



Практическая МЕДИЦИНА

ТЕМА НОМЕРА:

НЕВРОЛОГИЯ,
ПСИХИАТРИЯ

№03(22)

- Опыт тромболитической терапии у больных с ишемическим инсультом в условиях межрегионального клинико-диагностического центра
- Сочетанный инсульт
- Особенности ишемического инсульта у больных с различной скоростью Na^+/Li^+ противотранспорта в мембране эритроцита
- Эпидемиологические показатели эпилепсии у детей и подростков г.Казани
- Сравнительные особенности стандартов лечения опиоидной зависимости в отечественной и мировой наркологии
- Основные понятия в наркологии. Представление об аддиктивной патологии
- Предикторы формирования пограничных психических расстройств в отдаленном периоде черепно-мозговой травмы

Влияние Кортексина на апоптоз лейкоцитов периферической крови у лиц с экзогенно-органическими расстройствами

С. А. ИВАНОВА, д.м.н., руководитель лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований ГУ НИИ психического здоровья. В. Я. СЕМКЕ, д.м.н., профессор, академик РАМН, директор ГУ НИИ психического здоровья. Н. М. ВЯЛОВА, м.н.с. лаборатории клеточных и молекулярно-биологических исследований. В. А. РУДНИЦКИЙ, к.м.н., с.н.с. отделения пограничных состояний ГУ НИИ психического здоровья. Е. М. ЕПАНЦИНЦЕВА, к.м.н., зав. отделения пограничных состояний ГУ НИИ психического здоровья.
ГУ НИИ психического здоровья Томского научного центра СО РАМН, Томск

Исследовали влияние нейропротектора Кортексина на показатели апоптоза лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови, концентрацию кортизола и дегидроэпиандростерона у больных с экзогенно-органическими расстройствами. Показано, что применение Кортексина сопровождается достоверным снижением экспрессии рецептора CD95 — маркера апоптотического сигнала. Проводимая терапия также способствовала нормализации содержания нейтрофилов и лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза. У пациентов с экзогенно-органическими расстройствами обнаружено повышение концентрации кортизола и снижение концентрации дегидроэпиандростерона в сыворотке крови. Терапия Кортексином сопровождалась тенденцией к нормализации уровня данных гормонов.

Для современного развития общества характерно ускорение темпов жизни, и, как следствие этого, обостряются проблемы психического здоровья населения. Наблюдается увеличение числа социально-стрессовых факторов, утяжеляющих течение экзогенно-органической патологии (Александровский Ю. А., 2000; Семке В. Я., 2003 и др.).

У большинства больных с пограничными нервно-психическими расстройствами выявляется нарушение иммунной реактивности, что приводит к обострению соматических заболеваний, утяжелению клинической симптоматики психического расстройства и его затяжному течению.

В связи с этим представляется перспективным использование препаратов с иммуномодулирующими свойствами в комплексных программах терапии больных с экзогенно-органической патологией. Нейропротектор Кортексин («Герофарм», Россия) — цитомедин, осуществляющий перенос информации, необходимой для нормального функционирования, развития и взаимодействия клеточных популяций, оказывает цитопротекторное действие на клетки (Говорин Н. В., 2005).

Феномен апоптоза — запрограммированной гибели клетки — является результатом действия различных факторов, приводящих к гибели клетки; физиологическими регуляторами апоптоза являются некоторые гормоны. Глюкокортикоиды обладают апоптотическим действием, приводя к индукции клеточной гибели. Отрицательное влияние гиперсекреции кортизола на системы организма существенно блокируется стероидным гормоном — дегидроэпиандростероном (ДГЭА) и его конъюгированной формой ДГЭА-сульфатом. ДГЭА является ключевым звеном в биосинтезе всех стероидных гормонов и обладает собственными эффектами. Этот нейростероид оказывает нейропротективное, стресспротективное и антиапоптотическое действие, защищая организм от пагубного воздействия высоких доз кортизола.

Целью данной работы явилось исследование процессов апоптоза лимфоцитов и нейтрофилов и содержания кортизола и дегидроэпиандростерона в динамике терапии Кортексином экзогенно-органических расстройств.

