



Effect of early-onset infections on expression of CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L molecules on surface of neutrophils and monocytes from peripheral venous blood in preterm infants

Wpływ wczesnych zakażeń na ekspresję molekuł CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L na powierzchni neutrofilii i monocytów obwodowej krwi żyłnej u wcześniaków

Karmen Czernia-Pokrywka¹, Małgorzata Stojewska², Jacek Karpe³, Małgorzata Żurowska-Koba⁴, Alicja Nawrat⁵, Łukasz Sędek⁶, Urszula E. Godula-Stuglik⁵

¹Oddział Intensywnej Terapii dla Dzieci, Gliwickie Centrum Medyczne

²Katedra i Klinika Pediatrii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁴Oddział Neonatologiczny, Centrum Zdrowia Kobiety i Dziecka w Zabrze

⁵Katedra i Klinika Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁶Pracownia Immunologii Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 1 w Zabrze

ABSTRACT

INTRODUCTION: Cell adhesion molecules on neutrophils and monocytes play an important role in the immunity of newborns.

MATERIAL AND METHODS: Eighty-two premature infants (47 with early-onset infection and 35 without infection, 37 male and 45 female, 40 delivered vaginally and 42 by Caesarean section) between the 3rd and 7th day of life were assessed for the expression rate of CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L on granulocytes and monocytes using a Becton Dickinson FACS Canto II flow cytometer. Both groups were analysed for sex, body weight, gestational age, type of delivery and infection, and correlations between adhesion molecules were identified.

RESULTS: Preterm infants with infection had a significantly higher mean CD62L level than preterm infants without infection. There was also a positive correlation between gestational age and CD11b and CD11c, as well as correlations between CD11b and CD11c, CD11b and CD54, and CD11c and CD54. In preterm infants without infection, there was a significant correlation between body weight and CD11a level, and correlations between CD11a and CD18, as well as CD11a and CD54. The sex of the preterm infants and type of delivery in both groups had no significant effect on the mean levels of the analysed molecules. There was no significant relationship between the expression of the analysed molecules and the CRP concentration and platelet count in preterm infants with infection.

Received: 07.04.2016

Revised: 05.05.2016

Accepted: 17.05.2016

Published online: 09.06.2017

Address for correspondence: Prof. dr hab. n. med. Urszula Godula-Stuglik, Katedra i Klinika Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. 3 Maja 13/15, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 370 42 80, email: kitipzabrze@sum.edu.pl

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
www.annales.sum.edu.pl



CONCLUSIONS:

1. Early-onset infection in premature infants promotes increased expression of the CD62L molecule, which despite the lack of correlation with the CRP concentration and platelet count may prove useful in the diagnosis of infections.
2. CD11b expression in preterm infants with infections is affected by gestational age, while the expression of CD11a in preterm infants without infections is correlated with body weight.
3. Expression of the analysed molecules in premature neonates does not depend on sex or type of delivery.

KEY WORDS

preterm infant, early-onset infection, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54, CD62L

STRESZCZENIE

WSTĘP: Molekuły adhezji komórkowej na neutrofilach i monocytach odgrywają ważną rolę w odporności noworodków.

MATERIAŁ I METODY: U 82 wcześniaków (47 z zakażeniem wczesnym i 35 bez zakażeń; 37 płci męskiej i 45 żeńskiej; 40 urodzonych siłami natury i 42 cięciem cesarskim) między 3 a 7 dobą życia dokonano oceny odsetka ekspresji CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L na granulocytach i monocytach krwi cytometrem przepływowym Becton Dickinson FACS Canto II, z uwzględnieniem płci, masy ciała, wieku płodowego wcześniaków, typu porodu i zakażenia, oraz określono wzajemne korelacje między molekułami.

WYNIKI: U wcześniaków z zakażeniem stwierdzono istotne statystycznie zwiększenie średniego odsetka CD62L niż u wcześniaków bez zakażeń, dodatnie korelacje między wiekiem płodowym a CD11b i CD11c oraz wzajemne korelacje między CD11b i CD11c, CD11b i CD54 oraz CD11c i CD54. U wcześniaków bez zakażeń wykazano znamiennej zależność między masą ciała a CD11a oraz korelacje między CD11a i CD18 oraz CD11a i CD54. Płeć wcześniaków i typ porodu w obu grupach nie miały istotnego wpływu na średnie wartości badanych molekuł. Wykazano brak istotnych zależności między ekspresją badanych molekuł a stężeniem CRP i liczbą płytek krwi u chorych wcześniaków.

WNIOSKI:

1. Wczesne zakażenia u wcześniaków sprzyjają zwiększeniu ekspresji molekuły CD62L, co mimo braku korelacji ze stężeniem CRP i liczbą płytek krwi może dowodzić przydatności oznaczania tej molekuły w diagnostyce zakażeń.
2. Na wartość ekspresji CD11b u wcześniaków z zakażeniem wpływa wiek płodowy, a na CD11a masa ciała u wcześniaków bez zakażeń.
3. Ekspresja badanych molekuł u wcześniaków nie zależy od ich płci i typu porodu.

SŁOWA KLUCZOWE

wcześniak, wczesne zakażenie, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54, CD62L

INTRODUCTION

Infants born before 37 weeks of gestation account for about 6.1–7.7% of all children born in Poland. Every year, about 30,000 preterm babies are born in Poland, of which 14–16% require highly specialized diagnostics and treatment in intensive care units [1,2,3]. The rate of preterm births has not declined in recent years and is associated with many factors, including the increase in the number of Caesarean sections, mainly due to foetal developmental disorders, life-threatening intrauterine infections, and the increased rate of multiple pregnancies [2].

Premature infants are characterized by anatomical and functional immaturity of all organs and systems [4,5]. The major health problems, that are diagnosed in them

WSTĘP

Noworodki urodzone przed 37 tygodniem ciąży stanowią około 6,1–7,7% ogółu urodzonych dzieci w Polsce. Każdego roku rodzi się w Polsce przedwześnie około 30 tysięcy dzieci, z czego 14–16% wymaga wysokospecjalistycznej diagnostyki i leczenia na oddziałach intensywnej terapii [1,2,3]. Częstość porodów przedwczesnych w ostatnich latach nie maleje i jest związana z wieloma czynnikami, do których należą zwiększenie liczby cięć cesarskich, wykonywanych głównie z powodu zaburzeń rozwoju płodu, zagrażające zakażenia wewnątrzmaciczne oraz wzrost liczby ciąż mnogich [2].

Noworodek urodzony przedwześnie charakteryzuje się niedojrzałością anatomiczną i funkcjonalną wszy-



include respiratory disorders caused by respiratory distress syndrome, congenital pulmonary disease, apnoea of prematurity due to immaturity of the respiratory centre, early and late infections, gastrointestinal problems and cardiac disorders [6,7]. Immaturity of the cellular immune response (lymphocytes, macrophages, phagocytes) and decrease humoral response (IgA deficiency) mainly result from weak antigenic stimulation during foetal life and contribute to the increased rate of infections in this population of neonates [8,9]. The best known immunological characteristics of prematurity include: reduced chemotactic, phagocytic and bactericidal activity of leukocytes, decreased interaction of T and B lymphocytes and antibody synthesis, as well as the not fully explained role of complement system proteins, lysozyme, interferon α and interleukin and chemokines α and β [7,8]. Macrophages and granulocytes play a very important role in the anti-infectious response. They are involved in the non-specific (innate) response because alone they are unable to precisely detect antigens. However, these cells have certain receptors that can recognize selected microorganisms without the involvement of antibodies [8,9].

