

АПОПТОЗ КЛЕТОК КРОВИ У ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ОТРАВЛЕНИЯМИ ПСИХОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ

К.К. Ильяшенко^{1,*}, М.В. Белова^{1,2}, А.Ю. Симонова¹, Н.В. Боровкова¹,
Ю.В. Андреев¹, М.М. Поцхверия^{1,2}

¹ ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

* Контактная информация: Ильяшенко Капиталина Константиновна, профессор, ведущий научный сотрудник отделения лечения острых отравлений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. E-mail: toxikapa@mail.ru

РЕЗЮМЕ

У 47 больных старше 60 лет с различным течением и исходом острых отравлений психофармакологическими препаратами изучен апоптоз клеток периферической крови. Показано, что для объективной оценки нарушений следует формировать контрольную группу из добровольцев такого же возраста. Выявлены отклонения показателей апоптоза от значений контрольной группы. Однако не удалось установить их информативность для прогноза течения и исхода заболевания.

Ключевые слова:

апоптоз, клетки крови, геронтология, острые отравления

Для цитирования

Ильяшенко К.К., Белова М.В., Симонова А.Ю. и др. Апоптоз клеток крови у геронтологических больных с острыми отравлениями психофармакологическими препаратами. Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. 2017; 6(3): 210–215. DOI: 10.23934/2223-9022-2017-6-3-210–215

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов

Благодарности

Исследование не имеет спонсорской поддержки

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
ОПФП — отравления психофармакологическими препаратами

ПА — поздний апоптоз
РА — ранний апоптоз

Поддержание структурно-функционального гомеостаза тканей определяется сбалансированностью процессов отмирания и обновления клеток. Особое место в них занимает программируемая клеточная гибель — апоптоз. По своей физиологической сути апоптоз представляет собой эволюционно сложившийся механизм поддержания клеточного гомеостаза за счет элиминации дефектных клеток или клеток, отслуживших свой срок. Сами клетки при этом разрушаются до апоптотных телец, сохраняющих свою обособленность и осмотические градиенты. Важное отличие апоптоза от другой формы гибели клеток — некроза, заключается в отсутствии воспаления. Сохранение мембранной «упаковки» клеточного содержимого обеспечивает блокировку воспалительных реакций при апоптозе и бесконфликтную смену поколений клеток [1]. В норме существует баланс между процессами пролиферации и апоптоза клеток в ткани [2]. Увеличение количества пролиферирующих клеток влечет за собой усиление процессов апоптоза [3].

В последние годы большое внимание уделяется изучению апоптоза с точки зрения влияния его на различные патологические процессы [4–6].

Исследования последних лет показали, что патогенез аутоиммунных, нейропролиферативных заболева-

ний, бронхиальной астмы, опухолевых процессов и др. связан с неспособностью клеток подвергаться апоптозу. Другая группа болезней, возникающая у пожилых людей — нейродегенеративные, болезни крови, ишемические поражения, инсульт и другие, наоборот, обусловлена усилением апоптоза [1].

В настоящее время вопросы нарушений апоптоза и их роли в патогенезе острых отравлений химической этиологии как у лиц трудоспособного, так и геронтологического возраста мало изучены.

Цель исследования — изучить характер нарушений апоптоза клеток периферической крови у больных старше 60 лет с острыми отравлениями психофармакологическими препаратами (ОПФП).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования были проведены у 47 больных с ОПФП в возрасте от 61 года до 89 лет. Из них (основная масса) 39 пациентов (82,9%) — женщины, мужчин было 8 человек (17,1%). По тяжести отравления при поступлении в стационар, согласно классификации Е.А. Лужникова [7], пациентов разделили на три группы. В 1-ю группу с отравлениями легкой степени вошли 9 человек, во 2-ю — средней степени тяжести — 8. Наиболее многочисленной явилась 3-я группа больных с тяжелой интоксикацией — 30 человек.

Контрольную группу составили 20 добровольцев в возрасте от 61 года до 80 лет, значения изучаемых показателей которых были приняты за референтные величины. Необходимость такой группы обоснована отсутствием по ряду причин референтных величин лабораторных показателей апоптоза при старении. Существуют возрастные нормы для периода становления и зрелости. Однако на этапе старения определить их границы гораздо труднее, так как здесь нет резких переходов между пожилым, старческим возрастом и возрастом пациентов, которых можно отнести к группе долгожителей [8].

Лабораторные показатели апоптоза исследовали на 1-е, 3-и, 5–7-е сут пребывания больных в стационаре.

