

УДК 612.017:577

КЛЕТОЧНО-ЦИТОКИНОВЫЙ КОМПЛЕКС УЧАСТНИКОВ АПОПТОЗА У ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА С КЛИМАКТЕРИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Коршукова О.А., Мотавкина Н.С.

*Владивостокский государственный медицинский университет**Приморский краевой диагностический центр*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

У 110 женщин постменопаузального периода исследована состояния готовности к реакции апоптоза на основе учета клеток – участников CD₁₆ (NK), CD₂₅ – ИЛ₂, CD₉₅ (FAS-апоптоз) и основных цитокинов ИЛ-1 β , ИФН γ , ФНО α в зависимости от временных параметров (возраста и продолжительности ПМП), наличия соматической и инфекционной патологии установлены колебания клеток в диапазоне нормы и преобладания многократного превышения уровня цитокинов, особенно выраженное у ФНО α .

Апоптоз, по образному выражению А.Н. Маянского с соавт. (1995) является началом будущего, то есть прогнозирует предстоящие события в здоровье человека и, прежде всего, в его иммунной системе.

Апоптоз представляет собой весьма сложную комплексную систему, в процессе функциональной реализации которой, принимают участие многие клеточные факторы и механизмы (Ярилин А.А., 1997). Среди них наиболее важное значение имеют разные кластерные варианты лимфоцитов с их распознающими механизмами (NK или CD₁₆), активационным назначением (CD₂₅ и CD₈) и сигнальной системы (CD₉₅-FAS). Вспомогательную, а в ряде случаев основную роль играют некоторые цитокины ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО α , ИФН γ .

Иницилирующую функцию за счет распознавания клеток-мишеней и их подготовки к апоптотическому финалу с помощью секретируемых ими порфиринов и энзимов с последующей активацией ферментов типа каспаз выполняют естественные или натуральные киллеры (NK или CD₁₆). Сигнальная функция на всем протяжении апоптотической реакции и, особенно, на ее заключительном этапе принадлежит CD₉₅ (FAS-апоптоз) лимфоцитам.

Совокупность перечисленных клеток и цитокинов ответственна за рост и дифференцировку клеток организма, распознавание и уничтожение трансформированных и отживших клеток. Иными словами, апоптоз-одна из важнейших иммунологических реакций, ведущих к изъятию ненужных клеточных элементов и обновлению тканевого ресурса. Состояние последнего для стареющего увядающего организма женщин, в котором одна за другой выходят из строя различные реактивные системы (гормональная, иммунная и др.) имеет важное не только медицинское, но и социально-экономическое значение, поскольку женщина ПМП продолжает трудиться и на производстве, и в быту, а в силу большей на 10-15 лет, продолжительности жизни по сравнению с мужчинами является одной из главных составляющих производственных трудовых ресурсов.

Цель сообщения заключается в анализе и оценке состояния участников апоптотического клеточного и цитокинового комплекса у женщин постменопаузального возраста с климактерическим синдромом.

Материалы и методы: Под нашим наблюдением находилось 110 женщин в возрасте от 40 до 65 лет, страдающих климактерическим синдромом (КС). У 51 из них постменопаузальный период продолжался 1-5 лет, у 33-6-10 лет, особую груп-

пу составили 26 женщин с хирургической менопаузой. Контрольная группа состояла из 20 здоровых женщин от 38 до 50 лет, без КС.

В клиническом аспекте у больных чаще отмечалась гипертензия и гипертоническая болезнь (29%), несколько реже (20%) нейро-циркуляторная дистония (НЦД), еще реже хронический панкреатит (15%), язвенная болезнь желудка (11:%) и ИБС (11%), несколько чаще (13%) стенокардия. Сахарный диабет выявлен у 6% обследованных. В 38,8% у женщин с КС обнаружены урогенитальные инфекции группы ИППП.

Тяжесть клинического течения КС была неоднозначной: в 48% она была тяжелой, в 36% - средней тяжести, в 16% - легкой.

В качестве материала для исследования служила кровь женщин постменопаузального возраста. Из полученного отцентрифугированного субстрата готовили мазки в 2х экземплярах и после фиксации одни из них окрашивали по Романовскому – Гимза, второй – обрабатывали флюоресцированной моноклональной иммунной сывороткой к CD- рецепторам лимфоцитов производства ООО «Препарат» (Н. Новгород), после чего подвергали простому микроскопическому и иммунофлюоресцентному анализу. Общее количество лимфоцитов определяли традиционно, цитокины в сыворотках крови - методом твердофазного ИФА с набором диагностических систем «Веста» производства СПб и Новосибирска.

