

ненной функцией коры надпочечников с целью отмены ГКС-терапии и при других патологиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гершвин М. Бронхиальная астма.— М.: Мир, 1987.— С. 23.
2. Гушин И. С., Лесков В. П., Прозоровский Н. С., Писарев В. М. // Актуальные вопросы иммунофармакологии.— М., 1987.— С. 71—82.
3. Гушин И. С., Лесков В. П., Порошина Ю. А. и др. Способ лечения гнойной кожной инфекции при atopическом дерматите: А. с. 1311738 СССР // Открытия.— 1987.— № 19.
4. Иммунокоррекция в пульмонологии / Под ред. А. Г. Чучалина.— М.: Медицина, 1989.
5. Латышева Т. В., Гушин И. С., Порошина Ю. А. и др. // Тер. арх.— 1988.— № 10.— С. 82—87.
6. Латышева Т. В., Порошина Ю. А., Гушин И. С. и др. // Там же.— № 10.— С. 76—81.
7. Прасолова Н. И. Стероидная зависимость у больных бронхиальной астмой (возможные причины и пути ее устранения): Автореф. дис. ... канд.— М., 1991.
8. Прозоровский Н. С., Гушин И. С., Лесков В. П. // Иммунология.— 1990.— № 6.— С. 19—22.
9. Прозоровский Н. С. Экстракорпорально модифицированные иммуноциты и использование их для иммунокоррекции: Автореф. дис. ... д-ра.— М., 1991.
10. Чучалин А. Г. Бронхиальная астма.— М.: Медицина, 1985.
11. Шмелев Е. И. // Пульмонология.— 1991.— № 2.— С. 37—43.
13. Gushchin I. S., Prozorovsky N. S., Yamshchikova O. A., Kiselev A. V. // Agents Actions.— 1991.— Vol. 33.— P. 185—188.
14. Kurbacheva O. M., Prozorovsky N. S., Chitaeva V. G. // International Congress of Allergology and Clinical Immunology, 14-th.— Kyoto, 1991.— P. 378.

EXTRACORPORAL IMMUNOPHARMACOPHERAPY WITH PREDNISOLONE AND CIANCOBALAMINI (B12) OF ATOPIC GLUCOCORTICOSTEROID-DEPENDENT BRONCHIAL ASTHMA

Kurbacheva O. M., Poroshina Yu. A., Gushchin I. S., Leskov V. P., Chitaeva V. G., Prozorovsky N. S.

Summary

Extracorporeal Immunopharmacotherapy (EIPT) with Prednisolone and Ciancobalamini (B12) is a method of the treatment of severe glucocorticosteroid (GCS) — dependent atopic bronchial asthma.

Leucocytes 4—8 billions collected to the collection-bag by means of blood cell separator, incubated with Prednisolone 30 mcg/ml and B12 1 mcg/ml for 3 hours at 37 °C, washed with sodium solution 3 times and then reinfused to patients. A therapeutic effect is usually reached after 3—5 procedures repeated every 3—5 days.

We put EIPT into practice for treatment of 20 patients with atopic asthma. All that patients had got GCS-dependence before EIPT and exhibited evidence for remission for 6 to 24 months without system GCS after EIPT. Moreover these patients showed decrease of histamine skin sensitivity and IgE-levels in plasma, elevation of plasma cortisol concentration. These patients mononuclear cells had got high level of histamine liberation activity before EIPT and had decrease of it after treatment.

EIPT with Prednisolone and B12 appears to be an effective method for abolishing of GCS-dependence in patients with severe GCS-dependent atopic asthma and preventing severe complications of GCS-treatment.

Поступила 26.02.92

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.248-07:616.155.32-092:612.017.1

Н. Е. Журавлева, Г. В. Порядин, Ж. М. Салмаси

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ АНТИГЕНОВ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ (опыт использования моноклональных антител серии ЛТ)

Российский государственный медицинский университет, Москва

В последние годы в связи с ростом аллергических заболеваний внимание аллергологов (клиницистов и экспериментаторов) привлечено к изучению функционального состояния иммунокомпетентных клеток [3, 4] и к поиску новых диагностических подходов. В клинических условиях наиболее распространенным методом является выявление розеткообразующих лимфоцитов (РОЛ) [1, 20]. Однако, несмотря на простоту этого метода, в силу противоречивых сведений о содержании РОЛ у больных с аллергическими состояниями использование его для диагностики данного состояния затруднено.