Исследование апоптоза лимфоцитов и подсчет погибших лейкоцитов в венозной крови проводили с помощью проточной цитометрии на приборе *CYTOMIC FC500* фирмы *Beckman Coulter*. По экспрессии *Fas*-рецептора (*CD95*) оценивали количество лимфоцитов, готовых к апоптозу, и выражали их в процентах по отношению к общей популяции лимфоцитов [9, 10]. Концентрацию лимфоцитов, находящихся в процессе апоптотической гибели, определяли с помощью набора *Annexin V-FITC/TAAD Kit* (фирма *Beckman Coulter*). Для этого забирали кровь в пробирку с антикоагулянтом (этилендиаминтетраацетат, или трилон Б), затем выделяли лимфоцитарно-моноцитарный слой и ресуспендировали клетки в буфере, содержащем ионы кальция. После 15-минутной инкубации клеток с аннексином и витальным ДНК-специфичным (ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота) красителем 7-амино-актиномицином *D* при температуре 4°C на цитометре подсчитывали относительное содержание лимфоцитов на ранних стадиях апоптоза (*Annexin V+/TAAD–*, ранний апоптоз — РА) и уже погибших в результате апоптоза (*Annexin V+/TAAD+*, поздний апоптоз — ПА) [9, 11]. Концентрацию погибших лейкоцитов в крови определяли с помощью красителя *TAAD* [12] и моноклональных антител *CD45* (панлейкоцитарный маркер), меченых *FITC* [13].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы *Statistica 7.0*. Данные были представлены в виде значения медианы (*Me*) и квартилей (25%; 75%), использовались непараметрические методы анализа. Статистическую значимость различий между двумя независимыми группами оценивали по методу Манна–Уитни, изменение параметров в одной группе больных в динамике — с помощью рангового критерия парных сравнений Уилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнительном анализе референтных значений показателей крови у доноров моложе 60 лет [14] и у добровольцев старше 60 лет отмечено, что общее количество лейкоцитов в их венозной крови значимых отличий не имело (табл. 1). Относительное содержание погибших лейкоцитов в венозной крови у лиц старше 60 лет было несколько выше, а их абсолютное количество соответствовало референтным значениям доноров. Обращало на себя внимание сниженное в 1,7 раза содержание лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности *Fas*-рецептор (*CD95*), что, вероятно, свидетельствовало об угнетении активационных процессов в иммунной системе у лиц пожилого и старческого

возраста. Концентрация в венозной крови лимфоцитов на ранних стадиях апоптоза, напротив, была в 2,6 раза выше референтных значений и доноров, а на поздних стадиях соответствовала им.

Таблица 1

Сравнительная характеристика апоптоза клеток крови у практически здоровых добровольцев

Показатели	Референтные значения для добровольцев	
	моложе 60 лет ($n=40$)	старше 60 лет ($n=20$)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,4 (6,17; 6,63)	6,0 (5,1; 7,45)
Лейкоциты, погибшие клетки, %	0,65 (0,56; 0,71)	0,93 (0,60; 1,29)*
Лейкоциты, погибшие клетки, $10^9/\text{л}$	0,041 (0,035; 0,046)	0,059 (0,038; 0,075)
<i>CD95</i> , %	44,5 (43,8; 45,3)	26,6 (24,3; 30,7)*
РА, %	2,74 (2,70; 2,98)	7,25 (5,87; 12,71)*
ПА, %	0,1 (0,08; 0,12)	0,12 (0,07; 0,20)

Примечание: * — статистическая значимость отличия от показателя у больных моложе 60 лет ($p < 0,05$); ПА — поздний апоптоз; РА — ранний апоптоз

Исходя из изложенного выше, для объективной оценки нарушений лабораторных показателей клеточной токсемии и влияния на них проводимого лечения лицам пожилого и старческого возраста с ОПФП нами были использованы данные, полученные у добровольцев старше 60 лет в качестве контрольных значений изучаемых параметров.

