

Сравнительная характеристика показателей клеточного иммунитета больных с наркотической и алкогольной зависимостью

УЛЬЯНОВА М.А.¹ к.м.н., ст. н. сотр. лаборатории иммунохимии
ГАМАЛЕЯ Н.Б.¹ д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунохимии
МАСТЕРНАК Т.Б.² к.б.н., вед. н. сотр. лаборатории лекарственно-диагностических форм
ВОРОНИН А.В.² н. сотр. лаборатории тканевого типирования
КРОТОВ Г.И.³ к.б.н., начальник отдела
УЛЬЯНОВА Л.И.¹ д.м.н., вед. н. сотр. лаборатории иммунохимии

1 — ФГБУ «ФМИЦПН им. В.П. Сербского» Минздрава России

2 — ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

3 — ФГУП «Антидопинговый центр», Москва

Проведен анализ показателей клеточного иммунитета молодых людей, подобранных по полу, возрасту материальному и социальному статусу, жителей г.Москвы с наркотической и алкогольной зависимостью в сравнении с показателями здоровых лиц. Установлена разнонаправленность действия опиатов и алкоголя на популяции CD4⁺ и CD8⁺ T-лимфоцитов, CD3⁺16⁺56⁺ NK-клеток и CD3⁺16⁺56⁺NKT клеток-киллеров, а также на активационный состав CD4⁺DR и CD8⁺DR T-лимфоцитов.

Ключевые слова: *опийная и алкогольная зависимость, популяции и субпопуляции лимфоцитов, CD4⁺25⁺, CD8⁺25⁺, CD4⁺DR⁺, CD8⁺DR⁺ T-лимфоциты, фагоцитоз*

Введение

Данные многочисленных исследований показали, что употребление наркотиков и алкоголя приводит к формированию болезней зависимости [2, 3] и является одной из причин возникновения органической патологии [6, 11, 20], онкологических заболеваний, туберкулеза, вирусных гепатитов В и С, ВИЧ-инфекции и частых простудных заболеваний [7, 17, 10]. Ранее мы показали, что алкоголь выступает в роли важного патогенного фактора, приводящего к дисфункциям иммунной системы, что выражается в нарушении процессов дифференцировки, пролиферации и адаптации иммунокомпетентных клеток и, как следствие, к возникновению вторичной иммунной недостаточности и может повлечь за собой формирование рецидивирующих хронических патологических изменений в различных органах и системах [5, 12, 13, 14]. Нам удалось раскрыть механизмы влияния алкоголя на клетки иммунной системы у больных алкогольной зависимостью на различных стадиях и подтвердить эти механизмы в экспериментах по изучению прямого действия алкоголя на иммунокомпетентные клетки здоровых лиц *in vitro*, а также у здоровых добровольцев после употребления алкоголя [15, 16]. Однако до сих пор остаются нерешёнными и спорными вопросы механизмов влияния наркотиков на иммунокомпетентные клетки у лиц, злоупотребляющих этими веществами. Особый интерес представляет изучение влияния наркотиков и

алкоголя на молекулярные маркеры иммунокомпетентных клеток, отражающих особенности их функциональной активности и, в конечном итоге, механизмы развития иммунного ответа, поскольку раскрытие этих механизмов позволит более адекватно подходить к лечению больных с наркотической и алкогольной зависимостью.

В свете сказанного выше целью настоящего исследования стало изучение особенностей клеточного иммунитета у больных опийной наркоманией в сравнении с больными алкоголизмом без сопутствующей патологии органов и систем, не страдающих аллергическими, аутоиммунными, онкологическими заболеваниями, туберкулезом, вирусными гепатитами В и С и ВИЧ-инфекцией до назначения им медикаментозного лечения.

Объект и методы исследования

Для проведения обследования использовали образцы периферической крови молодых людей, подобранных по полу, возрасту материальному и социальному статусу, жителей города Москвы. Образцы были взяты из локтевой вены в стерильные пробирки «Vacutainer» с антикоагулянтом у больных опийной наркоманией, алкоголизмом и здоровых добровольцев. Забор крови у здоровых лиц проводили рано утром, а у больных в момент поступления в наркологическую клинику или диспансер. Для оценки показателей клеточного иммунитета кровь использовали не позднее 6 ч после забора.

В группу 1 вошли 15 больных опийной наркоманией (13 мужчин 85% и 2 женщины 15% в возрасте от 18 до 23 лет, средний возраст $19,8 \pm 1,8$ года), употреблявших опиаты кустарного производства, в фазе постинтоксикации. Забор крови у больных опийной наркоманией проводили спустя 6—13 ч после употребления наркотиков при поступлении в наркологическую клинику или наркологический диспансер до назначения им медикаментозного лечения. Длительность заболевания варьировала от 1,2 года до 2 лет, средняя длительность заболевания составила $1,7 \pm 0,3$ года. Существенных различий в длительности заболевания у мужчин и женщин выявлено не было (табл. 1).

