

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Драннік Г.М., Кологрімова В.В., Порошина Т.В., Дріянська В.Є., Негрей Л.М., Фесенкова В.Й., Савченко В.С., Король Л.В.

УДК 616.6-002.2-036-097

ОСОБЛИВОСТІ РІВНЯ ПРО- ТА АНТИАПОПТОТИЧНИХ МАРКЕРІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ СЕЧОСТАТЕВИЙ ХЛАМІДІОЗ І ВПЛИВ НА НИХ ІМУНОТРОПНИХ ПРЕПАРАТІВ.

**Драннік Г.М., Кологрімова В.В., Порошина Т.В., Дріянська В.Є.,
Негрей Л.М., Фесенкова В.Й., Савченко В.С., Король Л.В.**

Інститут урології АМН України; Інститут нефрології АМН України

Исследования продемонстрировали достоверное повышение уровня маркеров активации лимфоцитов крови у больных хроническими воспалительными заболеваниями урогенитальной системы, при этом число CD-95+-клеток у пациентов с хламидиозом достоверно повышали показатели у пациентов 2-группы (без chlamydia trachomatis) и здоровых. Определено влияние препаратов Манакс и Эрбисол на уровень CD 95 и всl-2 у пациентов с хроническим урогенитальным хламидиозом.

Ключевые слова: *урогенитальный хламидиоз, про- и антиапоптотические маркеры, иммуностропные препараты*

Апоптоз – програмована смерть клітин, енергетично залежний процес, який запускається специфічними сигналами і дозволяє знищити ослаблені, непотрібні або пошкоджені клітини [2]. Кожен день близько 5% клітин організму піддаються апоптозу, а їх місце займають нові клітини [10].

Участь апоптозу в патогенезі різних захворювань визначається його роллю в саморегуляції клітинної активації, а також підтримці нормального балансу між проліферацією і програмованою смертю ефektorів імунітету, в тому числі ефektorів кроовотворення. Цей процес характеризується поверхневим рецептором АРО-1/Fas (CD95+), який є маркером індукції апоптозу [1, 6]. Існують патологічні стани, при яких клітини відрізняються підвищеною здатністю реагувати на сигнали, що індують апоптоз, і це викликає їх смерть і ускладнює терапію [9]. Важливу роль апоптоз грає і в негативній селекції непотрібних імунних ефektorів, що знижує ризик аутоімунних реакцій [8, 9].

Експресія Fas характерна для багатьох клітин імунної системи, і важлива роль в регуляції апоптозу клітин імунної системи належить інтерлейкінам і інтерферонам, які являються індукторами апоптозу як в здорових, так і патологічних клітинах. [5]. Активовані лімфоцити можуть піддаватись апоптозу при різноманітних впливах - стимуляції, при недостатності факторів росту (для Т-клітин - ІЛ-2, для В-клітин - ІЛ-4) [2]. Цитокіни можуть виступати не тільки як індуктори апоптозу, але і захищати від нього. При цьому один і

той же інтерлейкін може бути як індуктором апоптозу, так і його інгібітором [9].

Таким чином, апоптоз являється тим механізмом, який забезпечує елімінацію клітин, і програмована смерть клітини залежить від співвідношення факторів, що викликають апоптоз та запобігають йому, в тому числі цитокінів. Великий інтерес викликає можливий вплив на клітини імунотропних препаратів, що впливають на продукцію цитокінів клітинами імунної системи.

Метою наших досліджень було визначити особливості рівня про- та антиапоптотичних маркерів лімфоцитів у хворих на хронічний сечостатеви хламідіоз (ХССХ) та провести дослідження впливу на ці показники препаратів Манаксу та Ербісолу, вплив яких на цитокінову ланку імунітету був показаний нами раніше [3, 7].

Матеріали і методи

Виділені на стандартному градієнті фікопверографіну (1,076-1,078) моноклеарні клітини периферійної кроові відмивали тричі в середовищі RPMI-1640, що містило 10% ембріональної телячої сироватки, 40 мкг/мл гентаміцину, 5x10⁻⁶ М 2-меркаптоетанолу та 3% L-глутаміну. Клітинну суспензію в концентрації 1,5x10⁶ кл/мл інкубували 24 години в СО₂-інкубаторі при t=37°C без стимулюючого агента та в присутності препаратів, використовували розведення Ербісолу 1:100 та дозу Манаксу 20мкг/мл, що відповідало дозі препаратів в перерахунку на кількість клітин лімфоци-

тарно-моноцитарного ряду в 1 мл культурального середовища (на $1,5 \times 10^6$ кл/мл). Дослідження експресії маркерів апоптозу (CD95+) проводились за допомогою моноклональних антитіл фірми "DIACONE" (Франція) методом імунофлуоресценції.

