

Сравнительная оценка процессов апоптоза, некроза и дистрофии одноядерных и многоядерных макрофагов в культурах перитонеальных клеток

Ильин Д.А., Архипов С.А., Михайлова Л.П., Игнатович Н.В., Ахроменко Е.С.
*Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
 Новосибирск, Россия*

Известна большая группа так называемых гранулематозных болезней, которые морфологически проявляются гранулемами с гигантскими многоядерными клетками (МК), составляющими существенную часть этих структур. Получены данные, свидетельствующие о возможности индукции апоптоза МК в очаге гранулематозного воспаления. В связи с этим возникают следующие вопросы: влияет ли феномен «многоядерности» на резистентность клеток к апоптозу, существует ли взаимосвязь между динамикой образования МК, сокращением численности и динамикой их апоптоза.

Нами были исследованы некоторые закономерности апоптоза, некроза одноядерных и многоядерных макрофагов в их ассоциации с дистрофическими процессами.

Изучали морфофункциональное состояние клеток в культурах перитонеальных макрофагов, выделенных из брюшной полости мышей линий BALB/c, C57BL/6, CBA и DBA. Определяли численность макрофагов в состоянии некроза, апоптоза, и количество фагоцитов, имевших признаки дистрофии. Оценку результатов проводили на 2, 24, 48 и 72 часа экспозиции. Контрольные культуры инкубировали в течение 2 часов.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что наиболее часто фрагментации цитоплазмы были подвержены МК, при общем преобладании фагоцитов с фрагментированным ядром. МК часто имели дистрофические повреждения на 2 часа инкубации, а одноядерные через 72 часа экспозиции. Одноядерные клетки с признаками некроза встречались на все сроки инкубации, достигая максимальной концентрации на 48 и 72 часа наблюдения, а МК подвергались некрозу в единичных случаях, начиная с 48 часов инкубации. Фрагментация ядра, подвергшихся апоптозу фагоцитов наблюдалась значительно чаще, чем фрагментация их цитоплазмы. Во всех группах культур чаще всего апоптозные тельца встречались на 48 часов инкубации, что вполне объяснимо, так как большая часть клеток подвергалась апоптозу на ранние сроки культивирования. Количество апоптозных телец, фагоцитированных макрофагами, уменьшалось к 72 часам инкубации, что было связано с истощением к этому времени фагоцитарной функции клеток. В целом можно утверждать, что МК вступали в апоптоз чаще (судя по

относительным показателям), чем одноядерные. Полиядерные лишь в единичных случаях подвергались некрозу и значительно реже имели дистрофические повреждения, чем одноядерные клетки, что может объясняться большими потенциальными возможностями к субклеточной регенерации.

Обнаружено, что существуют общие для всех линий животных закономерности в динамике образования МК и их апоптоза в культурах клеток. Выраженные межлинейные различия были выявлены на все сроки инкубации только при исследовании одноядерных макрофагов. Полученные данные свидетельствуют о «фазности» процессов индукции образования МК и апоптоза, что указывает на существование каких-то общих генетически обусловленных факторов или условий, определяющих очередность процессов индукции формирования МК и индукции апоптоза.

Гемодинамические изменения у больных анкилозирующим спондилоартритом и возможности коррекции

Камалова Р.Г., Рахматуллина Л.Н., Мингазетдинова Л.Н.

*Башкирский государственный медицинский университет
 Уфа, Россия*

Анкилозирующий спондилоартрит (АС) является представителем серонегативных артритов и привлекает внимание как в диагностике, так и в лечении. Предрасполагающая роль генетических факторов очевидна, что подтверждается результатами семейных и генетических исследований, а частота выявляемости антигена HLA-B27 составила 80-90% (Mc Clusky, 1974). По данным Feltkamp место молекулы при АС расположено в той её части, которая одинакова для всех субъектов В27, но отличается от других типов по худшей способности распознавания бактериальных пептидов по сравнению с другими классами HLA-I. это ведет к нарушению Т-клеточного ответа и возможности резистентности бактериальных антигенов. Отмечена определенная роль провоспалительных цитокинов, где ключевое место отводится ФНО-а (фактору некроза опухоли), выявленного в синовиальной жидкости, суставной ткани и крестцово-подвздошных сочленениях (Braun J., Sieper J., 2002). Социальная значимость проблемы АС обусловлена прежде всего заболеванием более молодого возраста, длительной потерей трудоспособности, инвалидизацией. Кроме того, АС нередко характеризуется высоким темпом прогрессирования патологического процесса у мужского населения, поражением многих систем, которые значительно осложняют течение заболевания и его прогноз. Для АС характерна клиническая

гетерогенность с разнообразием форм и вариантов течения болезни, хотя нет значимых различий между наиболее распространенными формами центральной и ризомиелической, где ведущим является поражение суставов «хрящевого» типа позвонков с появлением энтезитов и мостиков между телами. Наряду с нарушением позвоночного столба, развития сакроилеита гетерогенность болезни включает вовлечение в патологический процесс сердца, сосудов, легких, передней камеры глаз.