Mature neutrophils are formed in the bone marrow in about 5 days, then migrate to the bloodstream, and from there to peripheral tissues in 6–8 hours, where they live for another 1–2 days unless they are previously destroyed by phagocytic activity. There are two pools of neutrophils in peripheral blood – circulating and marginal, mainly in capillary vessels. The migration of neutrophils from the marginal to the circulating pool is stimulated by infection, glucocorticoids or adrenaline. This process takes place after birth and is reflected by leukocytosis reaching the level of up to 40 G/l [8,9]. In preterm infants, the reserve pool of granulocytes is smaller, and may be depleted faster than in full-term infants. The ability to accelerate the maturation of granulocytes is also reduced, which creates the risk of developing severe infections with poor prognosis [10,11,12,13]. It is believed, that in the early phase of inflammation, cytokine-induced leukocyte activation changes the expression of many adhesion molecules on the surface of granulocytes and monocytes. The best known adhesion molecules are CD11b, CD54, CD62L and CD64 [14,15,16]. Differences in assessment of the quantitative expression of adhesion molecules in healthy and infected neonates with varying degrees of gestational maturity have prompted us to carry out a study in a population of preterm infants. Since immaturity of the immune system is considered to be one of the reasons for the unsuccessful treatment of infections in preterm infants, the aim of this study was: 1) to assess the level of expression of CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD11 and CD62L adhesion molecules in infected and healthy preterm infants, including the rela-

stkich narządów i układów [4,5]. Wśród problemów zdrowotnych na pierwszy plan wysuwają się zaburzenia oddechowe, wynikające z rozwoju zespołu zaburzeń oddychania, wrodzonych zapaleń płuc, bezdechów spowodowanych niedojrzałością ośrodków oddechowych, zakażenia wczesne i późne oraz problemy kliniczne związane z przewodem pokarmowym i zaburzenia kardiologiczne [6,7]. Niedojrzałość immunologiczna obejmująca obronę komórkową (limfocyty, makrofagi, komórki żerne) i zmniejszenie obrony humoralnej (niedobór IgA) są przede wszystkim efektem niewielkiej stymulacji antygenowej w okresie życia płodowego i sprzyjają zwiększonej liczbie zakażeń w tej populacji noworodków [8,9]. Do najlepiej poznanych odrębności immunologicznych wcześniaków należą: zmniejszona aktywność chemotaktyczna, fagocytarna i bakteriobójcza leukocytów, obniżone współdziałanie limfocytów T i B oraz synteza przeciwciał, a także nie w pełni wyjaśniony udział białek układu dopełniacza, lizozymu, interferonu α oraz interleukin i chemokin α i β [7,8].

W odpowiedzi przeciwważnej bardzo ważną rolę spełniają makrofagi i granulocyty. Biorą udział w odpowiedzi nieswoistej (wrodzonej), ponieważ same nie mają zdolności precyzyjnego rozpoznawania antygenów. Posiadają pewne receptory, dzięki którym mogą rozpoznać niektóre mikroorganizmy bez udziału przeciwciał [8,9].

Dojrzałe granulocyty obojętnochłonne (neutrofile) powstają w szpiku w ciągu około 5 dni, następnie wędrują do krwi, skąd po 6–8 godzinach przechodzą do tkanek obwodowych, gdzie żyją jeszcze 1–2 dni, jeśli nie ulegną wcześniej destrukcji na skutek przejawiania aktywności fagocytarnej. W krwi obwodowej występują dwie pule neutrofilów – krążąca i brzeżna – głównie w naczyniach włosowatych. Pod wpływem zakażenia, glikokortykoidów lub adrenaliny neutrofile z puli brzeżnej przechodzą do krążącej. Tak dzieje się po urodzeniu, co odzwierciedla leukocytoza osiągająca wartości do 40 G/l [8,9]. U wcześniaków pula rezerwowa granulocytów jest mniejsza i może ulec szybszemu wyczerpaniu niż u noworodków donoszonych. Obniżona jest również zdolność przyspieszenia dojrzewania granulocytów w szpiku, co wiąże się z ryzykiem rozwoju zakażeń o ciężkim przebiegu i niepomyślnym rokowaniu [10,11,12,13]. Uważa się, że we wczesnej fazie zapalenia następuje aktywacja leukocytów indukowana cytokinami, co powoduje zmiany ekspresji wielu molekuł adhezyjnych na powierzchni granulocytów i monocytów. Do najlepiej poznanych należą CD11b, CD54, CD62L i CD64 [14,15,16]. Rozbieżności w ocenie ilościowej ekspresji molekuł adhezyjnych u zdrowych i chorych noworodków o różnym stopniu dojrzałości płodowej, skłoniły nas do przeprowadzenia badań własnych u wcześniaków. Upatrując w niedojrzałości układu immunologicznego jednej z przyczyn niepowodzeń leczni-



tionship between birth weight, gestational age of the newborn, type of delivery, and the value of the analysed immune parameters; 2) to identify correlations between the adhesion molecules; 3) to determine the correlation between the expression of the adhesion molecules and the C-reactive protein (CRP) concentration and platelet count in preterm infants.

MATERIAL AND METHODS

Eighty-two preterm infants born between 28 and 36 weeks of gestation, aged 3 to 7 days, were divided into two groups:

- group 1 (study) – 47 preterm infants with early-onset infection
- group 2 (control) – 35 preterm infants without clinical or laboratory signs of early infection, born in generally good state, without adaptive disorders or hyperbilirubinemia. The basic clinical data on the infants enrolled in the study are presented in Table 1.

All preterm infants with infection were treated at the Department of Intensive Care and Neonatal Pathology in Zabrze in 2008–2014. Eight of them were born between the gestational age of 28–32 weeks, including four at week 28–29. The number of extremely premature babies was too low to create a separate group for statistical analysis. All the patients had perinatal risk factors for intrauterine infection: 18 mothers had urinary tract infection, 15 had respiratory tract infection with fever in the last week before childbirth, 8 had vaginal infection with local clinical symptoms (5 of them were infected with streptococcus group B and 3 with *Candida albicans*). Premature rupture of membranes (PROM) > 18 hours was diagnosed in 16 mothers (including 10 uninfected cases).

Preterm infants from the control group were born at the Department of Obstetrics and Gynaecology in Gliwice (12 by elective Caesarean section and 23 by vaginal delivery). Caesarean section was recommended due to ophthalmic problems in the mother (6 cases), significant obesity (5), and transverse position of the foetus in a mother with uterine abnormalities (1 case). The most frequent early infection included pneumonia (21; 45%), coexisting with purulent meningitis (4 cases), and sepsis (20; 42%). Other cases of infection (6; 13%) concerned urinary tract (4), omphalitis (1) and generalized purulent (staphylococcal) dermatitis (1). *Staphylococcus epidermidis* (14), *Staphylococcus agalactiae* (2), *Staphylococcus haemolyticus* (2) and *Klebsiella pneumoniae* (2) were isolated from the newborns with sepsis. The preterm newborns had elevated CRP concentrations > 5 mg/L (26; 55%), metabolic acidosis (14; 30%), thrombocytopenia (14; 30%), increased procalcitonin concentrations > 0.5 pg/L (12;

czych zakażeń u wcześniaków, podjęto badania mające na celu: 1) ocenę odsetka ekspresji molekuł adhezyjnych CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L u chorych i zdrowych wcześniaków, z ustaleniem zależności między płcią, urodzeniową masą ciała, wiekiem płodowym noworodka i rodzajem porodu a wartością badanych parametrów immunologicznych; 2) określenie wzajemnych korelacji między molekułami adhezyjnymi; 3) określenie korelacji między ekspresją badanych molekuł a stężeniem białka C-reaktywnego (CRP) i liczbą płytek u chorych wcześniaków.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 82 wcześniaki urodzone między 28 a 36 tygodniem ciąży, w wieku od 3 do 7 doby życia, które podzielono na dwie grupy:

- I grupa (badana) – 47 wcześniaków z wczesnym zakażeniem,
- II grupa (kontrolna) – 35 wcześniaków bez cech klinicznych i laboratoryjnych zakażenia wczesnego, urodzonych w dobrym stanie ogólnym, bez zaburzeń adaptacji i hiperbilirubinemii.

