

УДК: 612.112

МОДИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ CD2⁺ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ДОНОРОВ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ИНКУБАЦИЕЙФРОЛОВ А.К.¹, ЛИТВИНЕНКО Р.А.¹, МАКЕЕВА Л.В.²,
ФРОЛОВА Л.А.³, ФЕДОТОВ Е.Р.¹, ЗВЕРЕВА О.А.⁴¹Запорожский национальный университет²Запорожский государственный медицинский университет³Запорожская медицинская академия последипломного образования⁴Запорожский областной кожно-венерологический диспансер

Кровь, вместе с лимфой и тканевой жидкостью, относится к тканям внутренней среды, которые, благодаря постоянной рециркуляции, обеспечивают жизнедеятельность клеток, тканей организма. Одним из главных ее свойств является поддержание динамического равновесия ее компонентов, отражающих конкретную морфогенетическую и метаболическую ситуацию. Поэтому, определенные константы крови используются для диагностики состояния организма. Среди компонентов крови наиболее динамичными являются иммунные факторы, а из них лейкоцитарный и, в частности, лимфоцитарный состав [1]. При этом, если их количественный состав хорошо изучен и отражен в лейкоцитарной формуле крови, CD-фенотипировании, при определенных диагностических или патологических состояниях, то функциональная характеристика популяций и субпопуляций мало изучена. Часто в этих случаях прибегают к методам *in vitro*, например, к реакции бластной трансформации лимфоцитов на митогены и антигены, экстраполяция которых на организменный уровень не всегда адекватна [2]. Актуальной остается также проблема оценки гомеостатической пролиферации (ГПр) Т-лимфоцитов в ответ на лимфопенические ситуации разного генеза. ГПр открыта и интенсивно изучается в опытах на линейных мышах [3]. Нами предложен иммуногенезный подход к тестированию активности лимфоцитов по плотности CD-структур на плазмолемме, отражающий функциональное состояние клеток, предшествующее взятию крови на анализ [4]. Известно, что после стимуляции лимфоцитов антигеном или митогеном, в нем активируются метаболические процессы и на его поверхности увеличивается плотность соответствующих рецепторов, в том числе и CD-структур, а отсюда и авидность к соответствующим лигандам [5]. Перспективной в данном отношении является CD2-структура, которая представлена на всех Т-лимфоцитах и большей части натуральных киллеров (НК). Данная структура рано появляется на лимфоцитах при иммунопозе и сохраняется на дифференцированных лимфоци-

тах. Ее плотность на Т-лимфоцитах составляет от 83000 до 98000, что почти на порядок выше по сравнению с другими CD-структурами [6]. Функция CD2-структуры состоит в обеспечении адгезии при клеточных взаимодействиях и проведении активирующего и митогенного сигнала в клетку альтернативного Т-клеточному рецептору (ТКР). Лигандом для CD2-структуры является CD58 (LFA-13), который распространен на всех ядросодержащих клетках. Поэтому, регуляторная роль CD2-структуры распространяется не только на лимфоциты, но и на клетки других гистогенетических рядов [7]. В связи с этим представляет интерес изучение распределения плотности CD2-структуры на лимфоцитах крови доноров, как отражение их функционального состояния на момент обследования особи и их изменение при суточной холодной инкубации *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 120 доноров среднего возраста от 20 до 46 лет, в среднем 39,1±1,23 года, из них 108 женщин и 12 мужчин. Материалом исследования служила венозная кровь, стабилизированная кристаллическим гепарином (Спофа, Чехия) 200 мкг/мл. Лимфоцентриат выделяли на фиколл-верографиновом градиенте плотности 1,078 г/мл, из которого готовили суспензию мононуклеаров в количестве 2 млн/мл. CD2⁺-лимфоциты определяли двумя способами: методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (ЭБ) (Е-РОК СП), и моноклонал-антитело к CD2 (Е-РОК МКАТ CD2) зависимого розеткообразования с ЭБ. В последнем случае использовали эритроцитарный диагностикум (Витебск, Беларусь). Для создания оптимального рецептор-лигандного взаимодействия, приближенного к внутренней среде организма человека, лимфоцитарные и эритроцитарные суспензии готовили на питательной смеси: среда 199, 10 % ЭТС, 0,2 мкг/мл глутамина, 0,02 мкг/мл аспарагина, 20 мМ НЕРЕС, 10 мМ 2-меркаптоэтанола, 100 мкг/мл гентамицина. Проводили также щадящую фиксацию клеток глютаровым альдегидом (рН 7,2)

