

## ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ФУРУНКУЛЕЗОМ

<sup>1</sup> УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

<sup>2</sup> ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Проанализированы показатели иммунного статуса у 45 больных хроническим рецидивирующим фурункулезом в стадии ремиссии в зависимости от давности заболевания. Установлено, что изменения, выявляемые у больных с длительностью заболевания менее 2 лет, представлены угнетением поглотительной активности нейтрофилов, снижением резерва продукции активных форм кислорода и NO. Изменения субпопуляционного состава лимфоцитов, такие как снижение числа CD3<sup>+</sup>16/56<sup>+</sup>-клеток, повышение числа CD3<sup>+</sup>4<sup>+</sup>-лимфоцитов, а также ИРИ, наблюдаются у больных с давностью фурункулеза свыше 5 лет.

**Ключевые слова:** хронический рецидивирующий фурункулез, субпопуляции лимфоцитов, фагоцитоз, оксид азота, НСТ-тест

### Введение

Хронический рецидивирующий фурункулез (ХРФ) является серьезной проблемой клинической медицины ввиду широкого распространения и неуклонного роста заболеваемости, недостаточной эффективности этиотропной терапии и склонности к хронизации, частым рецидивам, постоянной персистенции возбудителя в организме [1-3].

В возникновении и развитии ХРФ, наряду с особенностями возбудителя (*Staphylococcus aureus*), ведущая роль принадлежит нарушениям нормального функционирования и взаимодействия различных звеньев иммунной системы. В настоящее время это заболевание считается клиническим проявлением вторичной иммунологической недостаточности. Описаны различные дефекты состава и функциональных свойств иммунокомпетентных клеток у больных ХРФ, такие как изменение содержания CD3<sup>+</sup>, CD21<sup>+</sup>-лимфоцитов в периферической крови, нарушения функциональной активности Т-клеток, снижение внутриклеточной бактерицидности нейтрофилов [2, 4-7]. Однако выявляемые изменения часто носят разноплановый, а иногда противоречивый характер, что в значительной степени связано не только с

различными подходами к иммунологическому обследованию пациентов, но и с разнообразием клинических форм и особенностей течения заболевания.

**Цель работы** - анализ особенностей иммунного статуса при хроническом рецидивирующем фурункулезе в зависимости от давности заболевания.

### Материалы и методы исследования

Обследовано 45 пациентов хроническим рецидивирующим фурункулезом (16 мужчин и 29 женщин в возрасте от 18 до 46 лет), проходивших обследование и лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека». Давность заболевания составляла от 6 месяцев до 14 лет при частоте рецидивирования не менее 6 раз в год. У 69% больных отмечено непрерывно-рецидивирующее течение заболевания. На момент обследования все пациенты находились в стадии ремиссии заболевания. Диагноз ставили на основании жалоб, объективного осмотра, лабораторных методов исследования. Сахарный диабет и ВИЧ-инфекция как причина гнойных поражений кожи была исключена. Иммунологическое обследование проводили до назначения медикаментозной терапии.

Группа сравнения включала 56 практически здоровых лиц сопоставимого возраста, которые по данным анкетирования и лабораторного обследования не имели клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности и сопутствующих заболеваний.

Определялся количественный состав популяций и субпопуляций лимфоцитов периферической крови с использованием моноклональных антител линии ЮTest (Beckman Coulter, USA), меченных FITC, PE, PC-5 в следующих панелях: CD3~FITC/CD4~PE/CD25~PC-5, CD3~FITC/CD56+CD16~PE/CD8~PC-5, CD3~FITC/CD19~PE/HLA-DR~PC-5. Анализ окрашенных клеток проводился на трехцветном проточном цитофлуориметре («PAS», Partec) в программе «Partec FloMax». Оценивалось содержание CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>16/56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>16/56<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>-клеток, рассчитывался иммунорегуляторный индекс (ИРИ) как отношение CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> [8].

