

ДЕФИЦИТ ЦИНКА ИНДУЦИРУЕТ Fas-ОПОСРЕДОВАННЫЙ АПОПТОЗ

Карзакова Л.М.

Чувашский государственный университет, Россия

Резюме. Изучалась экспрессия Fas-рецептора и антигенов CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 на мононуклеарных клетках периферической крови в группе людей с асимптомно протекающим дефицитом Zn, обусловленным геохимическими условиями (уровень Zn в почве <0,1 мг/кг, в пищевом рационе 9,1 мг/сут при норме 15 мг/сут). Параллельно оценивали пролиферативную активность лимфоцитов. Обнаружена ассоциация дефицита Zn с недостаточностью Т-клеточного звена иммунной системы, обусловленная, по всей видимости, ускорением апоптоза Т-лимфоцитов.

Ключевые слова: дефицит цинка, активационный апоптоз, иммунодефицит.

Karzakova L.M.

ZINC DEFICIENCY INDUCES FAS-MEDIATED APOPTOSIS

Abstract. The aim of the present research was to study the expression of Fas-receptor and differentiation antigens CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 on mononuclear cells of peripheral blood in the group of people with asymptomatic Zn-deficiency caused by geochemical conditions (the Zn level in the soil < 0,1 mg/kg and in human diet 9,1 mg /d at norm 15 mg/d). Simultaneously, we estimated lymphocyte proliferative activity characterizing the cell functional state contrary to apoptosis. We found the association of Zn - deficiency with insufficiency of the T-cell compartment of the immune system most likely caused by accelerated apoptosis of T-lymphocytes. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 4, pp 441-443)

Введение

Эссенциальный микроэлемент цинк (Zn) имеет решающее значение для становления и осуществления иммунных функций. Иммунологические расстройства являются самими ранними, доклиническими признаками дефицита Zn [6]. Показано, что дефицит Zn вызывает лимфопению, атрофию тимуса и угнетение Т-клеточных иммунных функций [8]. Во многих работах обсуждаются возможные механизмы цинкзависимой депрессии Т-системы иммунитета. Наиболее убедительно объясняет этот эффект гипотеза об апоптозопосредованном влиянии дефицита Zn на иммунную систему. В экспериментах на животных и исследованиях *in vitro* показано, что дефицит Zn индуцирует Fas/Apo1 - опосредованный апоптоз мно-

гих линий клеток, в то время как восполнение недостатка Zn ингибирует этот механизм программированной гибели клеток [7]. Однако в доступной литературе мы не встретили работ, содержащих сведения о влиянии Zn на Fas-зависимый апоптоз клеток периферической крови (ПК) людей. Вышеизложенное побудило нас провести обследование людей, живущих в условиях естественного дефицита Zn, с целью изучения экспрессии Fas-рецептора на мононуклеарных клетках (МНК) ПК в сопоставлении с показателями экспрессии других антигенов, а также - пролиферативной активности лимфоцитов.

Материалы и методы

В связи с поставленной целью мы обследовали практически здоровое население (основная группа из 40 чел.) Прикубнино-цивильского субрегиона Чувашской Республики, характеризующегося низким содержанием подвижного Zn в почве (<0,1 мг/кг) и, следовательно, в водно-пищевом рационе (до 9,1 мг/сут, при рекомендованной норме - 15 мг/сут). 60 % населения Прикубнино-цивильского субрегиона испытывает экзогенный дефицит Zn [2, 3]. Груп-

Адрес для переписки:

Карзакова Л.М., доцент кафедры внутренних болезней, медицинский факультет,
428015, г.Чебоксары, Чувашский госуниверситет,
Московский пр., д.15
Тел.: (8352) 42-14-19. e-mail: luizak58@mail.ru

пу сравнения составили жители (40 чел.) соседнего Присурского субрегиона с нормальным содержанием Zn в почве ($>0,2$ мг/кг) и в суточном водно-пищевом рационе (15,9 мг). Исследование включало иммунофенотипирование МНК в реакции иммунофлюоресценции с использованием МАТ к антигенам CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD95. Проллиферативную активность Т-системы изучали в РБТЛ в двух сериях: 1) в присутствии ФГА «Difco» (5 мкг/мл) и 2) в присутствии ФГА и $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50 мкМ Zn^{++}). Результаты оценивали радиометрическим методом по включению ^3H -тимидина (1 мКи/мл) на β -счётчике «Tri-Carb» («Packard», США). Результаты выражали в индексах стимуляции (ИС). Параллельно проводили оценку цинкового статуса методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Статистическую обработку осуществляли с помощью программы «Statistica»-версия 6 для Windows.