Результати та їх обговорення

Досліджували рівні мононуклеарних клітин, що експресують Fas-рецептор (CD95+) (проапоптотический фактор) у хворих на хронічні запальні захворювання сечостатевої системи хламідійної (1 група – 15 хворих) і іншої (головним чином, бактеріальної) етіології (2 група – 15 хворих) в порівнянні з 25 здоровими донорами.

Дослідження продемонстрували достовірне підвищення рівня маркерів активації лімфоцитів крові у хворих обох груп, при цьому число CD95+-клітин в 1 групі у пацієнтів з хронічною хламідійною інфекцією достовірно перевищувало показники і здорових, і пацієнтів 2 групи (рис.).

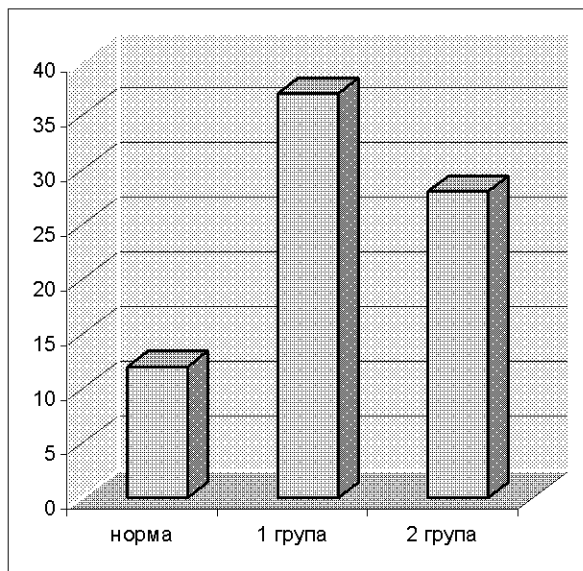


Рисунок. Відносна кількість CD95+-кліток (%) в периферійній крові у здорових донорів і хворих з хронічними запальними захворюваннями сечостатевої системи хламідійної (1) і нехламідійної (2) етіології.

В той же час, високий рівень готовності клітин до апоптозу може насторожувати в умовах потреби призначення імуноотропних препаратів хворим. Тому ми вважали доцільним провести дослідження впливу препаратів Манаксу та Ербісолу на про- та антиапоптотичні маркери клітин як у здорових донорів, так і у хворих на ХССХ.

По-перше, проведена оцінка впливу Манаксу (М) (20 мкг/мл) і Ербісолу (Е) (1:100) на експресію лімфоцитами периферичної крові здорових донорів (20) маркерів апоптозу Fas (CD95) і Bcl-2.

Експресія проапоптотичного маркера (CD95) у здорових донорів коливалась від 4 до 18% і в середньому становила $11,35 \pm 1,07\%$, інкубація з М не призводила до достовірних змін – $13,50 \pm 1,29\%$ ($p > 0,05$), тоді як Ербісол викликав підвищення рівня CD95+-клітин до $16,30 \pm 1,25\%$ ($p < 0,001$). Частково ми пояснюємо це тим, що, за нашими даними, Ербісол, на відміну від Манаксу, викликав суттєве підвищення продукції γ -ІФ у здорових донорів, тоді як Манакс – ІЛ-

4, а ці цитокіни можуть по різному впливати на процеси апоптозу клітин [3, 7].

Дослідження рівня клітин з антиапоптотичним маркером Bcl-2 продемонструвало їх достовірне підвищення під впливом обох препаратів відповідно від $9,60 \pm 1,08\%$ до $17,33 \pm 3,30\%$ ($p < 0,05$) (Манакс) та $18,67 \pm 1,51\%$ ($p < 0,001$) (Ербісол). Якщо співвідношення CD95+/Bcl-2+ клітин в нормі складало 1,17, то після стимуляції Манаксом і Ербісолом – відповідно 0,78 та 0,87, тобто нижче 1,0.

Таким чином, дослідження *in vitro* дозволили продемонструвати стимуляцію як про-, так і антиапоптотичних маркерів Ербісолом і тільки антиапоптотичних молекул Bcl-2 – Манаксом; обидва препарати змінювали співвідношення рівня лімфоцитів, що несуть ці маркери, в напрямку превалювання рівня клітин з антиапоптотичним маркером.