Функциональная активность нейтрофилов оценивалась по способности к поглощению микроорганизмов, продукции

активных форм кислорода (АФК), оксида азота (NO). Поглотительная способность нейтрофилов определялась в реакции фагоцитоза *S. aureus* с последующим приготовлением окрашенных мазков и оценкой фагоцитарного индекса (ФИ), как процентного содержания нейтрофилов, поглотивших 2 и более микробных частиц. Выработка нейтрофилами АФК изучалась в реакции базального и стимулированного *S. aureus* теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ<sub>б</sub> и НСТ<sub>с</sub> соответственно) с микроскопической оценкой результатов [9]. Базальная (NO<sub>б</sub>) и стимулированная пирогеналом (7 мкг/мл) *in vitro* (NO<sub>с</sub>) продукцию лейкоцитами NO оценивалась по накоплению нитрит-анионов в супернатантах краткосрочных (3 часа) клеточных культур фотометрически с реактивом Грисса [10]. Для характеристики функционального резерва лейкоцитов рассчитан индекс стимуляции NO-продукции (ИС<sub>NO</sub>) по формуле  $ИС_{NO} = NO_c / NO_b$ , а также и индекс респираторного резерва (ИРР) - по формуле  $ИРР = (НСТ_c - НСТ_b) / НСТ_c$ .

Учитывая характер распределения изучаемых показателей, использовались не параметрические методы: критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса

Таблица 1 - Показатели иммунного статуса у

Показатель, ед. измерения	Группа сравнения n=56	ХРФ n=45
CD3 <sup>+</sup> , %	69,1 (62,8-74,9)	70,1 (66,9-73,6)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , %	39,8 (34,2-43,2)	43,0 (40,3-49,7)*
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> , %	24,5 (20,7-26,9)	22,6 (18,7-25,6)
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	1,2 (0,8-2,2)	2,0 (1,2-3,0)
ИРИ	1,65 (1,32-1,95)	2,03 (1,66-2,55)*
CD19 <sup>+</sup> , %	10,2 (8,6-11,6)	11,0 (7,6-13,4)
CD3 <sup>+</sup> 16/56 <sup>+</sup> , %	14,0 (9,8-20,5)	12,0 (8,3-16,0)
CD3 <sup>+</sup> 16/56 <sup>+</sup> , %	3,6 (2,5-6,0)	2,4 (1,3-4,6)*
NO <sub>б</sub> , μM/л	0,38 (0,24-0,76)	0,36 (0,25-0,43)
NO <sub>с</sub> , μM/л	0,56 (0,40-1,04)	0,35 (0,23-0,48)**
ИС <sub>NO</sub>	1,39 (1,21-1,68)	0,88 (0,70-1,25)**
НСТ <sub>б</sub> , %	10,5 (8,0-18,0)	24,5 (13,5-35,0)**
НСТ <sub>с</sub> , %	57,0 (48,0-62,0)	50,5 (42,0-60,0)
ИРР	0,77 (0,73-0,84)	0,52 (0,38-0,68)**
ФИ, %	73,0 (68,0-77,5)	69,0 (60,0-77,0)

Примечание: различия значимы \* - p<0,05; \*\* - p<0,001.

- для сравнения независимых групп. Различия считались значимыми при p<0,05. Данные представлены медианой (Me) с интервалом верхней - нижней квартиль (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>).

### Результаты исследования

Результаты иммунологического обследования пациентов ХРФ и здоровых лиц представлены в таблице 1.

Как видно из представленной таблицы, у больных ХРФ в период ремиссии заболевания наблюдалось значимое увеличение относительного количества Т-хелперов (p=0,009) с одновременным повышением ИРИ (p=0,012), а также снижение содержания СБЗ<sup>+</sup>16/56<sup>+</sup>-лимфоцитов (p=0,014). Если повышение CD3<sup>+</sup>4<sup>+</sup>-

