

ІМУНОМОДУЛЮЮЧИЙ ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА ЕКСПРЕСІЮ АКТИВАЦІЙНИХ МАРКЕРІВ ЛІМФОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЙНИЙ ЕНДОКАРДИТ

О.Я. Беспалова, З.Т. Баланнік, Т.В. Алексеїчук, Л.В. Долгова

*Національний інститут серцево-судинної хірургії ім.акад. М. М. Амосова АМН України
(Київ)*

Дослідження експресії CD 25⁺, CD 95⁺, HLA–DR⁺ у хворих на ІЕ, а також вплив нагрівання периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °С протягом 30 хвилин на рівень експресії активаційних маркерів лімфоцитів багато в чому визначає ефективність імунної відповіді.

Після нагрівання периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °С протягом 30 хвилин збільшується рівень експресії маркерів функціональної активації лімфоцитів CD25⁺, CD95⁺ та HLA-DR⁺. Під впливом температури активуються клітинні фактори імунітету.

Ключові слова: *лімфоцити, активаційні маркери лімфоцитів, імунна система, інфекційний ендокардит.*

Вивчення експресії активаційних маркерів CD 25⁺, CD 95⁺, HLA–DR⁺ на лімфоцитах периферичної крові у хворих на інфекційний ендокардит (ІЕ) дозволяє проводити безперервний моніторинг стану імунної системи пацієнта, проводити імунологічну обґрунтовану терапію, прогнозувати перебіг захворювання [1].

При захворюваннях, які характеризуються тривалим впливом інфекційних антигенів та інтоксикацією, яким являється інфекційний ендокардит, спостерігається зміна швидкості утворення та диференціації лімфоцитів, інтенсивність апоптозу, що призводить до порушень в імунній системі, ускладнюючи протікання інфекційного процесу в організмі [2].

Таким чином, інфекційний ендокардит протікає на фоні зниженої реактивності організму хворих, наявність інфекційного процесу спричиняє подальше порушення у функціонуванні імунної системи. Всі ці фактори зумовлюють актуальність пошуку сукупності лікувальних заходів, спрямованих на всі патогенетичні ланки розвитку інфекційного процесу в кардіохірургічних пацієнтів, хворих на інфекційний ендокардит [3, 4]. Одним із перспективних напрямків є розробка методу стимуляції захисних сил організму хворих на ІЕ за рахунок безпосередньої дії підвищеної температури.

Мета роботи – дослідити вплив температури *in vitro* на експресію активаційних маркерів лімфоцитів CD 25⁺, CD 95⁺, HLA–DR⁺ периферичної крові хворих на ІЕ та визначення співвідношення активаційних маркерів CD 25/CD 95 та HLA–DR/CD95 у даних пацієнтів.

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження – периферична кров 30 хворих на ІЕ (І група) та 10 практично здорових осіб донорів крові (контрольна група).

Дослідження імунологічних показників проводили до операції в динаміці:

I етап – до нагрівання крові;

II етап – після нагрівання 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 із моноклональними антитілами виробництва НПЦ «Гранум» (м. Харків).

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

Результати та обговорення. Проведені нами дослідження показали, що перебіг інфекційного ендокардиту супроводжується зміною показників експресії активаційних маркерів лімфоцитів порівняно з практично здоровими людьми (контрольна група). Отримані результати досліджень наведено в табл. 1.

Як показали дослідження у хворих на ІЕ, до операції перед прогріванням периферичної крові *in vitro* відзначався достовірно підвищений рівень експресії ранніх активаційних маркерів лімфоцитів CD25 у відносних та абсолютних значеннях і становив $26,22 \pm 3,66\%$ у хворих на ІЕ та $17,38 \pm 19\%$ – в контрольній групі ($Pd \leq 0,05$), що свідчить про посилену активність протиінфекційного захисту, викликану активним протіканням інфекційного процесу в цій групі хворих.