Исследовали влияние нейропротектора Кортексина на показатели апоптоза лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови, концентрацию кортизола и дегидроэпиандростерона у больных с экзогенно-органическими расстройствами. Показано, что применение Кортексина сопровождается достоверным снижением экспрессии рецептора CD95 — маркера апоптотического сигнала. Проводимая терапия также способствовала нормализации содержания нейтрофилов и лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза. У пациентов с экзогенно-органическими расстройствами обнаружено повышение концентрации кортизола и снижение концентрации дегидроэпиандростерона в сыворотке крови. Терапия Кортексином сопровождалась тенденцией к нормализации уровня данных гормонов.

Для современного развития общества характерно ускорение темпов жизни, и, как следствие этого, обостряются проблемы психического здоровья населения. Наблюдается увеличение числа социально-стрессовых факторов, утяжеляющих течение экзогенно-органической патологии (Александровский Ю. А., 2000; Семке В. Я., 2003 и др.).

У большинства больных с пограничными нервно-психическими расстройствами выявляется нарушение иммунной реактивности, что приводит к обострению соматических заболеваний, утяжелению клинической симптоматики психического расстройства и его затяжному течению.

В качестве контрольной группы исследовано 30 психически и соматически здоровых лиц, идентичных по полу и возрасту. Для пациентов обеих групп было характерно наличие выраженной астенической (церебрастенической) симптоматики, головных болей с метеозависимым компонентом, часто встречались нарушения сна. Облигатными были мнестические расстройства и нарушения других когнитивных функций (снижение памяти на текущие события, обеднение словарного запаса, интеллектуальное снижение, тугоподвижность, вязкость мышления, нарушения концентрации и переключаемости внимания и т.д.).

Забор венозной крови проводили утром, натощак. Лимфоциты выделяли с использованием градиента плотности 1,076 фикола-пака. Показатели апоптоза лимфоцитов изучали непрямым иммунофлюоресцентным методом с использованием моноклональных антител к антигену CD95. Морфологические изменения нейтрофилов и лимфоцитов, характерные для апоптоза, оценивали методом световой микроскопии мазков крови.

Образцы гепаринизированной крови инкубировали 4 часа при комнатной температуре и при 41 °C в присутствии или с 10 мкМ преднизолона или с 11 мкг/мл дегидроэпиандростерона. Для оценки спонтанного апоптоза мазки готовили сразу после забора крови. Подсчитывали число клеток с признаками апоптоза в процентах от доли нейтрофилов или лимфоцитов в общей лейкоцитарной формуле.

Концентрацию кортизола и ДГЭА в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «Алкор-Био».

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета STATISTICA, версия 6.0 для Windows. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента для независимых выборок и с использованием непараметрического рангового критерия Краскела-Уоллиса.

Материал и методы

Обследовано 25 лиц с экзогенно-органическими расстрой-

Результаты и обсуждение

Для пациентов основной группы была характерна более вы-

раженная положительная динамика психического состояния. С третьего-пятого дня у данных пациентов отмечалось уменьшение выраженности цефалгий, улучшение показателей внимания, общей активности. Позже (конец второй недели терапии) наблюдалось ослабление метеозависимости. Примерно в этот же период мы отмечаем и значительное уменьшение астенической симптоматики, повышение переносимости умственных и физических нагрузок и продуктивности умственной работы. В группе сравнения аналогичная динамика наблюдалась в меньшей степени и значительно позже. Улучшение носило менее устойчивый характер.

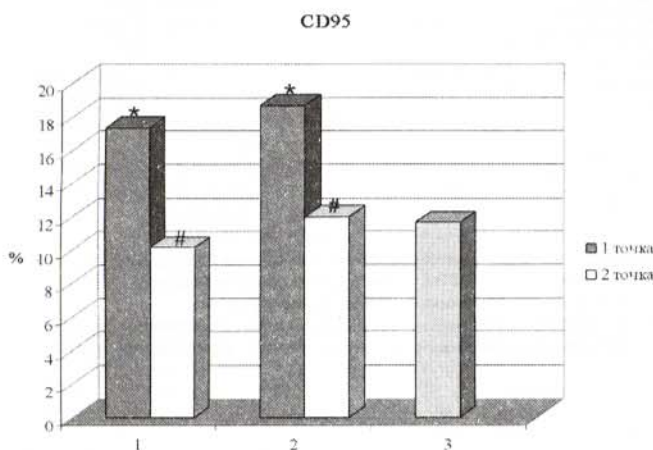


Рис. 1.
Динамика экспрессии рецептора CD95 у больных с экзогенно-органическими расстройствами