Ich podstawowe dane kliniczne przedstawiono w tabeli I.

Wszystkie chore wcześniaki były leczone w Klinice Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka w Zabrze w latach 2008–2014. Wśród nich 8 urodziło się między 28 a 32 tygodniem trwania ciąży, w tym czworo w 28–29 tygodniu. Zbyt mała liczebność skrajnych wcześniaków była powodem niewyodrębniania ich jako osobnej grupy do analizy statystycznej. U wszystkich stwierdzono perinatalne czynniki ryzyka zakażenia wewnątrzmacicznego: u 18 matek zakażenie układu moczowego, u 15 zakażenie dróg oddechowych z gorączką w ostatnim tygodniu przed porodem, u 8 zakażenie dróg rodnych z miejscowymi objawami klinicznymi (w tym u 5 stwierdzono obecność paciorkowca z grupy B i u 3 *Candida albicans*). W 16 przypadkach wykazano przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego (PROM) > 18 godzin (w tym 10 przypadków bez wymienionych infekcji u matek).

Wcześniaki z grupy kontrolnej urodziły się na Oddziale Położniczym w Gliwicach, w tym 12 planowym cięciem cesarskim i 23 drogami oraz siłami natury. Wskazaniami do cięcia cesarskiego były zalecenia okulistyczne u matki (6 przypadków), znaczna otyłość (5) oraz położenie poprzeczne płodu u matki z wadą macy (1 przypadek).

Wśród zakażeń wczesnych dominowały zapalenie płuc – 21(45%) przypadków, w tym 4 współistniały z ropnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, oraz posocznica – 20 (42%) przypadków. Pozostałe 6 (13%) zakażeń to: zakażenia układu moczowego (4),



26%) and leucopenia (4.0 G/l, 2; 4%). In addition, the newborns with infections were diagnosed with non-infectious diseases: perinatal hypoxia (19; 40%), intracranial haemorrhage (10; 21%), and respiratory distress syndrome (5; 11%). All the infected newborns were treated with standard combined antibiotic therapy. Other treatments included complete parenteral nutrition (39; 83%), phototherapy (22; 47%), mechanical ventilation (20; 43%) and catecholamines (16; 34%).

The study excluded full-term newborns with abnormal foetal body weight (< 10 or > 90 percentile), haemolytic disease, born to mothers with haematopoietic disease or treated with immunosuppressants during pregnancy, preterm newborns who received packed red blood cells and/or blood-derived products prior to immunological tests, and those whose parents/guardians did not give consent to inclusion in the study.

pęпка (1) i uogólnione ropne (gronkowcowe) zapalenie skóry (1). U noworodków z posoczną wyizolowano z krwi: *Staphylococcus epidermidis* (14), *Staphylococcus agalactiae* (2), *Staphylococcus haemolyticus* (2) i *Klebsiella pneumoniae* (2). Wzrost stężenia CRP > 5 mg/L stwierdzono u 26 (55%) wcześniaków, kwasicy metaboliczną u 14 (30%), małopłytkowość u 14 (30%), wzrost stężenia prokalcytoniny > 0,5 pg/L u 12 (26%) i leukopenię (< 4,0 G/l) u 2 (4%). Ponadto u niemowląt z zakażeniem rozpoznano następujące choroby nieinfekcyjne: niedotlenienie okołoporodowe u 19 (40%), krwawienie śródczaszkowe u 10 (21%) i zespół zaburzeń oddychania u 5 (11%). U wszystkich chorych wcześniaków stosowano standardową skojarzoną antybiotykoterapię, 39 (83) wymagało całkowitego żywienia pozajelitowego, 22 (47%) fototerapii, 20 (43%) mechanicznej wentylacji i 16 (34%) podaży amin katecholowych (34%).

Table I. Characteristics of experimental and control groups
Tabela I. Charakterystyka grup badanej i porównawczej

Group/Grupa	Sex/Płeć		Birth weight (kg) Urodzeniowa masa ciała (kg)	Gestational age (weeks) Wiek płodowy (tygodnie)	Type of delivery/Rodzaj porodu		Apgar score/Apgar (pkt)		
	M	F	mean SD ± range/ średnia SD± zakres	mean SD ± range/ średnia SD± zakres	VD (vaginal delivery)/ SN (siłami natury)	CC (caesarean section)/ CC (cesarskie cięcie)	≤ 6	> 6	
I study/ I badana n = 47	n	24	1.943 ± 0.518	32.68 ± 2.76	n	17	30	19	28
	%	51	1.07–2.91	28–36	%	36	64	40	60
II control/ II kontrolna n = 35	n	13	2.36 ± 0.434	35.09 ± 1.04	n	23	12	–	35
			1.79–3.27	32–36					

Determining expression of cell adhesion molecules on surface of granulocytes and monocytes in peripheral blood

The expression of adhesion molecules CD11a (LFA-1 α), CD11b (Leu-15), CD11c (Leu-M5), CD18 (LFA-1 β), CD54 and CD62L was assessed in a single test using a Becton Dickinson FACS Canto II flow cytometer and FACS Diva software (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Peripheral venous blood (1 ml samples) was incubated with a mixture of monoclonal antibodies against adhesion molecules conjugated with one of the fluorochromes (fluorescein isothiocyanate, phycoerythrin, phycoerythrin cyanide 5 or 7, or allophycocyanin). After incubation, red blood cells were lysed with BD FACS Lysing Solution. Cell morphology and fluorescence analysis were performed using Cell Quest computer software. The test results were expressed in percent. The tests were carried out by the same laboratory technician at the Immunology Laboratory, University Hospital no. 1 in

Z badań wyłączono noworodki urodzone o czasie, z nieprawidłową w stosunku do wieku płodowego masą ciała (< 10 lub > 90 centyla), z chorobą hemolityczną, urodzone przez matki z chorobą układu krwiotwórczego lub leczone w ciąży preparatami immunostymulującymi, wcześniaki, które otrzymały koncentraty krwinek czerwonych i/lub preparaty krwiopochodne przed wykonaniem badań immunologicznych, a także te, których rodzice/opiekunowie nie wyrazili zgody na przeprowadzenie badań.

Oznaczanie ekspresji molekuł adhezji komórkowej na powierzchni granulocytów i monocytów krwi obwodowej

Oceny ekspresji molekuł adhezyjnych CD11a (LFA-1 α), CD11b (Leu-15), CD11c (Leu-M5), CD18 (LFA-1 β), CD54 i CD62L dokonano jednorazowo, używając cytometru przepływowego firmy Becton Dickinson FACS Canto II z oprogramowaniem FACS Diva (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Próbk



Zabrze. The study was approved by the Bioethics Committee of the Silesian Medical University in Katowice (ref. no. L.dz. NN-6501-176/07).

The study protocol included: a) a retrospective collection of clinical data from medical records kept in hospital departments; b) gestational age assessment using a modified Ballard score, taking into account individual morphological features of the preterm newborn and functional neuromuscular maturity [5,17]; c) diagnosis of infectious and non-infectious diseases based on known criteria [5,7].

Statistical analysis

Clinical data and the results of the immunological tests were processed using a licensed version of Statistica 6.0 software. The Kolmogorov-Smirnov test ($p > 0.1$) was used to analyse the normality of data distribution. The Mann-Whitney U test was also employed. Spearman's linear correlation between the expression of adhesion molecules and body weight and gestational age, and correlations between the expression of adhesion molecules in both groups of preterm infants, as well as between the CRP concentrations and platelet count and the values of the investigated molecules in preterm infants with infection were analysed. In all the analyses the level of statistical significance was adopted at $p < 0.05$.