Таблиця 1

Експресія маркерів активації лімфоцитів периферичної крові

Показники		Інфекційний ендокардит, n = 30		Контрольна група, n = 10	
		до нагрівання	після нагрівання	до нагрівання	після нагрівання
CD25	%	26,22±3,66 *	33,56±4,32**	17,38±1,19	24,90±1,33**
	мкл	0,74±0,30*	0,93±0,11	0,46±0,07	0,65±0,09
CD95	%	17,66±3,69	25,44±3,35**	19,00±1,82	24,90±1,86**
	мкл	0,56±0,30	0,78±0,39	0,49±0,06	0,64±0,08
HLA-DR	%	25,88±2,30*	33,66±2,85**	19,63±1,33	25,88±1,06**
	мкл	0,72±0,27*	0,97±0,42	0,52±0,07	0,67±0,08
CD25/CD95	%	1,59±0,41	1,43±0,19	0,99±0,04	1,03±0,21
	мкл	1,66±0,40	1,43±0,18	1,00±0,03	1,03±0,20
HLA-DR/CD95	%	1,69±0,31	1,42±0,15	1,10±0,26	1,06±0,11
	мкл	1,68±0,32	1,42±0,15	1,10±0,27	1,06±0,11

*Pd^{0,05} порівняно з контрольною групою;

**Pd^{0,05} порівняно до та після нагрівання в групі.

Рівень лімфоцитів з експресією CD95⁺ у групі хворих на ІЕ був дещо підвищений (в абсолютних значеннях) порівняно з контрольною групою, але це підвищення з низьким ступенем достовірності. Підвищений рівень імунокомпетентних клітин, готових до вступу в процес апоптозу, може призводити до дисбалансу в імунній системі, в той час як знижений рівень експресії CD95⁺ на лімфоцитах може спричинити активацію аутореактивних субпопуляцій лімфоцитів і викликати розвиток імунної відповіді проти антигенів особистих тканин.

Активация протиінфекційного захисту позначається також збільшенням експресії пізніх маркерів активації лімфоцитів HLA-DR⁺ у групі хворих – як у відносних, так і в

абсолютних значеннях, що склали відповідно $25,88 \pm 2,30\%$ у хворих та $19,63 \pm 1,33\%$ в контрольній групі ($Pd \leq 0,05$).

Розрахунок співвідношень активаційних маркерів CD 25/CD 95 (ранніх) та HLA–DR/CD 95 (пізніх) виявив тенденцію до збільшення рівня цих показників у хворих на ІЕ порівняно з контрольною групою і склав відповідно $1,59 \pm 0,41$ для CD 25/CD 95 у хворих на ІЕ та $1,03 \pm 0,21$ в контрольній групі; $1,69 \pm 0,31$ для HLA–DR/CD 95 у хворих на ІЕ, $1,06 \pm 0,11$ в контролі відповідно. Отримані дані свідчать про позитивну експресію активаційних маркерів у хворих на ІЕ порівняно із здоровими людьми. Збільшення числа клітин з рецепторами до інтерлейкіну-2 (CD25⁺) та лімфоцитів з HLA-DR⁺ пов'язане з активацією імунної системи під час відповіді на антиген при інфекційному процесі у хворих на ІЕ.

Проведені дослідження після нагріву периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °С протягом 30 хвилин виявили позитивну динаміку змін експресії маркерів функціональної активації лімфоцитів CD25⁺, CD95⁺ та HLA-DR⁺ під впливом заданої температури як у групі хворих на ІЕ, так і в контрольній групі.

Дослідження показали, що експресія раннього маркеру функціональної активації лімфоцитів CD25⁺ достовірно підвищувалася під впливом заданого температурного режиму і складала $33,56 \pm 4,32\%$ порівняно з показником до нагріву $26,22 \pm 3,66\%$, в контрольній групі відповідно $24,90 \pm 1,33\%$ і $17,38 \pm 1,19\%$ ($Pd \leq 0,05$).

Дослідження впливу заданого температурного режиму на рівень експресії CD95⁺ лімфоцитів, які характеризують індукцію апоптозу лімфоцитів виявили достовірне підвищення цього маркеру після нагрівання – як у групі хворих на ІЕ, так і в контрольній групі і склали відповідно для хворих $25,44 \pm 3,35\%$ при $17,66 \pm 3,69\%$ до нагріву, а в контрольній групі відповідно $24,90 \pm 1,86\%$ і $19,00 \pm 1,82\%$ ($Pd \leq 0,05$).

При дослідженні пізнього маркеру активації лімфоцитів HLA-DR⁺ після нагріву периферичної крові було виявлено збільшення експресії рецепторів HLA-DR⁺ на лімфоцитах як у хворих на ІЕ, так і в контрольній групі і склало відповідно для хворих $33,66 \pm 2,85\%$ при $25,88 \pm 2,30\%$ до нагрівання, в контрольній групі $25,88 \pm 1,06\%$ і $19,63 \pm 1,33\%$ до нагрівання ($Pd \leq 0,05$).