в конечной концентрации 0,6% и приготовление препаратов, минимизирующее механическое повреждение образовавшихся розеток [4]. В 4-х местах препарата анализировали 200 лимфоцитов, распределяя их на классы (КЛ) по количеству присоединившихся ЭБ: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и более 8 (КЛ 0 ЭБ, КЛ 1 ЭБ и т.д.), считая, что avidность присоединения зависит от плотности CD2-структуры. В итоге подсчитывали общее количество Е-РОК двумя способами: включая и КЛ 1 ЭБ и КЛ 2 ЭБ («неполные розетки») (Е-РОК-2) и согласно общепринятому правилу, когда за розеткообразующий в лабораторной иммунологии принимают лимфоцит, присоединивший 3 и более ЭБ (Е-РОК-1) [8]. Суспензию лимфоцитов, оставшуюся после первого исследования Е-РОК, инкубировали в холодильнике при 4°C в течение 24 часов, после чего образцы лимфоцитов помещали в термостат на 1 час при 37°C, чтобы в них восстановились метаболические процессы и ставили описанные выше варианты реакции розеткообразования.

Статистическую обработку результатов проводили в пакете анализа IBM SPSS v.20 применяя вычисления средней арифметической, ошибки средней арифметической, среднего квадратического отклонения, медианы и интерквартильных отрезков. Нормальность распределения проверяли при помощи тестов Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Достоверность различий между средними величинами оценивали по критерию Вилкоксона. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены данные выявления количества Е-РОК и avidности лимфоцитов к ЭБ в зависимости от метода их определения. Нами было обнаружено, что при спонтанном методе (Е-РОК СП) выявление CD2⁺-лимфоцитов происходит полнее (на 4–5%) чем при использовании МКАТ к CD2-структуре (Е-РОК МКАТ CD2), как в интактной крови (до холодовой инкубации), так и после нее. Различия общего количества Е-РОК происходили в основном за счет высокоavidных к ЭБ классов лимфоцитов (КЛ \geq 8 ЭБ), причем различия последних при сравнении 2-х способов определения Е-РОК было еще контрастней — около 10% ($p \leq 0,05$). Данные различия можно объяснить тем, что спонтанное розеткообразование основывается на природной, филогенетически адаптивной высокоафинной взаимосвязи рецептора CD2 с лигандом CD58 (гомологом на ЭБ является gp 42кД) [9]. Поэтому при оптимальной постановке данного метода, наиболее полно определяются количественные и функциональные показатели CD2⁺-популяции лимфоцитов. Более низкие показатели CD2⁺-лимфоцитов, выявляемые с помощью Е-РОК МКАТ CD2 варианта метода, можно объяснить тем, что гибридные МКАТ специфичны к какой-либо случайной антигенной детерминанте CD2. Ее афинность значительно уступает природным рецепторно-лигандным связям (CD2–CD58). Поэтому дальнейший анализ динамики avidных к ЭБ классов CD2⁺-лимфоцитов мы проводили методом Е-РОК СП.

Таблица 1

Спонтанное и МКАТ-зависимое к CD2-структуре розеткообразование с ЭБ лимфоцитов крови доноров

Тип Е-РОК, лимфоцитарный образец	Авидные классы к Е-РОК									Всего	
	0	1	2	3	4	5	6	7	≥ 8	Е-РОК1	Е-РОК2
СП, Инт	33,1± 1,17	4,4± 0,37	4,4± 0,36	4,5± 0,28	6,2± 0,37	5,3± 0,39	3,4± 0,36	4,4± 0,33	34,4± 1,94	58,1± 1,52	66,9± 1,16
СП, Хол	35,8± 0,97	4,5± 0,34	4,5± 0,30	5,1± 0,41	6,1± 0,34	4,8± 0,27	2,6± 0,28	3,5± 0,26	32,8± 1,63	55,2± 1,18	64,2± 0,94
МКАТ CD2, Инт	39,7± 0,89	3,6± 0,41	3,0± 0,40	5,7± 0,32	6,6± 0,35	4,4± 0,38	5,5± 0,32	6,6± 0,31	24,9± 1,82	53,7± 1,37	60,3± 1,06
МКАТ CD2, Хол	39,6± 0,91	4,6± 0,35	4,8± 0,37	6,6± 0,34	5,7± 0,33	5,0± 0,29	4,3± 0,30	5,6± 0,28	23,8± 1,45	51,0± 1,25	60,4± 0,92

Примечание: Инт — интактный лимфоцитарный образец постановки Е-РОК в день взятия образца крови у доноров, Хол — лимфоцитарный образец после 24 ч. холодовой инкубации.