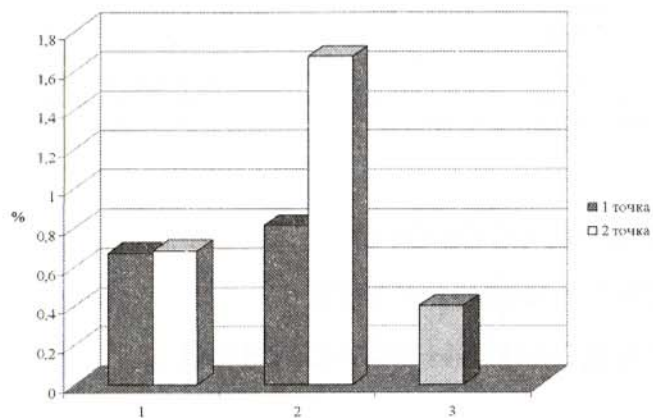


Рис. 2.
Уровень нейтрофилов с признаками апоптоза в мазках крови лиц с экзогенно-органическими расстройствами в динамике терапии

Положительные клинические эффекты Кортексина наиболее отчетливо проявлялись на начальных этапах терапии, что, как уже было описано, проявлялось в более быстрой редукции (устранении) неврозоподобной симптоматики. К четвертой-пятой неделе терапии разница в клинической динамике у представителей обеих групп стиралась. Проводимое в течение года катамнестическое наблюдение так же не показало каких-либо значимых различий между представителями данных групп. Данная тенденция может быть обусловлена прекращением рекомендованной поддерживающей терапии, либо присоединением дополнительных патопластических факторов.

Содержание в кровотоке лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы готовности к Fas-зависимому апоптозу, существенно превышает аналогичный показатель в группе контроля, что отражает процессы активации лимфоцитов. У лиц с экзогенно-органическими расстройствами содержание рецептора CD95 составило $17,31 \pm 1,06\%$ и $11,64 \pm 0,31\%$ у психически и соматически здоровых лиц ($p < 0,05$). После терапии Кортексином наблюдали снижение данного показателя до значений нормы (рис. 1). В группе больных, получающих стандартную медикаментозную терапию, также обнаружено значительное усиление экспрессии рецептора CD95 и его достоверное снижение после проводимого лечения.

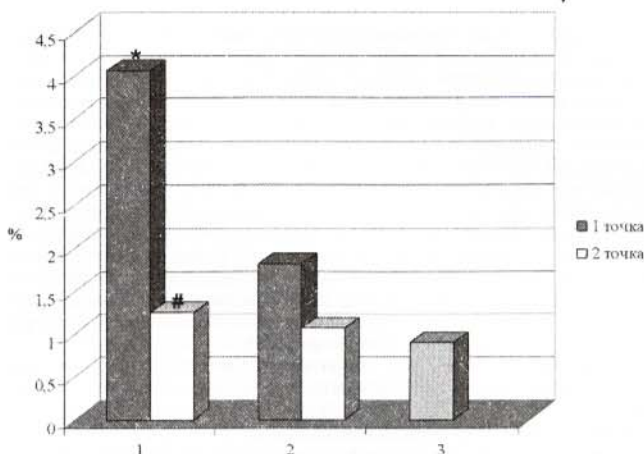


Рис. 3.
Содержание лимфоцитов с фрагментированным ядром в группах пациентов в ходе лечения

Цитологический анализ мазков крови пациентов с экзогенно-ограническими расстройствами показал незначительное по отношению к здоровым лицам повышение содержания нейтрофилов с морфологическими признаками апоптоза ($0,67 \pm 0,29\%$ и $0,40 \pm 0,15\%$). Уровень апоптоза лимфоцитов достоверно отличался от значений, наблюдаемых в группе контроля ($4,06 \pm 0,85\%$ и $0,89 \pm 0,19\%$, $p < 0,05$).