Співвідношення активаційних маркерів CD 25/CD 95 та HLA–DR/CD 95 в контрольній групі майже не змінилося під впливом заданого температурного режиму, що вказує на паралельний приріст експресії активаційних маркерів та апоптозу у здорових людей, що не призводить до дисбалансу імунної відповіді.

У групі хворих на ІЕ спостерігається зниження коефіцієнтів CD 25/CD 95 та HLA–DR/CD 95 після нагрівання периферичної крові, викликане збільшенням кількості CD95⁺ лімфоцитів після нагрівання периферичної крові порівняно з контрольною групою.

Таким чином, заданий температурний режим модулює активаційні процеси лімфоцитів при інфекційному ендокардиті шляхом збільшення клону CD95⁺ лімфоцитів, що спричиняє перехід лімфоїдних клітин від стану активації до реалізації апоптотичної програми, яка призводить до зниження субпопуляції аутоагресивних лімфоцитів, специфічних по відношенню до аутоантигенів.

Висновки. Нагрівання периферичної крові *in vitro* при температурі 39,5 °С протягом 30 хвилин виявляє імуномодулюючі властивості заданого температурного режиму, що супроводжується збільшенням рівня експресії маркерів функціональної активації лімфоцитів CD25⁺, CD95⁺ та HLA-DR⁺ як у хворих на ІЕ, так і в контрольній групі порівняно з показниками до нагрівання крові.

Під впливом заданої температури активуються клітинні фактори імунітету, стимулюється перехід лімфоїдних клітин від стану активації до реалізації апоптотичної програми, яка

призводить до зниження субпопуляції аутоагресивних лімфоцитів, що дає можливість застосування заданого температурного режиму при комплексному лікуванні хворих на ІЕ з дисфункцією імунної системи для нормалізації клітинної ланки імунної системи.

Література

1. Иммунные механизмы в патогенезе воспалительных заболеваний миокарда / Н.Р. Палеев, Г.В. Порядин, Ф.Н. Палеев, Н.П. Санина // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 10. – С. 64–68.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / М.: ООО «Медицинское информативное агентство». – 2003. – 604 с.
3. Кнышов Г.В. Инфекционный эндокардит / Г.В. Кнышов, В.Н. Коваленко. – К., 2004. – 255 с.
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.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА ЭКСПРЕССИЮ АКТИВАЦИОННЫХ МАРКЕРОВ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ ЭНДОКАРДИТОМ

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

Исследование экспрессии CD25⁺, CD95⁺ и HLA-DR⁺ у больных ИЭ, а также влияние прогрева периферической крови *in vitro* при температуре 39,5°С на протяжении 30 минут на уровень экспрессии активационных маркеров лимфоцитов во многом определяет эффективность иммунного ответа.

После прогрева периферической крови *in vitro* при температуре 39,5°С в течение 30 минут увеличивается уровень экспрессии маркеров функциональной активации лимфоцитов CD25⁺, CD95⁺ и HLA-DR⁺. Увеличение количества CD95⁺ лимфоцитов стимулирует переход лимфоидных клеток от состояния активации до реализации апоптотической программы, которая приводит к снижению субпопуляции аутоагресивных лимфоцитов.

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

IMMUNOMODULATORY INFLUENCE OF TEMPERATURE ON EXPRESSION OF ACTIVATION MARKERS OF LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH INFECTIOUS ENDOCARDITIS

E.Y. Bespalova, Z.T. Balannik, T.V. Alekseichuk, L.V. Dolgova

Research of expressions CD25⁺, CD95⁺ and HLA-DR⁺ in patients with infectious endocarditis, and also influence of a heating of peripheral blood *in vitro* at temperature 39,5 °C during 30 minutes on level of expression of activation markers of lymphocytes is define an efficiency of the immune response in many respects.

After a heating of peripheral blood *in vitro* at temperature 39,5 °C during 30 minutes on level of expression of markers of functional activation of lymphocytes CD25⁺, CD95⁺ and HLA-DR⁺ is being increased. The increase in quantity CD95⁺ lymphocytes stimulates transition of lymphoid cells from an activation condition to realization of the apoptotic program which is cause of decreasing of subpopulation autoaggressive lymphocytes.

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