

CD95 клеток ($r=-0,8$). Во II-й подгруппе пациентов обнаружено ($p<0,01$) снижение количества CD95 клеток и уровня экспрессии на них Fas-рецептора ($31,9\pm 3,2\%$) относительно больных I-й подгруппы ($57,7\pm 8,42\%$). Снижение содержания CD95 маркера при БА свидетельствует о нарушении механизмов регуляции апоптоза и его участии в качестве одного из звеньев развития патологии. Наблюдаемая при атопии гиперпродукция IgE может быть результатом дефекта Fas-индуцированного апоптоза клеток и одной из причин их повышенной выживаемости, следствием которой является более длительное течение воспалительного процесса.

ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Парахонский А.П., Сундатова Т.В.

*Медицинский институт
высшего сестринского образования,
Кубанский медицинский университет,
Краснодар, Россия*

Изучены цитокиновая регуляция и иммунные механизмы аллергического воспаления при различных формах клинических проявлений. При атопии сенсбилизация определяет Th2-цитокиную микросреду в очагах поражения, цитокины ИЛ-4 и ИЛ-13 активируют транскрипцию генного локуса тяжёлой цепи иммуноглобулинов и индуцируют переключение изотипов. Проведено комплексное клиничко-иммунологическое и аллергологическое обследование 89 пациентов с атопическим дерматитом (АД), бронхиальной астмой (БА), аллергическим ринитом (АР). Группу сравнения составили 20 здоровых лиц. Материалом исследования являлись цельная кровь, сыворотка, назальный секрет и слюна. Определение уровня цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-13, ИФН γ) и иммуноглобулина Е проводили иммуноферментным методом. В контрольной группе больных содержание ИЛ-4, ИЛ-13, ИФН γ в сыворотке крови составило: $8,5\pm 1,1$, $8,01\pm 1,6$ и $50,6\pm 4,2$ пг/мл соответственно и определило коэффициенты соотношения.

Установлено, что у больных с АД сывороточное содержание ИЛ-4 – $55,2\pm 4,2$ пг/мл, ИЛ-13 – $39,4\pm 4,9$ пг/мл, ИФН γ $22,4\pm 2,5$ пг/мл; при клинических проявлениях АР данные показатели соответственно $27,64\pm 2,2$, $29,88\pm 2,2$ и $23,5\pm 3,4$ пг/мл; а при сочетании БА и АР – $60,4\pm 2,8$, $128\pm 5,6$ и $18,4\pm 2,6$ пг/мл соответственно. При АР в назальном секрете содержание ИЛ-13 в период обострения $187,55\pm 9,4$ пг/мл, в период ремиссии – $84,85\pm 7,38$ пг/мл. Проведенные исследования у пациентов с аллергическими заболеваниями выявили высокое содержание IgE, дисбаланс содер-

жания и соотношения ИФН γ /ИЛ-4 и ИФН γ /ИЛ-13, положительную корреляционную связь содержания IgE и ИЛ-13 как в сыворотке крови, так и в других биологических жидкостях. Средние значения регуляторного цитокинового коэффициента ИФН γ /ИЛ-4 при различных формах аллергических заболеваний в сыворотке крови составили от $0,39\pm 0,06$ до $0,86\pm 0,04$. У больных БА и АР иммунологические и клинические показатели исследованы в динамике. Цитокиновый статус оценивали по содержанию ИЛ-1 α , ИЛ-4, ИФН γ в сыворотке крови, принимая во внимание их иммуномодулирующее действие и важную роль в гиперпродукции IgE. У пациентов с АР изучение содержание цитокинов проводилось в сыворотке крови и назальном секрете дважды – в периоде обострения и ремиссии заболевания. Изучение цитокинового статуса в приступном периоде БА выявило различия концентраций цитокинов в сыворотке крови в зависимости от степени тяжести приступа. Установлена прямая связь между повышением уровня общего IgE и концентраций ИЛ-4 и ИЛ-1 α прямо пропорционально тяжести течения БА. Уровень сывороточной концентрации ИЛ-4 при тяжёлом приступе БА превышал среднюю норму в 9 раз ($220,8$ пг/мл против $23,8$ пг/мл в контроле), а при среднетяжёлом течении данный показатель составил $118,4$ пг/мл. Уровень же ИФН γ в сыворотке крови был, наоборот, снижен в 3 раза по сравнению с контролем, а при тяжёлом приступе снижался в 7,1 раза. Такая же тенденция цитокинового профиля была у больных с АР.

