

УДК 616.24-003 : 577.8.097.37

© Коллектив авторов, 2012.

## ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ CD95 И HLA – I, II У ДЕТЕЙ С ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НА ЭТАПЕ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ

Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бисюк, Т. Г. Филоненко, В. П. Притула, О. Б. Боднар

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь

### DYNAMICS OF CD95 AND HLA – I, II LEVELS AT CHILDREN WITH PURULENT-SEPTIC DISEASES AT A STAGE OF HOSPITALIZATION

L. F. Pritulo, Yu. A. Bisjuk, T. G. Filonenko, V. P. Pritula, O. B. Bodnar

#### SUMMARY

The paper studied the dynamics of of CD95 and HLA – I, II levels of 444 children with purulent-septic diseases (acute purulent destructive pneumonia - 220 children, peritonitis - 110 children, acute hematogenous osteomyelitis - 114 children) in aged 1 to 14 years. Purulent-septic diseases lead to activation of an apoptosis of lymphocytes and hyperexpression of HLA - II. The level of HLA-I does not differ in compare to control group.

### ДИНАМІКА ЕКСПРЕСІЇ РІВНЯ МОЛЕКУЛ CD95 И HLA – I, II У ДІТЕЙ ІЗ ГНІЙНО-СЕПТИЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ НА ЕТАПІ ГОСПІТАЛІЗАЦІЇ

Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бісюк, Т. Г. Филоненко, В. П. Притула, О. Б. Боднар

#### РЕЗЮМЕ

У роботі вивчено рівень експресії CD95 и HLA – I, II у 444 дітей з гнійно-септичними захворюваннями (гостра гнійно-деструктивна пневмонія – 220 дітей, перитоніт – 110 дітей, гострий гематогенний остеомиєліт – 114 дітей) у віці від 1 до 14 років. Гнійно-септичні захворювання призводять до активації апоптозу лімфоцитів і гіперекспресії рівня HLA – II, при цьому рівень HLA-I не відрізняється від контролю.

**Ключевые слова:** антиэндотоксиной иммунитет, гнойно-септические заболевания, дети.

К прогностическим критериям, которые могут определять риск развития гнойно-септических заболеваний у детей, могут относиться как показатели общего иммунного статуса, так и система HLA (Human Leucocytes Antigen) человека, которая играет центральную роль в регуляции иммунного ответа [1-3].

Система HLA запускает генетический контроль иммунного ответа, обеспечивает взаимодействия клеток иммунной системы, регулирует процессы программированной клеточной смерти путем активации рецептора CD95 на лимфоцитах [4]. Кроме генетического контроля иммунного ответа, гены HLA выполняют ряд других физиологических функций, которые связаны с генетическим контролем иммунного ответа, в частности, контроль активности различных популяций иммунокомпетентных клеток [5].

В связи с этим, целью данной работы стало изучение уровня экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I, II типов и CD9 при гнойно-септических заболеваниях у детей.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для данной работы послужили наблюдения за 444 детьми с гнойно-септическими заболеваниями в возрасте от 1 года до 14 лет. Количество мальчиков, девочек и возраст в исследуемых группах больных было примерно одинаковым.

В соответствии с клиническими диагнозами боль-

ные были разделены на группы: первую группу составили 220 детей с острой гнойной деструктивной пневмонией (ОГДП); вторую – 110 детей с острым гематогенным остеомиелитом; третью – 114 детей с перитонитом.

Контрольную группу составили 110 условно здоровых детей того же возраста.

Для установления диагноза пневмонии использовали протоколы диагностики и лечения в соответствии приказа МОЗ Украины (№18 от 13.01.2005) и классификацию М.Р. Рокицкого (1988) для осложненных форм пневмонии (ОГДП). Из 220 больных с ОГДП у 140 (64 %) была легочная форма пневмонии, у 80 (36 %) – легочно-плевральная. Возраст больных колебался от 1 года до 14 лет.

Больные острым гематогенным остеомиелитом были распределены следующим образом: токсическая форма выявлена у 15 (13,63%) человек, септико-пиемическая – у 36 (32,72%) и локальная – у 59 (53,63%).