В последнее время ряд исследователей все большее внимание уделяют определению маркерного состава лимфоцитов [5] при различных аллергических заболеваниях, связывая выявленный у больных дисбаланс регуляторных лимфоцитов с недостаточной экспрессией рецепторного аппарата на иммунокомпетентных клетках.

Результаты изучения маркерного состава лимфоцитов при аллергии с помощью моноклональных антител (МАТ), по данным литературы, весьма противоречивы. Работами ряда авторов [6, 9, 10, 17] доказано достоверное снижение только CD8⁺-лимфоцитов и за счет этого повы-

Т а б л и ц а

Характеристика субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных atopической формой бронхиальной астмы

Поверхностные антигены лимфоцитов	Здоровые доноры n=29	Больные бронхиальной астмой	
		ремиссия n=19	обострение n=31
Е-РОК			
%	72,2±0,9	67,2±1,2*	70,8±0,9
кл/мкл	1391±80	1206±108	1295±46
CD5 ⁺			
%	56,0±0,8	57,0±0,8	56,0±0,5
кл/мкл	1079±63	1158±108	1135±48
CD4 ⁺			
%	44,8±0,9	42,2±1,4	40,5±0,6*
кл/мкл	854±48	852±89	763±27
CD8 ⁺			
%	23,8±0,6	17,0±1,8*	15,6±0,3*
кл/мкл	460±28	347±57	308±15*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , %	1,9±0,09	2,7±0,2*	2,6±0,07*
Ig ⁺			
%	16,5±0,3	17,8±0,6	17,1±0,6
кл/мкл	316±18	360±38	364±20

Примечание. Звездочка — достоверное различие ($p < 0,05$).

шение отношения CD4⁺/CD8⁺-лимфоцитов у этих больных. Другие же исследователи [14, 18] в своих работах показали снижение отношения CD4⁺/CD8⁺-лимфоцитов у аллергических больных. R. Cozzi [13] отметил снижение количества CD8⁺-лимфоцитов при неизменном количестве CD3⁺ и CD4⁺-лимфоцитов. J. Ruby et al. [21] показали лишь снижение по сравнению со здоровыми CD3⁺-лимфоцитов, а отношение CD4⁺/CD8⁺ было в пределах нормы. H. Nelson [19] в своей работе установил снижение как CD3⁺, так и CD8⁺-лимфоцитов.

Целью настоящей работы является изучение поверхностных антигенов лимфоцитов у больных atopической бронхиальной астмой (АБА) в зависимости от стадии заболевания при помощи МАТ, направленных против CD5-, CD4-, CD8-антигенов, и обоснование возможности их диагностического (дополнительного) использования в клинической практике.

Обследовано 50 больных АБА в возрасте 18—58 лет, из них 19 — в стадии ремиссии, 31 — в стадии обострения. Диагноз подтвержден результатами кожных проб, у большинства больных зарегистрировалась сенсibilизация к домашней пыли. Группа из 29 здоровых доноров, равноценная по полу и возрасту группе больных, служила контролем. В качестве объекта исследований использовали лимфоциты периферической крови. Выделение клеток проводили на градиенте плотности фикол-верографина по методу А. Воупт [11]. После 3-кратного отмывания клетки ресуспендировали в среде 199 и довели их концентрацию до $2 \cdot 10^6$ кл/мл.

В работе использовали отечественные МАТ серии ЛТ (Институт иммунологии): ЛТ1 против CD5-антигена, ЛТ4 против CD4-антигена, ЛТ8 против CD8-антигена. Для выявления фиксированных МАТ использовали меченную ФИТЦ кроличью сыворотку против иммуноглобулинов мыши, для выявления лимфоцитов, несущих иммуноглобулиновые рецепторы, — меченную ФИТЦ кроличью сыворотку против иммуноглобулинов человека (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи). Реакцию ставили на стекле в микроварианте. Препараты изучали с помощью люминесцентного микроскопа Люмам-ИЗ. Просматривали в ультрафиолетовом свете и в фазовом контрасте не менее 200 клеток и определяли процент флуоресцирующих лимфоцитов с изумрудным свечением. Специфичность свечения контролировали в соответствии с критериями, предложенными А. Н. Соопс и М. N. Kaplan [12]. Число Е-РОК определяли модифицированным методом M. Jonpdal et al. [16].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ «Statgraphycs» с использованием t-критерия Стьюдента.