Таким образом, рассмотрение патогенеза аллергических заболеваний невозможно без комплексной оценки гуморального и клеточно-опосредованного иммунитета, изменений в системе цитокинов, выполняющей регулируемую роль на всех этапах иммунного ответа. Дисбаланс между отдельными звеньями этой системы может приводить к разнообразию клинических проявлений аллергической патологии. Характеристика системного воспалительного и противовоспалительного ответов позволяет раскрыть основные патогенетические механизмы данной патологии.

ЭКСПРЕССИЯ FAS (CD95) ЛИМФОЦИТОВ В РЕАКЦИИ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

Турьшева О. Е., Хасанова А.Р.,
Мингазетдинова Л.Н., Муталова Э.Г.
*Башкирский государственный медицинский
Университет,
Уфа, Россия*

Резюме. У 80 женщин с хроническим панкреатитом исследовано состояние апоптотической

реакции с оценкой экспрессии Fas (CD95) лимфоцитов на основе учёта клеток-участников апоптоза CD4, CD8, CD16(NK), CD25-ИЛ2 и основных цитокинов ИЛ-1 β , ИФН- γ , ФНО- α в зависимости от тяжести течения и формы заболевания. Установлены колебания клеток-участников апоптоза в диапазоне значимых повышений клеток-участников апоптоза и уровня цитокинов, преимущественно ФНО- α .

Апоптоз, являясь ключевым механизмом иммунорегуляции запрограммированной гибели клетки, обеспечивает баланс между клетками и сохранением функции (Ярилин А.А., 1996; Ritas, 1999; Kovatuashi H., Ouchi N., Kiharas J. et al., 2004). Усиление апоптоза клеток становится предиктором иммунной недостаточности, прогрессирования заболевания, чему способствуют наркотоксиканты, в частности, алкоголь.

Апоптотический эффект зависит во многом от медиаторов межклеточного взаимодействия, в частности, цитокинов. Провоспалительные цитокины ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6) и иммунорегулирующие как ИФН- γ усиливают продукцию и увеличивают выраженность воспалительных процессов (Jracey K.J., Cerami A., 1994); Veres A., Prohaszka L., Kilpinen S. et al., 2002; Wong B.R., Josien R., Lee S.V. et al., 1997), где ФНО- α является мощным индуктором апоптоза клеток, а апоптотические клетки, которые не стали жертвой быстрого фагоцитоза, начинают выделять цитокины (Mohamed- Ali V., Goodrick S., Bulmer K. et al., 1999; Krown K.A., Page M.T., Ngueyen C. et al., 1996; Kumar A., Jnota V., Dee L. et al. 1996).

В апоптотической реакции принимают участие многие клеточные механизмы, среди которых важное значение имеют кластерные варианты лимфоцитов с их распознающими механизмами

CD16(NK), активационным назначением (CD25 и CD8) и сигнальной системой (CD95- Fas), где сигнальная функция на всем протяжении апоптотической реакции и, особенно, на заключительном этапе принадлежит CD95 (Fas- апоптоз) лимфоцитам.

Все перечисленные клетки и цитокины в совокупности становятся ответственными за рост, дифференцировку клеток организма, распознавание и уничтожение трансформированных и отживших клеток.

В настоящее время изучается реакция апоптоза при артериальной гипертонии, атеросклерозе (Шляхто Е.М., Моисеева О.М., 2008; Nazobi C., 2003). В связи с этим, анализ апоптотической реакции при хроническом панкреатите, занимающем важное место в социальном статусе, поражая лиц трудоспособного возраста, становится актуальным в отражении уровня здоровья.

Целью работы явилось изучение реакции апоптоза и участников клеточного и цитокинового комплекса у больных хроническим панкреатитом.

Материал и методы. Проведено обследование 80 женщин с хроническим панкреатитом с различной степенью тяжести. В качестве материала исследования служила кровь. В материалах определяли содержание лимфоцитов, причастных к апоптозу - CD4, CD8, CD16, CD25, CD95 (Fas) и HLA-DR, а также активность цитокинов в сыворотке крови методом твердофазного ИФА с набором диагностических систем.

