

# ХАРАКТЕРИСТИКИ ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ С ИНФЕКЦИОННЫМ СИНДРОМОМ

**Плотникова С.В., Азнабаева Л.Ф., Сафуанова Г.Ш.**

*ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа, Россия*

**Резюме.** Целью исследования явилось изучение особенностей нейтрофилов и моноцитов у больных острым лейкозом в зависимости от наличия инфекционного синдрома на основе изучения рецепторов CD16, CD64, HLA-DR и фермента миелопероксидазы и функциональной активности. Инфекционный синдром у больных острым лейкозом сопровождался изменениями в отношении антителозависимой цитотоксичности нейтрофилов (снижение экспрессии CD16 и повышение CD64), низкой способности клеток к фагоцитозу и миелопероксидазной недостаточностью нейтрофилов и моноцитов. У пациентов с инфекционно-воспалительными проявлениями инфекционного синдрома (острый тонзиллиты, пневмонии, катаральный бронхит и др.) выявлены более выраженные признаки несостоятельности нейтрофильного звена (CD16<sup>+</sup> нейтрофилы:  $24,36 \pm 7,43$ , контроль —  $74,21 \pm 5,43$ , %,  $p < 0,001$ ; MPO<sup>+</sup> нейтрофилы:  $29,15 \pm 12,6$ , контроль —  $96,1 \pm 1,94$ , %,  $p < 0,01$ , выраженность экспрессии MPO:  $5,34 \pm 3,07$ , контроль —  $32,9 \pm 10,76$  MFI,  $p < 0,05$ ), что свидетельствует о нарушении элиминационных механизмов противоинфекционной защиты.

**Ключевые слова:** нейтрофилы, моноциты, кластеры дифференцировки, острый лейкоз, инфекционные осложнения

## **Адрес для переписки:**

Плотникова Светлана Владимировна  
аспирант кафедры терапии и ОВП с курсом  
гериатрии Института последипломного  
образования ГБОУ ВПО «Башкирский  
государственный медицинский университет»  
450075, Россия, Республика Башкортостан,  
г. Уфа, ул. Проспект Октября, 93/3, кв. 4.  
Тел.: 8 (347) 233-58-42.  
E-mail: lana.2005@mail.ru

## **Авторы:**

Плотникова С.В. — аспирант кафедры терапии  
и ОВП с курсом гериатрии Института  
последипломного образования ГБОУ ВПО  
«Башкирский государственный медицинский  
университет», г. Уфа

Азнабаева Л.Ф. — д.м.н., профессор,  
кафедра оториноларингологии Института  
последипломного образования ГБОУ ВПО  
«Башкирский государственный медицинский  
университет», г. Уфа

Сафуанова Г.Ш. — д.м.н., профессор, кафедра  
терапии и ОВП с курсом гериатрии Института  
последипломного образования ГБОУ ВПО  
«Башкирский государственный медицинский  
университет», г. Уфа

Поступила 26.02.2013

Принята к печати 23.04.2013

# CHARACTERISTICS OF PHAGOCYTYC CELLS IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA WITH AN INFECTIOUS SYNDROME

**Plotnikova S.V., Aznabaeva L.F., Safuanova G.Sh.**

*Bashkir State Medical University, Russian Ministry of Health Care, Ufa, Russian Federation*