В группу 2 вошли 15 больных алкоголизмом в фазе постинтоксикации, из них 14 мужчин (93%) и одна женщина (7%) в возрасте от 18 до 23 лет (средний возраст $19,8 \pm 1,7$ года). Длительность заболевания варьировала от 1 года до 3 лет, средняя длительность заболевания составила $1,9 \pm 0,6$ года (табл. 1). Существенных различий длительности заболевания у мужчин и женщин выявлено не было. Обследованные больные употребляли только качественный алкоголь практически ежедневно, у всех пациентов отмечался синдром похмелья. Последний прием алкоголя был за 17—19 ч до взятия крови. Частота запоев у пациентов составляла 3—6 раз в год, толерантность к алкоголю варьировала от 0,3 л до 0,6 л у женщин и от 0,4 л до 0,7 л у мужчин напитков, содержащих 40% алкоголя (водка, коньяк, виски), в сутки.

В группу сравнения (группа 3) вошли 20 здоровых добровольцев, из них 17 мужчин (85%) и 3 женщины (15%) в возрасте от 18 до 23 лет (средний возраст $19,6 \pm 1,6$ года).

Из числа обследованных были исключены лица с отягощённой наследственностью по соматическим, аллергическим, аутоиммунным и онкологическим заболеваниям, а также страдающие туберкулезом, рецидивирующими герпетическими, цитомегаловирусными, хламидийными инфекциями, вирусными гепатитами В и С и ВИЧ-инфекцией.

Исследование проводили в соответствии с требованиями Основ законодательства «Об охране здоровья граждан», у больных и здоровых лиц было получено информированное согласие на проведение обследования.

Всем больным с наркотической и алкогольной зависимостью после употребления психоактивных веществ (ПАВ) проводили мониторинг показателей клеточного иммунитета. Для оценки субпопуляционного и активационного состава иммунокомпетентных клеток, а также функциональной активности фагоцитов забор крови проводили в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, а для оценки пролиферативной активности Т и В-лимфоцитов и функциональной активности НК-клеток с антикоагулянтом гепарином.

Фенотип и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, т.е. антигенные маркеры клеточной поверхности: CD3⁺, CD3⁺4⁺, CD3⁺8⁺, CD19⁺, CD3-16⁺ 56⁺, CD3⁺16⁺56⁺, CD4⁺25⁺, CD4⁺DR⁺, CD8⁺25⁺, CD8⁺DR⁺, NKDR⁺, CD95⁺ определяли методом лазерной проточной цитометрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, США) с использованием одно-, двух- и трехцветных моноклональных антител (Becton Dickinson, США) [19].

Пролиферативную активность Т и В-лимфоцитов определяли в модели реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) на культурах мононуклеаров периферической крови, выделенных на растворе фиколла с плотностью $1,077 \text{ г/см}^3$ с использованием широкого спектра поликлональных митогенов: фитогемагглютинаина (ФГА, активирует 85% CD4⁺ Т-лимфоцитов), конканавалина А (Кон А, активирует 75% CD8⁺ Т-лимфоцитов), митогена лаконоса (МЛ Т-, В-клеточный митоген, осуществляющий прямую активацию В-лимфоцитов через CD4⁺ Т-хелперы / индукторы) и липополисахарида (ЛПС, активирует В-лимфоциты) производства фирмы Sigma-Aldrich [9].

Функциональную активность НК-клеток оценивали по их мембранотоксическому действию на клетки-мишени опухолевой линии К-562, меченные ³Н-уридином [4].

Определение функциональной активности фагоцитов проводили методом хемилуминесценции нейтрофилов с использованием зимозана (ЗИМ, действует на клетку через Fc рецепторы) и форбол-миристан-ацетата (ФМА, проникает внутрь клетки) [13].

Таблица 1

Распределение групп обследованных больных с наркотической и алкогольной зависимостью и здоровых лиц по полу, возрасту и длительности употребления психоактивных веществ ($X \pm s$)

Группы обследованных лиц	Мужчины	Женщины	Средний возраст (лет)	Длительность употребления ПАВ (лет)
1. Больные опийной наркоманией	13 (85%)	2 (15%)	$19,8 \pm 1,8$	$1,7 \pm 0,3$
2. Больные алкоголизмом	14 (93%)	1 (7%)	$19,8 \pm 1,7$	$1,9 \pm 0,6$
3. Здоровые лица	17 (85%)	3 (15%)	$19,6 \pm 1,6$	

Поглотительную активность фагоцитов оценивали по способности фагоцитирующих клеток поглощать клетки *Candida albicans*, меченные ФИТЦ. Интенсивность фагоцитоза оценивали на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson, США) [21].