Оценка показателей апоптоза клеток крови у больных старше 60 лет с ОПФП различной степени тяжести, изученных в динамике на фоне проводимого лечения (табл. 2), показала, что в первые сутки пребывания в стационаре у всех больных отмечался лейкоцитоз, нарастающий соответственно тяжести интоксикации. На этом фоне при отравлениях легкой и средней степеней тяжести выявлено незначимое снижение относительного показателей контрольной группы абсолютного (в 1,2 и 1,1 раза соответственно) и относительного (в 1,5 раза) количества погибших лейкоцитов, которое сохранялось на дальнейших этапах исследования. В то же время у пациентов с тяжелыми отравлениями абсолютное количество погибших лейкоцитов исходно и на 3-и сут было больше, чем в контроле, в 1,6 раза ($p < 0,05$). В дальнейшем обнаруживалась тенденция к нормализации этого показателя. Относительное количество погибших лейкоцитов на первых двух этапах исследования не имело значимых различий с данными контрольной группы, а к 5–7-м сут обнаруживало тенденцию к снижению (см. табл. 2).

По мере нарастания тяжести отравления выявлено увеличение содержания *CD95* по сравнению с контрольной группой от 1,1 до 1,6 раза. При этом у пациентов с отравлениями легкой и средней степенями тяжести к 5–7-м сут отмечена тенденция к его дальнейшему росту, тогда как при тяжелых отравлениях, наоборот, к снижению относительно исходного значения.

Показатели РА и ПА во всех изучаемых группах и во все сроки исследования статистически незначимо превышали их значения в контрольной группе.

В табл. 3 представлены результаты исследований у пациентов при осложненном пневмонией и неосложненном течении острого отравления. В первые сутки у пациентов обеих групп отмечали лейкоцитоз, на фоне которого возрастало абсолютное содержание погибших клеток, что являлось результатом развития эндогенной интоксикации. Нормализацию абсолютно-

Таблица 2

Динамика показателей апоптоза клеток крови у больных старше 60 лет с острыми отравлениями психофармакологическими препаратами различной степени тяжести

Показатели	Контрольные значения	Отравления легкой степени (n=9)			Отравления средней степени (n=8)			Отравления тяжелой степени (n=30)		
		1-е сут	3-и сут	5–7-е сут	1-е сут	3-и сут	5–7-е сут	1-е сут	3-и сут	5–7-е сут
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,00 (5,10; 7,45)	7,11 (5,10; 9,00)	8,70 (6,90; 12,10)*	7,7 (6,35; 11,55)	7,80 (6,30; 9,00)*	8,70 (6,80; 11,30)*	8,90 (6,50; 9,20)	11,70 (8,70; 17,15)* ^{1,2}	10,00 (7,90; 13,60)*	9,70 (6,10; 13,80)*
Лейкоциты, погибшие клетки, %	0,93 (0,60; 1,29)	0,60 (0,40; 0,74)	0,48 (0,40; 0,70)*	0,52 (0,39; 0,93)	0,61 (0,41; 1,00)	0,48 (0,40; 0,92)*	0,44 (0,34; 0,60)	0,89 (0,60; 1,56)	1,02 (0,77; 1,20) ^{1,2}	0,70 (0,51; 1,51)
Лейкоциты, погибшие клетки, 10 ⁹ /л	0,059 (0,038; 0,075)	0,049 (0,019; 0,055)	0,048 (0,028; 0,057)	0,050 (0,034; 0,073)	0,051 (0,047; 0,081)	0,048 (0,027; 0,087)	0,037 (0,030; 0,063)	0,097 (0,058; 0,190)*	0,097 (0,065; 0,151)* ¹	0,070 (0,050; 0,128)
CD95, %	26,60 (24,30; 30,70)	33,85 (19,40; 55,00)*	33,35 (30,60; 36,95)*	41,54 (25,79; 52,30)*	41,60 (32,50; 54,80)*	35,70 (31,40; 51,80)*	47,30 (35,80; 57,30)*	46,80 (39,60; 57,90)*	39,51 (31,43; 53,53)*	40,15 (29,12; 48,00)*
РА, %	7,25 (5,87; 12,71)	9,3 (6,87; 10,60)	8,12 (5,00; 10,70)	7,90 (6,06; 11,60)	9,6 0 (7,10; 10,10)	9,48 (6,50; 12,45)	9,30 (6,50; 13,90)	9,80 (6,40; 13,02)	8,80 (6,67; 11,40)	11,18 (6,55; 16,20)
ПА, %	0,12 (0,07; 0,20)	0,13 (0,03; 0,30)	0,16 (0,06; 0,20)	0,20 (0,12; 0,45)	0,13 (0,10; 0,20)	0,20 (0,08; 0,20)	0,20 (0,20; 0,24)	0,10 (0,07; 0,30)	0,12 (0,07; 0,30)	0,17 (0,09; 0,20)

