

УДК 616.137-004.6-085.232:582.272.46

Т.С. Запорожец¹, К.В. Майстровский², В.Г. Раповка², А.К. Гажя¹, Т.П. Смолина¹, Т.Н. Звягинцева³

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии Сибирского отделения РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1),

² Владивостокский государственный медицинский университет (690600 Владивосток, ул. Острякова, 2), ³ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159)

РОЛЬ Т-КЛЕТОЧНОЙ ДИСФУНКЦИИ В РАЗВИТИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА СОСУДОВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

Ключевые слова: атеросклероз, активационные антигены, субпопуляции лимфоцитов, фукоиданы.

На материале 40 клинических наблюдений изучена роль Т-клеточной дисфункции в развитии атеросклероза сосудов нижних конечностей. Установлено, что показатели структуры основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови находятся в границах значений, констатирующих удовлетворительную функцию иммунной системы. В то же время увеличение числа циркулирующих лимфоцитов, а также усиление экспрессии рецептора к интерлейкину-2, антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса и апоптотического маркера на поверхности лимфоцитов свидетельствуют о том, что активация Т-клеток не ограничивается зоной атеросклеротической бляшки. Параметры, характеризующие соотношение субпопуляций лимфоцитов и выраженность активационных процессов, подтверждают участие циркулирующих активированных Т-лимфоцитов в патогенезе атеросклероза. Установлено корригирующее влияние биологически активной добавки «Фуколам» на основе фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* на степень выраженности воспалительного процесса у больных с атеросклерозом сосудов нижних конечностей.

В настоящее время атеросклеротические поражения сосудов рассматриваются как воспалительный и репаративный ответы на хроническое и эпизодическое повреждение интимы артерий, в котором принимают участие лимфоциты, моноциты/макрофаги, цитокины, молекулы межклеточной адгезии, белки острой фазы, компоненты комплемента, активные формы кислорода, оксид азота и другие факторы, формирующие пролиферативный пул в месте повреждения [3, 4, 8, 15]. Участие Т-лимфоцитов в атерогенезе обусловлено их ролью в антигенном распознавании, клональной экспансии, инициации клеточно-опосредованного воспалительного ответа и подтверждено результатами клинико-иммунологических исследований, демонстрирующих сопряженность манифестации клинических симптомов атеросклероза и процессов Т-клеточной активации [4]. Полагают, что активация Т-лимфоцитов и, скорее всего, CD4⁺-Т-лимфоцитов происходит в Т-зоне лимфатических узлов, регионарных к поврежденным участкам сосудов, откуда активированные Т-клетки мигрируют в соответствующие участки сосудистой стенки [3]. Уже на ранних стадиях атерогенеза в бляшках иммуногистохимически выявляются CD25⁺-Т-лимфоциты, свидетельствующие об активации и функциональной полноценности клеток [14]. Отражением активационных процессов в зоне

повреждения сосуда могут быть количественные изменения циркулирующих лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены. В исследованиях ряда авторов показано, что хроническая Т-клеточная активация, сопровождающаяся увеличением количества лимфоцитов, которые экспрессируют активационные антигены, наблюдается не только в зоне повреждения, но и в периферической крови и встречается у пациентов с различными формами атеросклероза [4]. Однако данные о количественном и функциональном состоянии циркулирующих Т-лимфоцитов при атеросклерозе сосудов нижних конечностей немногочисленны и противоречивы.

Современный тактический подход к лечению больных с атеросклеротическим поражением сосудов нижних конечностей должен обеспечивать рациональное сочетание комплекса методов, направленных в числе прочего на снижение процессов Т-клеточной активации, подавление гиперпродукции цитокинов и свободных радикалов, коррекцию гемостаза, нормализацию липидного и углеводного обмена.

Реализация указанных направлений лечения в настоящее время стала возможной благодаря появлению новых эффективных фармакологических средств, обладающих, как правило, многокомпонентным действием. Одним из вероятных подходов к эффективной коррекции обменных процессов, тромбоцитарного гемостаза и иммунных нарушений у больных с атеросклеротическим поражением сосудов нижних конечностей может явиться включение в комплексную терапию биокорректоров.

