

УДК 612.014.3.612.017.1

ИЗМЕНЕНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА ЭКДИФИТ ПАЦИЕНТАМИ С ОСЛАБЛЕННЫМ ИММУНИТЕТОМ

*У.Н. Капышева, Е.А. Кустова, Н.Т. Уразалиева, И.А. Цопова,
А.Р. Раимжанов, С.Г. Астапова*

Отмечено, что применение препарата Экдифит оказывает положительную динамику на показатели маркеров апоптоза и клеточного иммунитета.

Ключевые слова: апоптоз; клеточный иммунитет; лимфоциты; антигены; маркеры.

Изучение явлений апоптоза и клеточного иммунитета в последнее время значительно активизировалось как иммунологами, так и другими специалистами в связи с пониманием их роли для предупреждения, прогнозирования и лечения многих до сих пор трудно управляемых и порой безнадежных состояний [1, 2]. Несмотря на то, что есть данные анализа молекулярных механизмов этих сложных явлений, очень малочисленны и противоречивы исследования, направленные на изучение изменений этих параметров при приеме препаратов растительного происхождения, производимых из местного натурального сырья.

Целью данной работы явилось изучение маркеров апоптоза и некоторых показателей клеточного звена иммунитета при применении препарата Экдифит, который производит Карагандинский фармацевтический комплекс из экстракта серпухи сухой.

Материалы и методы исследования. Обследовано 50 условно здоровых людей в возрасте от 20

до 50 лет, которые составили контрольную группу (К), а также группа испытуемых (И) со сниженным иммунитетом – 29 человек, принимавших препарат Экдифит в течение 6 недель. На проточном цитофлюориметре FacsCalibur (BectonDickenson, USA) в программе CellQuest определяли маркеры апоптоза (ANNEXIN-V, CD95, bcl-2) и иммунный статус (CD3, CD19, CD4, CD8, CD16+56, HLA-DR, CD25). Проводили стандартную пробоподготовку и окрашивание Annexin V-FITC. Для статистической обработки полученных результатов использовали компьютерную программу Biostat. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При определении одновременного окрашивания аннексином V-FITC и пропидиумом иодидом PI-PE выявили следующее: у всех индивидуумов популяция лимфоцитов располагалась в нижнем правом квадранте на гистограмме annexin-FITC/PI-PE, т. е. была позитивна по аннексину и негативна по пропидиумиодиду. Это означает, что часть лимфоцитов вступила

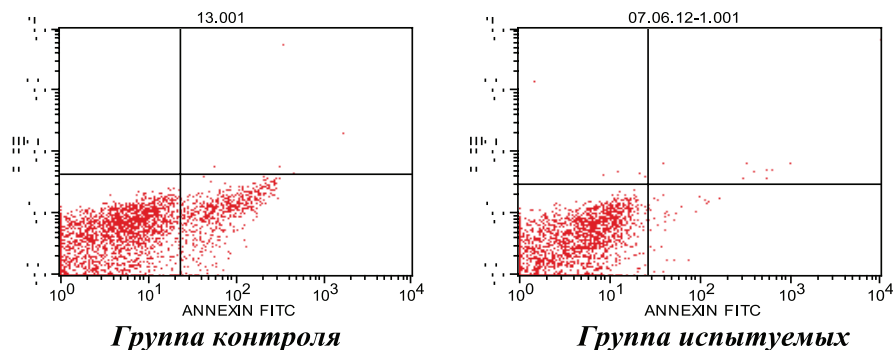


Рисунок 1 – Экспрессия аннексина-FITC в группе контроля и в группе испытуемых

Таблица 1 – Содержание маркеров апоптоза и активации в группах контроля и испытуемых, в %

Маркер \ Группа	ANNEXIN-V	Bcl-2	CD95	CD25	CD95/CD25
Контрольная	20,17±6,8	50,47±17,8	3,20±3,3	13,66±5,8	2,42±1,8
Группа испытуемых, до приема препарата Экдифит	1,05±1,2*	2,49±2,3*	3,68±2,0	5,58±2,4*	1,74±1,2
Группа испытуемых, принимающих Экдифит в течение 6 недель	2,66±1,3*	51,79±12,4	2,50±1,4*	15,85±5,1*	3,69±1,7

Примечание: * – $p < 0,005$ по сравнению с контролем.

Таблица 2 – Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови испытуемых до и после приема препарата Экдифит

Обследованные	Содержание соответствующей популяции лимфоцитов*, %				Соотношение содержания, ИРИ, CD4/CD8	Содержание соответствующей популяции лимфоцитов, %	
	CD3+	CD19+	CD4+	CD8+		HLA-DR	CD16+56+
Контрольная группа	68,78±6,1	10,16±3,2	33,75±6,7	35,90±8,3	1,0±0,5	13,6±5,1	15,02±6,1
Группа испытуемых, до приема Экдифит	53,97±12,4*	8,61±3,6*	22,04±5,9*	44,26±7,7*	1,3±3,0*	12,18±5,3	32,67±13,5*
Группа испытуемых, принимающих Экдифит 6 недель	66,66±8,9	8,20±3,2	32,36±8,0	38,08±7,3	0,89±0,3	13,24±4,3	22,24±11,0*
Нормы	58–85	10–23	35–50	25–35	1,5–2,0	5–10	8–19

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

в раннюю стадию апоптоза, что соответствует литературным данным [3, 4]. Однако в группе И относительное содержание аннексина было достоверно ($p = 0,001$) ниже, чем в группе К (рисунок 1), что также не противоречит данным исследователей, занимающихся этим вопросом [5, 6].