Примечания: * — отличие от контрольной группы ($p < 0,05$); ¹ — отличие от показателей при отравлениях средней тяжести ($p < 0,05$); ² — отличие от показателей при отравлениях легкой степени ($p < 0,05$); ПА — поздний апоптоз; РА — ранний апоптоз

Таблица 3

Сравнительная оценка показателей апоптоза клеток крови у больных старше 60 лет с осложненным пневмонией (n=15) и неосложненным (n=24) течением острых отравлений психофармакологическими препаратами

Показатели	Контрольные значения	Сроки наблюдения					
		1-е сут		3-и сут		5–7-е сут	
		Осложненное	Неосложненное	Осложненное	Неосложненное	Осложненное	Неосложненное
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,0 (5,1; 7,45)	10 (8,3; 16,3)*	11,75 (9,0; 16,5)*	12,75 (7,5; 14,2)*	8,4 (8,1; 11,7)*	10,1 (7,1; 16,6)*	8,4 (6,1; 10,4)*
Лейкоциты, погибшие клетки, %	0,93 (0,60; 1,29)	0,9 (0,67; 1,33)	0,97 (0,60; 1,70)	1,03 (0,81; 1,20)	0,85 (0,50; 1,2)	0,65 (0,59; 0,88)	1,135 (0,555; 2,575)
Лейкоциты, погибшие клетки, 10 ⁹ /л	0,059 (0,038; 0,075)	0,096 (0,057; 0,165)*	0,125 (0,054; 0,241)*	0,108 (0,066; 0,152)*	0,076 (0,043; 0,138)	0,065 (0,054; 0,126)	0,101 (0,050; 0,142)
CD95, %	26,6 (24,3; 30,7)	41,9 (33; 56,3)*	44,7 (34,09; 53,1)*	35,5 (28,4; 51,7)*	39,96 (34,5; 54,66)*	40,85 (31,53; 56,03)*	40,9 (29,12; 52,8)*
РА, %	7,25 (5,87; 12,71)	8,0 (5,2; 13,1)	10,05 (7,74; 12,5)	9,68 (6,67; 17,96)	8,26 (6,04; 11,12)	10,84 (6,55; 17,3)	8,80 (6,3; 12,36)
ПА, %	0,12 (0,07; 0,20)	0,1 (0,06; 0,23)	0,1 (0,09; 0,16)	0,15 (0,07; 0,4)	0,10 (0,09; 0,19)	0,1 (0,05; 0,18) ¹	0,2 (0,17; 0,22)

Примечание: * — отличие от показателей в контрольной группе ($p < 0,05$); ¹ — отличие от показателей в группе с неосложненным течением ($p < 0,05$); ПА — поздний апоптоз; РА — ранний апоптоз

го числа погибших лейкоцитов в венозной крови при неосложненном течении острого отравления наблюдали уже на 3-и сут, тогда как при осложненном течении концентрация погибших лейкоцитов приближалась к нормальным значениям в более поздние сроки.

Выявлена общая закономерность в изменениях значений *Fas*-рецептора CD95. На всех этапах исследования показатели CD95 превышали значения контрольной группы от 1,2 до 1,5 раза и в сравниваемых группах не имели различий.

При исследовании в динамике у больных с осложненным течением заболевания обнаружена тенденция к росту РА, а при отсутствии осложнений исходно увеличенная в 1,4 раза доля лимфоцитов на ранних стадиях апоптоза обнаруживала тенденцию к нормализации.

Исследование в динамике показателей доли лимфоцитов на стадии позднего апоптоза не выявило значимых различий с аналогичными показателями контрольной группы.

Данные табл. 4 демонстрируют, что в группе умерших больных на всех этапах исследования сохранялся умеренный лейкоцитоз, тогда как у выживших пациентов количество лейкоцитов в периферической крови начинало восстанавливаться уже на 3-и сут, и

к 5–7-м сут полностью нормализовывалось. Также у умерших больных на 3-и сут острого отравления абсолютное содержание погибших лейкоцитов оставалось повышенным по сравнению с контролем и было статистически значимо выше, чем у пациентов с благоприятным исходом заболевания.

Отличительной чертой неблагоприятного исхода можно считать заметное увеличение (в 1,6 раза) РА на 5–7-е сут пребывания больных в стационаре по сравнению с исходным при нормальных значениях ПА.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существует мнение, что в различных типах интактных клеток в физиологических условиях старение сопровождается увеличением апоптоза и чувствительности клеток к нему. Это согласуется с полученными нами данными у добровольцев старше 60 лет.