Обработку результатов проводили методом вариационной статистики с использованием пакетов прикладных программ Excel 2003 и Biostatistics с учетом характера распределения признаков [8]. Результаты представлены в виде выборочного среднего $\bar{X} \pm$ выборочное стандартное отклонение s .

Результаты и их обсуждение

Исследование популяционного, субпопуляционного и активационного состава лимфоцитов периферической крови выявило существенные отклонения и различия в фенотипе клеток по CD маркерам как у больных опийной наркоманией (группа 1), так и у больных алкоголизмом (группа 2) при сравнении с аналогичными показателями здоровых лиц (табл. 2). В фазе постинтоксикации у больных групп 1 и 2 наблюдалась общность в отклонении в сторону снижения содержания в периферической крови популяции Т-лимфоцитов ($CD3^+$) в сравнении с показателями здоровых лиц. Причем, как видно из табл. 2, это изменение у больных с опийной зависимостью сопровождалось снижением в периферической крови содержания лимфоцитов фенотипа $CD3^+8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$ -ЦТЛ), в то время как содержание субпопуляций Т-хелперов ($CD3^+4^+$) не выходило за границы нормы. У больных же с алкогольной зависимостью, напротив, наблюдалось снижение содержания в крови субпопуляций $CD4^+$ Т-хелперов, содержание же субпопуляций $CD8^+$ ЦТЛ не выходило за границы нормы. Обнаруженные нарушения нашли отражение и в изменениях иммунорегуляторного коэффициента (ИРК), т.е. отношения $CD4^+/CD8^+$ Т-лимфоцитов. Так, у больных с наркотической зависимостью группы 1 ИРК ($2,55 \pm 0,28$) был значимо выше показателей здоровых лиц ($P_3 < 0,05$) и больных группы 2 ($P_2 < 0,001$), тогда как у больных с зависимостью от алкоголя ИРК ($1,1 \pm 0,05$) был значимо ниже показателей здоровых ($P_3 < 0,05$) и больных группы 1 ($P_1 < 0,001$).

При оценке содержания в периферической крови популяции В-лимфоцитов с фенотипом $CD19^+$ у больных опийной наркоманией и алкоголизмом был обнаружен дисбаланс в их содержании (табл. 2), что выражалось в значимом увеличении в группе 2% $CD19^+$ клеток, в то время как у больных группы 1 их содержание в крови не выходило за границы нормы и было соответственно равно: $11,1 \pm 2,1$ у больных нар-

команией, $17,3 \pm 2,0$ ($P < 0,05$) у больных алкоголизмом в сравнении с $10,6 \pm 1,7$ у здоровых лиц.

Неоднозначные изменения были также выявлены в процентном содержании NK-клеток с фенотипом $CD3^+16^+56^+$ и NKT-клеток с фенотипом $CD3^+16^+56^+$ в периферической крови больных с наркотической и алкогольной зависимостью после употребления ПАВ (табл. 2). Так, у наркозависимых больных спустя 6—13 ч после употребления наркотиков отмечалось увеличение в крови $CD3^+16^+56^+$ и $CD3^+16^+56^+$ клеток, тогда как у больных алкоголизмом наблюдалось, напротив, их снижение.

Таким образом, в фазе постинтоксикации у наркозависимых больных, употреблявших опиаты кустарного производства, и у больных алкоголизмом выявлен существенный дисбаланс иммунорегуляторных клеток с преобладанием $CD4^+$ Т-клеток у больных наркоманией и $CD8^+$ Т-клеток у больных алкоголизмом, что свидетельствует об избирательном действии опиатов кустарного производства и алкоголя на эти субпопуляции Т-лимфоцитов. Снижение содержания $CD8^+$ Т-клеток и $CD4^+$ Т-хелперов в периферической крови является причиной формирования вторичной иммунной недостаточности у больных с наркотической и алкогольной зависимостью.

Обнаружено, что у всех больных после употребления ПАВ в крови увеличивается содержание клеток с экспрессией молекулы $CD95$ (маркер готовности к апоптозу). Последнее, по-видимому, и являлось одной из причин уменьшения в периферической крови больных опийной наркоманией и алкоголизмом количества $CD3^+$ Т-лимфоцитов, причём в группе 1 их снижение также сопровождалось значимым снижением $CD8^+$, а в группе 2, напротив, снижением $CD4^+$ Т-лимфоцитов. Из полученных результатов можно заключить, что апоптозу (запрограммированной гибели) под действием опиатов подвергается популяция $CD8^+$ Т-клеток, в то время как 40%-ный алкоголь вызывает апоптоз $CD4^+$ Т-лимфоцитов, что и подтверждается их соотношением иммунорегуляторным коэффициентом.