RESULTS

The mean counts of leukocytes, lymphocytes, monocytes and neutrophils in the study and control groups are presented in Table II. The mean ratios, standard deviations, and ranges of CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L expression in both groups, as well as the results of statistical analysis are provided in Table III. The mean expression of CD62L in preterm infants with infection was significantly higher than in preterm infants without infection. The sex of the premature infants and type of delivery in both groups had no significant effect on the mean ratios of the analysed molecules. There was no significant difference ($p > 0.05$) between the mean values of the investigated molecules in the preterm infants with local infection compared to the preterm infants with sepsis. There was a significant positive correlation between the birth weight of the preterm infants without infection and the expression of the CD11a adhesion molecule (Fig. 1). No similar correlation was found for other analysed molecules. The study revealed a positive significant correlation between the gestational age of the preterm infants with infection and the expression of CD11b and CD11c molecules (Fig. 2, Fig. 3). There was no significant relationship

1 ml obwodowej krwi żyłnej inkubowano z mieszaną przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko molekułom adhezyjnym, sprzężonych z jednym z fluorochromów (izotiocyanian fluoresceiny, fikoerytryna, fikoerytryna – cyjanina 5 lub 7, allofikocyjanina). Po inkubacji dokonano lizy erytrocytów roztworem BD FACS Lysing Solution. Analizę parametrów morfologicznych i fluorescencji komórek przeprowadzono za pomocą programu komputerowego Cell Quest. Wyniki badań podano w procentach. Badania wykonywała ta sama osoba w Pracowni Immunologii SP Szpitala Klinicznego nr 1 w Zabrzu. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej SUM w Katowicach (L.dz. NN-6501-176/07). Metody badań klinicznych obejmowały: a) retrospektywne zebranie danych klinicznych z dokumentacji medycznej oddziałów; b) ocenę stopnia dojrzałości płodowej noworodków na podstawie punktowej skali Ballarda, jej wersję zmodyfikowaną, uwzględniającą punktową ocenę poszczególnych cech morfologicznych wcześniaka oraz czynnościową dojrzałość nerwowo-mięśniową [5,17]; c) rozpoznanie zakażeń i chorób nieinfekcyjnych na podstawie znanych kryteriów [5,7].

Analiza statystyczna

Dane kliniczne i wyniki badań immunologicznych zostały opracowane za pomocą licencjonowanej wersji programu Statistica 6.0. Testem Kołmogorowa-Smirnowa ($p > 0,1$) stwierdzono, że rozkład danych różnił się od rozkładu normalnego. Zastosowano test nieparametryczny U-Manna-Whitneya. Dokonano analizy korelacji liniowej Spearmana między wartościami ekspresji molekuł adhezyjnych a masą ciała i wiekiem płodowym oraz wzajemnych korelacji między ekspresjami badanych molekuł adhezyjnych w obu grupach wcześniaków, a także między CRP i liczbą płytek krwi a wartościami badanych molekuł u chorych wcześniaków. Dla wszystkich obliczeń przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0,05$.

WYNIKI

W tabeli II przedstawiono porównanie średnich wartości liczbowych leukocytów, limfocytów, monocytów i granulocytów obojętnochłonnych między grupami badaną i kontrolną. W tabeli III zestawiono średnie wartości odsetkowe, odchylenia standardowe i zakresy wartości ekspresji CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L w obu grupach wraz z wynikiem analizy statystycznej. U wcześniaków z zakażeniem stwierdzono istotne statystycznie zwiększenie średniego odsetka ekspresji CD62L w porównaniu ze średnią wartością tego parametru w grupie bez zaka-



Table II. Mean counts of leukocytes, lymphocytes, monocytes and neutrophils in study and control groups
Tabela II. Porównanie średnich wartości leukocytów, limfocytów, monocytów i granulocytów obojętnochłonnych między grupami badaną i kontrolną

	Study group/Grupa badana N = 47			Control group/Grupa kontrolna N = 35			P
	mean/średnia	range/zakres	SD ±	mean/średnia	range/zakres	SD ±	
Leukocytes/Leukocyty (G/L)	15.54	3.2–41.0	8.27	1.87	7.3–18.9	2.75	0.057
Lymphocytes/Limfocyty (G/L)	5.02	0.67–15.54	2.91	3.86	2.23–6.81	1.24	0.13
Monocytes/Monocyty (G/L)	1.43	0.11–4.95	1.049	1.27	0.36–2.63	0.66	0.881
Neutrophils/Granulocyty obojętnochłonne (G/L)	6.41	1.43–27.31	5.271	5.54	2.22–12.22	2.58	0.656

Table III. Mean expression levels of adhesion molecules CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L in study and control groups

Tabela III. Porównanie średnich wartości odsetkowych ekspresji molekuł adhezji komórkowej CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L między grupami badaną a kontrolną

Molecule /Rodzaj molekuly	Study group/Grupa badana N = 47			Control group/Grupa kontrolna N = 35			P
	mean/średnia	SD ±	range/zakres	mean/średnia	SD ±	range/zakres	
CD11a	95.60	10.45	48.30–100	95.57	5.51	85.2–99.9	0.417
CD11b	97.31	4.30	78.40–99.9	96.77	3.85	82.8–99.9	0.563
CD11c	91.77	9.80	42.30–99.1	92.93	14.90	84.4–99.5	0.672
CD18	98.92	2.26	88.90–100	99.48	1.40	91.8–100	0.098
CD54	81.97	13.22	46.50–99.8	84.24	14.39	41.8–97.6	0.462
CD62L	92.88	10.81	43.60–99.6	89.23	6.40	71.6–99.3	0.001

CD62L	0.105	0.585	0.038	0.794
--------------	-------	-------	-------	-------

(Fig. 2, Fig. 3). There was no significant relationship between the expression of the analysed adhesion molecules and the CRP level and platelet count in the preterm infants with infection (Tab. III). The correlations between the analysed adhesive molecules in the experimental and control groups are presented in Tables IV and V.

Table IV. Correlations between expression of adhesion molecules CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L and platelet count and C-reactive protein (CRP) concentration in study group

Tabela IV. Analiza korelacji między ekspresją molekuł adhezji komórkowej CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L a liczbą płytek krwi i stężeniem białka C-reaktywnego w grupie badanej

Molecule/ Rodzaj molekuly	Platelets/Płytki krwi		CRP	
	r	p	r	p
CD11a	0.090	0.559	0.034	0.835
CD11b	-0.026	0.864	0.001	0.992
CD11c	0.269	0.077	0.060	0.715
CD18	0.215	0.161	0.080	0.626
CD54	-0.235	0.125	0.022	0.897

zeń. Płeć wcześniaków i typ porodu w obu grupach nie miały istotnego wpływu na średnie wartości odsetkowe badanych molekuł. Stwierdzono również brak istotnych statystycznie różnic ($p > 0,05$) między średnimi odsetkami ekspresji badanych molekuł u chorych wcześniaków z zakażeniem miejscowym a średnimi wartościami u wcześniaków z posocznicią. Wykazano istotną statystycznie dodatnią korelację między urodzeniową masą ciała wcześniaków bez zakażeń a odsetkiem ekspresji molekuły CD11a (ryc. 1). Takich zależności nie stwierdzono w zakresie pozostałych molekuł. Zaobserwowano istotne dodatnie korelacje między wiekiem płodowym chorego wcześniaka a ekspresją molekuł CD11b i CD11c (ryc. 2, ryc. 3). Wykazano brak istotnych statystycznie zależności między odsetkami badanych molekuł adhezyjnych a stężeniem CRP i liczbą płytek krwi u chorych wcześniaków (tab. III). W tabelach IV i V przedstawiono analizę wzajemnych korelacji między badanymi molekułami adhezyjnymi w grupach badanej i kontrolnej.