Результаты исследования.

Оценка содержания лимфоцитов в периферической крови - клеток-участников апоптоза выявила определенные изменения, которые характеризовались у больных хроническим панкреатитом относительной Т-лимфоцитопенией, снижением CD4+ Т-лимфоцитов, В- лимфоцитозом (табл.1).

Таблица 1. Субпопуляционная структура лимфоцитов периферической крови больных хроническим панкреатитом

Показатель	Лимфоциты, % кл/мкл					
	CD4	CD8	CD4/ CD8	CD16	CD25	HLA- DR
Контрольная группа	39,74 \pm 1,2	26,02 \pm 0,9	1,52 \pm 0,05	12,33 \pm 2,7	11,3 \pm 1,1	28,4 \pm 1,3
Легкое течение n=12	36,5 \pm 3,3	28,09 \pm 1,2*	1,30 \pm 0,09*	14,5 \pm 4,7** *	12,4 \pm 2,7*	28,0 \pm 2,1*
Среднее течение n=44	32,8 \pm 1,8*	29,05 \pm 0,8*	1,11 \pm 0,06	16,05 \pm 1,8	14,0 \pm 1,52	34,17 \pm 2,27
Тяжелое течение n=24	32,18 \pm 2,5** *	32,7 \pm 0,80*	0,98 \pm 0,07** *	20,31 \pm 0,99** *	16,09 \pm 0,9** *	35,72 \pm 1,89** *
P	0,038	0,038 0,01	0,002	0,001	0,046 0,001	0,022 0,001

* - различия статистически значимы по сравнению с контролем

** - различия значимы по сравнению с легким течением

Отмечено увеличение содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к ИЛ2 (CD25). При легком течении наблюдалась тенденция к повышению, при среднетяжелой степени уже отмечалось статистически значимое увеличение на 23,9% ($p=0,046$) по отношению к группе контроля, а при тяжелом течении показатель увеличился на 41,6% по отношению к контролю ($p=0,001$) и на 29,0% ($p=0,036$) - к группе с легким течением. Увеличение содержания CD25+ Тлимфоцитов свидетельствует об активации Т и В лимфоцитов.

Отмечена отчетливая тенденция к снижению CD4- лимфоцитов, однако значимость была выявлена в группах со средним и тяжелым течением ($p=0,038$).

Повышение цитотоксических лимфоцитов CD8 носило выраженный характер с высокой степенью достоверности. При легком течении этот показатель повышался на 7,9%, в группе больных со средней тяжестью - на 25,9% ($p=0,038$). Уровень рецепторов JgG CD16, опосредующих антителозависимую цитотоксичность, повышался на 17,8%, 33,2% и 66,2% ($p=0,01$) по отношению к контрольной группе соответственно с возрастанием тяжести заболевания. Содержание лимфоцитов, экспрессирующих антиген гистосовместимости (HLA-DR), также возрастало значимо при

среднем и тяжелом течении хронического панкреатита. Это подтверждается наличием прямой корреляционной связи с амилазой ($r=0,41$; $p=0,048$). Антигены HLA2 класса при наличии воспаления появляются на поверхности клеток, что приводит к ее дисфункции.

Эти изменения закономерно дополняют картину угнетения Т-клеточного звена с повышением выработки цитотоксических клеток и натуральных киллеров (CD16) и отражают вялотекущий процесс воспаления.

Значимое снижение уровня CD4 хелперов и повышение CD8-ЦТЛ закономерно приводит к уменьшению иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8), который при тяжелом течении составил $0,98\pm 0,07$ против $1,52\pm 0,05$ в контрольной группе ($p=0,002$). Значительное снижение иммунорегуляторного индекса и повышение CD8 + Т-лимфоцитов свидетельствует о длительно текущем воспалении.