Так, из таблицы 1 следует, что в первый день инкубации (интактные лимфоциты) общее количество CD2⁺-лимфоцитов (Е-РОК-2), включающее КЛ1 и КЛ2 составило 66,9±1,16%. Согласно общепринятому подходу к учету CD2⁺-

лимфоцитов при минимальном количестве присоединенных ЭБ — 3 (Е-РОК-1) количество CD2⁺-лимфоцитов составило 58,1±1,52% ($p \leq 0,05$). Определение Е-РОК с учетом всех avidных к ЭБ лимфоцитов более соответствует

наличию CD2⁺-лимфоцитов в циркулирующей крови, включающих популяции Т-лимфоцитов и части натуральных киллеров. Долю оставшихся лимфоцитов составляет популяция В-лимфоцитов и «нулевых» клеток, а также часть CD2⁺-лимфоцитов, плотность рецептора на которых минимальна и находится за пределами разрешения метода. Следует отметить, что уровни CD2⁺-клеток, выполненные спонтанным методом розеткообразования с ЭБ (Е-РОК СП) сравнимы с таковыми по данным непрямой люминесценции и проточной цитометрии [10]. Удержанию минимального количества ЭБ (1–2) CD2⁺-лимфоцитами способствует агглютинация данного рецептора на цитоплазматической мембране клеток с низкой плотностью. Поэтому их учет, как CD2⁺-лимфоцитов, допустим при экспериментальных исследованиях количества частот низко- и среднеавидных к ЭБ лимфоцитов. В нашем исследовании изменения этих классов лимфоцитов происходили на статистически одинаковом уровне (4–6%, p>0,05) с резким повышением количества высокоавидных

классов (КЛ≥8 ЭБ). К последним мы относим активированные лимфоциты еще в организме до их изъятия на анализ [4, 11].

После холодовой инкубации происходило снижение общего количества Е-РОК 1 и 2 типов, но также, в основном, за счет высокоавидных к ЭБ лимфоцитов (КЛ≥8 ЭБ), с соответствующим увеличением не Е-РОК лимфоцитов. Данная динамика у обследованного контингента доноров была не одинаковой по величине и направлению. Поэтому исходя из закономерности динамики количества Е-РОК у отдельных лиц мы распределили всех обследованных на 3 группы, принимая за величину различий между результатами Е-РОК до и после холодовой инкубации равную одной сигме (σ=4,2) без учета направленности ее изменений. По этому признаку обследуемые разделились на 3 группы: 1) у которых происходило снижение Е-РОК после холодовой инкубации (38 чел.), 2) наблюдалось увеличение Е-РОК (18 чел.), 3) Е-РОК не изменялась в пределах сигмы (64 чел.) — таблица 2.