В неделящихся клетках, которые подвергаются окислительному стрессу в течение длительного периода времени, происходит накопление поврежденных субклеточных компонентов, и эти клетки в конечном итоге подвергаются апоптозу. Потеря неделящихся клеток (которые не могут быть заменены новыми) тесно связана с ухудшением функционирования, что ведет к патологическим состояниям.

Таблица 4

Сравнительная оценка показателей апоптоза периферической крови у больных старше 60 лет с благоприятным ($n=34$) и неблагоприятным ($n=12$) течением острых отравлений психофармакологическими препаратами

Показатели	Контрольные значения	Сроки наблюдения					
		1-е сут		3-и сут		5–7-е сут	
		Благоприятный исход	Неблагоприятный исход	Благоприятный исход	Неблагоприятный исход	Благоприятный исход	Неблагоприятный исход
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,0 (5,1; 7,45)	10,55 (8,1; 13,8)*	10,7 (8,4; 13,7)*	8,2 (7,5; 10,5)* ¹	12,75 (11,40; 14,5)* ²	6,8 (5,9; 9,9)*	12,45 (10,10; 17,70)* ²
Лейкоциты, погибшие клетки, %	0,93 (0,60; 1,29)	0,86 (0,60; 1,79)	0,88 (0,7; 1,33)	0,77 (0,50; 1,10)	0,98 (0,83; 1,50)	0,88 (0,51; 1,67)	0,65 (0,52; 0,93)
Лейкоциты, погибшие клетки, $10^9/\text{л}$	0,059 (0,038; 0,075)	0,102 (0,051; 0,222)*	0,089 (0,058; 0,143)*	0,066 (0,039; 0,116)	0,116 (0,082; 0,173)* ²	0,070 (0,031; 0,128)	0,071 (0,063; 0,127)
CD95, %	26,6 (24,3; 30,7)	42,33 (33,54; 53,65)*	41,2 (30,65; 56,30)*	38,56 (32,2; 51,70)*	33,95 (30,40; 51,70)*	43,27 (30,1; 57,3)*	38,7 (25,27; 42,85)*
РА, %	7,25 (5,87; 12,71)	9,75 (6,99; 11,53)	8,0 (4,12; 13,1)	9,63 (6,77; 12,25)	7,15 (5,72; 10,45)	9,59 (5,83; 12,36)	12,95 (8,18; 16,75)
ПА, %	0,12 (0,07; 0,20)	0,1 (0,08; 0,20)	0,1 (0,06; 0,20)	0,11 (0,08; 0,20)	0,16 (0,09; 0,35)	0,2 (0,1; 0,24)	0,10 (0,07; 0,20)

Примечание: * – отличие от показателей в контрольной группе ($p<0,05$); ¹ – отличие от исходного значения в группе ($p<0,05$); ² – отличие от показателей в группе с благоприятным исходом ($p<0,05$); ПА – поздний апоптоз; РА – ранний апоптоз

В стабильных и непрерывно делящихся клетках, которые могут быть заменены в результате клеточной пролиферации, апоптоз служит, возможно, для устранения клеток, подвергшихся окислительному стрессу, гликозилированию и имеющих повреждения ДНК, следовательно, объем апоптоза в пожилом возрасте зависит от уровня накопления патологических изменений.

Усиление процессов апоптоза при старении может рассматриваться как защитный механизм против связанного с возрастом онкогенеза [8]. Наряду с этим, обнаруженные высокие значения РА и ПА у людей пожилого и старческого возраста, возможно, обусловлены наличием у них ишемических, инфекционных, нейродегенеративных и других хронических заболеваний [15].

Выявленное нами снижение содержания CD95 у добровольцев пожилого и старческого возраста может быть обусловлено как замедлением активационных процессов в иммунной системе, так и тем, что индукция апоптоза осуществляется преимущественно по внутреннему пути.

Необходимые для апоптоза гены («программа смерти») есть в каждой клетке, но их транскрипция начинается только при получении клеткой сигнала. Выделяют два пути реализации контроля апоптоза.

Внешний (рецепторный) путь реализуется за счет специфической стимуляции рецепторов, принадлежащих к суперсемейству фактора некроза опухоли, их в медицинской литературе обозначают как рецепторы смерти (*Death Receptor — DR*). Наиболее изучены рецептор *Fas* (*Apo-1* или *CD95*) и его лиганд (*Fas*-лиганд — *FasL* или *CD95L*). Олигомеризация рецептора, опосредованная лигандом, приводит к активации каспазы-8.

