

## **ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА АКТИВАЦІЙНІ МАРКЕРИ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЙНИЙ ЕНДОКАРДИТ**

О.Я. Беспалова, З.Т. Баланник, Л.А. Пенькова, Л.В. Долгова, Т. В.

Алексейчук

Інститут серцево-судинної хірургії ім.акад. М. М. Амосова АМН України (Київ)

Аналіз маркерів активації субпопуляцій імунокомпетентних клітин багато в чому визначає ефективність імунної відповіді. При захворюваннях, що супроводжуються тривалою антигенною дією і інтоксикацією порушується швидкість утворення і диференціація лімфоцитів, інтенсивність апоптозу, що призводить до порушень в імунній системі, ускладнюючи протікання інфекційного процесу в організмі. Після нагрівання периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °С протягом 30 хвилин збільшується рівень експресії маркерів функціональної активації лімфоцитів CD25+, CD95+ і HLA-DR+. Під впливом температури активуються клітинні фактори імунітету.

**Ключові слова:** периферична кров, лімфоцити, імунна система, інфекційний ендокардит.

Одним з механізмів патогенезу інфекційного ендокардиту є запальний процес, в основі якого лежить взаємодія різних імунокомпетентних клітин і синтезованих ними біологічно активних речовин [1]. Сбалансованість імунної відповіді на антигене навантаження безпосередньо залежить від основних фізіологічних процесів, що відбуваються в самій імунній системі: проліферації, диференціації лімфоїдних клітин, здатності імунокомпетентними клітинами розпізнавати антиген, міжклітинних контактів [ 2].

Аналіз маркерів активації субпопуляцій імунокомпетентних клітин багато в чому визначає ефективність імунної відповіді. Оцінка активації лімфоцитів

складається в визначенні на їх поверхні активаційних маркерів CD 25, HLA-DR, CD 95, їх експресія пов'язана з проходженням певного етапу клітинної диференціації [3].

При захворюваннях, що супроводжуються тривалою антигенною дією і інтоксикацією порушується швидкість утворення і диференціація лімфоцитів, інтенсивність апоптозу, що призводить до порушень в імунній системі, ускладнюючи протікання інфекційного процесу в організмі [4].

Інфекційний ендокардит розвивається на фоні зниженої реактивності організму, наявність вогнища інфекції обумовлює подальше порушення в функціонуванні імунної системи. Це зумовлює актуальність пошуку поєднання лікувальних заходів спрямованих на всі патогенетичні ланки розвитку інфекційно-септичного процесу у кардіохірургічних хворих на інфекційний ендокардит (ІЕ). Одним із перспективних напрямлень, є розробка методу стимуляції захисних сил організму за рахунок безпосередньої дії підвищеної температури.

**Мета роботи** – дослідити вплив температури *in vitro* на маркери активації лімфоцитів периферичної крові.

**Матеріали і методи.** Об'єкт дослідження – периферична кров 20 хворих на інфекційний ендокардит – І група та 10 хворих з клапанною патологією – ІІ група хворих.

Дослідження імунологічних показників проводили до операції в динаміці:

І етап – до нагріву крові;

ІІ етап – після нагріву периферичної крові. Нагрівання периферичної крові проводили в термостаті при температурі 39,5 °С протягом 30 хвилин.

Для визначення рівня лімфоцитів, які на своїй поверхні експресують рецептори функціональної активації клітин CD25+, CD95+, HLA-DR+ використовували еритроцитарний діагностикум з моноклональними антитілами виробництва НПЦ «Гранум» м. Харків.

Для контролю імунологічних показників обстежено 10 практично здорових осіб – донорів крові.

Статистична обробка матеріалу проводилася на комп'ютері з використанням універсальних статистичних програм Microsoft Excel з урахуванням критерію Ст'юдента.

**Результати та обговорення.** В ході проведеного дослідження було виявлено, що протікання інфекційного ендокардиту супроводжується зміною ряду показників імунної системи у порівнянні із практично здоровими людьми. Отримані результати досліджень представлені в таблиці 1.

Як показали дослідження у хворих на ІЕ до операції перед прогріванням периферичної крові *in vitro* достовірно підвищений рівень CD25+ як у відносних, так і в абсолютних значеннях і складав відповідно  $22,5 \pm 1,27$  % у хворих на ІЕ і  $17,38 \pm 1,19$ % в контрольній групі, ( $P \leq 0,05$ ), що свідчить про посилену активність протиінфекційного захисту, викликану активним протіканням інфекційного процесу в цій групі хворих.