Table V. Correlations between analysed adhesion molecules CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L in study group
Tabela V. Analiza wzajemnych korelacji między badanymi molekułami adhezji komórkowej CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L w grupie badanej

Molecule/ Rodzaj molekuły	CD11a		CD11b		CD11c		CD18		CD54		CD62L	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CD11a			0.108	0.484	0.243	0.112	0.234	0.125	0.156	0.309	0.022	0.883
CD11b	0.108	0.484			0.642	0.001	-0.044	0.773	0.407	0.008	-0.015	0.922
CD11c	0.243	0.112	0.642	0.001			0.187	0.223	0.423	0.005	-0.080	0.602
CD18	0.234	0.125	-0.044	0.773	0.185	0.223			0.266	0.081	0.038	0.805
CD54	0.156	0.309	0.407	0.008	0.423	0.005	-0.266	0.081			-0.171	0.267
CD62L	0.022	0.883	-0.015	0.922	-0.081	0.602	0.038	0.805	-0.171	0.267		

Table VI. Correlations between analysed adhesion molecules CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L in control group
Tabela VI. Analiza wzajemnych korelacji między badanymi molekułami adhezji komórkowej CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L w grupie kontrolnej

Molecule/ Rodzaj molekuły	CD11a		CD11b		CD11c		CD18		CD54		CD62L	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CD11a			-0.078	0.0654	-0.078	0.655	0.520	0.001	-0.408	0.015	0.012	0.943
CD11b	-0.078	0.654			-0.076	0.663	-0.102	0.557	-0.237	0.169	0.129	0.457
CD11c	-0.078	0.655	-0.076	0.663			0.019	0.912	0.169	0.304	0.061	0.724
CD18	0.520	0.001	-0.102	0.557	0.019	0.912			-0.224	0.195	0.089	0.608
CD54	-0.408	0.015	-0.237	0.169	0.304	0.076	-0.224	0.195			-0.063	0.716
CD62L	0.012	0.943	0.129	0.457	0.061	0.724	0.089	0.608	-0.063	0.195		

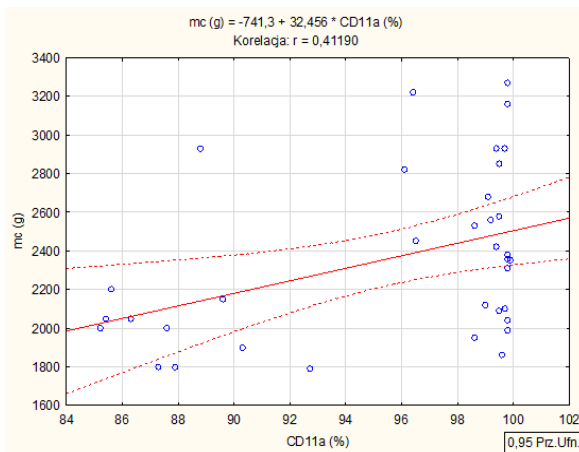


Fig. 1. Correlation between expression of CD11a molecules and birth weight of preterm infants without infection ($r = 0.411$; $p = 0.014$).
Ryc. 1. Korelacja między wartościami odsetkowymi ekspresji molekuł CD11a a urodzeniową masą ciała zdrowych noworodków urodzonych przedwcześnie ($r = 0,411$; $p = 0,014$).

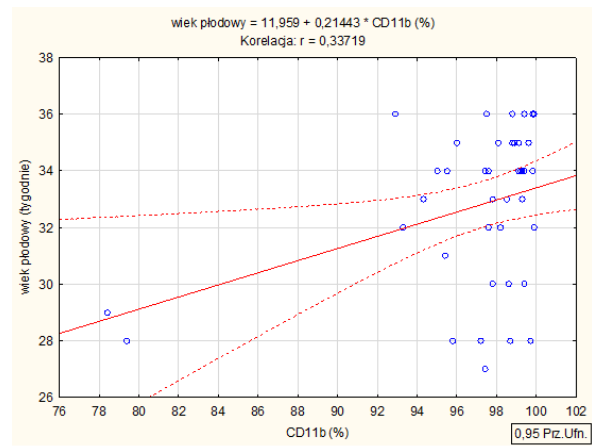


Fig. 2. Correlation between expression of CD11b molecules and gestational age of preterm infants with infection ($r = 0.337$; $p = 0.025$).
Ryc. 2. Korelacja między wartościami odsetkowymi ekspresji molekuł CD11b a wiekiem płodowym chorego noworodka urodzonego przedwcześnie ($r = 0,337$; $p = 0,025$).

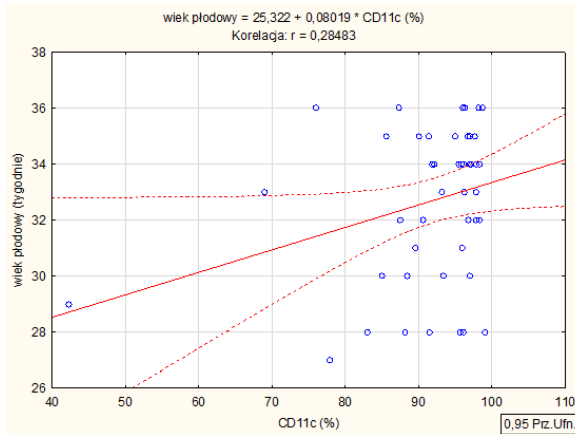


Fig. 3. Correlation between expression of CD11c molecules and gestational age of preterm infants with infection ($r = 0.284$; $p = 0.045$).

Ryc. 3 Korelacja między wartościami odsetkowymi ekspresji molekuł CD11c a wiekiem płodowym chorego noworodka urodzonego przedwcześnie ($r = 0,284$; $p = 0,045$).

DISCUSSION

Premature infants are exposed to environments containing many different microorganisms. They can penetrate the infant's body and cause severe infections and even death. Preterm newborns have an immature and poorly specialised immune system that may not detect, mainly because of incompetent cell receptors, foreign antigens on the surface of bacteria, viruses and fungi, and thus does not effectively protect against infectious agents [4,5,8]. Neutrophils account for the largest fraction of blood leukocytes and play an important role in the immune response to foreign antigens. They migrate to inflamed tissues, and there through phagocytosis destroy microorganisms by synergistic interaction with antibodies and proteins of the complement system. Leukocyte migration is a complex process that depends on the population of cells with adhesion molecules [8,9,11]. According to many researchers, CD11b and CD64 adhesion molecules, due to their involvement in many immunological mechanisms, have a special role in the adaptation of the newborn to altered living conditions and the onset of infection-related complications [18,19,20,21]. These molecules are considered to be immunological markers of infection in neonates with a high diagnostic specificity [19,22,23,24]. Some studies emphasise the correlation between the expression of these molecules and the CRP concentrations [23]. Our study did not demonstrate such correlations between any of the analysed molecules and the CRP concentrations and platelet counts, which are standard diagnostic markers of early infections in neonates. Ng et al. suggest that CD64 expression quantification is a very sensitive but moderately specific diagnostic marker for early and late infections in neonates, including premature in-