Таким образом, мы установили, что у обследованных молодых людей, употреблявших опиаты кустарного производства, более чувствительны к апоптозу $CD8^+$ Т-лимфоциты (об этом свидетельствует уменьшение их процентного содержания в крови в сравнении с показателями здоровых лиц), тогда как у лиц, употреблявших 40%-ным алкоголем, чувствительными к апоптозу оказались $CD4^+$ Т-клетки (о чем свидетельствует снижение их содержания в крови в сравнении со значениями у здоровых лиц).

Анализ состава активированных лимфоцитов, который, как известно, обусловлен появлением на мембране иммунокомпетентных клеток рецептора к IL-2 ($CD25$) и HLA-DR молекул [1], показал, что после

употребления ПАВ у больных опийной и алкогольной зависимостью в периферической крови увеличивается процент CD4⁺25⁺ активированных Т-хелперов, экспрессирующих рецептор к IL2. Причём это увеличение было более выраженным и достоверно значимым у наркозависимых больных по сравнению со здоровыми лицами и больными алкоголизмом (42,3 ± 3,2, P_{2,3} < 0,001) (табл. 2). В периферической крови больных обеих групп в фазе постинтоксикации был значимо повышен процент CD8⁺25⁺ активированных CD8⁺ Т-лимфоцитов. Причем, это повышение было более выражено у больных алкоголизмом.

Неоднозначные изменения были также выявлены в содержании в периферической крови обследованных больных активированных CD4⁺DR⁺, CD8⁺DR⁺ Т-лимфоцитов и NKDR⁺ клеток. Так, у наркозависи-

мых больных в крови значимо увеличивался не только процент CD4⁺DR⁺ Т-лимфоцитов-хелперов, но и NKDR⁺ клеток, тогда как у больных алкоголизмом их содержание в крови достоверно снижалось в сравнении как с показателями здоровых, так и больных с наркотической зависимостью. Наряду с этим также обнаружено, что в крови наркозависимых больных снижался процент CD8⁺DR⁺ активированных Т-лимфоцитов, тогда как у больных алкоголизмом, он, напротив, значимо увеличивался в сравнении с показателями здоровых и больных наркоманией, употреблявших опиаты кустарного производства (табл. 2).

Таким образом, анализ субпопуляционного и активационного состава лимфоцитов крови обследованных больных с зависимостью от опиатов и алкоголя в постинтоксикационной фазе свидетельствует о разнонаправлен-

Таблица 2

Фенотип, субпопуляционный и активационный состав лимфоцитов периферической крови больных с наркотической и алкогольной зависимостью в сравнении с показателями здоровых лиц (X ± s)

Показатели	Ед. измерения	Группа 1, n = 15	Группа 2, n = 15	Группа 3, n = 20
CD3 ⁺ Т-лимфоциты	% клеток	64,3 ± 4,4↓ P ₂ < 0,005 P ₃ < 0,001	60,2 ± 4,3↓ P ₃ < 0,001	74,7 ± 2,5
CD3 ⁺ 4 ⁺ Т-хелперы, индукторы	% от CD3 ⁺	46,1 ± 4,5 P ₂ < 0,001	31,5 ± 2,7↓ P ₃ < 0,001	47,2 ± 1,4
CD3 ⁺ 8 ⁺ цитолитические Т-лимфоциты и Т-регуляторные клетки	% от CD3 ⁺	17,9 ± 1,2↓ P _{2,3} < 0,001	27,8 ± 2,3↑ P ₃ < 0,01	26,3 ± 1,2
CD3 ⁺ 4 ⁺ / CD3 ⁺ 8 ⁺ ИРК иммунорегуляторный коэффициент	Индекс	2,55 ± 0,28↑ P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,05	1,10 ± 0,10↓ P ₁ < 0,001 P ₃ < 0,05	1,79 ± 0,10
CD19 ⁺ В-лимфоциты	% клеток	11,1 ± 2,1 P ₂ < 0,05	17,3 ± 2,0↑ P ₃ < 0,05	10,6 ± 1,7
CD3 ⁺ 16 ⁺ 56 ⁺ НК-клетки (нормальные киллеры)	% клеток	22,8 ± 2,9↑ P _{2,3} < 0,001	9,3 ± 1,8↓ P ₃ < 0,001	14,1 ± 1,4
CD3 ⁺ 16 ⁺ 56 ⁺ НКТ-клетки (Т-киллеры)	% от CD3 ⁺	6,0 ± 1,4↑ P _{2,3} < 0,001	2,1 ± 1,0↓ P ₃ < 0,001	4,0 ± 1,0
CD4 ⁺ 25 ⁺ активированные CD4 ⁺ Т-лимфоциты, экспрессирующие рецептор к IL2	% от CD4 ⁺	42,3 ± 3,2↑ P _{2,3} < 0,001	27,3 ± 2,0↑ P ₃ < 0,001	18,2 ± 1,7
CD4 ⁺ DR ⁺ активированные CD4 ⁺ Т-лимфоциты, экспрессирующие HLA-DR	% от CD4 ⁺	15,1 ± 3,0↑ P _{2,3} < 0,001	3,6 ± 1,0↑ P ₃ < 0,001	5,8 ± 0,9
CD8 ⁺ 25 ⁺ активированные CD8 ⁺ Т-лимфоциты, экспрессирующие рецептор к IL2	% от CD8 ⁺	4,7 ± 0,8↑ P _{2,3} < 0,001	6,7 ± 0,8↑ P ₃ < 0,001	2,5 ± 1,0
CD8 ⁺ DR ⁺ активированные CD8 ⁺ Т-лимфоциты, экспрессирующие HLA-DR	% от CD8 ⁺	9,3 ± 0,7↓ P ₃ < 0,005	20,9 ± 3,2↑ P ₃ < 0,001	12,0 ± 2,8
NKDR ⁺ активированные НК-клетки, экспрессирующие HLA-DR	% от НК-клеток	25,4 ± 3,4↑ P _{2,3} < 0,001	5,5 ± 1,5↓ P _{1,3} < 0,001	9,8 ± 2,9
CD95 ⁺ молекула апоптоза	% клеток	42,7 ± 4,9↑ P _{2,3} < 0,001	37,9 ± 2,0↑ P ₃ < 0,001	21,8 ± 2,1

