

# ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ БРУЦЕЛЛЕЗА

О.В. Логвиненко, Е.Л. Ракитина, Д.Г. Пономаренко, М.В. Костюченко, Н.С. Саркисян, Т.В. Бердникова

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Резюме.** Проведенными исследованиями установлено, что острый бруцеллез сопровождается увеличением в крови количества Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов и снижением фагоцитарной активности нейтрофилов. При хронической форме заболевания, наряду со снижением уровня Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов, выражена активация гуморального звена иммунитета, сопровождающаяся повышением содержания В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов А и G. Выявленные изменения свидетельствуют о формировании вторичного иммунодефицитного состояния при хронической форме заболевания. Результаты исследования указывают на необходимость постоянного иммунологического мониторинга за больными бруцеллезом людьми, а также проведения комплексного иммунологического обследования при разработке индивидуальной схемы корректирующей терапии.

**Ключевые слова:** бруцеллез, субпопуляции лимфоцитов, фагоцитоз, иммуноглобулины, естественная резистентность.

В Российской Федерации ежегодно увеличивается число людей, заболевших бруцеллезом [5]. По данным ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора в 2012 г. на территории РФ зарегистрировано 465 случаев первично диагностированного бруцеллеза, из них 76 заболевших приходится на Ставропольский край.

Благодаря многообразию клинических проявлений, стертому течению и недостаточной эффективности существующих методов лечения, бруцеллез ведет к хронизации заболевания с последующей инвалидизацией больных, что значительно ухудшает качество жизни человека [3].

Возникновение и развитие инфекционного бруцеллезного процесса, формирование его патогенетических фаз, сопровождаются иммунологической перестройкой организма. Многие

аспекты иммунологии бруцеллеза, в частности особенности межклеточных взаимоотношений в процессе формирования противоиного иммунитета при данной патологии изучены недостаточно. Прогноз при бруцеллезе определяется прежде всего состоянием именно клеточного иммунитета, так как инфекция часто протекает на фоне достаточно высокого уровня циркулирующих антител, которые не обеспечивают защиту макроорганизма и не препятствуют формированию бактерионосительства [2, 3, 7].

Целью данного исследования явилось изучение некоторых иммунологических показателей крови людей с хроническим и острым бруцеллезом.

Материалом для исследования служила гепаринизированная кровь и сыворотка 22 больных с диагнозом острый бруцеллез и 12 пациентов

## Авторы:

**Логвиненко О.В.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь;

**Ракитина Е.Л.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь;

**Пономаренко Д.Г.**, к.б.н., зав. лабораторией патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь;

**Костюченко М.В.**, научный сотрудник лаборатории патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь;

**Саркисян Н.С.**, младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь;

**Бердникова Т.В.**, младший научный сотрудник лаборатории бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь.

## Адрес для переписки:

Логвиненко Ольга Васильевна  
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,  
ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.  
Тел.: (8652) 26-18-19. Тел./факс: (8652) 26-03-12. E-mail: patomorf@yandex.ru

поступила в редакцию 25.03.2013  
принята к печати 10.06.2013

© Логвиненко О.В. и соавт., 2013

с хронической формой заболевания, в течение 2 лет состоящих на учете в отделении по диагностике, лечению и экспертной профпатологии бруцеллеза МБУЗ «Городская клиническая больница № 2» г. Ставрополя. Контрольную группу составили 10 относительно здоровых человек. Всем пациентам проводили комплексное иммунологическое обследование. Определяли факторы естественной резистентности (фагоцитарную и функциональную активность нейтрофилов крови). Методом проточной цитометрии изучали клеточное звено иммунитета: абсолютное и относительное содержания Т-лимфоцитов (CD3), Т-хелперов (CD4), Т-цитотоксических (CD8), естественных (натуральных) киллеров (CD16) и В-лимфоцитов (CD19) на аппарате FACSCalibur, используя моноклональные антитела производства Beckman Coulter. В сыворотке крови исследовали уровень общих иммуноглобулинов А, М, G методом радиальной иммунной диффузии с моноспецифическими сыворотками (НПО «Микроген»), активность комплемента определяли по 50% гемолизу эритроцитов барана, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов выявляли с помощью фотоколориметрии в реакции с ПЭГ-6000 [4, 6].

Обеззараживание исследуемого материала от больных бруцеллезом людей осуществляли путем добавления в кровь мертиолята натрия до конечной концентрации 1:10 000 с последующим прогреванием при 56°C в течении 30 мин [1].

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica 6.0.