Согласно классификации Б.Д. Савчука больные перитонитом были распределены на местный перитонит – 70 (61,4 %), диффузный – 28 (24,56 %) и разлитой – 16 детей (14,03 %).

Уровни экспрессии классических молекул антигенов главного комплекса гистосовместимости (HLA-I и HLA-II) и Fas (CD95) как маркера готовности клеток к экзогенному апоптозу на иммунокомпетент-

ных клетках (лимфоцитах) проводили с помощью реакции непрямой иммуофлуоресценции (НИФА) с использованием моноклональных антител фирмы «Протеиновый контур» (Россия).

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ООО «Альфа», г. Донецк.

При анализе для проверки распределения на нормальность использовали Хи-квадрат и критерий W Шапиро-Уилка, сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием W-критерия Вилкоксона и сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента. Для мно-

жественного сравнения непараметрических данных использовали ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса и критерий Дана [6].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что состояние иммунной системы в ее фенотипическом реагировании на болезнь в большинстве случаев генетически детерминирована [7].

Одним из ключевых регуляторов реактивности иммунной системы являются гены гистосовместимости (HLA – I, II) с одной стороны, с другой процессы активации иммунокомпетентных клеток ведут к экзогенному пути запуска апоптоза посредством рецептора CD95. Уровень экспрессии молекул CD95 и HLA – I, II представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Уровень экспрессия молекул CD95 и HLA – I, II у детей с гнойно-деструктивными пневмониями на 1 сутки госпитализации (% $\pm$ m)**

Показатели	Контроль (n=110)	Легочная форма (n=140)	Легочно-плевральная форма (n=80)
CD95+	21,34 $\pm$ 0,27	25,84 $\pm$ 0,50*	27,67 $\pm$ 0,65*
HLA – I	12,27 $\pm$ 0,23	12,40 $\pm$ 0,21	12,90 $\pm$ 0,33
HLA – II	20,04 $\pm$ 0,32	25,17 $\pm$ 0,38*	24,83 $\pm$ 0,52*

Примечание: \* - P<0,01; \*\* - P<0,05 – достоверность различий показателей контрольной группы от опытных; # - P<0,01; ## - P<0,05 – достоверность различий показателей опытных групп между собой.

Выявленные закономерности (таблица 1) демонстрируют наличие взаимосвязей в реализации иммунного ответа организма при ОГДП, в особенности для CD95+ и HLA – II. Так, уровень экспрессии проапоптотического маркера CD95 и HLA – II достоверно выше (P<0,01) у больных с ОГДП по сравнению с контролем, однако различия при разных формах пневмонии обнаружены не были. Значения HLA – I достоверно не отличались от контроля.

Анализ экспрессии молекул HLA – I, HLA – II

(таблица 2) показал, что уровень HLA – I у детей с ОГО достоверно не отличается от контроля (P>0,05), при этом экспрессия HLA – II была значительно выше (P<0,05) контроля с наибольшими значениями для локальной формы ОГО. Для экспрессии рецептора CD95 (таблица 2) были выявлены следующие изменения: степень экспрессии CD95 рецептора на лимфоцитах была значительно выше контроля (P<0,01), при этом самый высокий уровень экспрессии для этого рецептора был характерен для токсической формы ОГО.

Таблица 2

**Уровень экспрессия молекул CD95 и HLA – I, II у детей с различными формами острого гематогенного остеомиелита на 1-е сутки (M $\pm$ m)**

Показатели	Контроль (n=110)	Токсическая форма (n=15)	Септико-пиемическая форма (n=36)	Локальная форма (n=59)
CD95+(%)	21,34 $\pm$ 0,27	32,6 $\pm$ 2,81 *,#	26,6 $\pm$ 0,26 *,#	23,15 $\pm$ 0,39 *
HLA – I (%)	12,27 $\pm$ 0,23	11,85 $\pm$ 1,01	12,06 $\pm$ 0,52	11,47 $\pm$ 0,59
HLA – II (%)	20,04 $\pm$ 0,32	23,3 $\pm$ 1,53 **,##	26,68 $\pm$ 0,24 *,##	29,11 $\pm$ 0,74 *

Примечание: \* - P<0,01; \*\* - P<0,05 – достоверность различий показателей опытных групп от контроля; # - P<0,01; ## - P<0,05 – достоверность различий показателей опытной группы от двух других.