**Abstract.** The aim of this study was to investigate some characteristics of neutrophils and monocytes in patients with acute leukemia, depending on presence of an infectious syndrome, as based on studying of CD16, CD64, HLA-DR receptors, along with assaying myeloperoxidase (MPO) and functional activity of the cells. Infectious syndrome in acute leukemia patients was accompanied by changes in antibody-dependent cytotoxicity against neutrophils (decreased CD16 and increase in CD64 expression), lower phagocytic capacity of the cells, and myeloperoxidase deficiency of neutrophils and monocytes. In patients with inflammatory manifestations of infectious syndrome (i.e., acute tonsillitis, bronchitis, pneumonia, etc.), the signs of neutrophilic insufficiency were more pronounced, i.e., CD16<sup>+</sup> neutrophils comprised  $24.36 \pm 7.43\%$ , as compared with  $74.21 \pm 5.43\%$  in controls,  $p < 0.001$ ; MPO positivity was detected in  $29.15 \pm 12.6\%$  of the cells against  $96.1 \pm 1.94\%$  in controls,  $p < 0.01$ ; MPO expression:  $5.34 \pm 3.07$  MFI, with  $32.9 \pm 10.76$  in controls,  $p < 0.05$ . These data suggest significant disturbances of anti-infectious elimination mechanisms. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 4, pp 369-374)

**Keywords:** neutrophils, monocytes, differentiation clusters, acute leukemia, infectious complications

---

**Address for correspondence:**

Plotnikova Svetlana V.  
PhD Candidate, Department of Therapy and General Practice with the Course of Geriatrics, Institute of Postgraduate Education, Bashkir State Medical University, Russian Ministry of Health Care 450075, Russian Federation, Republic of Bashkortostan, Ufa, Prospect October, 93/3 apt 4.  
Phone: 7 (347) 233-58-42.  
E-mail: lana.2005@mail.ru

---

**Authors:**

Plotnikova S.V., PhD Candidate, Department of Therapy and General Practice with the Course of Geriatrics, Institute of Postgraduate Education, Bashkir State Medical University, Russian Ministry of Health Care, Ufa

Aznabaeva L.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Otorhinolaryngology, Institute of Postgraduate Education, Bashkir State Medical University, Russian Ministry of Health Care, Ufa

Safuanova G.Sh., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Therapy and General Practice with the Course of Geriatrics, Institute of Postgraduate Education, Bashkir State Medical University, Russian Ministry of Health Care, Ufa

Received 26.02.2013

Accepted 23.04.2013

Острые лейкозы (ОЛ) являются одной из интенсивно изучаемых проблем в современной медицине. Несмотря на выраженные успехи в лечении гемобластозов, многие аспекты патологии кроветворения требуют всестороннего изучения с использованием современных методов. Применение иммунофенотипирования клеток методом многоцветной проточной цитофлуориметрии позволяет характеризовать клетку по нескольким антигенным детерминантам (CD-кластеры дифференцировки), вследствие чего появились дифференциально-диагностические критерии острых лейкозов; возможность оценки функционального состояния иммунокомпетентных клеток (рецепторов) [9]. Экспрессия рецепторов на поверхности большинства клеток в процессе жизнедеятельности меняется (уменьшается или увеличивается), что позволяет их расценивать как маркеры функционального состояния [1].

Известно, что острый лейкоз часто (в 55-60%) сопровождается инфекционными осложнениями [8]. К основным факторам, обеспечивающим элиминационные механизмы противоинфекционной иммунной защиты, относятся фагоциты (макрофаги и нейтрофилы) и антитела. Функциональными свойствами фагоцитов являются поглощение и переваривание (фагоцитоз). Антитела, образуя иммунные комплексы, ускоряют эти процессы в десятки раз [11]. Антителозависимая цитотоксичность фагоцитов осуществляется посредством рецепторов на клетках — CD16 и CD64. CD16 — низкоаффинный рецептор для иммуноглобулина (Ig) G (FcγIII-рецептор) связывает агрегированные Ig (Fc rIII), сбрасывается при апоптозе клеток [15]. CD64 — высокоаффинный рецептор для IgG (FcγI-рецептор) связывает мономерные Ig, появляется при активации цитокинов и является местом сопряжения лимфоидного иммунитета с фагоцитозом [14]. Существуют особенности экспрессии CD16 и CD64 на фагоцитах: CD16 экспрессируется в основном на нейтрофилах и на активированных моноцитах; CD64, наоборот, на моноцитах и активированных нейтрофилах [10]. Имеются данные, что наличие CD64 на нейтрофилах является признаком инфекции и сепсиса [12, 13].

