

# СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ РАСТВОРИМОГО CD50 АНТИГЕНА И СОДЕРЖАНИЕ CD50-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПРИ ОЖОГАХ

Бабаев А.А., Лебедев М.Ю.\*, Новиков В.В.

Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского,

\*Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии, г. Нижний Новгород

**Резюме.** Обнаружено снижение относительного содержания CD50<sup>+</sup>-мононуклеарных клеток и повышение сывороточного уровня растворимой формы CD50 антигена в крови ожоговых больных с разной площадью поражения кожного покрова. Выявленные изменения могут оказывать влияние на формирование иммунодефицита, возникающего на фоне ожоговой травмы.

**Ключевые слова:** CD50, ожоговая травма.

*Babaev A.A., Novikov V.V.*

## SERUM LEVELS OF SOLUBLE CD50 ANTIGEN AND CONTENTS OF CD50-POSITIVE MONONUCLEAR CELLS IN THE PATIENTS WITH BURNS

**Abstract.** A decrease in relative contents of CD50<sup>+</sup>-mononuclear cells and elevated serum levels of soluble CD50 antigen have been revealed in blood of the burn patients with different areas of skin lesions. The changes observed may influence the development of immunodeficiency which arises as a result of the burn trauma. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 5-6, pp 727-730)

## Введение

Важной составляющей нормальной работы иммунной системы является способность клеток к адгезии. Одной из молекул адгезии является CD50 (ICAM-3) - белок, принадлежащий к суперсемейству иммуноглобулинов. Это поверхностный гликопротеин с молекулярной массой 110-124 кДа, содержащий 5 иммуноглобулиновых доменов. CD50 экспрессируется на поверхности лейкоцитов и фибробластов [15]. Наиболее высокий уровень экспрессии CD50 наблюдается на неактивированных Т-лимфоцитах и антигенпрезентирующих клетках. Взаимодействие CD50 с молекулой LFA-1 или DC-SIGN (CD209) инициирует первичный контакт Т-лимфоцита и антигенпрезентирующей клетки в процессе иммунного ответа [6].

Существует растворимая форма CD50 (sCD50), образующаяся путем протеолитического отщепле-

ния мембранной формы с поверхности клеток, вступающих в кооперативные взаимодействия. Внеклеточная концентрация sCD50 повышается при активации лимфоцитов в условиях *in vitro*. При заболеваниях, сопровождающихся активацией иммунной системы, также выявлено увеличение сывороточного содержания sCD50. Так, его уровень повышается при аутоиммунных заболеваниях [16], сифилисе [2], вирусных гепатитах В, С и G [4], урогенитальном хламидиозе [3]. Ожоговая травма также характеризуется наличием выраженных активационных процессов в первые сутки после получения ожога [8]. Однако роль растворимой и мембранной форм молекулы адгезии CD50 в иммунологических реакциях при ожогах не изучена.

В связи с этим целью данной работы явилось исследование мембранной экспрессии и сывороточного уровня растворимой формы CD50 молекулы при термической травме.

## Адрес для переписки:

Бабаеву Алексей Александрович,  
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д.23,  
корп. 1, биофак, кафедра МБИ.  
Тел.: (8312) 65-82-07; факс (8312) 19-90-64.  
E-mail: kmb@bio.unn.ru, alexisbabaev@list.ru

## Материалы и методы

Обследовано 237 лиц с ожоговой травмой различной тяжести, проходивших лечение в Российском ожоговом центре на базе Нижегородского НИИ

травматологии и ортопедии. Площадь ожогового поражения составляла от 2 до 90% поверхности тела. В качестве контрольной группы исследовали кровь 35 клинически здоровых добровольцев.

Количество CD50<sup>+</sup>-клеток определяли методом непрямой иммуофлюоресценции с помощью моноклональных антител (МКА) ИКО-60 [1]. Содержание растворимой формы CD50 в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуоферментного метода с применением МКА ИКО-60 и поликлональных антител, направленных против поверхностных антигенов мононуклеарных клеток периферической крови человека [4].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Стьюдента. Для статистических расчетов использовали пакет программ "Statistica".

## Результаты

Ожоги с поражением менее 30% общей площади кожи на протяжении всех периодов ожоговой болезни сопровождались достоверным снижением относительного количества CD50<sup>+</sup>-лимфоцитов по сравнению с нормой. При площади ожога более 30% от поверхности тела на второй и третьей неделе со дня травмы происходило статистически достоверное снижение относительного содержания CD50<sup>+</sup>-лимфоцитов периферической крови. В период с 22 по 28 сутки после получения ожога относительное содержание лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности белок CD50, нормализовалось. Затем относительное количество CD50<sup>+</sup>-клеток опять снижалось ( $p < 0,05$ ). Однако изменений в абсолютном количестве CD50<sup>+</sup>-лимфоцитов на протяжении всех периодов ожоговой болезни у пациентов с разной площадью поражения кожного покрова не наблюдалось (табл.).