В последнее время опубликовано много работ, посвященных терапевтическому потенциалу фукоиданов – сульфатированных гомо- и гетерополисахаридов из бурых водорослей, обладающих широким спектром биологической активности [1, 10, 11]. Многообещающими являются исследования фукоидана в качестве индуктора ангиогенеза для стимулирования ревазуляризации в ишемизированных областях [5].

Ранее мы показали, что фукоидан из бурой водоросли Охотского моря *Fucus evanescens* обладает иммуномодулирующими, противовоспалительными, антикоагулянтными свойствами [1]. Включение биологически активной добавки «Фуколам» на основе фукоидана из *F. evanescens* в схему консервативной терапии пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей приводило к снижению

гиперкоагуляционного потенциала крови, нормализации липидного и углеводного обмена [2].

Целью настоящей работы явилось исследование уровня экспрессии активационных маркеров лимфоцитами периферической крови пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей и оценка эффективности использования низкомолекулярного фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* (в составе биологически активной добавки «Фуколам») в качестве средства профилактики прогрессирования атеросклеротических поражений сосудов.

Материал и методы. В исследование было включено 40 пациентов от 40 до 60 лет с окклюзионными заболеваниями сосудов и ишемией конечностей Па–Ша стадий по Фонтену–Покровскому, находившиеся на лечении в краевой клинической больнице № 1 г. Владивостока. Критерии исключения: острые инфекции, сахарный диабет, сердечная недостаточность III–IV функционального класса по NYHA, органические дисфункции, которые могли воздействовать на воспалительный статус. Всех пациентов рандомизировали методом случайной выборки (централизованный компьютерный метод) на однородные, сопоставимые по возрасту и клинической картине группы. Перед началом лечения было проведено комплексное обследование, включавшее клинические анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, коагулограмму, доплеро- и ангиографию, исследование тканевого кровотока. Иммунологические исследования проводили до начала приема «Фуколама» и на вторые сутки после завершения терапии (21-е сутки лечения).

Все пациенты были разделены на 2 группы. Больные 1-й группы получали традиционную, адекватную форме и тяжести заболевания терапию, которая включала назначение дезагрегантов, средств, улучшающих реологические свойства крови, и противовоспалительных средств. Пациенты 2-й группы в дополнение к традиционной терапии получали биологически активную добавку «Фуколам» на основе фукоидана из *F. evanescens*¹ по 1 капсуле (500 мг) 2 раза в день в течение 21 дня. Группа контроля состояла из 20 здоровых доноров без очевидных факторов риска развития атеросклероза.

Методы исследования, план, этические нормы, критерии отбора и исключения из протокола, а также протокол исследования утверждены комитетом по биоэтической этике (протокол № 2 от 06.11.2007 г.).

Для иммунологических исследований использовали лимфоциты, выделенные из периферической крови больных. Кровь забирали в равных условиях: утром, натощак, в объеме 5–7 мл. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии (цитофлуориметр FACScan, Becton Dickinson) с использованием моноклональных антител к кластерам дифференцировки (Cluster of Differentiation – CD) с двойной меткой CD3-FITC/CD4-

PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD56+16-PE, CD3-FITC/CD19-PE (Becton Dickinson, США), CD3-FITC/CD25-PE, CD3-FITC/CD95-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE (Bekman Coulter, Франция).

Статистический анализ результатов проводился с использованием прикладного пакета Statistica 6. Применялись следующие методы: проверка нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений (W-критерий Shapiro–Wilk), парный и непарный t-критерий, непараметрические критерии Mann–Whitney и Wilkoxon.

Результаты исследования. При оценке параметров нормирования иммунограммы для основных показателей, характеризующих субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, было установлено нормальное распределение. В группе здоровых доноров при нормальном распределении показателей норму определяли как интервал признака, включающего по одному и двум средним квадратическим отклонениям от среднего значения ($M \pm 1SD$, $M \pm 2SD$), при ненормальном распределении – как интервал значений между установленными произвольно нижними и верхними процентилями общего диапазона – 25–75 и 5–95% (табл. 1).