Нами было изучено содержание поверхностных антигенов ANNEXIN-V, CD95, CD25, а также цитоплазматического антигена Bcl-2 в группе К и группе И до, а также после 6 недель приема препарата Экдифит. Данные отображены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, экспрессия аннексина, Bcl-2, CD25, CD95/CD25 в группе И была значительно ниже, чем в группе К, а CD95 в 1,1 раза выше. После 6-недельного приема препарата Экдифит достоверно изменилась их экспрессия ($t = 9,8$, $p < 0,005$) с положительной динамикой. Коэкспрессия антигенов CD95/CD25 в группе испытуемых не отличалась от контрольной группы.

Следует отметить, что показатели иммунитета группы людей, считающихся здоровыми, до-

стоверно ($p < 0,05$) отличались от референтных границ нормы. Так, относительное количество CD4-лимфоцитов было ниже нормативных показателей, иммунорегуляторный индекс также значительно снижен. Экспрессия молекулы поздней активации HLA-DR превышала верхнюю границу нормы. В испытуемой группе особенно неожиданно было увеличение относительного количества натуральных киллеров CD16+56+ ($p = 0,036$). Выявлено также достоверное снижение CD3- и CD4-лимфоцитов, ИРИ, резкое увеличение содержания HLA-DR и относительного количества натуральных киллеров CD16+56+ (таблица 2).

Из вышеприведенных данных видно, что относительное количество CD3-лимфоцитов в группе И было достоверно ниже относительного содержания этого антигена в группе К ($p < 0,05$). После 6 недель приема препарата Экдифит этот показатель нормализовался ($66,66 \pm 8,9\%$).

Антиген В-лимфоцитов CD19 минимально менялся, а маркер поздней активации HLA-DR достоверно не менялся после 6 недель приема препа-

рата Экдифит. Надо отметить, что в группе И после 3-х недель отмечалось резкое снижение относительного количества хелперов/индукторов CD4 ($22,04 \pm 5,9 \%$ в сравнении с группой контроля $33,75 \pm 6,7 \%$). После 6 недель приема препарата Экдифит этот показатель нормализовался и составил $32,36 \pm 8,0 \%$.

Обнаружено, что в группе И содержание натуральных киллеров CD16+56+ до приема препарата Экдифит было значительно выше, чем в контрольной группе $32,67 \pm 13,5 \%$, а после 6 недель приема данный показатель значительно снизился в целом в группе испытуемых, хотя все еще достоверно отличался от группы контроля ($t = 3,63$, $p < 0,05$).

Таким образом, при исследовании показателей клеточного звена иммунитета отмечен дисбаланс основных показателей иммунного статуса в группе испытуемых, на которые положительное воздействие оказывает прием препарата Экдифит.

Выводы

1. Изучение экспрессии маркеров апоптоза ANNEXIN-V, bcl-2 в группе испытуемых позволило выявить значительное снижение данных показателей в сравнении с группой условно здоровых людей.

2. После 6-недельного приема препарата Экдифит экспрессия аннексина стала выше, но все-таки не достигла нормативных значений. Уровень

экспрессии bcl-2 и активационного антигена CD25 нормализовался. Следовательно, оказано положительное влияние препарата Экдифит на нормализацию данных показателей апоптоза.

3. Прием препарата Экдифит способствовал нормализации показателей клеточного звена иммунитета.

Литература

1. Барышников А.Ю. Иммунологические проблемы апоптоза / А.Ю. Барышников, Ю.В. Шишкин. М.: Изд-во “Эдиториал УРСС”, 2002. 318 с.
2. Лушников Е.Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е.Ф. Лушников, А.Ю. Абросимов. М., 2001. 121 с.
3. Белушкина Н.Н. Особенности регуляции апоптоза при опухолевых, вирусных и аутоиммунных заболеваниях: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.Н. Белушкина. М., 2004. 47 с.
4. Уманский С.Р. Апоптоз: молекулярные и клеточные механизмы / С.Р. Уманский // Молекулярная биология. 1996. Т. 30. Вып. 3. С. 487–502.
5. Фильченков А.А. Современные представления о роли апоптоза в опухолевом росте и его значении при противоопухолевой терапии // Эксперим. онкология. 1998. Т. 20. С. 259–270.
6. Ярилин А.А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме / А.А. Ярилин // Патол. физиол. экспер. тер. 1998. Т. 2. С. 38–48.