Анализ изменений иммунологических показателей у больных с острой и хронической формами бруцеллеза выявил зависимость от продолжительности заболевания. Установлена тенденция к повышению относительного количества Т-лимфоцитов при остром течении бруцеллезной инфекции (табл.). Для хронической формы заболевания характерно угнетение пролиферации относительного и абсолютного количества клеток, экспрессирующих CD3<sup>+</sup>. Абсолютные значения (рис.) Т-лимфоцитов при остром бруцеллезе ( $1,81 \pm 0,11 \times 10^9/\text{л}$ ) достоверно превышают аналогичные показатели в контрольной группе ( $1,35 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$ ). У пациентов

с хронической формой заболевания искомый показатель составлял  $1,30 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ , что достоверно не отличалось от контрольных значений. При остром и хроническом процессе отмечена тенденция к снижению абсолютного содержания Т-хелперов — лимфоцитов, осуществляющих основные функции в реализации клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа организма.

Цитотоксические лимфоциты активно участвуют в лизисе поврежденных клеток организма, предположительно этим и объясняется высокое значение абсолютных и относительных показателей в крови больных острой и хронической формами бруцеллеза в сравнении со здоровыми донорами.

Натуральные киллеры активизируются на ранних стадиях инфекции, поскольку они способны лизировать клетки-мишени без предварительной сенсibilизации. У больных острым и хроническим бруцеллезом выявлено статистически значимое увеличение абсолютного содержания натуральных киллеров  $0,37 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$  и  $0,33 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$  по сравнению с контрольными значениями  $0,19 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ . У пациентов с острой формой бруцеллезной инфекции прослеживается тенденция к увеличению относительного уровня клеток, экспрессирующих CD16<sup>+</sup>.

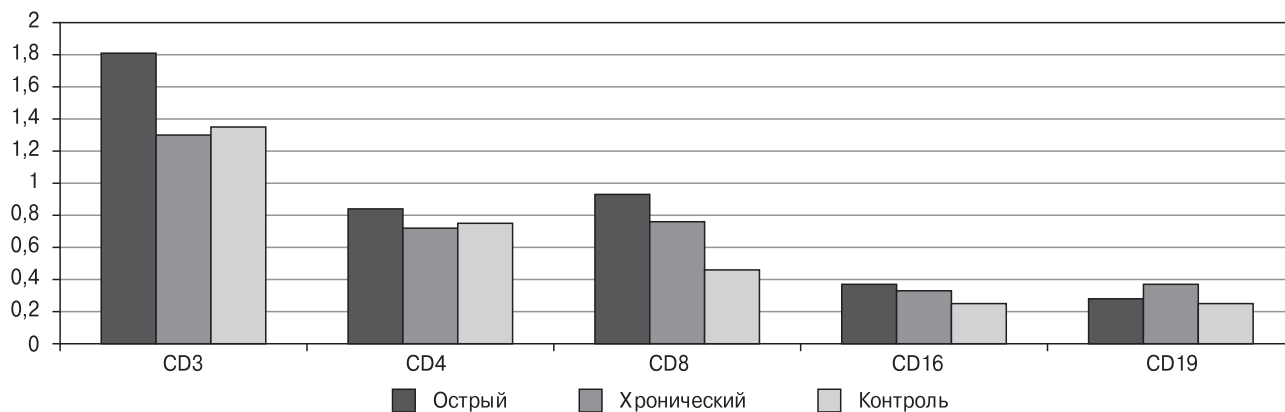
Дополнительно был рассчитан иммунорегуляторный индекс (ИРИ), который отражает соотношение уровней CD4<sup>+</sup> к CD8<sup>+</sup> лимфоцитам. Нарушение соотношения Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов свидетельствует о неадекватности иммунной реакции и возможной хронизации инфекционного процесса. У обследованных пациентов выявлено снижение ИРИ с минимальными значениями в группе больных с хронической формой заболевания  $1,09 \pm 0,02$ , при остром процессе —  $1,19 \pm 0,03$  ( $1,62 \pm 0,08$  — контроль).

Статистически значимых изменений при определении относительного содержания В-лимфоцитов у обследованных с хронической формой заболевания не выявлено. При острой форме инфекции уровень В-лимфоцитов достоверно ниже контрольных величин. Отмечено увеличение абсолютного уровня CD19<sup>+</sup> при хронической

**ТАБЛИЦА. ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ И ХРОНИЧЕСКИМ БРУЦЕЛЛЕЗОМ**

Определяемые показатели	Группа больных острым бруцеллезом	Группа больных хроническим бруцеллезом	Группа сравнительного контроля
CD3, %	70,81±1,8	56,5±7,0*	68,87±3,25
CD4, %	35,81±1,44**	37,1±1,25	39,11±2,38
CD8, %	30,15±1,49*	34,7±1,1*	24,18±2,24
CD16, %	12,3±1,8	10,61±1,06	10,19±1,15
CD19, %	9,48±0,64**	13,25±1,03	12,71±1,32

**Примечание.** \*  $p < 0,001$  при сравнении с контрольной группой; \*\*  $p < 0,01$  при сравнении с контрольной группой.