клеток может быть результатом персистенции возбудителя, а также следствием определенной инерционности реакции иммунной системы на предшествующее обострение инфекции, то роль  $CD3^+16/56^+$ -лимфоцитов при рецидивирующих стафилококковых инфекциях в настоящее время остается неясной. Эта субпопуляция содержит в своем составе Т-клетки со свойствами естественных киллеров (так называемые НКТ-клетки), которые являются активными продуцентами важнейших цитокинов, регулируют адаптивный иммунный ответ, изменяя соотношение Th1/Th2, предотвращают чрезмерное повреждение здоровых тканей при воспалительной реакции [11]. Благодаря наличию перфорина и гранулизына, НКТ-лимфоциты способны к киллингу микобактерий и Грам-отрицательных микроорганизмов [12]. Полученные нами результаты дают возможность предполагать участие  $CD3^+16/56^+$ -лимфоцитов в регуляции иммунного ответа при стафилококковых инфекциях.

Одновременно с изменениями в субпопуляционном составе лимфоцитов у обследованных больных выявлено повышение исходной степени раздражения нейтрофилов (спонтанный НСТ-тест,  $p < 0,001$ ) и, как следствие, снижение ИРР ( $p < 0,001$ ). Способность лейкоцитов к продукции оксида азота у пациентов и здоровых лиц не различалась, но у пациентов обнаружено отсутствие ответа при стимуляции клеточных культур пирогеналом. Поэтому ИС<sub>NO</sub>, отражающий функциональный резерв NO-продукции, в группе пациентов был значимо ниже соответствующего значения у здоровых лиц ( $p < 0,001$ ).

Описанные выше изменения иммунологических показателей у пациентов ХРФ в ремиссии могут быть связаны с клиническими особенностями течения заболевания у разных пациентов. По данным ряда исследователей по мере прогрессирования воспалительного процесса и увеличения числа обострений усугубляются расстройства в иммунной системе [2]. Поэтому на следующем этапе работы мы про-

анализировали параметры иммунного статуса пациентов в зависимости от длительности заболевания.

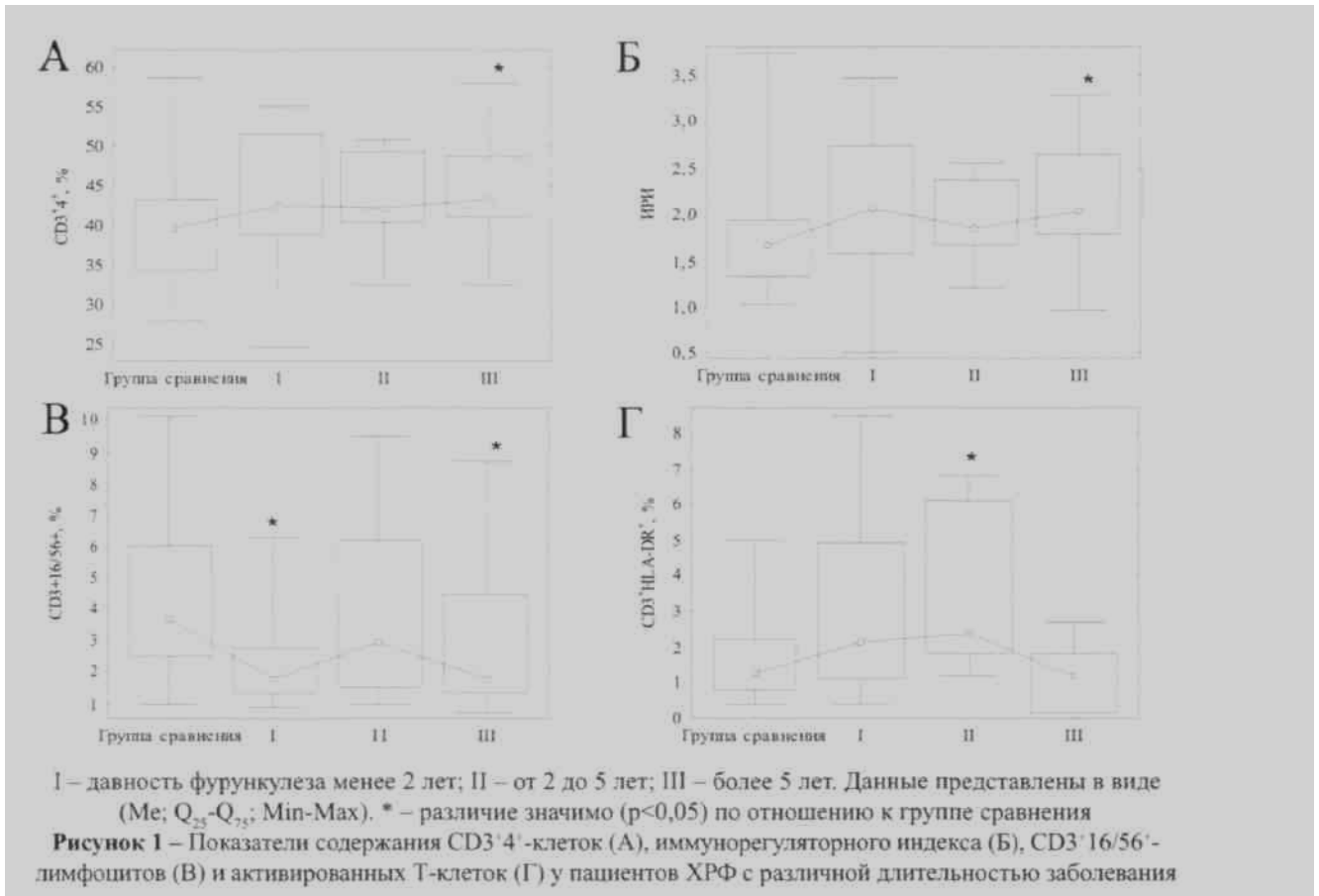
Обследованных пациентов разделили на три группы: с длительностью заболевания менее двух лет (I группа, 16 больных), от 2 до 5 лет включительно (II группа, 14 больных) и более 5 лет (III группа, 15 пациентов). При этом пациенты с разной давностью фурункулеза по половозрастному составу, а также частоте рецидивирования и другим клиническим особенностям течения заболевания не различались.