В материале (лимфоциты, сыворотки крови) определяли клетки, причастные к апоптозу – CD₁₆ (NK), CD₂₅, CD₉₅ (FAS апоптоз), CD₈. Из цитокинов были избраны ИЛ-1β, ИНФ-γ, ФНОα. При этом все данные анализировались с учетом возраста, продолжительности ПМП, тяжести КС, клинической формы заболеваний, при инфекционных дополнительно-вид возбудителей болезни. Этиология последних устанавливалась в специализированных лабораториях ПКДЦ и «Асклепий» методами ИФА и ПЦР.

Результаты и их обсуждение

Проводимый анализ первоначально включал временные параметры – возраст обследуемых и продолжительность климактерического синдрома. Особое положение занимала хирургическая менопауза, которая устанавливалась оперативно и полностью исключала адаптивные периоды. Результаты исследования влияния фактора времени на клеточное обеспечение апоптоза и общая кластерная характеристика лимфоцитов, участвующих в нем либо опосредовано как источник цитокинов, либо в виде исполнителей, представлены в табл. 1

Так, уровень инициаторов апоптотических реакций-клеток CD₁₆ (NK) были во все возрастные периоды ближе к нижнему пределу нормы за исключением самого старшего возраста, в 60 и более лет, а также в 50-55 лет. Этот контингент имел их в предельно низкой концентрации, правда, не выходящей за ее границу. Однако, в промежутке 55-60 лет этот показатель был довольно высоким, но верхней границы нормы не достигал.

Уровни клеток CD₂₅, активированные ИЛ-2, в возрасте 45-60 лет колебались в пределах нормы, а в самой старшей группе резко снизились, (9,8±4,0%), даже не достиг нижней границы нормы.

Наибольшее благополучие было отмечено в концентрации CD₉₅ (FAS-апоптоз). Она ни разу не опустилась ниже нормы, а у лиц 55-60 лет лишь несколько отставала от нее.

Подобная направленность в изменении уровня участников апоптоза, реализующих апоптотическую реакцию организма, но с меньшей выраженностью обнаружены и при разной продолжительности ПМП. Однако этого следовало ожидать, так как временные параметры сдвигаются синхронно.

Более существенные сдвиги отмечены в зависимости от формы патологии – соматической и инфекционной. Это отражено в табл. 2.

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Таблица 1. Клеточный спектр обеспечения общего иммунитета лимфоцитами - участниками апоптоза у женщин в ПМП с учетом временных параметров – возраста и длительности КС

Показатели	Апоптоз		
	CD ₁₆	CD ₂₅	CD ₉₅
Возраст в годах			
45 – 50	15,3±5,0*	17,8±3,7***	24,4±5,0
50 – 55	14,4±4,5	14,7±7,0	18,5±7,2
55 – 60	18,2±3,7	14,5±7,0	36±3,7
60 и более	13±4,2	9,8±7,0	14,2±4,2
Средний уровень	15,2±4,3	14,2±6,2	23,2±5,0
Длительность ПМП в годах			
1-5	14,8±4,9	15,4±5,0	23,7±5,9
6-10	11,8±4,5**	6,2±4,1	21,3±7,1
Хирургическая менопауза	16,2±7,2	16,6±7,3	20,2±7,8
Средний уровень	14,3±5,5	12,7±5,5	21,7±6,9
Норма	10-23	10-28	10-45

Разница с нормой: *-p<0,05;**-p<0,01, ***p<0,05

Таблица 2. Клеточный спектр общего иммунитета и участников апоптоза у женщин в ПМП с разными видами патологии.

Показатели	Апоптоз		
	CD ₁₆	CD ₂₅	CD ₉₅
Соматическая патология			
Гипертоническая болезнь	12,8±5,9	11,5±5,6	18,8±6,9
Нейро-циркуляторная дистония	8,5±5,4*	7,8±5,2*	8,8±5,5*
Хрон. панкреатит	14,6±7,4	12,4±7,0	25,4±9,3
Сахарный диабет	18,5±15,9	16,0±15,0	39,7±5,5
Язвенная болезнь желудка	11,4±9,1	9,9±8,6*	13,6±3,6
ИБС (стенокардия)	10,2±8,7	7,7±7,7*	18,9±1,0
Средний уровень	12,7±3,1	10,8±3,1	20,8±8,9
Инфекционная патология			
Уреаплазмоз	16,2±4,5	12,7±8,1	16,4±8,2
Хламидиоз	14,4±7,5	14,0±7,4	16,0±7,8
Гарднереллез	13,0±12,7	10,4±9,2	19,2±14,8
Кандидоз	19,0±15,0	14,6±2,65	26±16,5
Герпес	19,6±18,6	19,3±18,7	30,5±23,0
Средний уровень	16,4±11,7	14,2±9,2	16,4±14,0
Норма	10-23	10-28	10-45