**Рисунок. Абсолютные значения субпопуляционного состава лимфоцитов крови при различных формах бруцеллеза**

форме заболевания  $0,37 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ . по сравнению с относительно здоровыми донорами  $0,25 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ .

Определение уровня иммуноглобулинов сыворотки крови больных острым бруцеллезом выявило увеличение количества IgM ( $1,64 \pm 0,20$  г/л) и тенденцию к увеличению IgG ( $11,07 \pm 0,62$  г/л), количество общего IgA ( $2,09 \pm 0,21$  г/л) не отличалось от показателей здоровых лиц ( $2,02 \pm 0,24$  г/л). Для хронического бруцеллеза установлено повышение содержания IgA ( $2,54 \pm 0,25$  г/л) и IgG ( $12,48 \pm 0,7$  г/л), контроль —  $10,30 \pm 0,92$  г/л. Статистически значимое повышение уровня IgM определяли у двух пациентов ( $2,01 \pm 0,07$  г/л). В остальных случаях искомый показатель оставался в пределах контрольных значений и составлял  $1,54 \pm 0,15$  г/л (контроль —  $1,45 \pm 0,17$  г/л).

Анализ фагоцитарной активности нейтрофилов крови выявил подавление поглотительной способности клеток при острым и хроническом бруцеллезном процессе. Минимальные значения фагоцитарной активности нейтрофилов определяли в крови больных острым бруцеллезом ( $50,24 \pm 4,76\%$ ), при хроническом течении заболевания данный показатель составлял  $60,3 \pm 7,12\%$ , что оставалось достоверно ниже результатов, полученных от контрольной группы ( $76,3 \pm 3,76\%$ ). Разница в значениях НСТ-теста при острым и хроническом бруцеллезе статистически не значима.

У пациентов с хронической формой бруцеллеза установлено достоверное повышение комплементарной активности сыворотки крови до  $62,0 \pm 7,9$  ЕД по сравнению с контрольными значениями ( $30,23 \pm 2,25$  ЕД), а также

увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов —  $45,2 \pm 7,4$  ЕД (контроль  $12,3 \pm 1,02$  ЕД). При острым бруцеллезе определяемые показатели статистически достоверно превышали контрольные величины: комплемент —  $48,8 \pm 2,16$  ЕД, циркулирующие иммунные комплексы —  $34,79 \pm 2,79$  ЕД, но были ниже аналогичных показателей при хроническом процессе.

Таким образом, при изучении иммунологического статуса у больных бруцеллезом людей выявлены изменения со стороны клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Для острого течения бруцеллеза характерно увеличение Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов крови, выраженное снижение поглотительной способности нейтрофилов.

Показано, что формирование хронического процесса сопровождается развитием вторичного иммунодефицитного состояния. Выявленные изменения в большей степени носят иммуносупрессивный характер, что проявляется в снижении уровня Т-лимфоцитов и Т-хелперов в периферической крови. Наряду со снижением неспецифической защиты отмечали активацию гуморального звена иммунитета, сопровождающуюся повышением содержания В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов А и G.

Результаты наших исследований могут послужить основанием для проведения комплексного иммунологического обследования больных бруцеллезом людей с целью выявления нарушений в иммунной системе организма при назначении соответствующего лечения с обязательным включением иммунокорректирующих препаратов.

## Список литературы

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.1285–03 / Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. — Вып. 3 (13). — М.: 2003. — С. 67–144.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. — М.: МИА, 2005. — 423 с.
3. Вершилова П.А., Чернышева М.И., Князева Э.Н. Патогенез и иммунология бруцеллеза. — М.: Медицина, 1974. — 271 с.
4. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. — М.: «ГЕОТАР-Медиа», 2007. — 779 с.

5. Лямкин Г.И., Тихенко Н.И., Русанова Д.В., Манин Е.А. Современная эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу в Российской Федерации // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: материалы Всерос. науч.-практ. конф. — Ставрополь: «Экспо-Медиа», 2012. — С. 51–52.
6. Методы клинических лабораторных исследований / Под ред. В.С. Камышникова. — 4-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2011. — 752 с.
7. Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Голубь О.Г., Бердникова Т.В. Изменение иммунологических показателей у людей больных хроническим бруцеллезом // Неделя медицины Ставрополя — Здоровье населения и среда обитания: материалы 16-й ежегодной конф. — Ставрополь, 2012. — С. 180–184.