Примечание. Сравнение трех независимых групп по одному признаку проведено с помощью дисперсионного анализа с учетом нормального распределения признаков. При наличии статистически значимых различий осуществлено множественное сравнение групп между собой по критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони, так как число сравниваемых групп меньше 8 [8]. Показаны статистически значимые различия между группами, обозначенными нижними индексами; ↑ и ↓ повышение или снижение признака относительно группы здоровых (группа 3) соответственно.

ном влиянии опиатов кустарного производства и 40%-ного алкоголя на иммунокомпетентные клетки. С одной стороны, как опиаты кустарного производства, так и 40%-ный алкоголь приводят к снижению содержания в крови популяции CD3⁺ Т-лимфоцитов, что можно объяснить увеличением процента клеток, несущих маркер апоптоза CD95⁺, а с другой — к дисбалансу в крови популяций лимфоцитов CD4⁺, CD8⁺ и NK-клеток и к нарушениям их активационного состава.

Исследование функционального потенциала Т и В-лимфоцитов выявило существенные отклонения и различия в их пролиферативной активности в ответ на поликлональную стимуляцию митогенными лектинами (ФГА, Кон А, МЛ и ЛПС) у больных опиоидной наркоманией и алкоголизмом при сравнении с аналогичными показателями здоровых лиц (табл. 3). Важно отметить, что дефект ответа лимфоцитов на митогены *in vitro* тесно связан с их неспособностью к пролиферации *in vivo* при ряде заболеваний [18], что придает этому исследованию клиническую значимость. В фазе постинтоксикации у больных групп 1 и 2 наблюдалась общность в отклонении в сторону значимого увеличения спонтанной пролиферации лимфоцитов и значимого снижения функциональной активности Т-лимфоцитов в ответ на ФГА (стимулирует про-

лиферацию CD4⁺ Т-хелперов) и В-клеток в ответ на ЛПС в сравнении со здоровыми лицами. Причём, как видно из табл. 3, более значимое увеличение спонтанного пролиферативного ответа и значимое снижение индексов стимуляции (ИС) пролиферации Т и В-лимфоцитов отмечалось у наркозависимых больных в группе 1 в сравнении со здоровыми и больными группы 2. Наряду с этим в группах обследованных больных были выявлены неоднозначные изменения пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови в ответ на индуцированную стимуляцию митогенами Кон А (стимулирует пролиферацию 75% CD8⁺ Т-лимфоцитов) и МЛ (стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов через активацию Т-хелперов/индукторов). Так, у больных группы 2 в фазе постинтоксикации снижение функциональной активности Т-хелперов сопровождалось значимым увеличением функциональной активности Т-лимфоцитов (CD8⁺ клеток) в ответ на стимуляцию митогеном Кон А и увеличением пролиферативной активности при воздействии Т-, В-клеточным митогеном МЛ в сравнении с группой здоровых. У больных же группы 1 наблюдалось, напротив, достоверно значимое снижение пролиферативной активности в ответ на стимуляцию митогенами Кон А и МЛ (табл. 3).