В связи с этим целью данной работы явилось уточнение степени гемодинамических нарушений у больных анкилозирующим спондилоартритом, определить характер этих изменений в зависимости от давности заболевания и возможность медикаментозной коррекции антагонистами кальция (амлодипином).

Материал и методы исследования. Проведено обследование 70 лиц мужского пола с достоверным диагнозом АС. Диагноз установлен на основании клинических и рентгенологических данных, верифицирован с помощью модифицированных Нью-Йоркских критериев (1984г.). средний возраст больных составил $39,4 \pm 1,4$ года, средняя продолжительность заболевания $8,7 \pm 1,1$ лет. Все больные поступали в активной фазе заболевания с субъективным и объективным ухудшением – усиление болей в позвоночнике в разных отделах, утренняя скованность, увеичение лабораторных показателей активности. По длительности заболевания выделены три группы: первая – больные с длительностью заболевания до 5 лет (22 человека), вторая – длительность заболевания от 5 до 10 лет (30 человек) и третью группу составили 18 больных с длительностью заболевания более 10 лет. Из них I степень активности была у 10% лиц, II степень – у 61% и III (высокая) степень активности – у 29% больных. У 47 (67,1%) диагностирована ризомиелическая форма АС, у 22 (31,6%) – центральная и у 1 (1,3%) больного – периферическая. Контрольной группой служили 25 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу, средний возраст – $37,9 \pm 2,1$ лет. Все пациенты проходили тщательное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование. В работе использовалось суточное мониторирование артериального давления (СМАД), которое осуществлялось с помощью автоматического прибора «BPLab». Измерения проводились в автоматическом режиме с периодичностью каждые 15 минут в дневное время и 30-60 минут – в ночное время. Пороговыми значениями АД считали 140/90 мм рт.ст. для дневных часов и 120/80 мм рт.ст. для ночных. Показатели вариабельности АД системой рассчитывались автоматически по трем временным периодам (сутки, день, ночь) и оценивались на основе степени снижения ночного АД по отношению к дневному. Внутрисердечная и легочная гемодинамика изучались методом доплера-

эхокардиографии (доплер – ЭХОКГ) на аппарате «HDI-1500» при этом в М-режиме определялись конечно-диастолические и конечно-систолические объемы (КДО и КСО) правого и левого желудочков, фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ), размеры правого и левого предсердия (ПП И ЛП). Определялась максимальная систолическая скорость кровотока в легочной артерии (V_{max}), время достижения максимальной скорости кровотока из правого желудочка (АТ), время правожелудочкового изгнания (ЕТ), отношение времени достижения максимальной скорости к времени правожелудочкового изгнания (АТ/ЕТ), среднее давление в легочной артерии (СД ЛА).

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническими проявлениями АС были боли в пояснично-крестцовом отделе позвоночника с иррадиацией в ягодичную область, бедро, тазобедренные суставы; частичная мышечная контрактура с ограничением движений в сагиттальной плоскости, у 30% больных выявлены боли в шейно-грудном отделе позвоночника в ночные и утренние часы, скованность по утрам. Рентгенологическими проявлениями были двухсторонний сакроилеит, остеопороз, периартикулярный остеосклероз, эрозии в области передних углов тел позвонков с ассификацией продольной связки. Выявлен костный анкилоз в шейно-грудном отделе позвоночника. При объективном исследовании у большинства больных отмечался кифоз, шейный гиперлордоз, напряжение прямых мышц спины, увеличение расстояния «подбородок-грудина» до 3-5 см, снижение экскурсии грудной клетки до $3,12 \pm 0,52$ см. Средняя частота сердечных сокращений составила $82,5 \pm 4,1$ ударов в минуту, тахикардия зарегистрирована у 11 больных. Анализ легочной и внутрисердечной гемодинамики правого и левого отделов сердца выявил определенные изменения. По данным эхокардиографии получены существенные изменения гемодинамики. Легочная гипертензия наблюдается уже у больных 2 группы (с длительностью заболевания до 10 лет). Так, отношение АТ/ЕТ у этой группы было меньше на 5,7% группы контроля и на 8,5% аналогичного показателя первой группы; среднее давление в легочной артерии выше на 30,9% ($p < 0,05$) контрольных величин и на 8,9% первой группы. В третьей группе (длительность заболевания более 10 лет) соотношение АТ/ЕТ на 8,9% ($p < 0,05$) оказалось ниже контрольных величин ($0,34 \pm 0,02$) и на 11,6% ($p < 0,05$) первой группы пациентов с повышением среднего давления в легочной артерии на 39,6% группы контроля ($32,4 \pm 2,04$ мм рт.ст., $p < 0,01$) и на 16,5% ($p < 0,05$) первой группы. Повышение давления в легочной артерии, вероятно, связано с нарушением бронхиальной проходимости в связи с нарушением механики дыхания и развития