Наряду с выраженным Т-субпопуляционным дисбалансом в периферической крови больных ХП наибольшие отклонения обнаружены в CD16(NK) лимфоцитах на фоне повышенной величины со стороны клеток, экспрессирующих антиген гистосовместимости 2 класса - HLA-DR. (Рис.1)

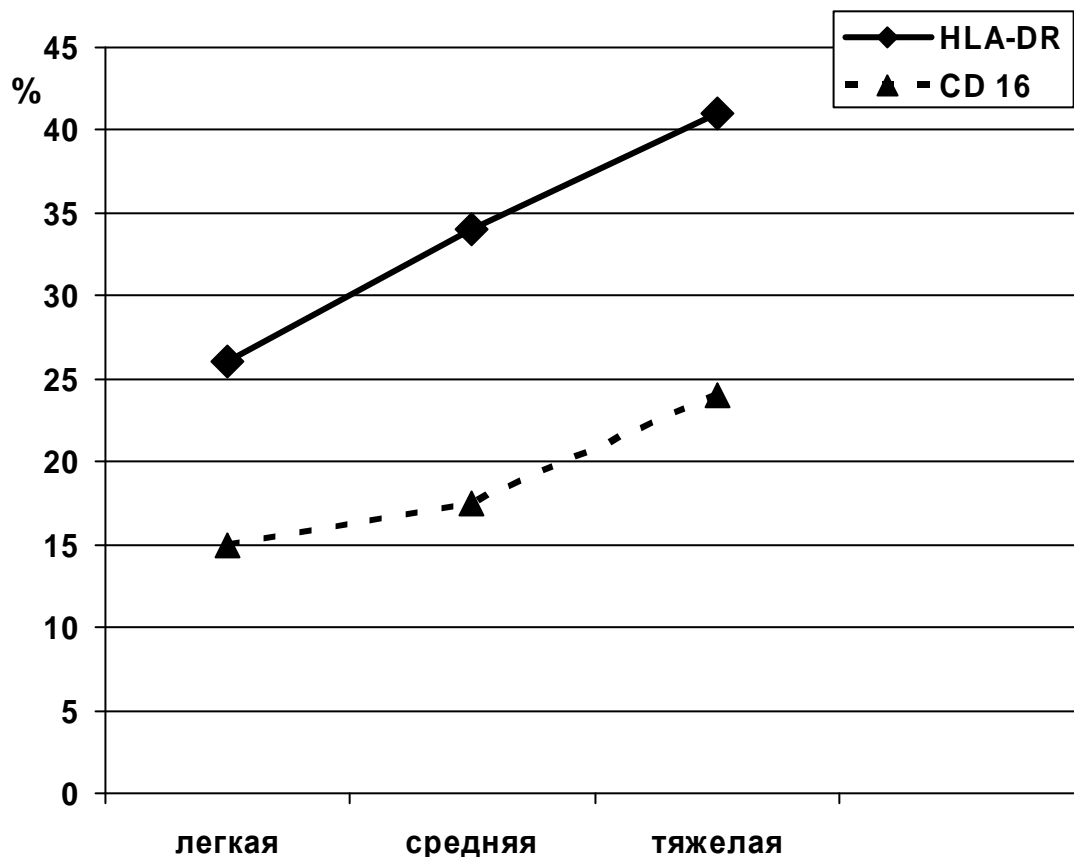


Рис. 1. Содержание CD16 лимфоцитов и HLA-DR- лимфоцитов в периферической крови при хроническом панкреатите в зависимости от тяжести течения.

Наличие гиперэкспрессии HLA-DR-маркера на активированных клетках и неспецифический характер взаимодействия NK-клеток с клеточными мишенями позволяет предположить наличие аутоиммунных повреждений поджелудочной железы.

Активация иммунной системы подтверждается повышенной экспрессией низкоаффинного рецептора CD25 к ИЛ-2.

Параллельно с анализом субпопуляционной структуры лимфоцитов у больных ХП и здоровых доноров (контроль) была произведена оценка содержания лимфоцитов в периферической крови, экспрессирующих Fas, при использовании МКА против Fas-клона DX-2. Так, Fas экспрессируется на многих типах клеток Т-лимфоцитов, в меньшей степени В-лимфоцитах, его экспрессия усиливается при активации клеток (Sibiryak S., 1999; Moller P. et al., 1996).