Анализ экспрессии молекул HLA – I, HLA – II (таблица 2) показал, что уровень HLA – I у детей с ОГО достоверно не отличается от контроля ( $P>0,05$ ), при этом экспрессия HLA – II была значительно выше ( $P<0,05$ ) контроля с наибольшими значениями для локальной формы ОГО. Для экспрессии рецептора CD95 (таблица 2) были выявлены следующие изме-

нения: степень экспрессии CD95 рецептора на лимфоцитах была значительно выше контроля ( $P<0,01$ ), при этом самый высокий уровень экспрессии для этого рецептора был характерен для токсической формы ОГО. Результаты анализа экспрессии уровня молекул CD95 и HLA – I, II у больных детей с различными формами перитонита представлены в таблице 3.

Таблица 3

Уровень экспрессии молекул CD95 и HLA – I, II у детей с перитонитом на 1-е сутки ( $M\pm m$ )

Показатели	Контроль (n=110)	Разлитой (n=16)	Диффузный (n=28)	Местный (n=70)
CD95+( $\times 10^9$ )	21,34 $\pm$ 0,27	33,29 $\pm$ 1,09 *	28,02 $\pm$ 0,72 *	27,40 $\pm$ 0,43 *
HLA – I	12,27 $\pm$ 0,23	11,53 $\pm$ 0,98	11,84 $\pm$ 0,72	11,74 $\pm$ 0,37
HLA – II	20,04 $\pm$ 0,32	25,73 $\pm$ 0,77	25,58 $\pm$ 0,62	25,47 $\pm$ 0,42

Примечание: \* -  $P<0,01$ ; \*\* -  $P<0,05$  – достоверность различий показателей опытных групп от контроля; # -  $P<0,01$ ; ## -  $P<0,05$  – достоверность различий показателей опытной группы от двух других.

Проапоптотический маркер CD95+ был повышен во всех трёх группах по сравнению с контролем ( $P<0,01$ ), но между группами различия не были установлены.

Экспрессия молекул HLA I не изменялась по сравнению с контролем, а HLA II была выше, чем в группе условно здоровых детей ( $P<0,01$ ) при всех формах перитонита, но между опытными группами не отличалась.

## ВЫВОДЫ

Уровень экспрессии проапоптотического маркера CD95 и HLA – II достоверно выше ( $P<0,01$ ) у детей с гнойно-септическими заболеваниями по сравнению с контролем, при этом уровень HLA-I достоверно не отличается ( $P>0,05$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Апоптоз периферических Т-клеток и его роль в патогенезе генерализованной бактериальной инфекции/ Е.Р. Черных, М.Н. Норкин, О.Ю. Леплина и др.// Russia Journal of immunology.-2001.-Vol.6, (2).-P. 123-131.

2. Миронов П.И. Молекулярные аспекты системного воспалительного ответа при сепсисе /П.И. Миронов.// Вестник интенсивной терапии. - 2000. - № 4. - С. 1-9.

3. Чеснокова Н.П. Воспаление. Патофизиология и клинические аспекты./ Н.П. Чеснокова, А.В. Михайлов - Саратов, 1999. - 165с.

4. Алексеев Л. П. Ассоциированная с HLA предрасположенность к заболеваниям и некоторые механизмы ее реализации/ Л. П. Алексеев, Н. М. Хайтова, В. В. Яздовский //Вестник АМН СССР.- 1998.-№5.-С. 30-37.

5. Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления. /А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова //Цитокины и воспаление. - 2005. - №1. - С. 44-47.

6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях. // К. – Морион – 2000 – 319с.

7. Федоровская Е.А., Немировская Л.Н. Взаимосвязь микробных экосистем и иммунитета человека // Микробиол. Журнал – 1999 – Т.61 – №5 – С. 85-96.