DYSKUSJA

Środowisko, w którym żyje wcześniak, zawiera wiele różnorodnych drobnoustrojów. Mogą one wnikać do organizmu dziecka i wywołać zakażenie o ciężkim przebiegu, a nawet doprowadzić do śmierci dziecka. Noworodki posiadają niedojrzały i mało zróżnicowany układ immunologiczny, który może nie rozpoznawać, głównie poprzez receptory komórek immunologicznie kompetentnych, obcych antygenów na powierzchni bakterii, wirusów oraz grzybów, i tym samym nie pozwalać na skuteczne zwalczanie czynników infekcyjnych [4,5,8]. Szczególną rolę odgrywają neutrofile, stanowiące większość leukocytów krwi, które w odpowiedzi na obcy antygen wędrują do tkanek objętych zapaleniem i tam drogą fagocytozy niszczą drobnoustroje, działając synergistycznie z przeciwciałami i białkami układu dopełniacza. Migracja leukocytów jest procesem złożonym, zależnym od populacji komórek wyposażonych w molekuly adhezyjne [8,9,11]. Zdaniem wielu badaczy molekuly adhezyjne CD11b i CD64, z powodu udziału w wielu mechanizmach immunologicznych, zajmują szczególne miejsce w procesach adaptacyjnych noworodka do zmienionych warunków życia i wystąpienia powikłań zakaźnych [18,19,20,21]. Uważane są za immunologiczny marker zakażeń u noworodków o wysokiej diagnostycznej specyficzności [19,22,23,24]. Podkreśla się współzależność między nimi a stężeniem CRP [23]. W badaniach własnych nie wykazano takich zależności między żadną z badanych molekuł a stężeniem CRP i liczbą płytek krwi – jako tradycyjnych laboratoryjnych wczesnych markerów zakażeń u noworodków. Ng i wsp. uważają, że ilościowy pomiar ekspresji CD64 jest bardzo czułym, ale umiarkowanie specyficznym markerem diagnostycznym wczesnych i późnych zakażeń u noworodków, w tym u wcześniaków [18]. W badaniach własnych u chorych wcześniaków nie wykazano takiej zależności, stwierdzono natomiast, niezależnie od rodzaju zakażenia, istotny wzrost odsetka ekspresji CD62L. Już w 1994 r. Bühner i wsp. wykryli, że ekspresja tej L-selektyny na powierzchni neutrofilii i monocytów krwi pępowinowej ulega zmniejszeniu u noworodków z zakażeniem bakteryjnym i nie zależy ani od wcześniactwa, ani urodzeniowej masy ciała [25]. Potwierdzono to również w niniejszych badaniach w krwi obwodowej. Bühner i wsp. poczynili dodatkową interesującą obserwację, że cięcia cesarskie wykonane z nagłych wskazań, w porównaniu z planowym oraz z porodem drogami i siłami natury, sprzyja zwiększeniu ekspresji CD62L na powierzchni tylko monocytów krwi pępowinowej, nie wpływając na granulocytarne CD62L [25]. Rebeck i wsp. udowodnili, że ekspresja CD62L u noworodków donoszonych jest niższa niż u osób dorosłych, niezależnie od zastosowanej stymulacji „in vitro” czyn-



fants [18]. The present study on preterm infants with infections did not reveal such a correlation, but there was a significant increase in the expression of CD62L, regardless of the type of infection. As early as in 1994 Bühner et al. reported that the expression of this L-selectin on the surface of neutrophils and umbilical cord blood monocytes is reduced in neonates with bacterial infection, and does not depend either on prematurity or birth weight [25]. These findings were also confirmed in our analyses of peripheral blood samples. Bühner et al. made an additional interesting observation that

Caesarean section due to emergency indications, compared to elective Caesarean and vaginal delivery, enhances CD62L expression on the surface of umbilical cord blood monocytes without affecting CD62L on granulocytes [25]. Rebeck et al. demonstrated that CD62L expression in full-term neonates is lower than in adults, regardless of in vitro stimulation with a chemotactic agent, i.e. formyl methionyl leucinephenylalanine (fMLP) [26]. However, in preterm infants after stimulation, the expression is increased in comparison to full-term infants. On the other hand, Török et al. found that CD62L molecule expression on the surface of neutrophils is lower than in adults, but decreases significantly even after minor stimulation, and on the surface of monocytes it is the same as in adults [27]. Török et al. also demonstrated that the mode of delivery has no effect on the level of this molecule in neonates, which was also confirmed in the present study in both healthy and infected premature infants. Other researchers did not report any significant changes in the expression of CD62L, CD11b, and CD64 in infected neonates [28]. Melvan et al. emphasized that the quantitative and qualitative immaturity of granulocytes is a special factor contributing to the onset of disease in full-term infants and preterm infants at risk of bacterial infection [29]. They believe that new therapeutic approaches to enhancing neonatal immunity are needed to achieve better treatment outcomes. Recent studies on the expression of adhesion molecules in full-term neonates have shown that early infection causes significant quantitative changes in CD11b and CD54 expression [16,28], while the expression of CD11a, CD11b, CD18, CD54 and CD62L does not depend on the sex or gestational age of the preterm infant. In contrast to that, Mc Evoy et al. reported that in an experimental study the expression of CD11a and CD11b was strongly correlated with the gestational age of a healthy newborn [30]. In addition, these authors demonstrated impaired CD11b migration after chemotactic stimulation, and attributed this to the abnormal expression of this molecule. They also demonstrated that preterm infants born before 35 weeks of gestation have significant deficiencies in CD11a expression. In contrast, CD11b expression in neonates born before the gestational age of 30 weeks

nikiem chemotaktycznym, jakim była formylometionilo-leucyno-fenyloalanina (fMLP) [26]. Natomiast u wcześniaków po stymulacji zwiększa się jej ekspresja w porównaniu z noworodkami donoszonymi. Natomiast Török i wsp. stwierdzili, że ekspresja tej molekuly na powierzchni neutrofilii jest wprawdzie mniejsza niż u osób dorosłych, ale maleje istotnie pod wpływem nawet niewielkiej stymulacji, a na powierzchni monocytów jest taka sama, jak u dorosłych [27]. Autorzy ci udowodnili również, że sposób porodu nie miał wpływu na wartość tej molekuly u noworodków, co również potwierdzono w niniejszych badaniach, zarówno u zdrowych, jak i chorych wcześniaków. Inni badacze nie zaobserwowali u chorych noworodków istotnych zmian w ekspresji zarówno CD62L, CD11b, jak i CD64 [28]. Melvan i wsp. podkreślają, że u noworodków donoszonych i wcześniaków zagrożonych zakażeniem bakteryjnym szczególnym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi choroby jest ilościowa i jakościowa niedojrzałość granulocytów [29]. Uważają, że koniecznym warunkiem uzyskania lepszych wyników leczenia jest rozwój nowych kierunków terapii wspomagającej odporność noworodka. Przeprowadzone dotychczas badania ekspresji molekuł adhezyjnych u noworodków donoszonych wykazały, że wczesne zakażenia powodują istotne zmiany ilościowe ekspresji CD11b i CD54 [16,28], a ekspresje CD11a, CD11b, CD18, CD54 i CD62L nie zależą od płci i wieku płodowego wcześniaka. Odmiennej obserwacji dokonali Mc Evoy i wsp., którzy w badaniach eksperymentalnych udokumentowali, że ekspresje CD11a i CD11b zależą ściśle od wieku płodowego zdrowego noworodka [30]. Ponadto autorzy ci wykazali zmniejszoną możliwość migracji CD11b po stymulacji chemotaktycznej, co tłumaczą nieprawidłową ekspresją tej molekuly. Udowodnili również, że u wcześniaków urodzonych przed 35 tygodniem trwania ciąży występują znaczne niedobory ekspresji CD11a. Natomiast ekspresja CD11b u noworodków z ciąż trwających krócej niż 30 tygodni przypomina genetycznie uwarunkowany deficyt integrzyn CD18 lub niedobór adhezji typu 1 leukocytów, co świadczy o ciężkości deficytów obrony u bardzo niedojrzałych wcześniaków. Zięba i wsp. w badaniach nad ekspresją CD11b, wykonanych w pierwszych 48 godzinach życia u wcześniaków z podejrzeniem zakażenia i urodzonych między 26 a 32 tygodniem trwania ciąży, nie stwierdzili istotnych zmian, mimo wzrostu wartości innych wskaźników infekcyjnych [31]. W polskich badaniach u noworodków donoszonych wykazano istotne zmniejszenie ekspresji CD11b [16], natomiast według Genel i wsp. w zakażeniach następuje wzrost ekspresji CD11b [28].