Мембраноассоциированный Fas (M FasL) - гликопротеин, относящийся к семейству TNF (Suda J. et al. 1994; Nagata S., Golstein P., 1995), экспрессируется на более ограниченном числе клеточных типов - активированных CD8+ лимфоцитах, CD4+ лимфоцитах и NK-клетках. Взаимодействие Fas - рецептора происходит при переходе его из фазы покоя в фазу клеточного цикла и необходимо для митотической активности клетки. FasR (CD95) лишь отражает готовность клеток к рецепции апоптогенного сигнала (Belka C., 1998).

Уровни клеток CD95(Fas) были наиболее благоприятны, не опускаясь ниже нормальных величин (контрольной группы).

Оценка уровня CD25+ Т-лимфоцитов установила его повышение у больных ХП с увеличением тяжести состояния. Полученные значения в группе с легким течением превышают контрольные показатели на 10,2% ($p=0,246$), при средней степени - на 156,3% ($p=0,001$) и при тяжелом течении - на 154,3% ($p=0,001$). (Рис.2).

Оценка уровня CD95(Fas) лимфоцитов выявила высоко значимое его повышение в группах больных ХП. Проведенный корреляционный анализ показал взаимосвязь между уровнем CD95 (Fas) и показателями цитокинов: ИЛ-1 β ($r = 0,882$, $p=0,01$), ФНО- α ($r = 0,981$, $p=0,001$) и ИФН- γ ($r = 0,478$, $p=0,038$) и обратную связь с CD4 ($r = -0,039$, $p=0,01$).

Наши данные отразили увеличение уровня провоспалительных цитокинов при всех формах заболевания и тяжести течения (табл.2). Высоко значимое повышение ИЛ-1 β отмечено у больных ХП средней тяжести ($p=0,001$), наименьшее - в группе с легким течением ($p=0,038$). Уровень ИФН- γ по своему содержанию мало отличался от показателей контрольной группы, достоверно превышая их только при тяжелом течении ($p=0,032$).

Наиболее выраженной была экспрессия ФНО- α во всех обследованных группах, превышая контрольные величины в 3-5 раз. Если учесть, что основной путь инициации апоптоза реализуется через систему мембрано-связанных белков семейства туморнекротических (ФНО) рецепторов, то стимуляция ФНО- α , безусловно, запускает целый каскад реакций, способствующих повреждению поджелудочной железы вследствие повышения воспаления и локальной ишемии.

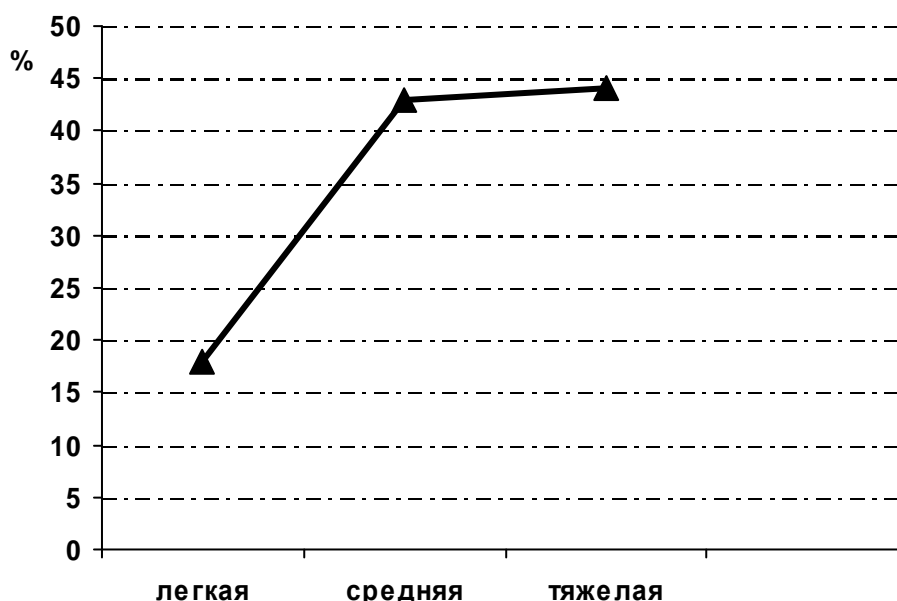


Рис. 2. Экспрессия Fas – рецепторов у больных с хроническим панкреатитом

Таблица 2. Уровень цитокинов участников апоптоза у больных хроническим панкреатитом