Применение нейропротектора Кортексина не вызывало изменений в содержании апоптотических нейтрофилов в мазках крови пациентов (рис. 2).

В мазках крови пациентов группы сравнения чаще встречались нейтрофилы с морфологическими признаками, характерными для клеток, подвергшихся апоптотическим изменениям, но выявленные различия не были статистически достоверны. Проводимая фармакотерапия приводила к дальнейшему росту числа апоптотических клеток.

Относительно динамики содержания лимфоцитов с фрагментированным ядром в мазках крови пациентов показано следующее: терапия Кортексином способствовала статистически значимому снижению числа апоптотических клеток. В группе сравнения проводимая терапия не изменяла изначально невысокий уровень лимфоцитов с фрагментированным ядром (рис. 3).

Определение содержания гормонов в сыворотке крови выявило, что концентрация кортизола у больных до проведения фармакотерапии статистически значимо отличалась от соответствующих значений в контрольной группе ($681,55 \pm 56,36$ нмоль/л и $492,87 \pm 38,57$ нмоль/л, $p < 0,05$). После терапии Кортексином концентрация кортизола снижалась до $570,80 \pm 85,23$ нмоль/л. В группе сравнения уровень кортизола находился в пределах нормы ($454,60 \pm 84,46$ нмоль/л) и не изменялся после терапии.

Содержание дегидроэпандростерона сульфата было снижено ($1,57 \pm 0,36$ мкг/мл у больных основной группы, $1,67 \pm 0,79$ мкг/мл у больных из группы сравнения, $2,31 \pm 0,24$ мкг/мл в группе психически и соматически здоровых лиц, $p < 0,05$). После проведения фармакотерапии в группе больных, получающих Кортексин, концентрация ДГЭА-сульфата не изменялась, в то время как в группе сравнения наблюдалось дальнейшее снижение концентрации этого нейростероида до $0,62 \pm 0,22$ мкг/мл. В связи с тем, что ДГЭА-сульфат в организме обладает анаболическим, нейропротективным, стресспротективным действием и способен нормализовать метаболические нарушения, возможно, его снижение в группе сравнения является прогностически неблагоприятным признаком.

Проведено исследование действия гипертермии, синтетического глюкокортикоида преднизолона и дегидроэпандростерона на апоптоз нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови в нагрудных пробах *in vitro*.

Инкубация крови при комнатной температуре вызывала увеличение числа нейтрофилов, подвергшихся апоптотическим изменениям (табл. 1).

Длительное нагревание приводило к резкому снижению жизнестойкости нейтрофилов. Показано антиапоптотическое действие глюкокортикоидов на нейтрофилы: при высокотемпературном культивировании образцов крови с добавлением преднизолона доля клеток с гранулированным хроматином значительно уменьшалась и в группе больных экзогенно-органическими расстройствами и у здоровых лиц. При инкубации с ДГЭА снижение содержания нейтрофилов с признаками апоптоза наблюдали только у пациентов (табл. 1).

В лимфоцитах также происходила деградация ядерного материала при воздействии преднизолона и гипертермии, наблюда-

лась фрагментация хроматина на несколько частей. У здоровых доноров в отношении числа измененных лимфоцитов выявлены те же закономерности, что и для нейтрофилов: инкубация крови даже при комнатной температуре вызывала апоптоз лимфоцитов, максимальный эффект наблюдался от гипертермического воздействия с добавлением преднизолона. Инкубация крови с ДГЭА сдерживала апоптотическое действие гипертермии. Обнаружено изменение реакции на действие исследуемых факторов у лиц с экзогенно-органическими расстройствами: в образцах крови, подвергнутых гипертермии и действию преднизолона, лимфоциты проявляли значительную устойчивость и число клеток с морфологическими изменениями было незначительно. Возможно, длительное повышение уровня глюкокортикоидов, выявленное у данной группы пациентов, вызывает уменьшение чувствительности к любым стимулам (Черных Е. И., Языков К. Г., Семке В. Я., 2002). Усиление спонтанного апоптоза нейтрофилов у больных экзогенно-органическими расстройствами может быть связано с усилением процессов ПОЛ и увеличением содержания в крови его активных продуктов, вызывающих нарушение целостности мембран и развитие признаков апоптоза (Суханова Г. А., Серебров В. Ю., 2000).