Известно, что при ОЛ страдает фагоцитарная функция нейтрофилов [5]. Установлено снижение миелопероксидазной активности клеток при остром миелобластном лейкозе (ОМЛ) [2]. Однако малоизученным остается вопрос экспрессии рецепторов антителозависимой цитотоксичности фагоцитов при ОЛ, в том числе при инфекционных осложнениях.

**Цель исследования:** определение особенностей фагоцитирующих клеток у больных острым лейкозом с инфекционным синдромом на основе изучения экспрессии рецепторов CD16, CD64,

HLA-DR и внутриклеточной миелопероксидазы на клетках костного мозга.

## Материалы и методы

Под наблюдением находились 50 больных ОЛ, атака I, получавших лечение в гематологическом отделении РКБ им. Г.Г. Куватова, в том числе 25 больных с инфекционным синдромом. Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) выявлен у 40 больных (80%), острый В-лимфобластный лейкоз (В-ОЛЛ) у 10 (20%). Диагноз был установлен на основании клинико-анамнестических данных, данных лабораторных (ОАК, миелограмма, цитохимические реакции, проточная цитофлуориметрия) и инструментальных (рентгенография органов грудной клетки) методов исследования. Для определения типа и стадии дифференцировки бластных клеток проводилось иммунофенотипирование бластных клеток методом проточной цитофлуориметрии (проточный цитофлуориметр Cytomics FC 500 и моноклональные антитела фирмы Beckman Coulter, США). Моноциты и нейтрофилы различали путем распределения основных популяций лейкоцитов по параметрам флуоресценции при окраске антителами к CD45 и CD14 и в соответствии с их структурой и размером согласно светорассеиванию (боковое и прямое) [6]. В качестве исследуемого материала были взяты костный мозг и венозная кровь. Забор костного мозга осуществляли методом стерильной пункции [4]. Забор крови из локтевой вены производили по стандартной методике в утреннее время после ночного голодания. Проводили оценку способности к фагоцитозу нейтрофилов венозной крови методом поглощения частиц латекса [7]. Параллельно на клетках костного мозга исследовали наличие Fcγ-рецепторов CD16 (FcγIII), CD64 (FcγI), белков HLA-DR и внутриклеточное содержание миелопероксидазы (МРО) методом проточной цитофлуориметрии, оценивалась выраженность экспрессии рецепторов по средним данным интенсивности флуоресценции (MFI). В качестве группы контроля выступали пациенты (n = 10) с различными инфекционными проявлениями с подозрением на ОЛ без подтвержденного диагноза. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программ Microsoft Office Excel 2003, пакета Statistica for Windows. Вычисляли среднее значение (M), ошибку среднего (m), коэффициент корреляции (r), достоверность различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

При манифестации лейкоза инфекционные проявления характеризовались наличием температурной реакции (n = 25), в том числе у 13 па-

циентов отмечались клинические признаки инфекционно-воспалительной патологии — острый тонзиллит ( $n = 5$ ), паратонзиллярный абсцесс ( $n = 1$ ), пневмония ( $n = 1$ ), катаральный бронхит ( $n = 2$ ), острый парапроктит ( $n = 1$ ), герпетические проявления ( $n = 2$ ), стоматит ( $n = 1$ ).

Оценка функциональной активности нейтрофилов венозной крови у больных ОЛ показала снижение способности клеток к фагоцитозу вне зависимости от наличия инфекционного синдрома (ИС): у больных с ИС фагоцитарная активность составила  $39,0 \pm 6,26\%$ , в группе пациентов без ИС —  $46,85 \pm 7,88\%$  (в группе контроля  $65,2 \pm 2,3\%$ ,  $p < 0,01$ ).

Для оценки состояния фагоцитов костного мозга при ИС было проведено сравнительное исследование экспрессии рецепторов CD16, CD64, HLA-DR и содержания внутриклеточной МРО в группе контроля (больные с ИС с подозрением на ОЛ без подтвержденного диагноза) (рис. 1) и у больных с ОЛ.