Таблица 2

Динамика показателей Е-РОК СП при холодовой инкубации

Группа доноров, лимфоцитарный образец	Авидные к ЭБ лимфоциты, %									Всего	
	0	1	2	3	4	5	6	7	≥8	Е-РОК 1	Е-РОК 2
1 (n=38), Инт	26,6± 1,26	3,6± 0,46	3,6± 0,40	4,2± 0,37	5,8± 0,62	5,0± 0,39	3,2± 0,34	4,6± 0,26	43,0± 1,96	66,1± 2,09	73,4± 1,77
1 (n=38), Хол	36,1± 1,61***	4,5± 0,31	5,3± 0,36**	5,5± 0,46	6,7± 0,43	4,7± 0,35	2,5± 0,48*	3,6± 0,51*	30,0± 2,24*	53,2± 1,54***	63,9± 2,01**
2 (n=18), Инт	42,9± 1,57	7,3± 1,17	6,9± 1,32	3,9± 0,42	6,9± 0,62	3,6± 0,52	4,1± 1,16	3,0± 0,24	21,5± 1,45	42,9± 2,02	57,1± 1,85
2 (n=18), Хол	36,3± 1,93*	6,6± 1,02	4,9± 0,22	3,1± 0,32	6,9± 0,52	4,1± 0,26	2,2± 0,37	3,3± 0,33	32,6± 1,17*	52,2± 2,31*	63,7± 2,21*
3 (n=64), Инт	34,4± 1,98	4,1± 0,19	4,2± 0,17	4,8± 0,21	6,3± 0,32	5,9± 0,36	3,3± 0,33	4,6± 0,41	32,6± 1,88	57,3± 1,38	65,6± 1,53
3 (n=64), Хол	35,8± 0,96	4,0± 0,25	3,9± 0,19	5,3± 0,36	5,6± 0,31	5,1± 0,25	2,7± 0,23	3,5± 0,22	33,7± 0,83	56,3± 1,50	64,2± 0,92

Примечание: Инт, Хол — см. табл. 1, * — показатели, которые статистически достоверно отличаются от данных в интактной крови при p≤0,05, ** — при p≤0,01, *** — при p≤0,001.

Сравнение показателей Е-РОК при разных подходах к их оценке показывает, что дополнительный учет «неполных розеток» (КЛ1 и КЛ2), то есть низкоавидных к ЭБ классов лимфоцитов, наиболее объективно и полно отражает общее содержание CD2⁺-лимфоцитов в крови доноров, приближая их количество к видовой харак-

теристике для человека. Так, различия общего количества Е-РОК при 1 и 2 подходе к их оценке (Е-РОК-1 и Е-РОК-2) в разных группах обследованных разнятся на 7–14% (p≤0,05) в пользу Е-РОК-2. Обращает на себя внимание тот факт, что амплитуда колебаний авидных классов от КЛ 1 ЭБ до КЛ 7 ЭБ статистически одинакова в

пределах 4–6% не зависимо от дня постановки Е-РОК (1 и 2 дня) и способа оценки (Е-РОК-1, Е-РОК-2), $p > 0,05$. Данное единообразие свидетельствует о функциональной иммунологической инертности этих авидных классов лимфоцитов крови на момент обследования доноров, а также служит дополнительным аргументом необходимости учета низкоавидных классов (КЛ 1 ЭБ, КЛ 2 ЭБ) при подсчете общего количества Е-РОК. Статистическое исключение составляют высокоавидные к ЭБ классы CD2⁺-лимфоцитов (КЛ ≥ 8 ЭБ), количество которых колеблется между 20 и 40% в зависимости от группы обследованных доноров и дня постановки Е-РОК. Именно с данным классом CD2⁺-лимфоцитов связаны достоверные различия общего количества Е-РОК в разных группах обследованных и изменения их количества после суточной холодовой инкубации. Данный факт подкрепляет наше заключение, что именно высокоавидные к ЭБ классы лимфоцитов (КЛ ≥ 8 ЭБ), так называемые «морулы», являются иммунологически активированными и имеют высокую плотность CD2-структуры. По данным электронной микроскопии цитолемма активированных лимфоцитов имеет многочисленные выросты разной длины [12]. Данной морфологической особенностью можно объяснить частое выявление многослойных «мегарозеток» [4]. Поэтому можно с уверенностью считать, что именно с КЛ ≥ 8 ЭБ, в основном, связаны иммунологические реакции в образце лимфоцитов на момент обследования.

Одна из новаций данного исследования, соответствующая основной его цели, состоит в том, что уровень высокоавидных к ЭБ CD2-лимфоцитов (КЛ ≥ 8 ЭБ) в исследуемом образце крови является гомеостатическим показателем для данного онтогенетического возраста к конкретной иммунологической ситуации. Так в наиболее многочисленной 3-й группе доноров ($n=64$), у которых значение Е-РОК статистически не изменилось после холодовой инкубации лимфоцитов, уровень высокоавидных к ЭБ активированных лимфоцитов (КЛ ≥ 8 ЭБ) составлял $32,6 \pm 1,9\%$ и $33,7 \pm 0,8\%$, $p > 0,05$, что, вероятно, соответствует физиологическому гомеостатическому уровню для людей среднего возраста. К статистически одинаковому к данному гомеостатическому уровню частота КЛ ≥ 8 ЭБ достигла в первой группе обследованных снизившись с $43,0 \pm 2,0\%$ до $30,9 \pm 2,3\%$ ($p \leq 0,05$) после холодовой инкубации, а во второй группе обследованных гомеостатический уровень КЛ ≥ 8 ЭБ был достигнут, соответственно, за счет повышения исходного уровня равного $21,5 \pm 1,8\%$ до $32,6 \pm 1,6\%$, $p \leq 0,05$.