Таблица 3

Особенности пролиферативной активности Т и В-лимфоцитов и цитолитической активности NK-клеток у больных с наркотической и алкогольной зависимостью в фазе постинтоксикации в сравнении с показателями здоровых лиц ($X \pm s$)

Показатели	Ед. измерения	Группа 1, n = 15	Группа 2, n = 15	Группа 3, n = 20
СП спонтанная пролиферация	имп./мин	2127 ± 507↑ P ₂ < 0,002 P ₃ < 0,001	869 ± 104↑ P ₃ < 0,001	523 ± 146
ФГА-индуцированная пролиферация	имп./мин	48772 ± 12461↓ P ₃ < 0,001	51826 ± 10275↓ P ₃ < 0,001	75077 ± 18866
ИС _{ФГА} индекс стимуляции ФГА (ФГА-индуцир. пролиферация / СП)	Индекс	23,4 ± 5,2 P _{2,3} < 0,001	58,8 ± 9,1 P ₃ < 0,001	146,5 ± 24,8
Кон А-индуцированная пролиферация	имп./мин	37183 ± 10533 P ₂ < 0,001	81413 ± 11884 P ₃ < 0,001	41663 ± 11187
ИС _{Кона} индекс стимуляции Кон А (Кон А-индуцир. пролиферация / СП)	Индекс	17,8 ± 4,3↓ P _{2,3} < 0,001	93,8 ± 9,5↑ P ₃ < 0,0018348	81,1 ± 13,1
МЛ-индуцированная пролиферация	имп./мин	28756 ± 8674 P ₂ < 0,001	61691 ± 11071↑ P ₃ < 0,001	28600 ± 8348
ИС _{МЛ} индекс стимуляции МЛ (МЛ-индуцир. пролиферация / СП)	Индекс	13,7 ± 4,3↓ P _{2,3} < 0,001	70,8 ± 8,0↑ P ₃ < 0,001	54,3 ± 6,1
ЛПС-индуцированная пролиферация	имп./мин	4635 ± 1111↑ P ₂ < 0,001 P ₃ < 0,002	3399 ± 268	3647 ± 922
ИС _{ЛПС} индекс стимуляции ЛПС (ЛПС-индуцир. пролиферация / СП)	Индекс	2,2 ± 0,2↓ P _{2,3} < 0,001	4,0 ± 0,6↓ P ₃ < 0,001	7,1 ± 1,0
ИЦ индекс цитотоксичности NK-клеток	%	69,0 ± 2,6↑ P _{2,3} < 0,001	39,6 ± 1,5↓ P ₃ < 0,001	51,2 ± 2,6
Примечание. См. табл. 2				

Разнонаправленные изменения были также выявлены в функциональной активности НК-клеток больных с наркотической и алкогольной зависимостью после употребления ПАВ (табл. 3). Как видно из таблицы, у больных, употреблявших опиаты кустарного производства, спустя 6—13 ч после последнего приема наркотика отмечалось достоверное увеличение индекса цитотоксичности НК-клеток, в то время как у больных алкоголизмом в фазе постинтоксикации, напротив, наблюдалось снижение ИЦ в сравнении со здоровыми лицами.

Установлено, что употребление опиатов кустарного производства приводит к усилению цитолитической активности НК-клеток, в то время как 40%-ный алкоголь подавляет функциональную активность этих клеток, что можно объяснить разнонаправленностью действия этих ПАВ на характер развития иммунного ответа.

Исследование функциональной активности фагоцитирующих клеток выявило одинаковую направленность в изменении функционального потенциала этих клеток у больных с наркотической и алкогольной зависимостью. У больных 1 и 2 групп достоверно повышалась спонтанная кислородзависимая активность фагоцитирующих клеток в сравнении с нормой, что выражалось статистически значимым ($P < 0,001$) увеличением количества активированных кислородзависимых радикалов, образуемых нейтрофилами (табл. 4) и значимым увеличением абсолютных значений хемилюминесценции нейтрофилов в ответ на стимуляцию зимозаном (влияет на Fc рецепторы

нейтрофилов) и ФМА (проникает внутрь клетки). В то же время как у тех, так и у других больных функциональная активность фагоцитов по индексу стимуляции (ИС) достоверно снижалась.

Обнаружено, что у всех обследованных больных в фазе постинтоксикации (до назначения медикаментозной терапии) значимо ($P < 0,001$) снижалась способность фагоцитирующих клеток поглощать грибы *Candida albicans* в сравнении со здоровыми лицами (табл. 5).