Как видно из рисунка 1, инфекционно-воспалительный процесс у больных без диагноза ОЛ сопровождался наличием рецептора CD64 (высокоаффинный  $Fc\gamma RI$ ) как на нейтрофилах ( $24,37 \pm 9,72\%$ ), так и на моноцитах ( $18,54 \pm 11,25\%$ ). Внутриклеточно определялась миелопероксидаза: в нейтрофилах ( $96,1 \pm 1,94\%$ ), в моноцитах ( $73,18 \pm 15,27\%$ ). В то время как CD16 определялся на нейтрофилах значительно чаще, чем на моноцитах ( $74,21 \pm 5,43\%$  и  $13,67 \pm 2,65\%$ ,  $p < 0,001$ ), а HLA-DR — достоверно ниже ( $1,37 \pm 0,44\%$  и  $49,7 \pm 7,09\%$ ,  $p < 0,001$ ), что согласуется с литературными данными [3]. Следовательно, костный мозг при ИС характеризовался наличием активированных нейтрофилов (CD64<sup>+</sup>) и моноцитов (MPO<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>).

У больных ОЛ с инфекционными проявлениями также выявлялись активированные CD64<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилы, однако их количество

было значительно выше, чем в группе контроля (рис. 2).

CD64<sup>+</sup> нейтрофилы в костном мозге при ИС составляли  $51,53 \pm 7,58\%$  (в группе контроля —  $24,37 \pm 9,72\%$ ,  $p < 0,05$ ), в группе без ИС показатели не отличались от группы контроля. Количество HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилов увеличивалось только в группе с клиническими проявлениями ИС —  $8,74 \pm 3,49\%$  (в группе контроля —  $1,37 \pm 0,44\%$ ,  $p < 0,05$ ).

Наряду с увеличением количества активированных нейтрофилов, у больных ОЛ с ИС выявлялись признаки несостоятельности фагоцитов. Отмечалось сниженное количество МРО-содержащих клеток (МРО<sup>+</sup> нейтрофилы составили  $49,1 \pm 9,32\%$ , в группе контроля —  $96,1 \pm 1,94\%$ ,  $p < 0,01$ ; МРО<sup>+</sup> моноциты —  $22,88 \pm 8,28\%$ , в группе контроля —  $73,18 \pm 15,27\%$ ,  $p < 0,01$ ). Более выраженная миелопероксидазная недостаточность была у больных ОЛ, отягощенных инфекционно-воспалительной патологией — МРО<sup>+</sup> нейтрофилы составляли всего  $29,15 \pm 12,6\%$  ( $p < 0,001$ ), а выраженность экспрессии МРО —  $5,34 \pm 3,07$  MFI (в группе контроля —  $32,9 \pm 10,76$  MFI,  $p < 0,05$ ). Тогда как в группе больных с температурной реакцией, но без клинических проявлений количество МРО<sup>+</sup> нейтрофилов было  $69,06 \pm 11,23\%$  ( $p < 0,05$ ), выраженность экспрессии МРО не отличалась от группы контроля ( $29,00 \pm 5,83$  MFI).

Кроме миелопероксидазной недостаточности у больных ОЛ с ИС отмечалось выраженное снижение количества CD16<sup>+</sup> нейтрофилов ( $35,35 \pm 7,08\%$ , в группе контроля —  $74,21 \pm 5,43\%$ ,  $p < 0,001$ ). Более низкие значения наблюдались у больных ОЛ с инфекционно-воспалительной патологией — CD16<sup>+</sup> нейтрофилы составляли всего  $24,36 \pm 7,43\%$  ( $p < 0,001$ ). В группе больных с температурной реакцией, но без клинических проявлений количество CD16<sup>+</sup> нейтрофилов было  $49,28 \pm 1,61\%$