W badaniach własnych wykazano, że wartość ekspresji CD11a ściśle dodatnio koreluje z urodzeniową masą ciała zdrowych wcześniaków, co może pośrednio dowodzić, mimo braku związku z wiekiem płodowym,



resembles a genetically determined deficiency of CD18 integrins or type 1 leukocyte deficiency, which is evidence of the severity of immune deficits in very premature infants. Zięba et al. investigated the expression of CD11b in the first 48 hours of life in preterm infants with suspected infection and those born between 26 and 32 weeks of gestation and found no significant changes despite an increase in other infection markers [31]. Polish studies demonstrated a significant decrease in CD11b expression in full-term infants [16], but Genel et al. reported increased CD11b expression in infants with infection [28].

Our study revealed that CD11a expression correlates strongly with the birth weight of healthy preterm infants, which may indirectly suggest that despite the lack of a relationship with gestational age, immunity improves with the age of the child. This theory is additionally supported by correlations between the expression of CD11a and CD18, and CD11a and CD54. The CD18 adhesion molecule from the β -integrin leukocyte receptor family, which binds to the intercellular adhesion molecule present on cells of various tissues, including the endothelium, is particularly interesting. The CD18 molecule is found on almost all peripheral blood leukocytes. It is involved in immune response processes such as lymphocyte adhesion and proliferation, and in reactions involving NK cells and cytotoxic T lymphocytes [14,24]. Our study revealed a positive correlation between CD11a and CD54 expression in healthy preterm infants, which is an interesting observation because the CD54 molecule is not only a ligand for CD11a [14], but it is also found on the surface of neutrophils, monocytes, T cells, B cells, NK cells and platelets.

The present study did not show any differences in the mean expression levels of any of the analysed adhesion molecules in preterm infants delivered by vaginal birth compared to infants delivered by Caesarean section. The lack of a relationship between the level of CD62L and type of delivery was also reported by Török et al. [27]. Other authors, however, emphasizing the lack of correlation between CD62L expression and prematurity, believe that Caesarean section due to emergency indications compared with elective intervention and vaginal delivery, promotes an increase in CD62L expression only on the surface of umbilical cord blood monocytes without affecting CD62L on granulocytes [26].

The results of the present study and literature data suggest that the evaluation of adhesion molecule expression in high risk preterm newborns, both with and without infection, may be an important diagnostic element of their immunity. Tests for the expression of cell adhesion molecules require only a small blood sample, and the results are obtained in about an hour. Currently, in view of the widespread lack of ability to

że w miarę wzrastania dziecka mogą zwiększać się jego możliwości obronne. Dodatkowym dowodem są korelacje między ekspresjami CD11a a CD18 oraz między CD11a a CD54. Na szczególną uwagę zasługuje molekula adhezyjna CD18 należąca do rodziny receptorów β integrynowych leukocytów, która wiąże się z międzykomórkową molekulą adhezyjną obecną na komórkach różnych tkanek, w tym na śródbłonku. Molekula CD18 obecna jest praktycznie na wszystkich leukocytach krwi obwodowej. Bierze udział w reakcjach immunologicznych, takich jak adhezja i proliferacja limfocytów, w reakcjach związanych z komórkami NK i cytotoksycznymi limfocytami T [14,24]. Wykazanie w badaniach własnych dodatniej korelacji między ekspresją molekul CD11a i CD54 u zdrowych wcześniaków stanowi interesującą obserwację, ponieważ molekula CD54 jest nie tylko ligandem dla CD11a [14], ale występuje na powierzchni neutrofilii, monocytów, limfocytów T, B, NK oraz w płytkach krwi.

W niniejszych badaniach nie wykazano różnic w średnich ekspresjach wszystkich ocenianych molekul adhezyjnych u wcześniaków urodzonych siłami natury w porównaniu z noworodkami urodzonymi cięciem cesarskim. Podobnej obserwacji, tj. braku związku między wartością CD62L a rodzajem porodu, dokonali Török i wsp. [27]. Natomiast inni autorzy, podkreślając brak zależności ekspresji CD62L od wcześniactwa, uważają, że cięcie cesarskie wykonane z nagłych wskazań w porównaniu z elektywnym oraz porodem siłami natury sprzyja zwiększeniu ekspresji CD62L tylko na powierzchni monocytów krwi pępowinowej, nie wpływając na granulocytną CD62L [26].

Na podstawie uzyskanych wyników badań i danych z piśmiennictwa można uznać, że ocena ekspresji molekul adhezyjnych u noworodków wysokiego ryzyka, a takimi są wcześniaki zarówno z zakażeniem, jak i bez zakażenia, może być istotnym elementem diagnostyki ich możliwości obronnych. Badanie ekspresji molekul adhezji komórkowej wymaga niewielkiej objętości krwi, a wynik otrzymuje się w ciągu kilkadziesiąt minut. Obecnie, wobec powszechnego braku możliwości leczenia zaburzeń odporności u chorych wcześniaków, powstałych pod wpływem zarówno czynników zakaźnych, jak i niezakaźnych (głównie niedotlenienia, niedokrwienia i oziębienia), celowym i najprawdopodobniej jedynym sposobem zapobiegania wystąpieniu u nich niekorzystnych zmian w niedojrzałym układzie immunologicznym jest zapobieganie wcześniactwu. Ważnym czynnikiem jest również zapewnienie rodzącemu się przedwcześnie dziecku jak najmniejszego stresu związanego z niedotlenieniem, niedokrwieniem, bólem wywołanym bolesnymi procedurami (m.in. odsysaniem, intubacją, zakładaniem i usuwaniem dojsć dożylnych, cewnikowaniem pęcherza) oraz zaburzeniami termoregulacji [32].



treat immune disorders in premature infants caused by both infectious and non-infectious agents (mainly hypoxia, ischaemia, and hypothermia), the prevention of prematurity is probably the only reasonable way to mitigate negative changes in the immature immune system. It is also important to protect preterm infants against stress associated with hypoxia, ischaemia, pain caused by medical procedures (suctioning, intubation, placement and removal of intravenous cannulas, bladder catheterization, etc.) and thermoregulatory disorders [32].

CONCLUSIONS

1. Early-onset infection in preterm infants promotes increased expression of the adhesion molecule CD62L, which despite the lack of correlation with the CRP concentrations and platelet count, may prove useful in the diagnosis of infections.
2. The CD11b expression in preterm infants with infections may be affected by gestational age, while the expression of CD11a in premature infants without infections is correlated with body weight.
3. The expression of CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 and CD62L in preterm infants with and without infection does not depend on their sex or type of delivery.
4. The existing correlations between CD11b and CD11c/CD54 in preterm infants suggests that these elements of the immune system are involved in the immune response to early infection.

WNIOSKI

1. Wczesne zakażenia u wcześniaków sprzyjają zwiększeniu ekspresji molekuly adhezyjnej CD62L, co mimo braku korelacji ze stężeniem CRP i liczbą płytek krwi może dowodzić przydatności jej oznaczenia w diagnostyce zakażeń.
2. Na wartość ekspresji CD11b u wcześniaków z zakażeniem może mieć wpływ wiek płodowy, a na wartość CD11a u zdrowych wcześniaków urodzeniowa masa ciała.
3. Wartości ekspresji CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54 i CD62L u zdrowych i chorych wcześniaków nie zależą od ich płci oraz rodzaju porodu.
4. Istnienie wzajemnych korelacji między CD11b a CD11c i CD54 u chorych wcześniaków pozwala przypuszczać, że te elementy układu immunologicznego wcześniaka biorą udział w reakcjach obronnych w odpowiedzi na wczesne zakażenie.