Проведенный анализ выявил увеличение абсолютного количества лимфоцитов у пациентов обеих групп, значимо не изменявшегося в динамике лечения. Показатели, характеризующие структуру основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови, также значимо не отличались у пациентов 1-й и 2-й групп и находились в границах значений, констатирующих удовлетворительную функцию иммунной системы (табл. 2).

В то же время до лечения как в 1-й, так и во 2-й группе были выявлены признаки хронической T-клеточной активации, сопряженной с увеличением количества лимфоцитов, экспрессирующих ранние и поздние активационные антигены – рецептор к интерлейкину-2 (CD25), антигены главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR), апоптотический маркер CD95/Fas. Так, до начала лечения частота выявления рецептора к интерлейкину-2 у пациентов 1-й и 2-й групп значимо отличалась от показателя у здоровых доноров. После окончания лечения уровень экспрессии CD25 в 1-й группе не изменялся, а во 2-й статистически достоверно снижался, хотя и не достигал значений нормы (табл. 3).

Аналогичная динамика активационных процессов была выявлена при анализе экспрессии CD25 на T-лимфоцитах: медиана значений относительного содержания CD3⁺CD25⁺-лимфоцитов до лечения у пациентов с атеросклерозом была повышенной и значимо отличалась от показателя у здоровых лиц. После лечения и в 1-й, и во 2-й группах экспрессия CD25 на T-лимфоцитах оставалась повышенной, однако у пациентов, получавших в комплексе лечения «Фуколам», значимо снижалась, не достигая, впрочем, нормальных значений (табл. 3).

¹ Свидетельство Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора № 77.99.23.3.У.739.1.06 от 30.01.2006 г.

Экспрессия антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса, играющих ключевую роль в антигенной стимуляции CD4⁺-клеток, на всех лимфоцитах у пациентов с атеросклерозом была выше нормы до начала лечения и значимо не изменялась при повторном исследовании. Следует отметить, что относительное и абсолютное содержание CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов у представителей 1-й группы увеличивалось в динамике обследования, тогда как во 2-й группе значимо не изменялось. Значения проапоптотического маркера CD95/Fas после окончания лечения в 1-й группе оставались повышенными, тогда как у пациентов 2-й группы статис-

тически достоверно снижались, но не достигали показателей в группе здоровых доноров (табл. 3).

К настоящему времени доказано, что уровень риска как появления атеросклероза, так и его прогрессирования и осложненного течения находится в прямой зависимости от выраженности воспаления [14, 15]. Получены факты, которые позволяют считать, что Т-клетки могут выступать инициаторами иммунного воспаления при атерогенезе в ответ на модифицированные липопротеиды низкой плотности, а их медиаторы – как растворимые, так и контактозависимые – играть решающую роль в формировании атеросклеротических бляшек [7, 12].

Принимая во внимание ключевую роль CD4⁺-лимфоцитов в развитии активного воспаления в зоне повреждения интимы [3, 4, 6], а также данные об увеличении активированных Т-лимфоцитов и уровня растворимых форм активационных антигенов в периоды манифестации в периферической крови [11], мы провели сравнение показателей клеточного иммунитета в зависимости от степени тяжести заболевания. Было установлено, что у 14 пациентов с поражением IIIа стадии относительное содержание CD4⁺-лимфоцитов было выше по сравнению с таковым у 26 человек с заболеванием IIа стадии (45,5±3,7 и 41,3±4,8% соответственно, $p=0,007$). Выявленность активации Т-лимфоцитов также увеличивалась по мере прогрессирования атеросклероза: в IIIа стадии CD25 экспрессировался на 18,6±4,7% лимфоцитов, в том числе на 17,3±6,4% Т-лимфоцитов, а в IIа стадии – на 14,5±4,8 и 11,4±4,4% лимфоцитов соответственно.

В то же время у больных с сопутствующими диагнозами ишемической болезни сердца (I и II степени) и гипертонической болезни (I и II степени) регистрировалось значимое увеличение относительного количества CD8⁺-лимфоцитов (30,8±5,6%) по сравнению с пациентами без сопутствующих заболеваний (23,5±3,9%). Это может являться отражением индуцирующих свойств липопротеидов низкой плотности в отношении цитотоксических лимфоцитов и свидетельством выраженности процесса атерогенеза [7]. Относительное содержание CD4⁺-лимфоцитов у этих больных составляло 40,3±4,9 и 44,8±6,0% соответственно.

