**ОЦІНКА СТАДІЙ АПОПТОЗУ ЛІМФОЦИТІВ**

**У ДІТЕЙ СТАРШОГО ВІКУ З ГОСТРОЇ**

**І ХРОНІЧНОЇ ФОРМАМИ ПІЄЛОНЕФРИТУ**

Мішина М.М.1, Марченко І.А.1, Бабічук Л.О.3, Бабічук Г.А.3,

Макєєва Н.І.2, Мозгова Ю.А.1, Головачова В.О.2, Мішин Ю.М.2

Харківський національний медичний університет, Україна, Харків

1Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

ім. проф. Д.П. Гриньова

2Кафедра педіатрії №2

3 Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України

**Вступ**. Актуальність проблеми виникнення гострого та перебігу хронічного пієлонефритів у дітей старшого віку обумовлена його високою поширеністю, збільшенням випадків інапарантних форм перебігу захворювання, схильністю до рецидиву, рідкими випадками повного одужання. Тому успішне лікування і профілактика різних форм пієлонефриту неможливі без ретельного вивчення чинників, що сприяють формуванню і прогресуванню захворювання, одним з яких є стан апоптозу нейтрофілів.

**Мета дослідження.** Мета дослідження – провести аналіз стадій апоптозу нейтрофілів у дітей старшого віку з гострим та хронічним пієлонефритом.

**Матеріали і методи.** Оцінку стадій апоптозу клітин проводили за допомогою методу проточної цитофлюорометрії, з одночасним внесенням до зразку маркерів Annexin V FITC, CD45 PE і 7-AAD (7 аміноактиноміцин D). Для цього до 50 мкл цільної крові додавали 5 мкл Annexin V і по 10 мкл CD45 PE та 7-AAD, перемішували й інкубували протягом 15 хв за кімнатної температури в темряві. Зразки аналізували на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» («BD», США). Для мінімізації похибки в зразках аналізували 20000 CD45+ подій (CD45 позитивні клітини). Результати вимірювання оцінювали за допомогою програмного забезпечення «CELLQuest Pro» («BD»). Даний метод дозволяє ідентифікувати чотири різних стана клітин: 1 – живі клітини (AnnexinV-7AAD--клітини); 2 – клітини, що знаходяться на початковій стадії апоптозу (AnnexinV+7AAD--клітини); 3 – мертві клітини, які знаходяться на стадії пізнього апоптозу/некрозу (AnnexinV+7AAD+); 4 – мертві некротичні клітини (AnnexinV-7AAD+). Статистична обробка проводилась за допомогою програми «STATISTICA 9.0».

**Результати**. Досліджено розвиток апоптозу нейтрофілів у дітей (вікової категорії 8–18 років) хворих на гострий та хро нічний пієлонефрит, що знаходилися на лікуванні у КЗОЗ МКДЛ №16 м. Харкова, Україна. Захворювання на гостий та хронічний пієлонефрит були зумовлені *E. faecalis*, *E. coli*, *Proteus spp*., *K. pneumoniae* та їх асоціаціями.

Всі випадки захворювань були розподілені на 2 групи: до першої групи увійшли випадки, що були викликані монокультурою, до другої – змішаною культурою. Встановлено, що розподіл по групам не відповідав закону Гаусса.

Було проведено статистичний дисперсійний аналіз, який показав, що статистичні відмінності між показниками апоптозу нейтрофілів та мікроорганізмами, які викликали гостру та хронічну форми пієлонефриту (монокультура або змішана інфекція) значущі лише для 1 та 2 стадії апоптозу (F=9,78; p<0,05 для 1 стадії та F=12,72; p<0,05) та статистично не значущі для 3 та 4 стадії (F=1,41; p>0,05 для 3 стадії та F=2,10; p>0,05 для 4 стадії).

**Висновки**: в результаті проведеного дослідження встановлено, що показники 1 та 2 стадії апоптозу у пацієнтів з пієлонефритом, викликаним монокультурою, були нижчими, тобто живих клітин та тих, що знаходяться на початкових стадіях апоптозу було менше, ніж при пієлонефритах, викликаних змішаною інфекцією. Такої відповідності не спостерігалось у 3 та 4 (незворотніх) стадіях апоптозу. Дана відповідність потребує подальшого вивчення.