Таблиця 1

Вплив температури 39,5 °С протягом 30 хв (*in vitro*) на маркери активації лімфоцитів периферичної крові

Показник	и	Інфекційний ендокардит, n = 20		Клапанні патології, n = 10		Контрольна група, n = 10	
		до нагріву	після нагріву	до нагріву	після нагріву	до нагріву	після нагріву
CD25	%	22,5±1,27 *	28,80±1,53**	20,66±2,20	29,66±2,92 **	17,38±1,19	24,90±1,33**
	кл	0,67±0,10	0,88±0,11	0,44±0,08	0,63±0,02**	0,46±0,07	0,65±0,09

D95	С	%	27,20±1,72	30,50±1,84**	28,50±2,0*	38,60±2,17**	19,00±1,82	24,90±1,86**
	М	кЛ	0,73±0,13 *	0,93±0,14	0,58±0,08	0,75±0,10	0,49±0,06	0,64±0,08
LA-DR	И	%	19,11±0,97	24,94±1,15**	21,25±2,52	27,75±2,80	19,63±1,33	25,88±1,06**
	М	кЛ	0,62±0,08	0,78±0,11	0,43±0,03	0,58±0,03**	0,52±0,07	0,67±0,08

\* $P \leq 0,05$  в порівнянні з контрольною групою;

\*\* $P \leq 0,05$  в порівнянні до та після нагріву в групі.

Рівень лімфоцитів з експресією CD95+ в групі хворих на ІЕ був підвищений у порівнянні з контрольною групою, як у відносних, так і в абсолютних значеннях і складав 27,20±1,72 % і 19,00±1,82 % в контрольній групі, ( $P \leq 0,05$ ). Підвищений рівень імунокомпетентних клітин готових до вступу в процес апоптозу може призводити до дисбалансу в імунній системі. Про активацію протиінфекційного захисту свідчить також тенденція збільшення абсолютного рівня клітин з експресією HLA-DR+ у цій групі хворих.

В групі хворих з клапанною патологією серця рівні CD25+, HLA-DR+ як у відносних, так і в абсолютних значеннях хоч і мають тенденцію до підвищення, але достовірно не відрізняються від таких в контрольній групі. Рівень лімфоцитів з експресією CD95+ маркера підвищений в порівнянні з контрольною групою і склав 28,50±2,04 % та 19,00±1,82 % в контрольній групі, ( $P \leq 0,01$ ) і характеризує підвищення кількості лімфоцитів, готових до апоптотичного процесу.

Проведені нами дослідження ранніх (CD25+) та пізніх (CD95+ і HLA-DR+) маркерів функціональної активації лімфоцитів у хворих на ІЕ і хворих з клапанною патологією серця, виявили достовірне збільшення кількості лімфоцитів з рецептором CD25+ у хворих на ІЕ, тоді як у хворих з клапанною патологією спостерігалася тенденцію до збільшення. Збільшення числа клітин з рецепторами до

інтерлейкіну-2 (CD25+) пов'язане з активацією імунної системи під час відповіді на антиген при інфекційному ендокардиті. У хворих обох груп спостерігається збільшення в периферичній крові числа лімфоцитів, що несуть на своїй поверхні CD95-антиген, що характеризує активність процесів індукції апоптозу лімфоцитів в умовах вираженої стимуляції імунної системи при інфекційному ендокардиті та клапанних патологіях серця.

Основним завданням нашої роботи було виявити вплив температури 39,5°C протягом 30 хвилин *in vitro* на рівень активаційних маркерів лімфоцитів у хворих різних груп в порівнянні з контрольною групою.

Проведені дослідження після нагріву периферичної крові *in vitro* виявили позитивну динаміку змін маркерів функціональної активації лімфоцитів CD25+, CD95+ та HLA-DR+ під впливом заданої температури у всіх досліджуваних групах: у групі хворих на ІЕ, на клапанні патології серця та в контрольній групі.

Дослідження показали, що експресія раннього маркеру функціональної активації лімфоцитів CD25+ достовірно підвищувалась під впливом заданого температурного режиму і становила у хворих на ІЕ  $28,80 \pm 1,53$  % при порівнянні з показником до нагріву  $22,50 \pm 1,27$  %, ( $P \leq 0,05$ ). При порівнянні цього показника в групі хворих з клапанною патологією також спостерігалось збільшення як відносної так і абсолютної кількості CD25+

лімфоцитів в порівнянні з показником до нагріву в цій групі. Так до нагріву відносна кількість CD25+ лімфоцитів у хворих з клапанною патологією становила  $20,66 \pm 2,20$  %, після нагріву  $29,66 \pm 2,92$  %, ( $P \leq 0,05$ ) у абсолютних числах  $0,44 \pm 0,08$  мкл і  $0,63 \pm 0,02$  мкл відповідно, ( $P \leq 0,05$ ). При визначенні рівня CD25+ лімфоцитів в контрольній групі, нами теж виявлено достовірне збільшення цього показника під впливом заданого температурного режиму при порівнянні з показником до нагріву крові, що становило  $19,00 \pm 1,82$  %, після нагріву  $24,90 \pm 1,86$  %, ( $P \leq 0,05$ ).

Отже, як показали дослідження після нагріву периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °C протягом 30 хвилин, збільшується рівень маркерів функціональної активності лімфоцитів CD25+ в усіх досліджуваних групах в

порівнянні з показником до нагріву крові, що є ознакою готовності лімфоцитів до вступу в проліферативні і диференційовочні процеси.