Отримані результати свідчили про необхідність виявлення особливостей впливу цих препаратів на клітини хворих, тому що, з одного боку, підвищення рівня проапоптотичних маркерів під впливом Ербісолу (хоча і разом з підвищенням антиапоптотичних) може мати негативні наслідки у вигляді небажаного апоптозу лімфоцитів периферичної крові, з другого – існує необхідність розробки шляхів підвищення активації апоптозу клітин, що уражені *Chlamydia trachomatis*.

В групі хворих, клітини яких культивували потім з препаратами, середній рівень CD95+-клітин був високим і складав $37,45 \pm 4,65\%$, додавання Манаксу і Ербісолу до клітин не змінювало показник – відповідно $33,27 \pm 3,12\%$ ($p > 0,05$) та $35,36 \pm 1,63\%$ ($p > 0,05$).

Дослідження рівня клітин з антиапоптотичним маркером Bcl-2 продемонструвало їх підвищення у хворих на ХССХ – $30,70 \pm 3,24$ в порівнянні з $9,60 \pm 1,08\%$ ($p < 0,001$) у здорових. Тобто, у пацієнтів відмічено підвищення як про- (CD95+), так і антиапоптотичних (Bcl-2) маркерів клітин, при цьому їх співвідношення не відрізнялось від норми (1,23 та 1,17). Додавання досліджуваних препаратів до клітин *in vitro* не змінювало рівня Bcl-2+ клітин – відповідно $22,67 \pm 3,70\%$ та $23,48 \pm 2,10\%$ ($p > 0,05$).

Відсутність змін рівня клітин як з про-, так і з антиапоптотичними маркерами під впливом препаратів у хворих можна пояснювати їх початково високим рівнем; отримані факти важко трактувати як прогнозо-позитивні, але в той же час дозволяють сподіватись на відсутність негативних наслідків, пов'язаних з системою апоптозу, при використанні препаратів *in vivo*.

Серед робіт, що присвячені вивченню впливу імуноотропних препаратів на апоптоз, привернула увагу робота Кузнецова В.П. і соавт. [4], які показали що при дії лейкоінтерферону на клітини здорових донорів підвищувався рівень апоптотичних клітин (CD95+), що автори трактували як запобігання непотрібній активації.

Наші дослідження можуть частково підтвердити думку цих авторів – мабуть, підвищення рівня CD95+-клітин у здорових донорів під впливом такого стимулятора як Ербісол може запобігати надлишковій кількості активованих клітин, що небезпечно для організму. В той же час, Ербісол і Манакс не призводять до загрози підвищення рівня як про-, так і антиапоптотичних факторів при дослідженні *in vitro* імунокомпетентних клітин хворих на ХССХ, що можемо вважати позитивним результатом проведеної роботи.

Таким чином, дослідження в умовах *in vitro* препаратів Манакс і Ербісол не виявило негативного впливу на експресію про- та антиапоптотичних маркерів лімфоцитів крові у хворих на хронічний сечостатевої хламідіоз, що дозволяє вважати можливим їх використання у пацієнтів.

Література

1. Аббасова С.Г., Липкин В.М., Трапезников Н.Н. Кушлинський Н.Е. Система Fas-FasL в нормі і при патології // Вопросы биол. мед. и фарм. химии. - 1999. - №3. - С. 3-16.
2. Белушкина Н.Н., Хасан Хамад Али, Северин С.Е. Молекулярные основы апоптоза // Вопросы биол. мед. и фарм. химии. - 1998. - №4. - С. 15-23.
3. Дріянська В.Є., Драннік Г.М., Ващенко С.М., Папакіна В.С., Фесенкова В.Й., Дріянська В.В. Вплив манаксу на продукцію цитокінів (γ -Ф, ІЛ-4, ІЛ-10) *in vitro* лімфоцитами здорових донорів і хворих на хронічний сечостатевої хламідіоз // Імунологія та алергологія. - 2004. - № 1. - С. 15-17.