Различия в содержании активированных CD2-лимфоцитов в интактных (исходных) образцах лимфоцитов в 3-х группах обследованных,

вероятно, связаны с разным иммунологическим состоянием их иммунной системы. Если в 3-й группе она соответствовала ее физиологическому уровню, то в 1 и 2 группах, вероятно, имеет место ее определенное напряжение с разным расположением очагов нарушения антигенструктурного гомеостаза и зависима от него разного направления миграция активированных лимфоцитов на купирование данного нарушения. Обнаружена дихотомия избирательной миграции лимфоцитов в иммунную систему слизистых (желудочно-кишечный, респираторный, мочевого тракт) и иммунную систему кожи, нервной системы [7, 11]. Поэтому можно предположить, что в первой группе обследованных очаги нарушения антигенной структуры находились в компетенции иммунной системы кожи и нервной системы, к которой направлялись активированные лимфоциты, увеличение количества которых за счет их перераспределения мы регистрировали взятием крови из вены. Во второй группе обследованных нарушения антигенструктурного гомеостаза, вероятно, произошло в органах подконтрольных иммунной системы слизистых, куда мигрировали и временно депонировались активированные лимфоциты, уменьшение которых мы также регистрировали при венепункции. При купировании данной иммунологической ситуации, уровень активированных лимфоцитов (КЛ ≥ 8 ЭБ) в периферической крови, вероятно, вернется к гомеостатическому ($32-34\%$). Так, например, если исследуемые образцы лимфоцитов крови помещаются в одинаковую иммунологическую ситуацию, как в нашем эксперименте — суточная холодовая инкубация *in vitro*, лимфоцитарный пул перестраивается с сохранением онтогенетически одинакового пула активированных лимфоцитов: $30,9 \pm 2,2\%$; $32,6 \pm 1,2\%$; $33,7 \pm 0,9\%$, соответственно, в 1, 2, 3 группах обследованных, $p > 0,05$.

Предлагаемая нами концепция определения гомеостаза уровня CD2⁺-активированных лимфоцитов крови у человека (КЛ ≥ 8 ЭБ) методом спонтанного розеткообразования соответствует новому направлению иммунологии, интенсивно разрабатываемое в последнее десятилетие — гомеостатической пролиферации (ГПр) Т-лимфоцитов. Основное ее содержание состоит в митотическом увеличении количества зрелых Т-лимфоцитов в условиях предварительной лимфопении, вызванной различными иммунологическими ситуациями, связанными с тратой специфических клеток-эффекторов [13, 14]. В данном случае ГПр Т-лимфоцитов в ответ на лимфопению отражает общее свойство тканей и органов в поддержании гомеостаза массы клеток путем митотической пролиферации, эндомитотической полиплоидии и многоядерности [15].

