin, tetrasiklin, klindomisin) qarşı davamlılıq göstərdikləri müəyyən edilmişdir. İltihabi elementlərdən aşkar olunmuş C.albicans ştamlarının flukonazol və klotrimazola yüksək həssaslığı təyin edilmişdir. Mikst infeksiyalı xəstələrdə faqositar hüceyrələrin killinq aktivliyinin pozulması, P.acnes+S.aureus

assosiasiyalı xəstələrdə TLR-2, Candida-bakterial mənşəli xəstələrdə isə TLR-2 və TLR-4 monositar reseptorların ekspressiyasının stimule olunması müşahidə edilmişdir. Eyni zamanda məlum olmuşdur ki, eritromisin monositlərdə TLR-2 ekspressiya edir, izotretion isə əks təsir göstərir, hər iki preparat TLR-4 ekspressiyasına təsir etmirlər.

## RESHAD TOFIQ OGLU İSAYEV

### PECULIARITY OF PATHOGENESIS ACNE VULGARIS WHEN THE ACNE ELEMENTS WERE INFECTED BY MIXED MICROBIOTA

#### SUMMARY

Acne vulgaris is a broad spreading dermatologic disease among different group people. Occurrence and clinical peculiarity of this disease strongly distinguished in young peoples and adults, in women and men. Acne vulgaris frequently may grant itself as a heavy, chronic disease which may cause serious therapeutic problems. At the same time, the etiology and pathogenesis of this disease did not investigated sufficiently, effective therapeutic and prophylactic measures didn't elaborated.

The basic aim of presented study was investigation of pathogenetic peculiarities of Acne vulgaris caused by Propionibacterium acnes in association with other microorganisms (bacteria, fungi).

Represented study was carrying out in two steps. During first step in total 256 patients with different clinical manifestations of Acne vulgaris were examined in order to define the mostly occurred pathologic agent of this disease. During second step of study the investigations were carrying out in total of 136 patients (in age 16-27 years old) and in 30 practical healthy persons (as a control), where in 40 patients (II gr.) acne elements were infected by P.acnes, in 54 patients (IIIgr/) - P.acnes in association with S.aureus, and in 42 patients (IV gr.) - P.acnes in combination with S.aureus and C.albicans. All of group patients and control persons (I gr.) were examined using by complex clinical-microbiological, mycological and immunological methods of investigations.

First of all, it was established the most frequently (46,5%) isolation from acne elements of patients with Acne vulgaris P.acnes, relatively lesser S.aureus and S.epidermidis (19,1 and 12,1%) C.albicans and M.furfur (12,1 and 5,8%, correspondently). The same time, invasion of inflammatory elements with one spp. of microorganism (mono-infection) revealed in 41,8% of patients, with two and more spp. microorganisms (mixed infection) in 58,2%. In patients with Acne vulgaris inflammatory elements infected P.acnes in association with S.aureus were revealed in 36,2% cases,

P.acnes+S.aureus+C.albicans-in 28,2%. On the whole, the associative mixed infections were revealed in 35,6% of patients with Acne vulgaris.

It was established heavily clinic course of Acne vulgaris during mixed infections. The same time it was revealed high resistivity to classic antibiotics (erythromycin, tetracyclin, clindomycin) of P.acnes and S.aureus, isolated, from inflammatory elements of this group patients. C.albicans strains, isolated from inflammatory elements had high sensitivity to fluconazole and clotrimazole. In patients Acne vulgaris with mixed infection were defined the disorders killing functions of phagocytic cells (neutrophils), in patients with P.acnes+ S.aureus and Candida+bacterial association were revealed the stimulation of expression TLR-2 and TLR-2, TLR-4 monositar receptors (correspondingly). The same time it was established the expression on monocytes TLR-2 by erythromycin, isotretinoin effected oppositly, both preparations had no effect on TLR-4 expression.

Kağız formatı 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Sifariş 509 Tiraj 100.

---

Azərbaycan Tibb Universitetinin  
mətbəəsində çap edilmişdir.

Tel.: 595-55-76

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI  
SƏHİYYƏ NAZİRLİYİ

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

*Əlyazması hüququnda*

**RƏŞAD TOFIQ OĞLU İSAYEV**

**ACNE ELEMENTLƏRİNİN QARIŞIQ MİKROBİOTA İLƏ  
YOLUXMASI ZAMANI ACNE VULQARİSİN  
PATOGENEZİNİN XÜSUSİYYƏTLƏRİ**

2414.01 – Mikrobiologiya

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq  
üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın

**A V T O R E F E R A T I**

BAKİ – 2014