4. Кузнецов В.П., Маркелова В.П., Лазанович В.А. и др. Дисбаланс цитокинов как фактор патогенеза гнойно-септических заболеваний и иммунокорригирующие эффекты лейкинферона // Медицинская иммунология. - 2002. - Т. 4, № 1. - С. 11-20.
5. Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Колесникова Н.В. и соавт. Апоптоз в иммунологических процессах // Аллергология и иммунология. - 2000. - Том 1, №1. - С. 15-23.
6. Уманский С.Р. Апоптоз: молекулярные и клеточные механизмы // Молекулярная биология. - 1996. - Том 30, вып. 3. - С. 487-502.
7. Фесенкова В.Й., Драннік Г.М., Дріянська В.Є., Папакіна В.С., Ващенко С.М. Дослідження *in vitro* впливу препаратів "Ербісол" та "Супер Ербісол" на продукцію ІЛ-2 та гамма-інтерферону Т-хелперами 1 типу здорових донорів // Лаб. діагностика. - 2003. - №2. - С. 37-40.
8. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология. - 1996. - № 6. - С. 10-23.
9. Abastado J.-P. Apoptosis: function and regulation of cell death // Res. Immunol. - 1996. - V. 147. - P. 443-456.
10. Magno G., Joris I. Apoptosis, oncosis, necrosis // Amer. J. Pathol. - 1995. - V.146, N.1. - P. 3-15.

Summary

THE CHARACTERISTIC LEVEL OF PRO- AND ANTIAPOPTOTIC MARKERS PATIENTS WITH UROGENITAL CHLAMYDIOSIS AND INFLUENCE OF IMMUNOMODULATORS ON IT

Drannik G.N., Kologrimova V.V., Poroshina T.V., Driyanskaya V.E., Negrey L.N., Fesenkova V.Y., Savchenko V.S., Korol L.N.

Key words: urogenital chlamydiosis, pro-apoptotic factor, anti-apoptotic factor, immunomodulators.

The aim of this work is to investigate the level of mononuclear cells of patients with urogenital chlamydiosis, expressing Fas-receptor (CD95+) (pro-apoptotic factor) and also Bcl-2 (anti-apoptotic factor) and influence of immunomodulators on it.

The investigation demonstrated the objective elevation in marking level of blood lymphocyte activation in patients with chronic inflammatory diseases of urinary system; at the same time, the number of CD95+ -cells in patients with chlamydiosis objectively exceeded these reading both in healthies and in patients without Chlamydia trachomatis.

There were determined the effects of Manaxx and Erbisol *in vitro* on the level of CD95+ and bcl-2 in patients with chronic urogenital chlamydiosis.

Institute of Urologi of Ukrainian AMS; Institute of Nephrologi of Ukrainian AMS.

Матеріал надійшов до редакції 26.12.05

© Матьоха Т.В.

УДК [618.1.14:615.477.86] – 002-084

ПРОФІЛАКТИКА ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ВНУТРІШНЬОМАТКОВИХ КОНТРАЦЕПТИВІВ

Матьоха Т.В.

Українська медична стоматологічна академія, Полтава.

Перед введенням внутриматочного контрацептива (ВМК) у жінок, інфіцираних інфекцією, передаваною статевим шляхом, проведена санация внутрішніх статевих органів. При цьому показателі локального клітинного імунітету ($HLA-DR^{+}$, $CD3^{+}$, $CD4^{+}$, $CD8^{+}$, $CD20^{+}$) приблизились до таких у неінфіцираних жінок. Частота побічних ефектів і ускладнень при використанні ВМК у даній групі жінок, значно знизилась.

Ключевые слова: инфицирование половых путей, локальный клеточный иммунитет.

Внутрішньоматкова контрацепція (ВМК), яка базується на введенні в порожнину матки спеціальної спіралі, являється сучасним методом запобігання небажаної вагітності, який широко використовується у всьому світі [1]. ВМК, маючи високу ефективність та прийнятність в антифертильній дії на організм жінки, викликають, на жаль, значні побічні ефекти. Найбільш частими з можливих ускладнень ВМК є больовий синдром (14%), порушення менструального циклу (1,5-20%), експульсії ВМК (0,7-30%), запальні захворюван-

ня внутрішніх статевих органів (ЗЗВСО) (0,43-9%) [2,3].

Безсумнівно є те, що контрацептивний ефект ВМК забезпечується насамперед його локальною дією на ендометрій [1,4]. Ряд дослідників вважає зміни в ендометрії на тлі ВМК проявом інфекційного ендометриту, але переважна частина авторів розглядає лімфолейкоцитарну інфільтрацію як асептичну реакцію слизової оболонки матки на стороннє тіло [1,5]. Ця теорія підтверджується тим, що запальна інфільтрація була виявлена у „стерильних” пацієнтів у відпо-