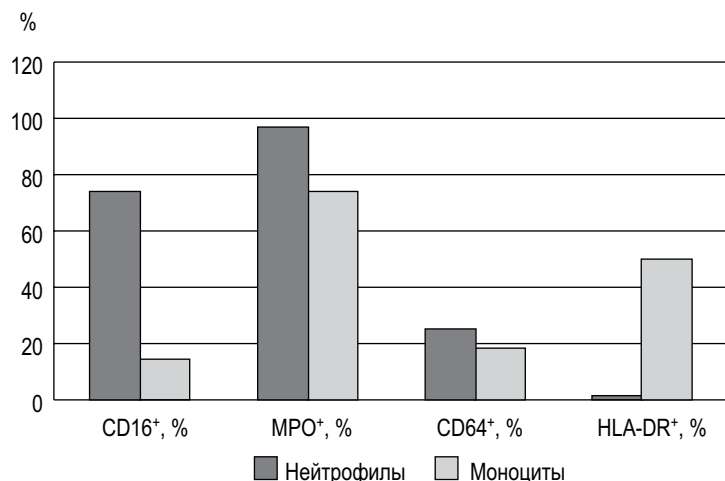
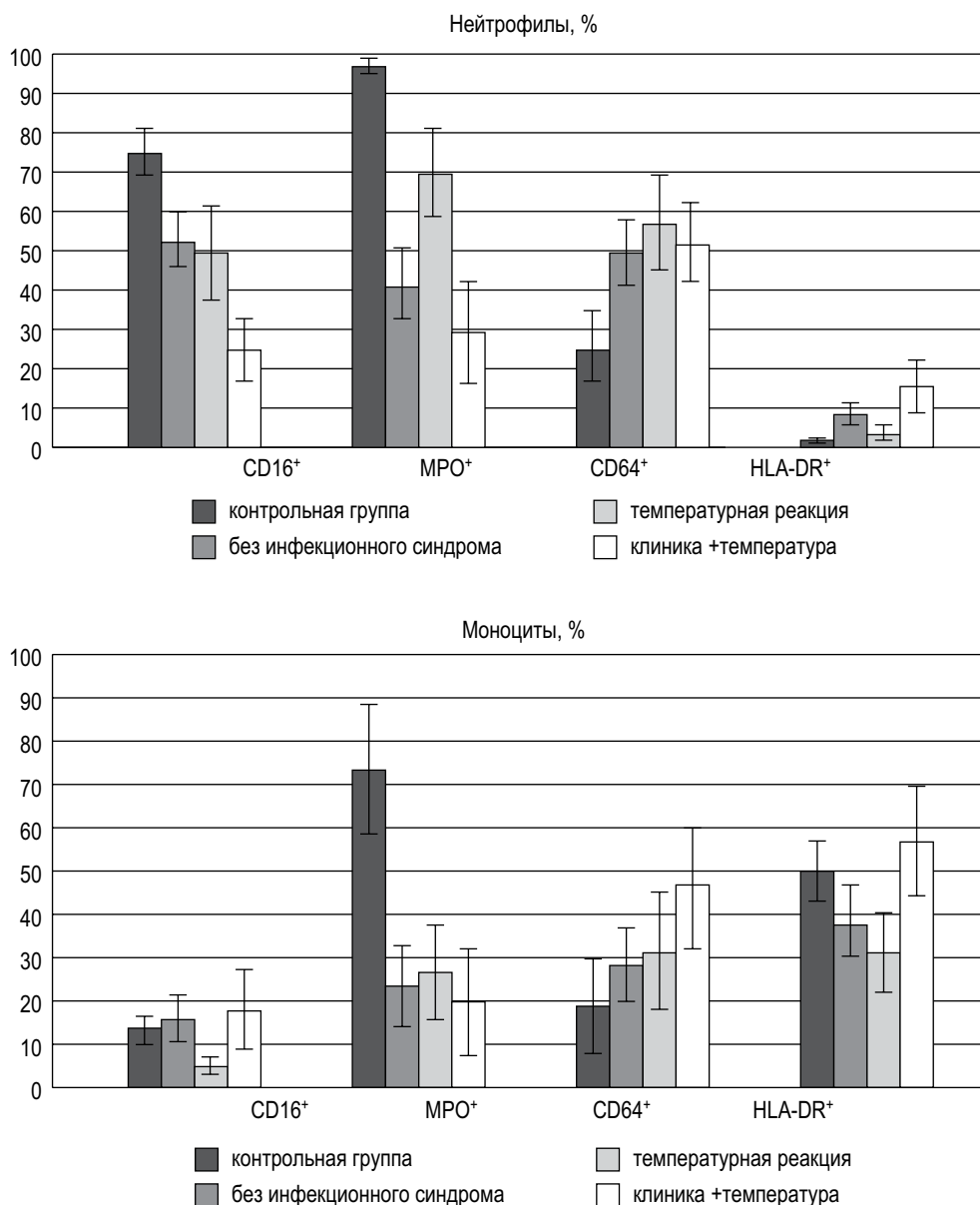