Выявлены значимые различия между группами по содержанию Т-хелперов ( $CD3^+4^+$ ), активированных Т-лимфоцитов ( $CD3^+HLA-DR^+$ ) и  $CD3^+CD16/56^+$ -клеток (рисунок 1).

Как видно из рисунка 1, наиболее выраженные изменения субпопуляционного состава лимфоцитов наблюдались у пациентов с длительностью заболевания более 5 лет. Если у пациентов I и II групп содержание  $CD3^+4^+$ -лимфоцитов и, соответственно, значение ИРИ, имели лишь тенденцию к повышению, то у пациентов III группы эти показатели были значимо выше ( $p = 0,038$ ) в сравнении с параметрами здоровых лиц. Одновременно у них наблюдалось более низкое содержание, относительно контроля,  $CD3^+CD16/56^+$ -клеток ( $p = 0,048$ ).

Интересные закономерности обнаружены нами при сравнительном анализе содержания Т-клеток с фенотипом  $CD3^+HLA-DR^+$  в крови пациентов с различной длительностью ХРФ. Известно, что повышение экспрессии HLA-DR на лимфоцитах служит отражением поздней активации клеток, индуцируется провоспалительными цитокинами и увеличивается при различных воспалительных заболеваниях [13].

В нашем исследовании у пациентов с длительностью заболевания до 5 лет содержание этих клеток было увеличено в сравнении с показателями здоровых лиц. В I группе изменения имели характер тенденции, во второй - были статистически значимы ( $p = 0,012$ ) В то же время у паци-