При ожогах менее 30% от поверхности кожи в течение первой недели после травмы наблюдалось повышенное содержание растворимой формы молекулы CD50. На второй неделе с момента термической травмы происходила нормализация сывороточного уровня sCD50. На этом же уровне сывороточное содержание растворимого белка CD50 сохранялось весь последующий период наблюдения. Иная динамика сывороточного содержания sCD50 наблюдалась при площади ожога свыше 30% от поверхности тела. Увеличение уровня растворимого CD50 протеина по сравнению с нормой происходило лишь на 4 сутки после ожога и сохранялось до конца первой недели со дня травмы. Вторая неделя после получения ожога также характеризовалась высоким содержанием растворимого сывороточного CD50 протеина. Затем происходила нормализация сывороточного содержания растворимой формы CD50 (табл.).

## Обсуждение

Белок CD50 относится к обширной группе молекул адгезии. Ранее было показано, что при ожогах повышается относительное содержание периферических лимфоцитов, несущих на мембране такие белки адгезии, как CD11c, CD49a, CD54 (ICAM-1) [14]. Продemonстрировано также увеличение сывороточной концентрации растворимых форм целого ряда белков адгезии: Р-селектина, Е-селектина [12], ICAM-1 [13], ELAM-1, VCAM-1 [7]. Причина выявленных изменений, по мнению авторов, заключается в активации клеток иммунной системы, сопровождающейся повышением плотности экспрессии на плазматической мембране индуцибельных белков, к которым относят многие адгезивные молекулы. Показателями активации при ожогах являются достоверное увеличение содержания CD38<sup>+</sup>- и HLA-I<sup>+</sup>-лимфоцитов, повышение относительного количества CD25<sup>+</sup>-, CD71<sup>+</sup>- и CD26<sup>+</sup>-лимфоцитов, а также Fas-индуцированный апоптоз лимфоцитов периферической крови [9, 10]. Формирование межклеточных контактов, происходящее в процессе активации с участием белков адгезии, завершается шеддингом белков с последующим выходом в кровь и повышением их сывороточной концентрации.

В отличие от белков адгезии, обладающих индуцибельной экспрессией, белок CD50 характеризуется конститутивным типом экспрессии, то есть плотность его экспрессии на мембране при активации не увеличивается. Однако результатом развития активационных процессов в первые сутки после ожога может явиться шеддинг молекул адгезии, в том числе и CD50. Это приведет к снижению плотности экспрессии мембранного CD50 и, как следствие, падению относительного содержания CD50<sup>+</sup>-лимфоцитов. В таких условиях не является удивительным выявленное нами повышение сывороточной концентрации растворимой формы белка CD50, происходящее в первые две недели после получения ожоговой травмы вне зависимости от ее тяжести. Известно, что в этот же период сывороточный уровень растворимых форм индуцибельных белков адгезии, таких, например, как CD54 (ICAM-1), также повышается [5].

Растворимые белки адгезии способны вмешиваться в межклеточные взаимодействия, реализуемые с участием их мембранных форм. Повышение уровня растворимых молекул адгезии в крови ожоговых больных снижает потенциальную возможность активированных CD50<sup>+</sup>-клеток для проникновения в очаги воспаления. Кроме того, повышение уровня растворимого CD50 за счет шеддинга мембранной формы приводит к нарушению клеточных контактов наивных Т-лимфоцитов с антигенпрезентирующими клетками. То есть, снижение относительного количества CD50<sup>+</sup>-лимфоцитов и повыше-

Табл. АБСОЛЮТНОЕ И ОТНОСИТЕЛЬНОЕ КОЛИЧЕСТВО CD50<sup>+</sup>-МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК И СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ SCD50 ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Показатели	Норма	Время после ожога (сутки)					
		1-3	4-7	8-14	15-21	22-28	более 28
Площадь поражения кожного покрова до 30 %							
CD50 <sup>+</sup> -клетки, %	49,2±2,5	34,8±6,3*	25,8±4,8*	35,8±5,0*	30,1±3,6*	35,8±5,6*	36,6±3,3*
CD50 <sup>+</sup> -клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,3-1,9	0,7±0,1	0,5±0,1	1,0±0,1	0,7±0,1	0,9±0,1	1,0±0,1
sCD50, U/ml	56,7±18,9	128,8±39,6*	300,4±155,6*	58,8±27,1	72,6±31,6	32,4±13,1	
Площадь поражения кожного покрова свыше 30 %							
CD50 <sup>+</sup> -клетки, %	49,2±2,5	41,5±7,9	51,0±6,8	29,2±5,2*	37,2±7,0*	54,0±9,5	36,5±8,4*
CD50 <sup>+</sup> -клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,3-1,9	0,5±0,1	0,7±0,1	0,6±0,1	0,7±0,1	0,9±0,2	1,0±0,2
sCD50, U/ml	56,7±18,9	106,2±80,4	193,9±67,8*	382,5±230,8*	26,0±15,0	33,8±16,4	

\* - достоверные отличия в сравнении с нормой (p &lt; 0,05)

ние сыровоточного уровня sCD50 могут быть возможным фактором формирования послеожоговых иммунодефицитных состояний, выражающихся, в частности, в стойком снижении популяции CD4<sup>+</sup>-клеток, выполняющих функцию Т-хелперов [11].