Обнаружено, что для выживания, а также для ГПр наивным Т-клеткам необходим сигнал от контакта Т-клеточных рецепторов (ТКР) с пептидными лигандами молекул главного комплекса гистосовместимости. Если учесть, что одной из функций CD2-структуры является альтернативное ТКР проведение в цитоплазму Т-клетки активирующего сигнала, а ее лигандом является CD58, экспрессированная на всех ядродержащих клетках, то можно с уверенностью считать, что CD2-структура принимает активное участие в ГПр лимфоцитов, а также в гистогенезе других тканей [7]. В этой связи, пул ГПр у человека можно учитывать по количеству высокоавидных к ЭБ CD2⁺-лимфоцитов (КЛ≥8 ЭБ), так как активация Т-клеток перед ГПр обязательно сопровождается резким увеличением плотности CD2-структуры. Следует обратить внимание на тот факт, что исследования по изучению феномена ГПр в основном проводятся на линейных мышцах с использованием радиоактивных изотопов. Поэтому назрела необходимость внедрения методов определения уровней ГПр в клиническую практику для анализа результатов профилактических и лечебных мероприятий [3]. Одним из таких методов может стать авидный розеточный тест с ЭБ с определением активированных CD2-лимфоцитов, к которым мы относим КЛ≥8 ЭБ, при условии корректной постановки розеточного метода, оптимизирующей рецептор-лигандное взаимодействие, приближенное к внутренней среде организма [4]. Такие лабораторные приемы данного метода, как компонентность питательных сред, тепловая и холодная инкубация клеток, их фиксация, приготовление препаратов и др. в лабораторной практике часто не соответствовали природному оптимуму данного рецептор-лигандного взаимодействия, что привело к ослаблению интереса к такому простому и информативному иммунологическому методу, моделирующему природное взаимодействие CD2-структуры лимфоцитов с CD58-структурой клеток всех тканей.

ВЫВОДЫ

1. Выявление CD2⁺-лимфоцитов крови методом МКАТ к CD2 розеткообразования значительно уступает его спонтанному варианту с ЭБ, особенно при определении высокоавидных (КЛ≥8 ЭБ) активированных лимфоцитов.
2. Общее количество CD2⁺-лимфоцитов (Е-РОК) на 50–53% определяется высокоавидными к ЭБ, активированными еще в организме человека лимфоцитами, уровень которых является гомеостатическим показателем крови, равным 32–34% для лиц зрелого возраста, сохраняющимся при суточной экстракорпоральной холодной инкубации.

3. Ширина вариации уровня высокоавидных к ЭБ CD2-активированных лимфоцитов в крови 3-х групп доноров (от 21,5±1,5% до 43,0±2,0%), относительно их гомеостатических значений, отражает интенсивность иммуногенеза, гомеостатическую пролиферацию на нарушение антигенструктурного гомеостаза, с учетом направления миграции активированных лимфоцитов в иммунную систему кожи или слизистых.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лебедев К. А.* Иммунограмма в клинической практике / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина. — М. : Наука, 1990. — 224с.
2. *Фролова Л. А.* Количественные и функциональные изменения показателей лимфоцитов крови у женщин в различные периоды онтогенеза / Л. А. Фролова, О. К. Фролов // Иммунология, аллергология, инфектология. — 2013. — №1. — С. 20-25.
3. *Козлов В. А.* Гомеостатическая пролиферация лимфоцитов в аспекте иммунопатогенеза различных заболеваний / В. А. Козлов // Иммунология. — 2006. — № 6. — С. 378-382.
4. Количественная и функциональная характеристика состояния иммунной системы методами спонтанного и антителозависимого к CD-структурам розеткообразования с эритроцитами барана / Л. А. Фролова, В. В. Копейка, Федотов Е. Р., Фролов А. К. // Лаб. Діагностика. — 2009. - №3(49). — С. 6-12.
5. *Фролов О. К.* Співвідношення цитоморфометричних та авідних розеточних до еритроцитів барана показників лімфоцитів у реакції спонтанного та моноклонал-антитіло-навантаженого до CD4-структури розеткоутворення / О. К. Фролов, Р. О. Литвиненко // Імунологія та алергологія: наука і практика. — 2012. — №3. — С. 47-52.
6. *Davis Simon J.* The structure and ligand interactions of CD2: implications for T-cell function / Simon J. Davis, Anton van der Merve // Immunology today. — 1996. — Vol. 17, No 4. — P.177-187.
7. *Дранник Г. Н.* Клиническая иммунология и аллергология: пособие / Г. Н. Дранник, А. Г. Дранник. — 5-е изд., доп. — К. : Полиграф-плюс, 2011. — 561 с.
8. Лимфоциты. Методы: пер с англ. / Под ред. Дж. Клауса. — М. : Мир, 1990 — 393 с.
9. *Сенчило И.В.* Реакция активного розеткообразования как метод оценки функции Т-лимфоцитов в клинической практике / И.В. Сенчило // Тер. Архив. — 1991. - № 7. — С. 135-138.