Наступним етапом дослідження було визначення кількості лімфоцитів з рецепторами до CD95+, які характеризують індукцію апоптозу лімфоцитів. Як видно із таблиці відносна кількість CD95+ лімфоцитів в периферичній крові після прогріву крові достовірно підвищена у всіх досліджуваних групах в порівнянні з показником в цих групах до нагріву. При порівнянні груп між собою на цьому етапі після нагріву у групах хворих на ІЕ та клапанні патології серця спостерігалась тенденція до збільшення цього показника (CD95+ лімфоцитів) в порівнянні з контрольною групою.

Отже, під впливом температури 39,5 °C протягом 30 хвилин в периферичній крові достовірно збільшується кількість лімфоцитів з рецепторами CD95+ у всіх досліджених групах, що вказує на вплив температурного фактору на експресію рецепторів CD95+ на лімфоцитах.

При дослідженні маркеру активації лімфоцитів HLA-DR+ після нагріву периферичної крові було виявлено, збільшення експресії рецепторів HLA-DR+ на лімфоцитах. Так у хворих ІЕ цей показник після нагріву периферичної крові становив  $24,94 \pm 1,15$  %, що достовірно вище за показник до нагріву крові  $19,11 \pm 0,97$  %, ( $P \leq 0,05$ ). Тенденція збільшення кількості лімфоцитів з рецепторами HLA-DR+ простежувалась і у хворих з клапанною патологією серця і становила  $27,75 \pm 2,80$  % і  $21,25 \pm 2,52$  %, в абсолютних числах збільшення носило достовірний характер  $0,58 \pm 0,03$  мкл і  $0,43 \pm 0,03$  мкл (до нагріву), ( $P \leq 0,05$ ). У контрольній групі після нагріву периферичної крові кількість лімфоцитів з рецепторами HLA-DR+ достовірно підвищилась в порівнянні з показником до нагріву крові, становило  $25,88 \pm 1,06$  % і  $19,63 \pm 1,33$  % відповідно, ( $P \leq 0,05$ ). Порівнюючи досліджувані групи між собою достовірних відмінностей не виявлено.

## **Висновки**

Після нагрівання периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °C протягом 30 хвилин, виявлено збільшення рівня експресію маркерів функціональної активації

лімфоцитів CD25+, CD95+ і HLA-DR+ в групах хворих на ІЕ і клапанною патологією серця, та в контрольній групі в порівнянні з показниками до нагрівання крові.

Під впливом температури активуються клітинні фактори імунітету, що дає підґрунття для застосування загальної керованої гіпертермії хворим інфекційним ендокардитом з дисфункцією імунної системи для нормалізації клітинної ланки імунної системи.

### **Література**

1. Кнышов Г.В. Инфекционный эндокардит / Г.В. Кнышов, В.Н. Коваленко. – К., 2004. -255 с.
2. Ройт А. “Иммунология” / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – Москва, “Мир”, 2000. - 582 с.
3. Порядин Г.В. Активационные маркеры лимфоцитов как показатели дизрегуляции иммунной системы при воспалении / Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, А.Н. Казимирский // Патология и терапия. – 2006. - №2. – С.2-7.
4. Насонов Е.Л. системный воспалительный ответ при инфекционных процессах / Е.Л. Насонов, А.А. Баранов, Н.П.Шилкина // Клин. мед. -1998. -№11. –С.4-7.

## **ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВАЦИОННЫЕ МАРКЕРЫ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ ЭНДОКАРДИТОМ**

**Е.Я. Беспалова, З.Т. Баланник, Л.А. Пенькова,  
Л.В. Долгова, Т. В. Алексейчук**

Анализ маркеров активации субпопуляций иммунокомпетентных клеток много в чем определяет эффективность иммунного ответа. При заболеваниях, которые сопровождаются длительным антигенным воздействием и интоксикацией, нарушается скорость образования и дифференциации лимфоцитов, интенсивность апоптоза приводящее к нарушениям в иммунной системе, осложняя течение инфекционного процесса в организме. После нагревания периферической крови in

in vitro при температуре 39,5°C в течение 30 минут увеличивается уровень экспрессии маркеров функциональной активации лимфоцитов CD25+, CD95+ и HLA-DR+. Под влиянием температуры активируются клеточные факторы иммунитета.

**Ключевые слова:** периферическая кровь, лимфоциты, иммунная система, инфекционный эндокардит.

**INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE ACTIVATION MARKERS  
OF LIMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS  
WITH INFECTIVE ENDOCARDITIS**

**O. Y. Besspalova, Z. T. Balannik, L.A. Penkova,  
L. V. Dolqova, T.V. Alekseichuk**

The analysis of markers of activation of subpopulation of immunocompetent cells determines in a great deal efficiency of immune answer. At diseases, which are accompanied by the protracted antigen action and intoxication speed of education and differentiation of limphocytes, intensity of apoptosis, is violated, that results in disturbancies in the immune system, complicating the course of infectious process in an organism. After heating of peripheral blood in vitro at a temperature 39,5 °C during 30 minutes the level of expression of markers of the functional activation of limphocytes of CD25+, CD95+ and HLA-DR+. Under the influeme of temperature the cellular factors of immunity are activated.

**Key words:** peripheral blood, limphocytes, immune system, infective endocarditis.