Обсуждение полученных данных. Выполненные нами исследования позволили установить, что у пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей IIа–IIIа стадии по Фонтейну–Покровскому показатели, характеризующие структуру основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови, находятся в границах значений, констатирующих удовлетворительную функцию иммунной системы. В то же время увеличение абсолютного количества циркулирующих лимфоцитов, а также усиление экспрессии рецептора к интерлейкину-2 (CD25), антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR), апоптотического маркера CD95/Fas на поверхности лимфоцитов свидетельствуют о том, что активация Т-клеток при атеросклерозе сосудов

Таблица 1

Диапазоны иммунологических норм здоровых доноров

Показатель		M±1SD ¹	M±2SD ¹	W ²
Лимфоциты, кл./мкл		1833–2527	1486–2874	0,97
CD3 ⁺	%	67,9–78,7	62,5–84,1	0,94
	кл./мкл	1479–1715	1361–1833	0,94
CD3 ⁺ CD4 ⁺	%	42,0–50,2	37,9–54,3	0,96
	кл./мкл	984–1160	896–1248	0,94
CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	21,1–31,3	16,0–36,4	0,92
	кл./мкл	464–688	352–700	0,94
ИРИ ³		1,6–2,0	1,4–2,2	0,94
CD19 ⁺	%	10,2–15,2	7,7–17,7	0,96
	кл./мкл	224–334	169–389	0,96
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	7,5–15,3	4,6–16,2	0,96
	кл./мкл	164–292	100–356	0,95
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ 4	%	1,30–4,40	0,50–7,30	0,71 ⁵
	кл./мкл	28,6–96,8	11–159	0,70 ⁵
CD25 ⁺	%	8,2–13	5,8–15,4	0,96
	кл./мкл	180–286	127–339	0,94
CD3 ⁺ CD25 ⁺	%	5–8,8	3,1–10,7	0,91
	кл./мкл	109–200	67–242	0,92
CD95 ⁺	%	16,4–26	11,6–30,8	0,94
	кл./мкл	363–573	258–678	0,92
CD95 ⁺ CD3 ⁺	%	3,8–8,8	1,3–11,3	0,95
	кл./мкл	83–143	28–198	0,90
HLA-DR ⁺	%	12,5–19,5	9–23	0,96
	кл./мкл	275–429	198–506	0,94
HLA-DR ⁺ CD3 ⁺	%	1,7–5,1	0–6,8	0,93
	кл./мкл	38–112	0–149	0,90
Иммуноглобулин G, г/л		9,0–12,8	7,1–14,7	0,96
Иммуноглобулин M, г/л		1,3–1,9	1,0–2,2	0,94
Иммуноглобулин A, г/л		1,3–2,7	0,6–3,4	0,96
Фагоцитарный показатель, %		75–86	70–90	0,95
Фагоцитарное число		4,0–5,2	3,4–5,8	0,89

¹ Средние квадратические отклонения (SD) от средней арифметической (M).

² Критерий Шарпго–Вилк.

³ Иммунорегуляторный индекс: CD4⁺/CD8⁺.

⁴ Указан интерквартильный размах от 5-го до 95-го перцентиля и от 25-го до 75-го перцентиля.

⁵ $p<0,05$ – уровень значимости, соответствующий данному критерию W (при $p<0,05$ параметр имеет отклонение от нормального распределения).