Результаты и обсуждение

Настоящее исследование выявило существенное отличие «цинкового» статуса основной группы от такового в группе сравнения. В основной группе уровень Zn в сыворотке составил $8,32 \pm 2,47$ мкмоль/л, что достоверно ниже ($p < 0,001$) показателя в группе сравнения ($13,24 \pm 3,89$ мкмоль/л), в МНК - $15,26 \pm 5,68$ мкмоль/ 10^{10} кл против $21,01 \pm 7,21$ мкмоль/ 10^{10} кл в группе сравнения ($p < 0,001$).

Результаты фенотипирования МНК показали, что в основной группе уменьшена численность CD3^+ , CD4^+ - клеток как в относительных, так и в абсолютных значениях. В то же время показатель CD8^+ и CD20^+ - клеток уменьшался в абсолютном выражении, а процентное значение оставалось без изменения. Уровни CD16^+ - клеток в исследуемых

группах не различались (табл. 1).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что проживание в условиях геохимически обусловленного дефицита Zn приводит к уменьшению количества Т-лимфоцитов преимущественно за счет клеток Т-хелперной субпопуляции.

Количественный дефицит Т-клеточного звена иммунной системы сочетался у лиц основной группы с существенным снижением ИС в РБТЛ, составившего $15,13 \pm 5,16$, что вдвое ниже соответствующего показателя в группе сравнения ($36,11 \pm 5,06$, $p < 0,0001$). Экспрессия Fas-рецептора (CD95), напротив, у представителей цинкдефицитного субрегиона была почти в 2 раза выше, чем у обследованных из группы сравнения (табл.1).

Согласно гипотезе программы клеточной гибели, клетки погибают, если в микроокружении отсутствуют «факторы выживания», роль которых могут выполнять ионы Zn, ростовые факторы - IL-4, IL-2, IFN γ [4, 9]. Ранее нами сообщалось о снижении уровней IL-2, IFN γ и сохранении продукции IL-4 у населения, живущего в условиях естественного дефицита Zn [1]. Наиболее чувствительны к отсутствию «факторов выживания» незрелые клетки. Видимо, в условиях дефицита Zn большая часть молодых лимфоцитов, в основном, предшественников Т-лимфоцитов, погибает из-за дефицита ионов Zn и факторов роста - IL-2 и IFN γ . Предшественники В-лимфоцитов менее уязвимы, благодаря сохранению специфичного для них ростового фактора - IL-4. Зрелые же клетки, экспрессируя Bcl-протеины, становятся более устойчивыми к апоптотическому действию [5]. Активированные клетки вновь приобретают чувствительность к апоптозу. Антигенный стимул или подобный ему сигнал (лектины, анти-CD3-антитела и др.) переводит Т-клетку из состояния

Табл. 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ МНК У ЖИТЕЛЕЙ ЦИНКДЕФИЦИТНОГО СУБРЕГИОНА (ОСНОВНАЯ ГРУППА) И ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ (М \pm SD)

Показатель		Группа сравнения (n=40)	Основная группа (n=40)	P
Лимфоциты	%	36,24 \pm 7,10	32,9 \pm 9,09	NS
	$\times 10^6/\text{л}$	2011 \pm 570	1752 \pm 571	0,035
CD3^+	%	61,9 \pm 6,3	55,4 \pm 7,8	0,001
	$\times 10^6/\text{л}$	1247 \pm 370	952,2 \pm 301,2	0,0001
CD4^+	%	37,78 \pm 6,20	32,25 \pm 5,60	0,0001
	$\times 10^6/\text{л}$	757 \pm 236	555 \pm 208	0,0001
CD8^+	%	24,36 \pm 3,40	23,25 \pm 3,86	NS
	$\times 10^6/\text{л}$	471 \pm 170	401 \pm 134	0,037
$\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$		1,576 \pm 0,312	1,42 \pm 0,35	0,026
CD16^+	%	15,26 \pm 4,33	16,48 \pm 5,53	NS
	$\times 10^6/\text{л}$	313 \pm 135	303 \pm 189	NS
CD20^+	%	14,34 \pm 4,49	14,72 \pm 4,33	NS
	$\times 10^6/\text{л}$	292 \pm 145	260 \pm 117	NS
CD95^+	%	19,96 \pm 6,061	28,42 \pm 7,831	0,0001
	$\times 10^6/\text{л}$	393 \pm 137	498 \pm 220	0,006

Примечание: NS – различия не достоверны

покоя в активное состояние. Активированные клетки, включившись в клеточный цикл, могут ответить пролиферацией («позитивная активация»). В то же время возможен и другой исход активации – индукция апоптотической смерти клетки («негативная активация») [10]. Присутствие ионов Zn, а также IL-2 и IFN γ направляет ответ активированных клеток в сторону пролиферации.