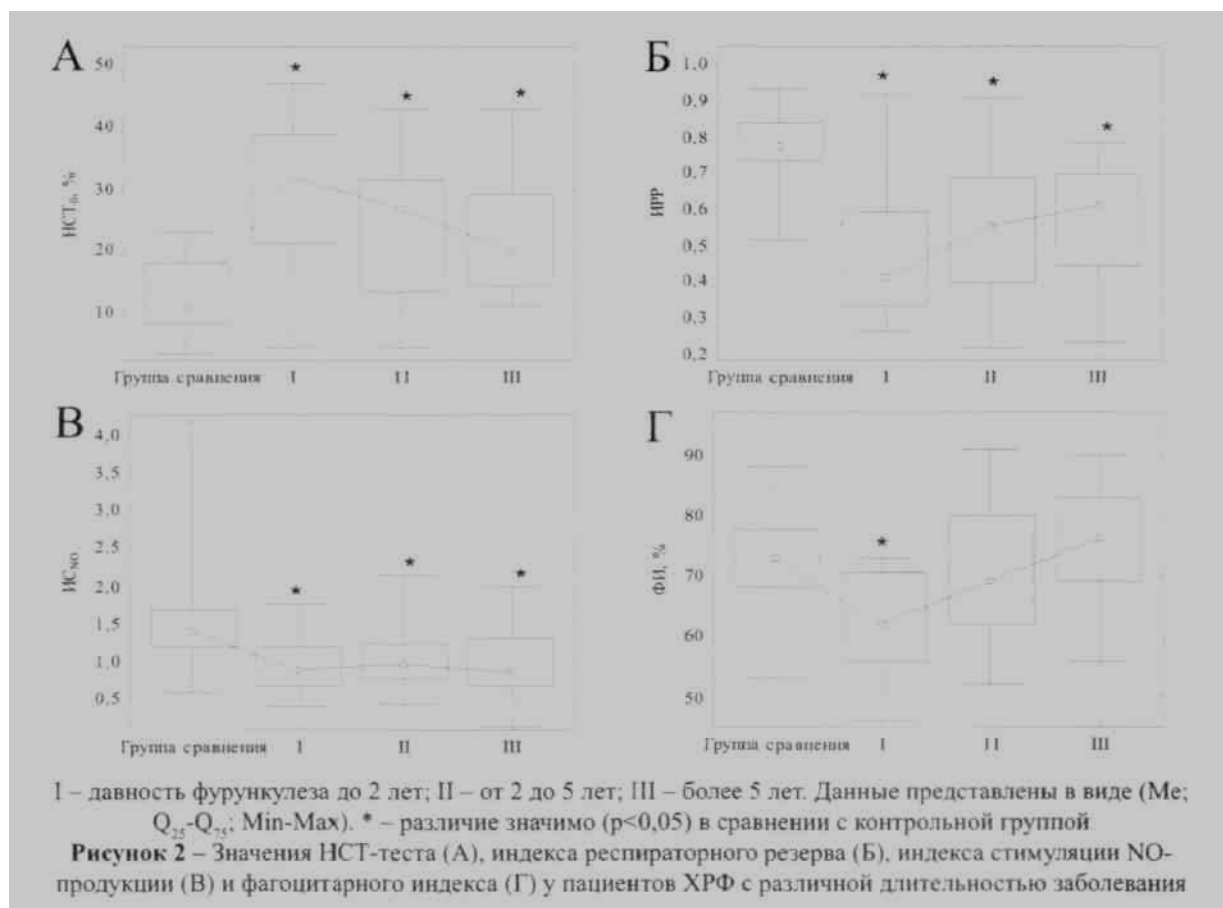


ентов с длительностью заболевания более 5 лет (III группа), количество активированных Т-клеток не отличалось от контрольных значений (рисунок 1Г). Мы рассцениваем это как истощение способности Т-клеток пациентов к активации при длительном течении инфекционного процесса. Данное наблюдение согласуется с результатами других исследователей, продемонстрировавших возможность использования маркера HLA-DR для контроля за течением и исходом воспалительных процессов различной этиологии [6, 14].