Таблица 2

Характеристика основных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей

Лимфоциты и субпопуляции	Под-группа ¹	W ²	M±σ, %	T-test		M±σ, кл./мкл	T-test	
				подгруппы сравнения	p		подгруппы сравнения	p
Лимфоциты	1	0,97	32,2±6,7	1–5	0,247	2365±147	1–5	0,000
	2	0,89	32,9±5,9	2–5	0,089	2279±112	2–5	0,012
	3	0,91	32,2±6,2	3–5	0,220	2308±89	3–5	0,000
	4	0,97	28,8±6,3	4–5	0,394	2252±101	4–5	0,005
	5	0,97	30,2±3,6	–	–	2180±126	–	–
CD3 ⁺	1	0,90	71,7±9,2	1–5	0,506	1696±217	1–5	0,081
	2	0,92	71,2±8,1	2–5	0,341	1622±186	2–5	0,615
	3	0,90	70,9±6,6	3–5	0,134	1636±152	3–5	0,370
	4	0,90	70,2±6,0	4–5	0,091	1580±135	4–5	0,674
	5	0,94	73,3±5,4	–	–	1597±118	–	–
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1	0,89	43,3±5,5	1–5	0,081	1024±130	1–5	0,574
	2	0,92	43,6±4,6	2–5	0,082	994±104	2–5	0,746
	3	0,94	43,9±4,6	3–5	0,121	1013±106	3–5	0,797
	4	0,88	44,9±7,9	4–5	0,550	1011±178	4–5	0,693
	5	0,96	46,1±4,1	–	–	1004±89	–	–
CD3 ⁺ CD8 ⁺	1	0,91	27,4±7,2	1–5	0,547	648±170	1–5	0,096
	2	0,89	27,6±6,7	2–5	0,462	629±152	2–5	0,097
	3	0,91	27,1±4,8	3–5	0,569	625±110	3–5	0,131
	4	0,90	27,0±5,0	4–5	0,619	608±112	4–5	0,301
	5	0,92	26,2±5,1	–	–	571±111	–	–
CD19 ⁺	1	0,92	12,3±6,4	1–5	0,805	290±151	1–5	0,710
	2	0,94	12,3±5,3	2–5	0,766	280±127	2–5	0,903
	3	0,89	12,6±3,9	3–5	0,931	291±90	3–5	0,562
	4	0,89	13,6±3,6	4–5	0,415	306±81	4–5	0,221
	5	0,96	12,7±3,3	–	–	276±71	–	–
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	1	0,90	11,7±4,9	1–5	0,407	276±115	1–5	0,163
	2	0,88	11,5±5,0	2–5	0,467	262±114	2–5	0,644
	3	0,92	10,4±4,9	3–5	1,000	240±113	3–5	0,600
	4	0,89	11,4±4,1	4–5	0,488	263±92	4–5	0,246
	5	0,96	10,4±4,9	–	–	226±106	–	–

¹ 1 – 1-я группа до лечения, 2 – 1-я группа после лечения, 3 – 2-я группа до лечения, 4 – 2-я группа после лечения, 5 – здоровые.² Критерий Шарпго–Вилк; для всех значений W – p>0,05 (параметры имеют нормальное распределение).

нижних конечностей не ограничивается зоной бляшки. Количественные параметры, характеризующие соотношение субпопуляций лимфоцитов и выраженность активационных процессов, которые зависят от степени тяжести основного и сопутствующих заболеваний, подтверждают участие циркулирующих активированных Т-лимфоцитов в патогенезе атеросклероза сосудов нижних конечностей.

Накопленные к настоящему времени данные доказывают, что программируемая клеточная смерть является главным событием патофизиологии атеросклероза, имеющим отношение к нестабильности бляшки, ее разрыву и образованию тромба. Следует подчеркнуть, что существуют фундаментальные различия между последствиями апоптоза эндотелиальных и воспалительных клеток (макрофагов/моноцитов и лимфоцитов) в зоне повреждения сосуда. Если апоптоз эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток является пусковым механизмом разрыва атеросклеротической бляшки, то гибель активирован-

ных Т-лимфоцитов и макрофагов, ограничивающая количество воспалительных клеток в зоне повреждения, стабилизирует процесс [13].

Большое значение в деструкции атеросклеротической бляшки занимают и процессы деградации экстрацеллюлярного матрикса, также связанные с активностью Т-клеток: γ-интерферон, вырабатываемый Т-лимфоцитами, активирует синтез матричных металлопротеиназ макрофагами и подавляет синтез коллагена гладкомышечными клетками, тем самым препятствуя укреплению фиброзной капсулы [12]. В этой связи определенную значимость приобретает терапия, направленная на коррекцию клеточных нарушений в стенке сосуда и в сосудистом русле, сопряженных с развитием воспалительной реакции и деструктивных процессов.