Обнаруженное у жителей цинкдефицитного субрегиона двукратное снижение пролиферативной активности Т-лимфоцитов можно объяснить вызванной дефицитом Zn «негативной активацией» стимулированных митогеном клеток. В этой же группе, при добавлении в среду культивирования 50 мкМ Zn⁺⁺ в 1,5 раза повышалась пролиферация клеток в ответ на ФГА. У большинства лиц из группы сравнения лимфоциты были инертны к добавлению Zn, а у 25 % отвечали уменьшением пролиферативной активности. Видимо, в последнем случае добавление Zn в среду культивирования приводило к превышению физиологической концентрации этого микроэлемента, и избыток ионов Zn вызывал индукцию апоптоза. Высказанное предположение подтверждается исследованиями Telford W., Fraker P. [11], в которых показана индукция апоптоза в 30-40 % мышинных тимоцитов при внесении в культуральную среду солей цинка в концентрации 80 – 200 мкМ, превышающей физиологические пределы.

Таким образом, есть основания полагать, что сокращение численности Т-лимфоцитов, а также снижение их пролиферативной активности у лиц цинкдефицитной территории реализуется через апоптотическое действие дефицита цинка. При этом, Т-лимфоциты CD4⁺-фенотипа более чувствительны к апоптозу, нежели CD8⁺-клетки.

Список литературы

1. Карзакова Л.М. Естественный дефицит цинка и иммунологическая реактивность /Патофизиология и современная медицина: Мат-лы Второй междунар. конф.- М.:Изд-во РУДН, 2004. - С.180-181.
2. Карзакова Л.М., Мохирева Л.В., Еленкина Ж.В. Туберкулез легких в условиях естественного дефицита цинка: Метод. рекоменд., утв. Минздравом Чуваш. Респ. - Чебоксары, 2004. - 49 с.
3. Петров Р.В., Соколова Е.В., Карзакова Л.М., Сусликов В.Л., Сапожников С.П.. Оценка иммунного статуса у населения, проживающего в условиях естественного дефицита цинка //Иммунология. - 1989. - №3.- С.72-75.
4. Das T., Sa G., Sinha P., Ray P.K. Induction of cell proliferation and apoptosis: dependence on the dose of the inducer// Biochem. Biophys. Res. Commun. -1999. - Vol.260. - №1. - P.105-110.
5. Hawkins C.J., Vaux D.L. The role of the Bcl-2 family of apoptosis regulatory proteins in the immune system // Sem.Immunol. - 1997. - Vol.9. - P.25-33.
6. Kilic I., Ozalp I., Coskun T., Tokatli A., Emre S., Saldamli I., Koksel H., Ozboy O. The effect of zinc-supplemented bread consumption on school children with asymptomatic zinc deficiency //J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. - 1998. - Vol.26. - №2. - P.167-71.
7. Nodera M., Yanagisawa H., Waldce O. Increased apoptosis in a variety of tissues of zinc-deficient rats //Life Sce. - 2001. - Vol. 69. - №14. - P.1639-1649.
8. Prasad A.S. Zinc and immunity // Molecular and Cellular Biochemistry. - 1998. - Vol. 188. - №1-2. - P. 63-69.
9. Steller H. Mechanisms and Genes of Cellular Suicide // Science. - 1995. - Vol. 267. - P. 1445-1449.
10. Swain S.L. The activation and differentiation of T cells // Immunologist. - 1995. - Vol.3. - P. 209-211.
11. Telford W., Fraker P. Preferential induction of apoptosis in mouse CD4⁺CD8⁺ alpha beta TCR-loCD3 epsilon lo thymocytes by zinc // J.Cell Physiol. - 1995. - Vol.164. -№2. - P.259-270.

поступила в редакцию 29.11.2004
принята к печати 22.12.2004