Разница с нормой: *-p<0,05;**-p<0,01

При соматической патологии в отношении CD₄-хелперов, уровень CD₁₆ лимфоцитов был в основном ближе к нижней границе нормы, а при нейроциркуляторной дистонии – ниже ее. То же

выявлено по отношению к уровню CD₂₅, но здесь добавился низкий уровень клеток этого типа при язвенной болезни. В отношении клеток CD₉₅ выявлено сравнительное благополучие, за исключением группы

с НЦД и чуть лучше-с язвенной болезнью желудка.

При инфекционной патологии, передающийся половым путем, во всех случаях показатели содержания участников апоптоза за пределы нормы не выходили. Однако, уровень CD₁₆ предпочитал более высокое содержание при кандидозе и герпесе, CD₂₅ – только при герпесе и предельно низкий при гарднереллезе, CD₉₅ – высокий при герпесе, кандидозе, гарднереллезе.

Таким образом, обеспечение клеточным составом главных участников апоптоза было у обследованных женщин весьма

благоприятным, что вселяет надежду и на своевременность очищения их организма от трансформированных и нежизнеспособных клеточных отходов, и на обновление клеточно-тканевого состава с его хорошей дифференцировкой.

Вместе с тем, как уже говорилось, апоптотический эффект зависит не только от самих исполнителей, но и от медиаторов межклеточного взаимодействия, в частности, цитокинов. В их числе нами были изучены ИЛ-1 β , ИФН γ , ФНО α . Результаты исследования отражены в табл. 3.

Таблица 3. Уровень цитокинов-участников апоптоза у женщин разного возраста в ПМП с учетом временных параметров – возраста и длительности КС.

Показатели	Уровень цитокинов в нг/мл		
	ИЛ-1 β	ИФН- γ	ФНО- α
Возраст в годах			
45 – 49	50,71 \pm 5,6*	51,0 \pm 5,6***	33,1 \pm 5,2****
50 – 55	33,6 \pm 5,3	34,76 \pm 5,2	41,2 \pm 5,5****
56 – 60	39,0 \pm 5,4	34,76 \pm 4,9	41,2 \pm 5,6****
61 и >	9,15 \pm 3,1**	43,3 \pm 5,1**	40,303 \pm 5,5****
Средний уровень	33,2 \pm 4,85**	40,955 \pm 5,2	38,95 \pm 5,45****
Длительность ПМП			
1-5 лет	29,2 \pm 5,4	32,9 \pm 5,6	20,91 \pm 4,0**
6-10 лет	23,0 \pm 5,4	52,6 \pm 5,9	31,66 \pm 5,8**
>10 лет	13,8 \pm 4,0*	48,7 \pm 6,0**	36,8 \pm 0,9**
хирургическая менопауза	27,2 \pm 5,3	44,0 \pm 5,2**	41,7 \pm 5,0***
Средний уровень	24,6 \pm 5,1**	44,4 \pm 5,5*	23,5 \pm 4,3
Норма	11,67 \pm 1,9	32,64 \pm 3,51	6,89 \pm 0,25

Различия с нормой: *p<0,05, **p<0,01

Анализ проведенных наблюдений с учетом временных параметров (табл. 3) показал значительное превышение уровня нормы цитокина ИЛ- 1 β , причем, как в разных возрастных группах, так и при неодинаковой продолжительности ПМП. Исключением явилось самая старшая, более 61 года, где их уровень составил всего 9,15 \pm 3,1 нг/мл против 11,67 \pm 1,9 нг/мл в норме, и больные с длительностью КС >10 лет (всего 13,8 \pm 5,4 нг/мл).

Интерферон ИФН γ по своему содержанию мало отличался от средней возрастной величины во все периоды КС, кроме начального (45-49 лет) и самого старшего (61 год и старше), когда оно было наибольшим при продолжительности более 10 лет (44,4 \pm 5,5 нг/мл против 32,64 \pm 3,51 нг/мл).

Наиболее выраженными оказались преобразования ФНО α . Во всех обследованных группах этот цитокин-фактор некроза опухолей - превышал норму в 6-7 раз.