Рисунок 1. Функциональные маркеры фагоцитов костного мозга



**Рисунок 2.** CD16<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, MPO<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> нейтрофилы и моноциты костного мозга у больных острым лейкозом с инфекционным синдромом

( $p < 0,001$ ). Выраженность экспрессии CD16 при ИС не отличалась от группы контроля.

Сопоставление показателей макрофагально-фагоцитарного звена костного мозга больных в зависимости от наличия или отсутствия инфекционных проявлений показало, что снижение количества MPO<sup>+</sup> фагоцитов и повышение HLA-DR<sup>+</sup> нейтрофилов являлось общим для всех пациентов с ОЛ. Характерным для ИС было выраженное снижение количества CD16<sup>+</sup>, MPO<sup>+</sup> нейтрофилов и увеличение CD64<sup>+</sup> клеток, сопряженностью количества CD16<sup>+</sup> (%) и MPO<sup>+</sup> нейтрофилов (% –  $r = 0,55$ ; MFI –  $r = 0,64$ ) и CD16<sup>+</sup> и CD64<sup>+</sup> клеток (% –  $r = -0,48$ ).

Таким образом, ИС у больных ОЛ сопровождается изменениями в отношении антителозависимой цитотоксичности нейтрофилов в виде недостаточности экспрессии низкоаффинного рецептора для IgG (CD16), снижения миелопероксидазной активности клеток (нейтрофилы и моноциты) на фоне низкой способности клеток к фагоцитозу и активации экспрессии высокоаффинного рецептора для IgG (CD64). У пациентов с инфекционно-воспалительными проявлениями ИС выявлены более выраженные признаки несостоятельности нейтрофильного звена (CD16<sup>+</sup>MPO<sup>+</sup> нейтрофилы), что свидетельствует о нарушении элиминационных механизмов противоинфекционной защиты.

## Список литературы

1. Гематология / Под ред. Рукавицына О.А. — СПб.: ООО «Д.П.», 2007. — 912 с.
2. Гематология / Под ред. Мамаева Н.Н., Рябова С.И. — СПб.: СпецЛит, 2008. — 543 с.
3. Луговская С.А. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. — Тверь: ООО «Триада», 2005. — 168 с.
4. Кассирский И.А., Алексеев Г.А. Клиническая гематология. — М., 1970. — 800 с.
5. Клиническая онкогематология / Под ред. Волковой М.А. — М.: Медицина, 2007. — 1120 с.
6. Пичугина Л.В. Изменение фенотипа лимфоцитов при некоторых патологиях. — М., 2006. — 36 с.
7. Принципы и методы выявления иммунопатологических состояний при инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваниях: Информ.-метод. письмо / В.Л. Шишкин, В.В. Сперанский, Ш.З. Загидуллин и др. — Уфа, 1987. — 48 с.
8. Рукавицын О.А. Острые лейкозы [Электронный ресурс]. — 2008. — Режим доступа: <http://rukavitsin.ru/gematologiya/articles/ostrye-lejkozy-soavtor-s-v-shamanskij-tp3/>
9. Савченко В.Г. Программное лечение лейкозов. — М., 2008. — 487 с.
10. Фрейдлин И.С., Тотолан А.А. Клетки иммунной системы. — СПб.: Наука, 2001. — 390 с.
11. Ярилин А.А. Иммунология. — М.: ГЭОТАР-медиа, 2010. — 752 с.