## Список литературы

1. Воробьев В.Г., Новиков В.В., Лебедева А.И. Иммунодиагностика острых лейкозов. - Нижний Новгород, 1998. - 67 с.
2. Вязьмина Е.С., Добротина Н.А., Речкин А.И., Новиков В.В., Птицына Ю.С., Мартынова Т.Г., Абалкина Л.М. Содержание растворимого CD50 антигена и гетеродимера "β<sub>2</sub>-микроглобулин-HLA антигены I класса" в крови больных манифестными формами сифилиса // Вестник ННГУ, сер. Биология. - 2001. - вып. 1(2). - С.218-224.
3. Егорова Н.И., Курников Г.Ю., Бабаев А.А., Новиков В.В. Сыровоточный уровень растворимых молекул межклеточной адгезии при урогенитальном хламидиозе // Цитокины и воспаление. - 2003. - Т. 2. - № 2. - С.32-36.
4. Птицына Ю.С., Матвеева Е.М., Мартынова Т.Г. Разработка и апробация иммуноферментной тест-системы для определения растворимой формы CD50 антигена (ICAM-3) // Фундаментальные и прикладные проблемы медицинской биотехнологии: Мат-лы. междунар. конф., посв. памяти акад. РАМН и РАМТН И.Н. Блохиной. - М., 2000. - С.30-31.
5. Ahmed S.el-D., el-Shahat A.S., Saad S.O. Assessment of certain neutrophil receptors, opsonophagocytosis and soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) following thermal injury // Burns. - 1999. - V.25. - P.395-401.
6. Bleijs D.A., Geijtenbeek T.B., Figdor C.G., van Kooyk Y. DC-SIGN and LFA-1: a battle for ligand // TRENDS in Immunology. - 2001. - Vol.22. - №8. - P.457-463.
7. Endo S., Inada K., Kasai T., Takakuwa T., Yamada Y., Koike S., Wakabayashi G., Niimi M., Taniguchi S., Yoshida M. Levels of soluble adhesion molecules and cytokines in patients with septic multiple organ failure // J. Inflamm. - 1995. - V.46. - №4. - P.212-219.
8. Lebedev M.Ju., Krizhanova M.A., Vilkov S.A., Sholkina M.N., Vyasmina E.S., Baryshnikov A.J., Novikov V.V. Peripheral blood lymphocytes immunophenotype and serum concentration of soluble HLA class I in burn patients // Burns. - 2003. - Vol.29. - P.123-128.
9. Lebedev M.Ju., Novikova N.A., Novikov V.V. Apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients after a thermal trauma // International. J. Immunorehab. - 1999. - №14. - P.105-105.
10. Lebedev M.Ju., Ptitsina Ju.S., Vilkov S.A., Korablev S.B., Novikov V.V. Membrane and soluble forms of Fas (CD95) in peripheral blood lymphocytes and in serum from burn patients // Burns. - 2001. - Vol.27. - P.669-673.
11. Lebedev M.Y., Sholkina M.N., Utkina T.M., Vilkov S.A., Korablev S.B., Golubcova N.V., Baryshnikov A.Y., Novikov V.V. Immunophenotype of peripheral blood lymphocytes in burn patients // Rus. J. Immunol. - 2001. - Vol.6. - P.47-54.
12. Ljunghusen O., Berg S., Hed J., Lundahl J., Nettelblad H., Sjogren F., Stendahl O. Transient endotoxemia during burn wound revision causes leukocyte beta-2-integrin up-regulation and cytokine release // Inflammation. - 1995. - Vol.19. - №4. - P.457-468.
13. Law M.M., Cryer H.G., Abraham E. Elevated levels of soluble ICAM-1 correlate with the development of multiple organ failure in severely injured trauma patients // J. Trauma. - Vol.37, №1. - P.100-109.
14. Maldonado M.D., Venturoli A., Franco A., Nunez-Roldan A. Specific changes in peripheral blood lymphocyte phenotype from burn patients. Probable origin of the thermal injury-related lymphocytopenia // Burns. - 1991. - Vol.17. - №3. - P.188-192.
15. Skubitz K.M., Ahmed K., Campbell K.D., Skubitz A.P. CD50 (ICAM-3) is phosphorylated on tyrosine and is associated with tyrosine kinase activity in human neutrophils // J. Immunol. - 1995. - Vol.154. - P.2888-2895.

16. Voskuyl A.E., Martin S., Melchers L. Zwinderman A.H., Weichselbraun I., Breedveld F.C. Levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 and -3 but

not circulating endothelial leukocyte adhesion molecule are increased in patients with rheumatoid vasculitis // Br. J. Rheumatol. – 1995. – Vol.34. – №4. – P.311-315.

*поступила в редакцию 05.04.2006*

*принята к печати 07.06.2006*