10. Новиков П. Д. Принципы оценки иммунного статуса и диагностики иммунодефицитных болезней / П. Д. Новиков, Н. Ю. Коневалова, Н. Д. Титова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2005. — №2. — С.8-22.
11. Фролов О. К. Патогенетичний аналіз імунної системи: основні принципи / О. К. Фролов, В. В. Копійка, Є. Р. Федотов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. — 2004. — №4. — С. 12-18.
12. Якобисяк М. Імунологія (підручник) / Переклад з польської за ред. проф. В.В. Чоп'як. — Вінниця: Нова Книга, 2004. — 672 с.
13. Homeostasis-stimulated proliferation drives naïve T-cells to differentiate directly into memory T-cells / [Cho B. K., Rao V. P., Ge Q, et al]. // J. Exp. Med. — 2000. — Vol. 192, No 2. — P.549-556.
14. Autologous regulation of naïve T-cell homeostasis within the T-cell compartment / [Dummer W., Ernst B., LeRoy E et al.] // J. Immunol. — 2001. — Vol. 166. — P. 2460-2468.
15. Гомеостаз на різних рівнях організації біосистем: монографія / В. П. Нефедов, А. А. Ясайтис, В. Н. Новосельцев и др. — Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1991. — 232 с.

УДК 616.61-002.1-022-078.73-055.2

СТАН ІМУНІТЕТУ СЕЧОВИДІЛЬНИХ ШЛЯХІВ У ЖІНОК, ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ПІЕЛОНЕФРИТ, В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЗБУДНИКІВ

РУДЕНКО А. В., КОРНІЛІНА О. М., МІТЧЕНКО М. В.

ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ

Серед захворювань нирок гострий піелонефрит (ГП) за своєю розповсюдженістю займає друге місце після гострих вірусних інфекцій. У виникненні і розвитку піелонефриту певну роль відіграють різні фактори, серед яких провідне значення мають вид збудника, шляхи його проникнення в нирку [1-3] та стан локального імунітету [4].

Запальний процес розвивається внаслідок проникнення патогену в нирки, і при відповідному стані імунної системи відбувається або елімінація збудника, або його адсорбція на чутливих клітинах. Фактори вірулентності збудників, з однієї сторони, та цілісність різнопланових механізмів захисту хазяїна з іншої, визначають перебіг та прогноз інфекційно-запального процесу. Для більшості інфекцій вхідними воротами є слизові оболонки і від функціональної активності клітин останніх в значній мірі залежить розвиток інфекційного процесу [5]. Для попередження проникнення в організм та знешкодження носіїв чужорідної генетичної інформації імунна система слизових оболонок формує систему захисту, яка включає елементи неспецифічного та специфічного імунітету, що складають основу мукозального імунітету [6, 7]. Слизові оболонки та контактуючі з ними та біологічні рідини представляють спільну функціонуючу систему організму, тому, певним чином, віддзеркалюють стан місцевого (локального) імунітету.

Застосування комплексу сучасних мікробіологічних, молекулярно-генетичних методів

дослідження патологічного матеріалу та визначення стану мукозального імунітету, дозволяють встановлювати не тільки спектр збудників, які викликають розвиток запальних процесів в нирках та сечовидільних шляхах, а й ті порушення локального імунного захисту макроорганізму, що сприяють розвитку патологічного процесу.

Метою дослідження було визначити особливості стану локального імунітету сечовидільних шляхів в залежності від таксономічного походження виявлених збудників у біологічному матеріалі від хворих на гострий піелонефрит.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Мікробіологічні та імунологічні дослідження виконані у 76 жінок (середній вік 32,8±1,5 років), хворих на гострий піелонефрит, з яких у 20 осіб діагностовано загострення хронічного піелонефриту. Матеріалом для досліджень були сеча та зішкряби зі слизової оболонки уретри, перенесені у фізіологічний розчин (2,0 мл). Осад клітин зішкрябів після 10-хвилинного центрифугування при 1500 об./хв. розводили живильним середовищем 199 (1,0 мл), тричі відмивали в середовищі 199 і використовували в реакції фагоцитозу та НСТ-тесті.

Мікробіологічне дослідження включало кількісне визначення бактерій та грибів шляхом посіву біологічного матеріалу на тверді поживні середовища – агари: кров'яний, м'ясо-пептонний, жовточно-сольовий, Ендо або Левіна, Сабуро за Родоманом. Визначали показник мікробного