Анализ показателей функциональной активности фагоцитирующих клеток выявил во всех группах пациентов значимое повышение базальной активности нейтрофилов и, как следствие, снижение ИРР по сравнению со значениями здоровых лиц (рисунки 2А, 2Б). В то же время максимальные изменения кислородпродуцирующей функции наблюдались у пациентов с давностью заболевания менее двух лет с постепенной тенденцией к нор-

мализации по мере увеличения длительности заболевания. Известно, что повышение базальной активации нейтрофилов крови является отражением адекватной реакции организма на инфекцию, прежде всего бактериальной природы [10]. В связи с этим выявленные факты являются дополнительным подтверждением постепенного истощения способности иммунокомпетентных клеток к активации, описанной выше применительно к субпопуляции CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоцитов.

Нитроксидпродуцирующая функция нейтрофилов, представленная нами на рисунке 2В, как функциональный резерв продукции NO (ИС<sub>NO</sub>), была снижена во всех группах пациентов в равной степени. Следует отметить, что снижение ИС<sub>NO</sub>, в отличие от ИРР, не является адекватной реакцией нейтрофилов на активацию микробными антигенами, но рассматривается как нарушение их функциональной активности [10]. В этом аспекте можно констатировать, что дефект NO-продуцирующих



свойств нейтрофилов у пациентов ХРФ не усугубляется при увеличении длительности анамнеза, а служит исходным фактором, способствующим формированию хронического рецидивирующего течения воспалительного процесса.

Что касается поглотительной активности нейтрофилов, то отмечалось ее значимое снижение у пациентов I группы (p=0,001), тогда как у пациентов с более длительным анамнезом данное нарушение не выявлялось (рисунок 2Г). Механизмы компенсации дефекта фагоцитоза у пациентов ХРФ с длительностью заболевания более 2-х лет не ясны.

Результаты проведенного исследования показывают, что изменения функциональной активности нейтрофилов у пациентов ХРФ выявляются на более ранних сроках заболевания, тогда как сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов характерны для пациентов с длительным анамнезом.

В настоящее время нейтрофилам, как и другим клеточным факторам врож-

денного иммунитета, отводится чрезвычайно важная роль в формировании адекватной защиты против микробных агентов. Доказано наличие на них клетках рецепторов для распознавания микроорганизмов (Toll-рецепторов), активация которых запускает каскад провоспалительных реакций, направленных на блокирование жизнедеятельности патогена, а также стимулирует начальные этапы развития реакций приобретенного иммунитета, определяя тип иммунного ответа. Дефект активации нейтрофилов может приводить к выраженном дисрегуляции защитных реакций [15]. В связи с этим можно предположить, что нарушение NO-продукции и поглотительных свойств нейтрофилов создает благоприятные условия для персистенции *S. aureus* у пациентов ХРФ. По мере увеличения длительности фурункулеза наблюдается постепенное истощение способности иммунной системы реагировать на присутствие возбудителя в организме изменением метаболической активности

оксидативных свойств нейтрофилов. Возможно, следствием нарушенной функциональной активности гранулоцитов является снижение активационной способности Т-клеток и другие изменения субпопуляционного состава лимфоцитов, обнаруживаемые у пациентов с длительно протекающим фурункулезом.

### Выводы

1. У больных хроническим рецидивирующим фурункулезом в ремиссии заболевания в сравнении со здоровыми лицами выявлены сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов (увеличение количества CD3<sup>+</sup>4<sup>+</sup>-клеток, снижение CD3<sup>+</sup>56/16<sup>+</sup>-клеток) и показателей функциональной активности нейтрофилов (повышение базальной кислородпродуцирующей активности и снижение стимулированной NO-продукции).

2. Степень и характер сдвигов иммунологических показателей зависят от длительности заболевания. Изменения функциональной активности нейтрофилов выявляются уже на ранних сроках заболевания, тогда как сдвиги субпопуляционного состава лимфоцитов характерны для пациентов с длительным анамнезом.

3. При длительном течении хронического рецидивирующего фурункулеза появляются признаки истощения способности иммунокомпетентных клеток к активации, что проявляется отсутствием ответа CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоцитов и снижением уровня базальной активации нейтрофилов у больных с давностью процесса более 5 лет.