Таким образом, показано изменение реакции нейтрофилов и лимфоцитов на действие гипертермии и преднизолона при экзогенно-органических расстройствах. Полученные данные свидетельствуют о яркой выраженности реакции клеток крови здоровых лиц. У больных наблюдается увеличение спонтанного и угнетение индуцированного апоптоза нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови по сравнению с контролем. Анти-апоптотическое действие ДГЭА наблюдали для нейтрофилов группы больных лиц и лимфоцитов здоровых доноров.

Проведенные исследования показывают, что применение Кортексина в дополнение к базисной медикаментозной терапии экзогенно-органических расстройств оказывает позитивное влияние на ряд биологических показателей: сопровождается статистически значимым снижением экспрессии рецептора CD95 — маркера апоптотического сигнала и снижением содержания нейтрофилов и лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза, а также тенденцией к нормализации концентрации кортизола и дегидроэпиандростерона в сыворотке крови. Включение препарата с цитопротекторными свойствами в программы реабилитации позволяет повысить клиническую эффективность терапии больных с экзогенно-органическими расстройствами за счет нормализации процессов запрограммированной клеточной гибели.

Таблица 1. Действие гипертермии, преднизолона (10 мкМ) и дегидро эпиандростерона на апоптоз нейтрофилов и лимфоцитов in vitro (M±m)

Условия опыта	Доля нейтрофилов с признаками апоптоза, %		Доля лимфоцитов с фрагментированным ядром, %	
	Здоровые лица	Пациенты с ЭОР	Здоровые лица	Пациенты с ЭОР
Без инкубации	0,40±0,15	0,67±0,29	0,89±0,19	4,06±0,85*
Инкубация при 20 °С	0,77±0,23	0,60±0,35	2,37±0,44	2,60±1,11
Инкубация при 20 °С + Пр	0,85±0,40	0,34±0,24	3,82±0,63	3,76±0,84
Инкубация при 40 °С	13,56±2,84*	12,08±2,67*	4,66±0,56*	2,58±0,94
Инкубация при 40 °С + Пр	1,96±0,51'	0,57±0,31'	5,52±0,72	6,52±1,24
Инкубация при 20 °С + ДГЭА	0,90±0,90	1,96±1,37	0,39±0,18*	2,05±0,72
Инкубация при 40 °С + ДГЭА	12,08±3,13	3,99±0,82*	1,21±0,29'	1,20±0,68

Примечание: ЭОР — экзогенно-органические расстройства;

Пр — преднизолон; ДГЭА — дегидроэпиандростерон;

* — $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми лицами;

— $p < 0,05$ по сравнению с инкубацией в тех же условиях при 20 °С;

+ — $p < 0,05$ по сравнению с инкубацией в тех же условиях при 40 °С.

ЛИТЕРАТУРА

- Александровский Ю. А. Пограничные психические расстройства. — М: Медицина, 2000. — 496 с.
- Говорин Н. В., Злова Т. П., Ахметова В. В. Прогностическая роль нейромимных показателей у детей с экологообусловленными органическими психическими расстройствами в процессе реабилитации. Социальная и клиническая психиатрия. — 2005; 15: 27-31.
- Семке В. Я. Психогении современного общества. — Изд-во Томского ун-та, 2003. — 350 с.
- Суханова Г. А., Серебров В. Ю. Биохимия клетки Томск: «Чародей», 2000 — 184 с.
- Черных Е. И., Языков К. Г., Семке В. Я. Апоптоз лейкоцитов периферической крови, индуцированный действием гипертермии и преднизолона, у лиц с расстройством адаптации. Бюл. экпер. биологии и медицины. — 2002; 12: 617-619.