**Infekciã i immunitet (Infection and Immunity)**  
2013, vol. 3, no. 3, pp. 275–278

## SHORT COMMUNICATIONS

### THE FEATURES OF BLOOD IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH VARIOUS FORMS OF BRUCELLOSIS

**Logvinenko O.V., Rakitina C.L., Ponomarenko D.G., Kostychenko M.V., Sarkisian N.S., Berdnikova T.V.**

*The Federal Government Public Health Institution Stavropol Institute for Plague Control of the Rospotrebnadzor, Stavropol, Russian Federation*

**Abstract.** Results of current study have shown that acute brucellosis is characterized by increase of T-helper and cytotoxic T-lymphocytes and decrease of phagocytic activity of neutrophils in the blood. In patients with chronic form of disease the decline of T-helper and cytotoxic T-lymphocytes together with activation of humoral immunity and increasing of B-lymphocytes and levels of immunoglobulins A and G have been observed. Thus, revealed changes indicating the formation of secondary immunodeficiency in chronic disease course. Results of the study confirmed the needs for a permanent immunological monitoring of patients with brucellosis as well as conducting a comprehensive immunological testing of patients to develop the individual scheme of corrective therapy.

**Key words:** *brucellosis, lymphocyte subpopulation, phagocytosis, immunoglobulins, natural resistance.*

#### Authors:

**Logvinenko O.V.** ✉, PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Phatomorfology Especially Dangerous Contagions; 355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya str., 13–15.

Phone: (8652) 26-18-19 (office). Phone/fax: (8652) 26-03-12. E-mail: patomorf@yandex.ru;

**Rakitina E.L.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Phatomorfology Especially Dangerous Contagions, Stavropol;

**Ponomarenko D.G.**, PhD (Biology), Chief, Laboratory of Phatomorfology Especially Dangerous Contagions, Stavropol;

**Kostychenko M.V.**, Research Associate, Laboratory of Phatomorfology Especially Dangerous Contagions, Stavropol;

**Sarkisian N.S.**, Junior Research Associate, Laboratory of Phatomorfology Especially Dangerous Contagions, Stavropol;

**Berdnikova T.V.**, Junior Research Associate, Laboratory of Brucellosis, Stavropol.

#### References

1. Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I–II grupp patogennosti (opasnosti). Sanitarno-epidemiologicheskie pravila SP 1.3.1285-03 [Safe work with microorganisms of I–II groups of danger. The sanitary epidemiological rules SR 1.3.1285–03]. Byulleten' normativnykh i metodicheskikh dokumentov Gossanepidnadzora [The Bulletin of normative and methodological documents of Gossanepidnadzor]. *Issue 3 (13), Moscow, 2003, pp. 67–144.*
2. Borisov L.B. *Meditinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya* [Medical microbiology, virology and immunology]. *Moscow, MIA, 2005. 423 p.*
3. Vershilova P.A., Chernysheva M.I., Knyazeva E.N. Patogenez i immunologiya brutselleza [Pathogenesis and immunology of brucellosis]. *Moscow, Meditsina, 1974. 271 p.*
4. Kishkun A.A. Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki [The handbook on laboratory methods of diagnostics]. *Moscow, GEOTAR-Media, 2007. 779 p.*
5. Lyamkin G.I., Tikhenko N.I., Rusanova D.V., Manin E.A. Sovremennaya epidemiologicheskaya obstanovka po brutsellezu v Rossiyskoy Federatsii [The modern epidemiological situation on brucellosis in the Russian Federation]. *Aktual'nye problemy bolezney, obshchikh dlya cheloveka i zhivotnykh: materialy Vseros. nauch-prakt. konf.* [Actual problems of diseases common for human and animals: Proc. Russian conference]. *Stavropol: Ekspo-Media, 2012, pp. 51–52.*
6. Metody klinicheskikh laboratornykh issledovaniy (Pod red. V.S. Kamyshnikova) [The methods of clinical laboratory testing (Ed by V.S. Kamyshnikova)]. *4th edition. Moscow, MEDpress-inform, 2011. 752 p.*
7. Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Logvinenko O.V., Golub' O.G., Berdnikova T.V. Izmenenie immunologicheskikh pokazateley u lyudey bol'nykh khronicheskim brutsellezom [Changes of immunological indices in patients with chronic brucellosis]. *Nedelya meditsiny Stavropol'ya — Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya: materialy 16-y ezhegodnoy konf.* [Week of Stavropol medicine — Population health and environment: Proc. 16th annual conf.]. *Stavropol, 2012, pp. 180–184.*