### Библиографический список

1. Принципы диагностики и лечения хронического рецидивирующего фурункулеза / Н.Х. Сетдикова [и др.] // Лечащий врач. - 2005. - № 6. - С. 44-47.

2. Сетдикова, Н.Х. Комплексные механизмы развития хронического рецидивирующего фурункулеза и пути их коррекции / Н.Х. Сетдикова, Т.В. Латышева // Иммунология. - 2000. - № 3. - С.48-50.

3. Lowy, F.D. *Staphylococcus aureus* infections / F.D. Lowy // N. Engl. J. Med. - 1998. - Vol. 339, № 8. - P. 520-532.

4. Лебедев, К.А. Иммунная недостаточность (выявление и лечение) / К.А. Лебедев, И.Д. Поныкина. - М.: Медицинская книга, 2003. - 443 с.

5. Cellular inflammatory response to persistent localized *Staphylococcus aureus* infection: phenotypical and functional characterization of polymorphonuclear neutrophils (PMN) / C Wagner [et al.] // Clin. Exp. Immunol. - 2006. - Vol. 143. - P. 70-77.

6. Лебедев, К.А. Интерпретация клинического анализа крови с определением субпопуляций лимфоцитов при воспалении / К.А. Лебедев, И.Д. Поныкина // Аллергология и иммунология. - 2002. - Т. 3, №1. - С. 50-61.

7. Показатели клеточного иммунитета и их изменение под влиянием растворимых продуктов *Staphylococcus aureus* у больных гнойно-воспалительными заболеваниями / И.А. Новикова [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. - 2008. - №1(15). - С. 53-58.

8. An Italian national multicenter study for the definition of a reference ranges for normal values of peripheral blood lymphocyte subsets in healthy adults / A. Santagostino [et al.] // Haematologica. - 1999. - Vol. 84. - P. 499-504.

9. Infections and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic aid / B. Park [et al.] // Lancet. - 1968. - Vol. 7. - P. 532-534.

10. Новикова, И.А. Продукция оксида азота и фагоцитарная активность лейкоцитов больных хроническим рецидивирующим фурункулезом / И.А. Новикова, А.В. Гомоляко // Проблемы здоровья и экологии. - 2008. - Т. 17, №3. - С. 138-143.

11. NKT cells: facts, functions and fallacies / D. Godfrey [et al.] // Immunology Today. - 2000. - Vol. 21, № 11. - P. 573-583.

12. Human NKT cells express granulysin and exhibit antimycobacterial activity / J. Gansert [et al.] // J. Immunol. - 2003. - Vol. 170. - P. 3154-3161.

13. T cells activated by Zwitterionic molecules prevent abscesses induced by pathogenic bacteria / A. O. Tzianabos [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. - 2000. - Vol. 275, № 10. - P. 6733-6740

14. Изменения экспрессии HLA-DR-антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе / А.В.

Зурочка [и др.] // Медицинская иммунология. - 2008. - Т. 10, № 4-5. - С. 379-388.

15. Нейтрофильные гранулоциты - ключевые клетки иммунной системы / И.В. Нестерова [и др.] // Аллергология и иммунология. - 2008. - Т. 9, № 4. - С. 432-435.

**A.V. Hamaliaka, L.A. Novikova, A.S. Prokopovich**

### **IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC RECURRENT FURUNCULOSIS**

Immunological parameters of 45 patients with chronic recurrent furunculosis in remission period according to the disease duration were analyzed. The earliest changes found in patients with disease duration less than 2 years are represented by depression of phagocytosis activity, decrease of the neutrophil production reserve of reactive oxygen species and nitric oxide. Change of lymphocyte subpopulations such as increase of CD3<sup>+</sup>4<sup>+</sup>-cells, CD3<sup>+</sup>4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>8<sup>+</sup> ratio and decrease of CD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>-lymphocytes was observed in patients with furunculosis duration more than 5 years.

**Key words:** *chronic recurrent furunculosis, lymphocyte subpopulation, nitric oxide, NBT-test*

*Поступила 29.03.10*