Внутренний (митохондриальный) путь индукции апоптоза связан с действиями таких сигналов, как недостаток факторов роста, гормонов или цитокинов, избыточное накопление радикалов кислорода, гипоксией и др. Проапоптозные стимулы инициируют активацию каспазы-9, которую опосредует белок, именуемый фактором активации апоптозных протеаз. Эти стимулы действуют на митохондрии, из которых выделяется цитохром С.

Каспаза-8 и каспаза-9 активируют эффекторные каспазы, участвующие в протеолизе и вызывающие

апоптоз [16]. Выявленное нами увеличение CD95 у больных с ОПФП, вероятно, обусловлено реализацией апоптоза по внешнему пути.

Существует мнение, что при стрессе апоптозу принадлежит роль одного из ключевых механизмов, определяющих специфику реакции организма. Выделение стероидных гормонов корой надпочечников при реализации стрессорной реакции сопровождается повышенным апоптозом клеток [16–18]. Именно чувствительностью к действию стероидов определяется спектр тканей, поражаемых при стрессе. К таким тканям относятся в первую очередь лимфоидная ткань и слизистые оболочки, прежде всего кишечника. Результатом является такое типичное проявление стресса, как опустошение лимфоидных органов.

Результаты собственных исследований не выявили значимых различий между одноименными показателями у пациентов с отравлениями различной степени тяжести в первые сутки пребывания в стационаре. Это, по нашему мнению, указывает на снижение со стороны изучаемой системы у данной категории больных реакции на стресс, обусловленный острой химической травмой. Ранее нами было установлено, что при одинаковых по тяжести ОПФП показатели стресса у геронтологических больных значительно ниже, чем у лиц моложе 60 лет [19].

Некоторые авторы полагают, что развитие инфекционного воспаления связано с процессами торможения апоптоза. Существуют данные о способности некоторых вирусов и микроорганизмов вырабатывать вещества, похожие на естественные ингибиторы процесса клеточной гибели. Так, аденовирус синтезирует белок, похожий на *Bcl-2*, хламидии влияют на поступление в цитозоль митохондриального цитохрома С, а *Toxoplasma gondii*, проникая в клетку, делает ее устойчивой к различным медиаторам апоптоза [20]. Нашими исследованиями установлено, что в случаях развития осложнений (пневмонии) происходил рост РА. Это согласуется с мнением других исследователей, которые считают, что апоптоз не является обязательной составляющей в реализации большинства патологических процессов, в том числе воспалительной реакции [16, 21].

Таким образом, проведенные исследования показали, что у больных с острыми отравлениями геронто-

логического возраста, хотя и выявлены отклонения от нормы изучаемых показателей апоптоза на различных этапах исследования, в целом не удалось установить их информативности для прогноза течения и исхода заболевания.

ВЫВОДЫ

1. У практически здоровых добровольцев старше 60 лет, составивших контрольную группу, количество погибших лейкоцитов и доля лимфоцитов на ранних стадиях апоптоза выше, чем у лиц моложе этого возраста, в 1,4 и в 2,6 раза соответственно, а доля CD95+ лимфоцитов ниже в 1,6 раза.

2. У больных старше 60 лет с острыми отравлениями психофармакологическими препаратами различ-

ной степени тяжести на всех этапах исследования доля CD95+ лимфоцитов превышает значения аналогичных показателей в контрольной группе от 1,1 до 1,6 раза, а доля лимфоцитов на стадиях раннего и позднего апоптоза не имеет статистически значимых различий с соответствующими показателями этой группы.