Проведены исследования, демонстрирующие, например, способность статинов ингибировать γ-интерферониндуцированную экспрессию HLA-DR на лимфоцитах периферической крови, подавлять

Таблица 3

Модуляция уровня экспрессии активационных антигенов на лимфоцитах периферической крови пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей

Субпопуляция	Под-группа ¹	W ²	M±σ (LQ–UQ) ³	Подгруппы сравнения	p	M±σ (LQ–UQ) ³	Подгруппы сравнения	p
CD25 ⁺	1	0,90	19,8±7,7	1–5	0,506	468±182	1–5	0,000
	2	0,99	21,0±6,3	2–5	0,341	478±143	2–5	0,000
	3	0,99	21,9±6,3	3–5	0,134	505±145	3–5	0,000
	4	0,89	17,1±5,6 ⁶	4–5	0,091	385±113 ⁶	4–5	0,000
	5	0,96	10,6±2,4	–	–	231±52	–	–
CD3 ⁺ CD25 ⁺	1	0,83 ⁴	10,00 (9,00–18,00)	1–5	0,008	235,50 (200,00–425,50)	1–5	0,005
	2	0,90	14,9±4,7 ⁵	2–5	0,000	339±107 ⁵	2–5	0,000
	3	0,87 ⁴	15,00 (12,00–18,00)	3–5	0,000	330,00 (265,00–400,00)	3–5	0,000
	4	0,85	10,00 (9,00–16,00) ⁶	4–5	0,002	225,00 (200,00–360,00) ⁶	4–5	0,009
	5	0,91	6,9±1,9	–	–	148±78	–	–
CD95 ⁺	1	0,87 ⁴	24,00 (15,00–29,00)	1–5	0,034	570,00 (350,00–685,00)	1–5	0,361
	2	0,85 ⁴	24,00 (20,00–28,00)	2–5	0,001	545,00 (455,00–640,00)	2–5	0,587
	3	0,86 ⁴	25,00 (15,00–29,00)	3–5	0,050	550,00 (330,00–640,00)	3–5	0,559
	4	0,88 ⁴	20,00 (11,00–26,00) ⁶	4–5	0,550	430,00 (240,00–560,00) ⁶	4–5	0,069
	5	0,89	20,4±7,1	–	–	523±154	–	–
CD3 ⁺ CD95 ⁺	1	0,82 ⁴	10,00 (9,00–13,50)	1–5	0,000	240,00 (210,00–320,00)	1–5	0,000
	2	0,88 ⁴	15,50 (10,50–17,00) ⁵	2–5	0,000	350,00 (240,00–380,00) ⁵	2–5	0,000
	3	0,88	13,6±3,3	3–5	0,000	313±76	3–5	0,000
	4	0,94	11,4±4,1 ⁶	4–5	0,000	256±92 ⁶	4–5	0,000
	5	0,90	6,9±1,9	–	–	150±41	–	–
HLA-DR ⁺	1	0,95	18,8±4,3	1–5	0,035	445±106	1–5	0,002
	2	0,90	19,5±3,8	2–5	0,001	445±141	2–5	0,000
	3	0,90	19,2±4,8	3–5	0,024	443±110	3–5	0,002
	4	0,92	17,9±3,0	4–5	0,038	403±67	4–5	0,011
	5	0,96	15,5±4,0	–	–	337±88	–	–
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	1	0,89	7,1±3,6	1–5	0,009	168±85	1–5	0,000
	2	0,91	10,2±3,9 ⁵	2–5	0,000	232±88 ⁵	2–5	0,000
	3	0,88	4,6±2,2	3–5	0,000	106±99	3–5	0,000
	4	0,95	5,8±1,7	4–5	0,000	130±38	4–5	0,000
	5	0,88	3,4±1,8	–	–	74±39	–	–

¹ Распределение групп по подгруппам, как и в табл. 2.

² Критерий Shapiro–Wilk.

³ В скобках – значения интерквартильного размаха.

⁴ Для данных значений W – p<0,05 (параметр имеет отклонение от нормального распределения).