дыхательной дисфункции. Эти нарушения выявляются при давности заболевания более 5 лет и становятся более значимы в третьей группе по сравнению с группой контроля ($23,2 \pm 2$ мм рт.ст.) и первой группой ($27,8 \pm 2,24$ мм рт.ст.). Одновременно, выявлены существенные изменения гемодинамики. Так, максимальная скорость в легочной артерии в 3 группе была выше на 15,0% ($p < 0,05$) контрольной группы и на 9,0% и 3,6% соответственно к 1 и 2 группам. Укорочение времени достижения максимальной скорости кровотока в легочной артерии в третьей группе на 13,2% больше, а укорочение времени правожелудочкового изгнания на 4,6% меньше относительно показателей группы контроля. Среднее давление в легочной артерии было значимо повышено, а отношение АТ/ЕТ ниже, чем параметры контрольной группы и группы больных с длительностью заболевания менее 5 лет. Параллельно в третьей группе отмечено снижение фракции выброса левого желудочка на 8,0%, определялась тенденция к снижению КДО ЛЖ и КСО ЛЖ, по отношению к группе контроля и первой группе. Таким образом, при АС выявляются определенные изменения параметров внутрисердечной и легочной гемодинамики, характеризующиеся нарастанием гипертензии в малом круге кровообращения и перегрузкой правых отделов сердца, а также некоторым снижением сократительной способности левого желудочка. Вероятно, развитие легочной гипертензии у больных АС зависит от степени нарушения функции внешнего дыхания и бронхиальной проходимости, развивающиеся при длительном заболевании по мере развития анкилоза позвоночника, кальцификации передних связок. Полученные нарушения гемодинамики становятся маркерами тяжести заболевания. Изучение суточного профиля артериального давления выявило более высокую значимость вариабельности АД ночью и за сутки в целом при длительности заболевания более 10 лет. Вариабельность САД днем составила в среднем $13,95 \pm 0,52$ мм рт.ст., ДАД – $2,10 \pm 0,46$ мм рт.ст. Индекс времени за сутки не различался по САД, но был значим для ДАД в третьей группе и составил $17,6 \pm 4,3\%$ ($p < 0,05$), т.е. процент суточного повышения уровня артериального давления возрастал с длительностью АС. Следовательно, у больных АС, вероятно, отмечается негативное воздействие на суточный профиль артериального давления, способствуя повышению вариабельности и величины утреннего подъема, хотя в целом уровень артериального давления в третьей группе не выходил за пределы нормальных величин ($134,3 \pm 1,8$ мм рт.ст. для САД и $83,8 \pm 1,43$ мм рт.ст. для ДАД). При дневном давлении – $136,4 \pm 2,0$ / $84,7 \pm 1,42$ мм рт.ст. и ночном давлении – $131,2 \pm 3,1$ / $76,8 \pm 2$ мм рт.ст. ($p < 0,05$).

Как показали наши исследования у больных АС длительностью заболевания возрастает объем крови в малом круге кровообращения, развивается легочная гипертензия. В связи с этим в лечение были включены антагонисты кальция III поколения – амлодипин (нормодипин фирмы «Гедеон Рихтер») в дозе 5 мг в сутки с титрованием дозы до 10 мг в сутки. В исследование включены больные АС с длительностью заболевания более 5 лет и повышенным средним давлением в легочной артерии. Контроль осуществлялся с помощью доплерэхокардиографии через 3 недели от начала лечения. Проведенный анализ результатов лечения больных АС показал, что трехнедельный прием амлодипина сопровождался в целом анти-ипертензивным эффектом, характеризовавшимся снижением среднего давления в легочной артерии на 30,8%, удлинением времени достижения максимальной скорости кровотока со снижением в целом как гипертензии в малом круге кровообращения, так и нагрузки правых отделов сердца. Максимальная скорость кровотока в легочной артерии (V_{max}) снизилась на 10,5%, время достижения максимальной скорости кровотока (АТ) увеличилось на 4,0% с удлинением времени правожелудочкового изгнания (ЕТ) на 3,9%. В процессе лечения больных АС нормализовались параметры правых отделов сердца, незначительно увеличилась фракция выброса. Лечение больных амлодипином проводилось на фоне регулярного приема нестероидных противовоспалительных препаратов, которые оказывают негативное влияние на уровень артериального давления. Большинство показателей СМАД снизилось на 18-22% по сравнению с исходными величинами, хотя уровень среднего САД не достиг оптимального нормального давления. Однако, применение амлодипина больными АС оказалось оправданным, а снижение артериального давления составило для среднего САД около 6% и для ДАД около 20%.

В целом, наши исследования с применением амлодипина подтвердили высокую его активность для снижения давления в малом круге кровообращения, а также гипотензивный эффект при лечении нестероидными противовоспалительными препаратами, уменьшение нагрузки правых отделов сердца.

Динамика уровня цитокинов у детей, больных хроническим вирусным гепатитом С

Кетлинская О.С., Горячева Л.Г., Романцов М.Г.

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова, НИИ детский инфекций, Санкт-Петербург

Для оценки терапевтической эффективности интерферонов и их индукторов в терапии хронического вирусного гепатита С (ХВГС) у