Ссылки 12–15 см. в References (стр. 374). See References for numbers 12–15 at p. 374.

## References

1. Gematologiya / Pod red. Rukavitsyna O.A. [Hematology. Ed. Rukavitsyn O.A.]. St. Petersburg, LLC "D.P.", 2007. 912 p.
2. Gematologiya / Pod red. Mamaeva N.N., Ryabova S.I. [Hematology. Ed. Mamaev N.N., Ryabov S.I.]. St. Petersburg, SpetsLit, 2008. 543 p.
3. Lugovskaya S.A. Immunofenotipirovanie v diagnostike gemoblastozov [Immunophenotyping in the diagnosis of hematological malignancies]. Tver, LLC "Triada", 2005. 168 p.
4. Kassirskiy I.A., Alekseev G.A. Klinicheskaya gematologiya [Clinical hematology]. Moscow, 1970. 800 p.
5. Klinicheskaya onkogematologiya / Pod red. Volkovoy M.A. [Clinical oncohematology. Ed. Volkova M.A.]. Moscow, Medicine, 2007. 1120 p.
6. Pichugina L.V. Izmenenie fenotipa limfotsitov pri nekotorykh patologiyakh [Change lymphocyte phenotype under certain pathologies]. Moscow, 2006. 36 p.
7. Printsipy i metody vyyavleniya immunopatologicheskikh sostoyaniy pri infektsionnykh, autoimmunnykh i allergicheskikh zabolevaniyakh: Inform.-metod. pis'mo / V.L. Shishkin, V.V. Speranskiy, Sh.Z. Zagidullin i dr. [Principles and methods for detecting immune-states in infectious, autoimmune and allergic diseases. Inform. method. letter. V.L. Shishkin, V.V. Speranskiy Sh.Z. Zagidullin etc.]. Ufa, 1987. 48 p.
8. Rukavitsin O.A. Ostrye leykozy [Elektronnyy resurs]. 2008. Rezhim dostupa: <http://rukavitsin.ru/gematologiya/articles/ostrye-lejkozy-soavtor-s-v-shamanskij-tp3/> [Acute leukemias. Electronic resource. 2008. Mode of access: <http://rukavitsin.ru/gematologiya/articles/ostrye-lejkozy-soavtor-sv-shamanskij-tp3/>]
9. Savchenko V.G. Programmnoe lechenie leykozov [Program treatment leukemia]. Moscow, 2008. 487 p.
10. Freydlin I.S., Totolian A.A. Kletki immunnoy sistemy [Cells of the immune system]. St. Petersburg, Science, 2001. 390 p.
11. Yarilin A.A. Immunologiya [Immunology]. Moscow, GEOTAR-Media, 2010. 752 p.
12. Cid J., Aguinaco R., Sánchez R., García-Pardo G., Llorente A. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. J. Infect., 2010, vol. 60, no. 5, pp. 313–319.
13. Hoffmann J.J. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. Biochem Med (Zagreb), 2011, vol. 21, no. 3, pp. 282–290.
14. Hulett M., Hogarth P. The second and third extracellular domains of FcγRI (CD64) confer the unique high affinity binding of IgG2a. Mol. Immunol., 1998, vol. 35, no. 14–15, pp. 989–996.
15. Masuda M., Takahashi H. Measurement of NK cell and macrophage activation. Rinsho Byori., 2011, vol. 59, no. 1, pp. 50–54.