3. У пациентов пожилого и старческого возраста с острыми отравлениями психофармакологическими препаратами с учетом выявленных нарушений показателей клеточной токсемии не представляется возможным выделить информативные критерии в оценке развития осложнений и исхода интоксикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шилов В.Н. Молекулярные механизмы структурного гомеостаза. М.: Интерсигнал, 2006. 288 с.
2. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 608 с.
3. Манько В.М., Девришов В.А. Ветеринарная иммунология. Фундаментальные основы. М.: Анровет, 2011. 752 с.
4. Булгакова В.А. Клиническое значение изучения маркеров активации и апоптоза иммунокомпетентных клеток при atopической бронхиальной астме у детей. Педиатрия. 2009; 87(3): 11–17.
5. Турышева О.Е., Хасанова А.Р., Мингазетдинова Л.Н., Муталова Э.Г. Экспрессия FAS (CD95) лимфоцитов в реакции апоптоза у больных хроническим панкреатитом. Современные наукоемкие технологии. 2009; (9): 116–120.
6. Боровкова Н.В., Дамиров М.М., Олейникова О.Н. Апоптоз клеток эндометрия в норме и при пролиферативных заболеваниях матки. Журнал им. Н.В.Склифосовского. Неотложная медицинская помощь. 2016; (2): 48–53.
7. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. 3-е изд., перераб. и доп. М., Медицина, 1999. 416 с.
8. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: рук-во для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 976 с.
9. Susin S.A., Zamzami N., Castedo M., et al. The central executioner of apoptosis: multiple connections between protease activation and mitochondria in Fas. APO-1/CD95 — and ceramide-induced apoptosis. J. Exp. Med. 1997; 186 (1): 25–37. PMID: 9206994.
10. Itoh N., Yonehara S., Ishii A., et al. The polypeptide encoded by the cDNA for human surface antigen FAS can mediate apoptosis. Cell. 1991; 66(2): 233–243. PMID: 1713127.
11. Lecoer H., Ledru E., Prevost M.-C., Gougeon M.-L. Strategies for phenotyping apoptotic peripheral human lymphocytes comparing ISNT, annexin-V and 7-AAD cytofluorometric staining methods. J. Immunol. Met. 1997; 209(2): 111–123. PMID: 9461328.

REFERENCES

1. Shilov V.N. *Molecular mechanisms of structural homeostasis*. Moscow: Intersignal Publ., 2006. 288 p. (In Russian).
2. Yarin A.A. *Fundamentals of immunology*. Moscow: Meditsina Publ., 1999. 608 p. (In Russian).
3. Man'ko V.M., Devrishov V.A. *Veterinary immunology. The fundamental basis*. Moscow: Anrovet Publ., 2011. 752 p. (In Russian).
4. Bulgakova V.A. Clinical significance of the study of activation markers and apoptosis of immunocompetent cells in atopical bronchial asthma in children. *Pediatrics*. 2009; 87(2): 12–18. (In Russian).
5. Turysheva O.E., Khasanova A.R., Mingazetdinova L.N., Motalova E.G. Expression of FAS (CD95) lymphocytes in the reaction of apoptosis in patients with chronic pancreatitis. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2009; (9): 116–120. (In Russian).
6. Borovkova N.V., Damirov M.M., Oleynikova O.N. Endometrial cells apoptosis in health and proliferative diseases of the uterus. *Skifosovsky Journal Emergency Medical Care*. 2016; (2): 48–53. (In Russian).
7. Luzhnikov E.A. *Clinical toxicology*. 3rd ed., rev. and add. Moscow, Meditsina Publ., 1999. 416 p. (In Russian).
8. Kishkun A.A. *Biological age and aging: the possibilities of determination and the path of correction*. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2008. 976 p. (In Russian).
9. Susin S.A., Zamzami N., Castedo M., et al. The central executioner of apoptosis: multiple connections between protease activation and mitochondria in Fas. APO-1/CD95 — and ceramide-induced apoptosis. *J Exp Med*. 1997; 186 (1): 25–37. PMID: 9206994.
10. Itoh N., Yonehara S., Ishii A., et al. The polypeptide encoded by the cDNA for human surface antigen FAS can mediate apoptosis. *Cell*. 1991; 66(2): 233–243. PMID: 1713127.

12. Zelenin A.V., Poletaev A.I., Stepanova N.G., et al. 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. *Cytometry*. 1984; 5(4): 348–354. PMID: 6468175. DOI: 10.1002/cyto.990050410.
13. Morse E.E., Yamase H.T., Greenberg B.R., et al. The role of cytometry in the diagnosis of lymphoma: a critical analysis. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1994; 24(1): 6–11. PMID: 8147568.
14. Бадалян А.В., Боровкова Н.В., Гольдфарб Ю.С., и др. Нарушения показателей клеточного компонента токсемии и их коррекция при острых отравлениях в реабилитационном периоде. Токсикологический вестник. 2015; 6(135): 2–9.
15. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. В кн.: Актуальные проблемы патофизиологии. М.: Медицина, 2001: 13–56.
16. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 528 с.
17. Bonegio R., Lieberthal W. Role of apoptosis in the pathogenesis of acute renal failure. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2002; 11(3): 301–308. PMID: 11981260.
18. Mannick J.B., Hausladen A., Liu L., et al. Fas-induced caspase denitrosylation. *Science*. 1999; 284(5414): 651–654. PMID: 10213689.
19. Суходолова Г.Н., Ильяшенко К.К., Белова М.В., и др. Особенности вариабельности ритма сердца в первые часы острых отравлений психофармакологическими препаратами у лиц трудоспособного и пожилого возраста. Биомедицинский журнал. 2015; (16): 285–292.
20. Nash P.B., Purner M.B., Leon R.P., et al. Toxoplasma gondii-infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis. *J. Immunol.* 1998; 160: 1824–1830. PMID: 9469443.
21. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis. *Anticancer. Res.* 2000; 20(6B): 4115–4139. PMID: 11205238.