⁵ Различие между показателями 1-й и 2-й подгрупп статистически значимо.

⁶ Различие между показателями 3-й и 4-й подгрупп статистически значимо.

клеточный ответ и предотвращать апоптоз эндотелиальных клеток [6, 11].

Однако на практике у большинства пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей, как правило, используются препараты, направленные на улучшение микроциркуляции (трентал, актовегин) и на коррекцию гемостаза (гепарин, фраксипарин). За рамками лечения остается иммунотерапия, направленная на подавление активации Т-лимфоцитов, гиперпродукции цитокинов и свободных радикалов. В числе прочих факторов одной из причин такого положения является высокая стоимость фармакологических средств. Например, в последние годы в лечебной практике появились препараты простагландинов, в частности вазапрантан, имеющие выраженную противовоспалительную активность. Вместе с тем вазапрантан – относительно дорогой

препарат, что является основным препятствием для его широкого использования в клинической практике. Учитывая вышесказанное, одним из возможных подходов, направленных на подавление воспалительного процесса, эффективную коррекцию липидного и углеводного обмена, тромбоцитарного гемостаза и иммунных нарушений у больных с атеросклерозом сосудов нижних конечностей, может явиться включение в комплексную терапию атеросклероза биологически активных веществ природного происхождения, обладающих многокомпонентным действием, в том числе сульфатированных полисахаридов из бурых водорослей.

Показано, что фукоиданы являются мощными ингибиторами пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, уменьшают гиперплазию интимы [10]. Они подавляют синтез белка и коллагена V типа,

препятствуют адгезии клеток к фибронектину и снижают миграцию нейтрофилов к очагу воспаления, блокируя сайты, которые распознаются лигандами воспалительных клеток [7, 9]. Фукоиданы также снижают экспрессию и предотвращают ядерную транслокацию фосфорилированных митогенактивированных протеинкиназ в макрофагах, стимулированных модифицированными липопротеидами низкой плотности [12].

Ранее мы показали, что фукоидан из *F. evanescens* *in vitro* индуцирует апоптоз лимфоцитов периферической крови, обладает иммуномодулирующими, противовоспалительными, антикоагулянтными свойствами [1]. Установленная в настоящей работе способность «Фуколама» уменьшать экспрессию HLA-DR и CD25 на клетках периферической крови, является отражением процессов, способствующих подавлению активации Т-лимфоцитов, дифференциации Т-хелперов 1-го типа, что в конечном итоге приводит к снижению воспалительного ответа. Учитывая полученные нами ранее данные о способности фукоидана индуцировать *in vitro* апоптоз лимфоцитов, снижение относительного содержания HLA-DR⁺, CD25⁺ и CD95⁺-Т-лимфоцитов в группе больных, получавших «Фуколам», может быть связано с усилением апоптоза активированных лимфоидных клеток, обусловленного потенциальными проапоптотическими свойствами фукоидана.

Таким образом, полученные в настоящей работе данные о корректирующем влиянии «Фуколама» на степень выраженности воспалительного процесса у больных с атеросклерозом сосудов нижних конечностей, подтвержденные снижением экспрессии активационных маркеров лимфоцитами периферической крови, позволяют рекомендовать эту биологически активную добавку в качестве средства профилактики прогрессирования атеросклеротических поражений сосудов.