Таблица 4. Панорамный уровень цитокинов у женщин разного возраста в ПМП с разными видами патологии

Показатели	Уровень цитокинов в нг/мл		
	ИЛ-1 β	ИФН- γ	ФНО- α
Соматическая патология			
Гипертон. болезнь, гипертензия	30,01 \pm 1,8	23,5 \pm 3,7	34,37 \pm 6,5
Нейро-циркуляторная дистония	26,7 \pm 2,1	43,6 \pm 3,5	33,93 \pm 6,5
Узловатый зоб, тиреотоксикоз	49,1 \pm 4,0	35,7 \pm 2,9	44,4 \pm 6,9
Хронический панкреатит	32,3 \pm 1,7	41,7 \pm 3,5	25,7 \pm 3,5
Сахарный диабет	39,5 \pm 2,4	61,3 \pm 6,8	31,1 \pm 6,5
ИБС	9,15 \pm 1,3	55,7 \pm 8,0	39,2 \pm 6,6
Средний уровень	23,3 \pm 5,4	85,9 \pm 13,0	62,0 \pm 9,0
Хламидиоз	21,2 \pm 4,7	30,6 \pm 6,8	28,8 \pm 6,4
Кандидоз	19,2 \pm 4,2	23,6 \pm 5,2	39,4 \pm 5,2
Уреаплазмоз	24,3 \pm 5,4	49,9 \pm 11,1	14,4 \pm 3,4
Герпес	30,5 \pm 6,8	45,0 \pm 10,0	29,2 \pm 6,5
Средний уровень	23,8 \pm 5,32	37,2 \pm 8,3	28,2 \pm 6,3
Норма	11,7 \pm 1,9	32,64 \pm 3,5	6,89 \pm 0,25

Особенности концентрации цитокина при соматической и инфекционной патологии у женщин в ПМП повторили тенденции, представленные выше. Их уровни были намного, но не однозначно выше нормы.

Так, уровень ИЛ-1 β при разных инфекциях оказался больше нормы, зарегистрированной у здоровых от 2 до 3 раз, при соматических болезнях - до 4-5 раз (соответственно при сахарном диабете и узловом зобе).

Уровень ИФН γ был также больше нормы, но превышал ее в меньшей степени.

Особенно высоким оказался уровень ФНО α . Он был выше от 2 до 6 раз.

Таким образом, из отмеченных закономерностей следует подчеркнуть наибольшее участие в апоптозе последнего вида цитокина – фактора некроза опухолей, ФНО α . Второе место следует отдать ИЛ-1 β и третье - ИФН γ . Но при этом следует отметить, что при некоторых нозоформах болезней эти закономерности меняются. Например, при общем повышенном уровне ИЛ-1 β у больных ИБС имело место заметное понижение этого цитоки-

на. Очевидно, в определенной степени уровень цитокинов зависит от общей реактивности организма и от особенностей патогенеза их патологии.

Заключение

Для постменопаузального периода, сопровождающего климактерическим синдромом, весьма характерна хорошая подготовленность организма женщин к удалению нежизнеспособных клеток, так и их обновлению, замене, дифференцировке в процессе апоптотической реакции. Последняя хорошо обеспечена клетками-участниками CD₁₆ (NK), CD₂₅ – ИЛ2, CD₉₅ и необходимыми цитокинами ИЛ-1 β , ИФН γ , ФНО α .

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Маянский А.Н. Апоптоз. Начало будущего. // А.Н. Маянский, Н.А. Маянский, М.А. Абаджидн, М.И. Заславская/ Ж. микробиология, 1997, №2, с.88-94.
2. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунном процессе.// А.А. Ярилин./ Ж. иммунология, 1996, №6, с. 10-20.
3. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – Москва, «Медицина», с. 308-315.

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

**THE APOPTOSIS ACTIVITY CELL CYTOKINE COMPLEX OF
POSTMENOPAUSAL AGES WOMEN WITH THE CLIMACTERIC SYNDROME**

Korshukova O.A., Motavkina N.S.

The Vladivostok state medical university

The Primorye regional diagnostic centre

Among 110 women in their postmenopausal period there have been studied the ability to apoptosis according to the amount of the active cells CD₁₆ (NK), CD₂₅ – IL2, CD₉₅ (FAS- apoptosis). There were established the cell changes in the normal conditions and in the cytokines level prevalence (in particular TNF α) the main cytokines IL-1 β , IFN γ , TNF α and their dependent from the temporality (ages and PMP length), during the somatic and infection pathology.

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