Таким образом, мы установили, что в фазе постинтоксикации как у наркозависимых больных (после употребления опиатов кустарного производства), так и больных алкоголизмом (после употребления 40%-ного алкоголя) наблюдалась одинаковая направленность в изменении функциональной активности фагоцитирующих клеток, что сопровождалось усилением кислородзависимой активности этих клеток. Обнаруженный факт мог привести, в свою очередь, к кислородному взрыву и явиться одной из причин поражения органов и тканей организма в результате образования свободных радикалов. Наряду с этим, у обследованных лиц после употребления ПАВ резко снижалась поглотительная и переваривающая способность фагоцитирующих клеток, нарушение которой также могло явиться одной из причин снижения резистентности организма к инфекциям и повышения риска развития болезней иммунных комплексов.

Таблица 4

Показатели хемилюминесценции фагоцитирующих клеток у больных с наркотической и алкогольной зависимостью в фазе постинтоксикации в сравнении с показателями здоровых лиц ($X \pm s$)

Показатели	Ед. измерения	Группа 1, n = 15	Группа 2, n = 15	Группа 3, n = 20
СП спонтанная хемилюминесценция	Имп./мин на мкл крови	1053 ± 102↑ P _{2,3} < 0,001	467 ± 111↑ P ₃ < 0,001	202 ± 21
ЗИМ зимозан-индуцированная хемилюминесценция	Имп./мин на мкл крови	11401 ± 1092↑ P _{2,3} < 0,001	8098 ± 1823↑ P ₃ < 0,001	4897 ± 515
ИС _{ЗИМ} индекс стимуляции зимозаном		10,8 ± 0,5↓ P _{2,3} < 0,001	17,6 ± 1,9↓ P ₃ < 0,001	24,2 ± 1,5
ФМА форбол-миристан-ацетат-индуцированная хемилюминесценция	Имп./мин на мкл крови	11668 ± 1070↑ P ₃ < 0,001	10669 ± 2203↑ P ₃ < 0,001	6528 ± 1633
ИС _{ФМА} индекс стимуляции ФМА		11,1 ± 0,5↓ P _{2,3} < 0,001	23,2 ± 2,6↓ P ₃ < 0,001	33,9 ± 1,5
Примечание. См. табл. 2				

Таблица 5

Показатели способности фагоцитов поглощать грибы *Candida albicans* у больных с наркотической и алкогольной зависимостью в фазе постинтоксикации в сравнении с показателями здоровых лиц ($X \pm s$)

Показатель	Ед. измерения	Группа 1, n = 15	Группа 2, n = 15	Группа 3, n = 20
ИП индекс поглощения <i>C albicans</i>	Количество грибов на клетку фагоцита	6,0 ± 1,1↓ P _{2,3} < 0,001	19,2 ± 2,3↓ P ₃ < 0,001	34,2 ± 1,3
Примечание. См. табл. 2				

Заключение

Таким образом, в результате проведенного исследования мы установили, что в фазе постинтоксикации у пациентов с наркотической и алкогольной зависимостью наблюдались нарушения клеточного гомеостаза, выражавшиеся в снижении процентного содержания популяций CD3⁺ Т-лимфоцитов, которое сопровождалось дисбалансом субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов и их активационного состава, а также снижением пролиферативной активности Тi В-лимфоцитов. Отмеченные изменения могли привести к снижению иммунореактивности организма и стать одной из причин формирования вторичной иммунной недостаточности у больных с наркотической и алкогольной зависимостью. Обнаруженное нарушение функциональной активности фагоцитирующих клеток также могло явиться одной из причин возникновения частых инфекционных заболеваний и органной патологии у такого контингента больных. Вследствие нарушения фагоцитоза в клетках органов и тканей, таких как почки, печень, сердце и другие, могут откладываться иммунные комплексы, приводя к их видоизменению. В свою очередь, видоизмененные клетки подвергаются цитолизу, особенно выраженному при усилении цитолитической активности НК-клеток, что приводит, в итоге, к органной патологии.