Литература

1. Запорожец Т.С. Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробионтов: дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2006. 356 с.
2. Майстровский К.В., Раповка Ю.В., Запорожец Т.С. и др. Коррекция липидного и углеводного обмена у больных облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей сульфатированными полисахаридами из бурой водоросли *Fucus evanescens* // *Материалы объединенного иммунологического форума*. СПб., 2008. С. 323.
3. Пигаревский П.В. Морфометрическое исследование клеток иммунорегуляторного и эффекторного звеньев иммунитета в аорте и парааортальных лимфатических узлах при атерогенезе у человека // *Цитокины и воспаление*. 2002. Т. 1, № 4. С. 21–26.
4. Czyz A., Kotalcz E., Angerer D. et al. Expression of activation antigens on lymphocyte surface and circulating platelet-leukocyte aggregates in ischaemic heart disease // *Kardiol. Pol.* 2005. Vol. 62, No. 3. P. 189–200.
5. Lake A.C., Vassy R., Di Benedetto M. et al. Low molecular weight fucoidan increases VEGF165-induced endothelial cell migration by enhancing VEGF165 binding to VEGFR-2 and NRP1 // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281, No. 49. P. 37844–37852.
6. Laufs U., La Fata V., Plutzky J. et al. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors // *Circulation*. 1998. Vol. 97. P. 1129–1135.
7. Libby P., Ridker P.M., Maseri A. Inflammation and atherosclerosis // *Circulation*. 2002. Vol. 105. P. 1135–1143.
8. Logeart D., Letourneur D., Jozefonvicz J. et al. Collagen synthesis by vascular smooth muscle cells in the presence of antiproliferative polysaccharides // *J. Biomed. Mater. Res.* 1996. Vol. 30, No. 4. P. 501–508.
9. Logeart D., Prigent-Richard., Jozefonvicz J. et al. Fucans, sulfated polysaccharides extracted from brown seaweeds, inhibit vascular smooth muscle cell proliferation. I. Comparison with heparin for antiproliferative activity, binding and internalization // *Eur. J. Cell Biol.* 1997. Vol. 74, No. 4. P. 376–384.
10. Palinski W. Immunomodulation: a new role for statins? // *Nature Medicine*. 2000. Vol. 6. P. 1311–1312.
11. Porsch-Oezcuermesz M., Kunz D., Kloer H.U. et al. Evaluation of serum levels of solubilized adhesion molecules and cytokine receptors in coronary heart disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999. Vol. 34, No. 7. P. 1995–2001.
12. Religa P., Kazi M., Thyberg J. et al. UFucoidan inhibits smooth muscle cell proliferation and reduces mitogen-activated protein kinase activity // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2000. Vol. 20, № 5. P. 419–426.
13. Stoneman V.E., Bennett M.R. Role of apoptosis in atherosclerosis and its therapeutic implications // *Clinical Science*. 2004. Vol. 107. P. 343–354.
14. Van der Wal A.C., Das P.K., Bentz van der Berg D. et al. Atherosclerotic lesions in humans. In situ immunophenotypic analysis suggesting an immune mediated response // *Lab. Invest.* 1989. Vol. 61, № 2. P. 166–170.
15. Wu R. Induction of human cytotoxic T lymphocytes by oxidized low density lipoproteins // *Scand. J. Immunol.* 1996. Vol. 43. P. 381–384.

Поступила в редакцию 27.03.2009.

ROLE OF T-CELL DYSFUNCTION IN THE DEVELOPMENT OF LOWER LIMB ATHEROSCLEROSIS AND TREATMENT OPPORTUNITIES

T.S. Zaporozhets¹, K.V. Maistrovskiy², V.G. Rapovka², A.K. Gazha¹, T.P. Smolina¹, T.N. Zvyagintseva³

¹ Research Centre of Epidemiology and Microbiology of the RAMS, Siberian Branch (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia), ² Vladivostok State Medical University (2 Ostryakov Av. Vladivostok 690950 Russia), ³ Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FE RAS (159 100-Anniversary Av. Vladivostok 690022 Russia)

Summary – Forty clinical observations performed by authors allowed studying the role of T-cell dysfunctions in the development of lower limb atherosclerosis and finding out that peripheral lymphocyte subpopulation indices were within the value range indicating satisfactory immune system functions. Increasing number of circulating lymphocytes and intensified expression of interleukin-2 receptor, class II major histocompatibility antigens and apoptosis marker on the lymphocyte surface indicated that the T-cell activation was not restricted to the atherosclerotic plaque area. The parameters which characterized relation of lymphocyte subpopulations and intensity of activation processes confirmed participation of activated T-lymphocytes in the pathogenesis of atherosclerosis. As reported, biological dietary supplement “Fucolam” created on the basis of the *Fucus evanescens* brown algae fucoidan exhibited corrective effect on the intensity of inflammatory process in patients with lower limb atherosclerosis.

Key words: atherosclerosis, activation antigens, lymphocyte subpopulations, fucoidans.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 100–105.