Показатели тяжести	Уровень цитокинов, нг/мл		
	ИЛ - 1 β	ИФН - γ	ФНО- α
Легкая стадия n=9	23,0 \pm 3,89*	33,9 \pm 5,62	20,91 \pm 3,78*
Средняя стадия n=44	29,2 \pm 4,51**	44,0 \pm 5,20	31,56 \pm 5,68**
Тяжелая стадия n=26	24,6 \pm 5,18*	44,4 \pm 5,51*	35,3 \pm 4,30**
Контрольная группа n=20	11,6 \pm 4,58	32,59 \pm 5,31	7,58 \pm 5,53

Примечание: различия с группой контроля * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

Таким образом, можно предположить, что основной вклад в суммарную гибель клеток железы при ХП вносит апоптотическая реакция, нарушая её функцию, где ФНО- α становится мощным индуктором апоптоза клеток. На это указывает высокая корреляционная взаимосвязь CD95(Fas)-Т лимфоцитов с активностью ФНО- α ($p=0,001$), где повышение уровня ФНО- α становится ответственным за тяжесть течения заболевания. Это не исключает существующую связь между ФНО- α с апоптозом и дисфункцией поджелудочной железы. Выявленная взаимосвязь содержания CD95 (Fas) лимфоцитов и ФНО- α периферической крови у пациентов ХП может повысить диагностическую значимость определения экспрессии Fas и ФНО- α , а их уровни могут приобретать и прогностическую значимость, позволяя предвидеть развитие осложнений, являясь дополнительным методом для прогноза тяжести заболевания.

Заключение.

Для хронического панкреатита характерна высокая готовность к удалению нежизнеспособных клеток, их обновлению, замене и дифференцировке в процессе апоптотической реакции. Это хорошо обеспечено клетками-участниками CD4, CD8, CD16(NK), CD25-ИЛ2, CD95 (Fas) и необходимыми цитокинами: ИЛ-1 β , ИФН- γ , ФНО- α .

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунном процессе // Журн. Иммунология- 1996; 6: 10-20.
2. Шляхто Е.М., Моисеева О.М. Ремоделирование сосудов и реакция апоптоза при артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия, 2008-3: 12-18.
3. Crown K.A., Page M.T., Nguyen C. et al. Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes: involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death // J. Clin. Invest.-1996;98: 2854-2865.
4. Kobayashy H., Ouchi N., Kiharas et al. Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin // Cli. Res.-2004; 94: 27-31.

5. Kumar A., Thota V., Dee L. et al. Tumor necrosis factor and interleukin- 1 beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum // J. Exp. Med. – 1996;183:949-958.

6. Mohamed-Ali V., Goodrick S., Bulmer K. Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo // Am. J. Physiol. – 1999; 277: 971-975.

7. Rifas L. Bone and cytokines: beyond IL-1, IL-6 and TNF-a // Calcif. Tissue Int. – 1999; 64: 1-7.

8. Tracey K.J., Cerami A. Tumor necrosis factor: a apheliotropic cytokine and theurapeutic agent // Ann. Rev. Immunol. – 1994; 45: 491-503.

9. Sibiryak S., Yusupova R., Kayumova E. Antigen expression on the peripheral blood lymphocytes in healthy donors and pulmonalis tuberculosis patient // Russ. J. Immunol. – 1999; 1: 34-42.

АДАПТАЦИЯ РАБОТНИКОВ К ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В УСЛОВИЯХ КРАЙНЕГО СЕВЕРА

Цгоева А.К.

Заполярный филиал

Ленинградского государственного университета
им. А.С. Пушкина,
Норильск, Россия

Концепция развития промышленности в условиях Крайнего Севера привела к высокой концентрации опасных производств на сравнительно небольшой по площади и относительно изолированной территории.

Вместе с тем, профессиональная деятельность в условиях Крайнего Севера имеет свою специфику.

Комплекс природных факторов Крайнего Севера оказывает выраженное негативное действие на физическое и психическое состояние человека, получившее название синдрома полярного напряжения. На организм человека неблагоприятно влияют: низкие температуры в сочетании с сильными ветрами, короткое холодное лето, высокая влажность [4,6] недостаток солнечной радиации