Список литературы

1. Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. Физиологическая роль главного комплекса гистосовместимости человека // Иммунология. 2001. № 3. С. 4—12.
2. Альтшулер В.Б. Общая психопатология наркологических заболеваний // Наркология. Национальное руководство / Под ред. Н.Н. Иванца, И.П. Анохиной, М.А. Винниковой. М.: ГЭ-ОТАР-Медиа, 2008. С. 175—194.
3. Анохина И.П., Векшина Н.Л., Вергинская А.Г. Центральные механизмы предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ // Ж. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова. 1997. Т. 97, № 12. С. 83—88.
4. Атауллаханов Р.И., Пичугин А.В., Мастернак Т.Б., Ульянова Л.И. и др. Лабораторные и клинические критерии недостаточности иммунитета // Аллергология, астма и клиническая иммунология. 2001. № 1. С. 81—86.
5. Бишева И.В., Гамалея Н.Б., Дмитриева И.Г., Ульянова Л.И., Гамалея А.А., Надеждин А.В., Тетенова Е.Ю. Динамика показателей иммунного статуса у больных алкоголизмом при лечении иммуномодулятором полиоксидонием // Вопросы наркологии. 2006. № 4. С. 19—28.
6. Бишева И.В., Гамалея Н.Б., Дмитриева И.Г., Ульянова Л.И., Надеждин А.В., Тетенова Е.Ю. Динамика показателей оксидантного стресса, системы антиоксидантной защиты, эндогенной интоксикации и биохимических маркеров поражения печени у больных алкоголизмом при лечении иммуномодулятором полиоксидонием // Наркология. 2007. № 7. С. 40—45.
7. Гамалея Н.Б. Иммуноterapia при наркотических заболеваниях (1 часть) // Вопросы наркологии. 2011. № 5. С. 79—103.
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
9. Кондратьева И.А., Воробьева Н.В., Буракова О.В. и др. Практикум по иммунологии. Изд-во МГУ им. М.В. Ломоносова, 2001. 224 с.
10. Огурцов П.П. Клинический полиморфизм хронической алкогольной интоксикации. // Алкоголизм. Руководство для врачей / Под ред. Н.Н. Иванца, М.А. Винниковой. М.: МИА. 2011. С. 493—496.
11. Тарасова Н.С., Белобородова Е.И. Гормональные и иммунологические аспекты повреждения почек у больных хроническим алкоголизмом // Тер. Архив. 2003. Т. 75, № 11. С. 73—76.
12. Ульянова Л.И., Гамалея Н.Б., Ульянова М.А. Особенности антителонезависимого иммунитета на начальной стадии алкогольной зависимости // Вопросы наркологии. 2009. № 3. С. 91—102.
13. Ульянова Л.И., Гамалея Н.Б., Ульянова М.А. Функциональная характеристика клеток иммунной системы при алкогольном абстинентном синдроме средней степени тяжести в ранней постинтоксикационной фазе // Вопросы наркологии. 2010. № 4. С. 44—55.
14. Ульянова Л.И., Гамалея Н.Б., Ульянова М.А., Алексеев Л.П. Функциональная характеристика клеток иммунной системы у больных алкогольной зависимостью в ремиссии // Вопросы наркологии. 2012. № 2. С. 56—66.
15. Ульянова Л.И., Гамалея Н.Б., Ульянова М.А. Особенности клеточного иммунитета у здоровых добровольцев после нагрузки алкоголем (в фазе постинтоксикации) // Наркология. 2011. № 4. С. 54—63.
16. Ульянова Л.И., Гамалея Н.Б., Алексеев Л.П. Влияние этанола in vitro на функциональный потенциал клеток крови человека // Наркология. 2011. № 8. С. 57—65.
17. Цыган В.Н., Шабанов П.Д., Степанов А.В., Акперов Э.К. и др. Иммунонаркология. СПб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2008. 223 с.
18. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 749 с.
19. Loken M.R. Immunofluorescence techniques in flow cytometry and sorting, 2nd Ed. Wiley, 1990. P. 341—353.
20. Passarino G., Ciccone G., Siragusa R. et al. Histopathological findings in 851 autopsies of drug addicts, with toxicologic and virologic correlations // Am. J. Forensic Med. Pathol. 2005. Vol. 26 (2). P. 106—116.
21. Saresella M., Roda K., Speciale D. et al. A flow cytometric method for the analysis of phagocytosis and killing by polymorphonuclear leukocytes // Ann. NY Acad. Sci. 1997. Vol. 832. P. 53—61.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CELLULAR IMMUNITY INDICATORS IN PATIENTS WITH DRUG AND ALCOHOL DEPENDENCE

Ul'yanova M.A., Gamaleya N.B., Masternak T.B., Voronin A.V., Krotov G.I., Ul'yanova L.I.

Indicators of cellular immunity of young people matched for sex, age, material and social status, the city of Moscow residents with drug and alcohol dependence as compared to healthy subjects were analyzed. Different effect of opiates and alcohol on the CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocyte populations, the CD3⁺ 16⁺ 56⁺ NK cells and CD3⁺ 16⁺ 56⁺ NKT killer cells, as well as on the activation pattern of the CD4⁺DR and CD8⁺DR T lymphocytes was established.

Keywords: opiates, alcohol, dependence, populations and subpopulations of lymphocytes, CD4⁺25⁺, CD8⁺25⁺, CD4⁺DR⁺, CD8⁺DR⁺, phagocytosis