REFERENCES

1. Helwich E. Przyczyna porodów przedwczesnych i podstawowe czynniki ryzyka wynikające z wcześniactwa. W: Wcześniak. Red. E. Helwich. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2002.
2. UNICEF Office of Research. Warunki i jakość życia dzieci w krajach rozwiniętych. Analiza porównawcza. Innocenti Report Card 11, 2013. <http://www.unicef.pl> [data dostępu: 17.04.2013].
3. Helwich E., Wójkowska-Mach J., Borszewska-Kornacka M., Gadziński J., Gulczyńska E., Kordek A., Pawlik D., Szczapa J., Domańska J., Klamka J., Heczko P. Epidemiologia zakażeń noworodków z bardzo małą masą urodzeniową. Badania Polskiej Sieci Neonatologicznej. Med. Wieku Rozw. 2013; 17(3): 224–231.
4. Gotoff S.P. Płód i noworodek. W: Podręcznik Pediatrii – Nelson. Red. R.E. Behrman. PWN. Warszawa 1996, s. 471–589.
5. Kornacka M.K., Bokinić R. W: Neonatologia. Red. J. Szczapa. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2015, s. 79–89.
6. Wójkowska-Mach J., Helwich E., Borszewska-Kornacka M.K., Gadziński J., Gulczyńska E., Kordek A., Pawlik D., Szczapa J., Domańska J., Klamka J., Heczko P. Infections reported in newborns with very low birth weight who required surgical treatment. Med. Wieku Rozw. 2013; 17(2): 143–150.
7. Greenough A., Milner A.D., Hannam S., Davenport M., Morrison G., Cant A. J. Disorders of the Newborn. W: Roberton's Textbook of Neonatology. Ed. J.M. Rennie. Elsevier Limited. UK/USA 2005, s. 445–1186.
8. Jakóbiński M., Gołąb J. Odporność nieswoista. W: Immunologia. Red. J. Gołąb, M. Jakóbiński, W. Lasek. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2004, s. 131–156.
9. Stevens A., Lowe J. Układ odpornościowy. W: Histologia. Red. A. Stevens, J. Lowe. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2000, s. 117–135.
10. Ghazal P., Dickinson P., Smith C.L. Early life response to infection. Curr. Opin. Infect. Dis. 2013; 26(3): 213–218.
11. Weinschenke N.P., Farina A., Bianchi D.W. Premature infants respond to early-onset and late-onset sepsis with leukocyte activation. J. Pediatr. 2000; 137(3): 345–350.
12. Carr R., Brocklehurst P., Dore C.J., Modi N. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor administered as prophylaxis for reduction of sepsis in extremely preterm, small for gestational age neonates (the PROGRAMS trial): a single-blind, multicentre, randomised controlled trial. Lancet 2009; 373(9659): 226–233.
13. Lusaty S., Hulzebis C.V., Zandvoort J., Sukandar H., Sauer P.J. Cytokines patterns in newborn infants with late onset sepsis. J. Neonatal. Perinatal. Med. 2013; 6(2): 153–163.
14. Umlauf V.N., Dreschers S., Orlikowsky T.W. Flow cytometry in the detection of neonatal sepsis. Int. J. Pediatr. 2013; 763191.
15. Jia L.Q., Shen Y.C., Hu Q.J., Wan C., Chen L., Wen F.Q. Diagnostic accuracy of neutrophil CD64 expression in neonatal infection: meta-analysis. J. Int. Med. Res. 2013; 41: 934–943.
16. Kwiatkowska-Gruca M., Behrendt J., Pukas A., Suda W., Sendek Ł., Godula-Stuglik U. Ocena ekspresji molekuly adhezji komórkowej CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD18, CD54 i CD62L na powierzchni granulocytów i monocytów krwi obwodowej u noworodków donoszonych. Pediatr. Pol. 2010; 85(5): 446–450.



17. Ballard J.L., Koury J.C., Wedin K., Eilers-Walsman B.L., Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J. Pediatr.* 1991; 11: 417–423.
18. Ng P.C., Li G., Chui K.M., Li K., Wong R.P., Chik K.W., Wong E., Fok T.F. Neutrophil CD64 is a sensitive diagnostics marker for early-onset neonatal infection. *Pediatr. Res.* 2004; 56(5): 796–803.
19. Adib M., Ostadi V., Navaei F., Saheb Fosoul F., Oreizi F., Shokouhi R., Bakhshiani Z. Evaluation of CD11b expression on peripheral blood neutrophils for early detection of neonatal sepsis. *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2007; 6: 93–96.
20. Jones D.H., Schmalstieg F.C.K., Dempsey K., Krater S.S., Nannen D.D., Smith C.W., Anderson D.C. Subcellular distribution and mobilisation of Mac-1 (CD11b/CD18) in neonatal neutrophils. *Blood* 1990; 75(2): 488–498.
21. Streimisch I., Bizzaro M., Northrup V., Wang C., Renna S., Koval N., Li F.Y., Ehrenkranz R., Rinder H.M., Bhandari V. Neutrophil CD64 as a diagnostics marker in neonatal sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2012; 31(7): 777–781.
22. Nupponen I., Andersson S., Järvenpää A.L., Kautiainen H., Repo H. Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early-onset neonatal sepsis. *Pediatrics* 2001; 108: E 12.
23. Figueras-Aloy J., Gomez-Lopez L., Rodriguez-Miguel J.M., Salvia-Roiges M.D., Jordán-García I., Ferrer-Codina I., Carbonell-Estrany X., Jiménez-González R. Serum soluble ICAM-1, VICAM-1, L-selectin and P-selectin levels as markers of infection and their relation to clinical severity in neonate. *Am. J. Perinatol.* 2007; 24(6): 331–338.
24. Turunen R., Andersson S., Nupponen I., Kautiainen H., Siitonen S., Repo H. Increased CD11b – density on circulating phagocytes as an early sign of late-onset sepsis in extremely low birth-weight infants. *Pediatr. Res.* 2005; 57: 270–275.
25. Bühner C., Graulich J., Stibenz D., Dudenhausen J.W., Obladen M. L-selectin is down-regulated in umbilical cord blood granulocytes and monocytes of newborn infants with acute bacterial infection. *Pediatr. Res.* 1994; 36: 799–804.
26. Rebuck N., Gibson A., Finn A. Neutrophil adhesion molecules in term and premature infants: normal or enhanced leukocyte integrins but defective L-selectin expression and shedding. *Clin. Exp. Immunol.* 1995; 101: 183–189.
27. Török C., Lundahl J., Hed J., Lagercrantz H. Diversity in regulation of adhesion molecules (Mac-1 and L-selectin) in monocytes and neutrophils from neonates and adults. *Arch. Dis. Child.* 1993; 68: 561–565.
28. Genel F., Atlihan F., Gulez N., Kazanci E., Vergin C., Terek D.T., Yurdun O.C. Evaluation of adhesion molecules CD64, CD11b and CD62L in neutrophils and monocytes of peripheral blood for early diagnosis of neonatal infection. *World. J. Pediatr.* 2012; 8(1): 72–75.
29. Melvan J.N., Bagby G.J., Welsh D.A., Nelson S., Zhang P. Neonatal sepsis and neutrophil insufficiencies. *Int. Rev. Immunol.* 2010; 29: 315–348.
30. Mc Evoy L.T., Zakem-Cloud H., Tosi M.F. Total cell content of CR3 (CD11b/CD18) and LFA-1 (CD11a/CD18) in neonatal neutrophils: relationship to gestational age. *Blood* 1996; 87: 411–417.
31. Zięba K., Sardesai S., Banasik M., Maroszyńska I., Oszukowski P. Assessment of the expression of neutrophil CD11b receptors in preterm infants. *J. Pre-Clin. Res.* 2009; 3: 54–57.
32. Lauterbach R.W. Neonatologia. Red. J. Szczapa. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa 2015, s. 47–55.