11. Lecoer H., Ledru E., Prevost M.-C., Gougeon M.-L. Strategies for phenotyping apoptotic peripheral human lymphocytes comparing ISNT, annexin-V and 7-AAD cytofluorometric staining methods. *J Immunol Met.* 1997; 209(2): 111–123. PMID: 9461328.
12. Zelenin A.V., Poletaev A.I., Stepanova N.G., et al. 7-Amino-actinomycin D as a specific fluorophore for DNA content analysis by laser flow cytometry. *Cytometry*. 1984; 5(4): 348–354. PMID: 6468175. DOI: 10.1002/cyto.990050410.
13. Morse E.E., Yamase H.T., Greenberg B.R., et al. The role of cytometry in the diagnosis of lymphoma: a critical analysis. *Ann Clin Lab Sci.* 1994; 24(1): 6–11. PMID: 8147568.
14. Badalyan A.V., Borovkova N.V., Gol'dfarb Yu.S., et al. Malformations of cellular components of toxemia and their correction at acute poisonings in rehabilitation period. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2015; 6(135): 2–9. (In Russian).
15. Yarin A.A. Apoptosis: the nature of the phenomenon and its role in norm and at a pathology. In: *Actual problems of pathophysiology*. Moscow: Meditsina Publ., 2001: 13–56. (In Russian).
16. Khaitov R.M. *Immunology*. 2nd ed., rev. and add. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2013. 528 p. (In Russian).
17. Bonegio R., Lieberthal W. Role of apoptosis in the pathogenesis of acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2002; 11(3): 301–308. PMID: 11981260.
18. Mannick J.B., Hausladen A., Liu L., et al. Fas-induced caspase denitrosylation. *Science*. 1999; 284(5414): 651–654. PMID: 10213689.
19. Sukhodolova G.N., Il'yashenko K.K., Belova M.V., et al. Features heart rate variability in the early hours of acute poisoning by psychopharmacological drugs in people of working-aged and elderly. *Biomeditsinskiy zhurnal*. 2015; 16 (1): 285–292.

20. Nash P.B., Purner M.B., Leon R.P., et al. Toxoplasma gondii-infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis. *J Immunol.* 1998; 160: 1824–1830. PMID: 9469443.

21. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis. *Anticancer Res.* 2000; 20(6B): 4115–4139. PMID: 11205238.

Received on 27.02.2017

Поступила 27.02.2017

APOPTOSIS OF BLOOD CELLS IN GERIATRIC PATIENTS WITH ACUTE POISONINGS WITH PSYCHOPHARMACOLOGICAL DRUGS

K.K. Ilyashenko^{1*}, M.V. Belova^{1,2}, A.Y. Simonova¹, N.V. Borovkova¹, Y.V. Andreyev¹, M.M. Potkhveriya^{1,2}

¹ N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

* **Contacts:** Kapitalina Konstantinovna Ilyashenko, Dr. Med. Sci., Leading Researcher of the Department for Acute Poisonings Treatment, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Healthcare Department. E-mail: toxikapa@mail.ru

ABSTRACT We studied apoptosis of peripheral blood cells in 47 patients older than 60 years with varying course and outcome of acute poisoning with psychopharmacological drugs. It is shown that a control group of volunteers of the same age should be formed for an objective assessment of these disturbances. We revealed deviation of apoptotic parameters from the control group values. However, we failed to specify its information value for the prognosis and disease outcome.

Keywords: apoptosis, blood cells, gerontology, acute poisoning.

For citation Ilyashenko K.K., Belova M.V., Simonova A.Y., et al. Apoptosis of blood cells in geriatric patients with acute poisonings with psychopharmacological drugs. *Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care.* 2017; 6(3): 210–215. DOI: 10.23934/2223-9022-2017-6-3-210-215 (In Russian)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments The study had no sponsorship