Предварительная оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови здоровых доноров с помощью антител серии ЛТ показала высокую корреляцию полученных результатов с данными, которые были получены при использовании коммерческих МАТ, серии ОКТ (ORTO Diagnostic) [7, 8]. Это позволило в дальнейшем проводить сравнение собственных результатов с данными литературы.

Учитывая имеющиеся в литературе данные о зависимости субпопуляционного состава лимфоцитов больных бронхиальной астмой от стадии заболевания [4, 9], изучение поверхностных антигенов лимфоцитов проводилось отдельно у больных АБА в стадии ремиссии и в стадии обострения.

При анализе полученных результатов была выявлена тенденция к снижению содержания Е-РОК у больных АБА, причем в стадии ремиссии снижение относительного содержания Е-РОК было достоверным (таблица). Относительное и абсолютное содержание CD5⁺-клеток не изменялось ни в стадию ремиссии, ни при обострении АБА. В то же время имело место небольшое достоверное снижение содержания в крови больных CD4⁺-лимфоцитов, особенно при обострении заболевания. Однако наиболее характерным изменением субпопуляционного состава лимфоцитов при АБА оказалось снижение абсолютного и относительного количества CD8⁺-лимфоцитов. В результате изменений в содержании CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов, которые соответствуют функциональным субпопуляциям Т-хелперов и Т-супрессоров/эффекторов [2], у больных наблюдалось достоверное повышение хелперно/супрессорного соотношения CD4⁺/CD8⁺-клеток, как в

стадию ремиссии, так и в стадию обострения. Значимые изменения в содержании лимфоцитов, экспрессирующих иммуноглобулиновые рецепторы, у больных АБА отсутствовали.

Полученные нами результаты хорошо согласуются с данными литературы [6, 9, 10], также показавшими снижение содержания CD8⁺-лимфоцитов при аллергии. В то же время мы не смогли подтвердить результаты исследований К. Ishizaka [15], которые обнаружили у больных поллинозом снижение ОКТ3⁺- и ОКТ4⁺-лимфоцитов при неизменном содержании ОКТ8⁺-лимфоцитов, и результатов J. Ruby et al. [21], не обнаруживших изменения ОКТ8⁺ при бронхиальной астме. Следует сказать, что отмеченное нами нарушение соотношения клеток-хелперов и клеток-супрессоров хорошо коррелирует с данными о снижении функциональной активности Т-супрессоров у больных бронхиальной астмой, особенно в стадию обострения [3, 4]. Это позволяет использовать анализ субпопуляций регуляторных лимфоцитов для оценки нарушений иммунной системы при аллергии вместо значительно более трудоемкого теста определения иммунорегуляторной функции лимфоцитов и недостаточно точного метода определения РОЛ.

Выводы

С помощью мАТ серии ЛТ выявлены нарушения экспрессии рецепторного аппарата на иммунорегуляторных клетках больных АБА, которые коррелировали со стадией заболевания.

При атопической форме бронхиальной астмы обнаруживается некоторое снижение CD4⁺-лимфоцитов, существенное снижение количества CD8⁺-лимфоцитов и повышение соотношения CD4⁺/CD8⁺.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Т. А., Праля М. М. // Клин. мед.— 1979.— № 12.— С. 49—52.
2. Малышев В. С. // Молекулярные и клеточные аспекты клинической иммунологии.— М., 1989.— С. 31—34.
3. Порядин Г. В., Салмаси Ж. М., Ковальчук Л. В. и др. // Иммунология.— 1980.— № 5.— С. 64—67.
4. Порядин Г. В., Салмаси Ж. М. // Там же.— 1987.— № 6.— С. 49—51.
5. Прозоровский Н. С., Кремлев С. Г., Гуцин И. С., Яздовский В. В. // Там же.— 1991.— № 5.— С. 54—56.
6. Сильвестров В. П., Кузьмин И. Ю., Марциновский В. Ю.

- и др. // Этиология, патогенез, клиника, лечение и профилактика бронхиальной астмы.— Л., 1989.— С. 81.
7. Филатов А. В., Ярцев М. Н., Бачурин П. С. // Иммунодефициты и аллергия.— М., 1986.— С. 96—97.
 8. Уракова Е. Б., Филатов А. В., Симонова А. В., Колоскова Н. Ю. // Механизмы иммунорегуляции и иммунной биотехнологии.— М., 1989.— С. 89—91.
 9. Хечинашвили Г. Н., Гургенидзе Г. Г. // Иммунология.— 1989.— № 1.— С. 52—56.
 10. Aquilar A. D., Serrano E. et al. // Allergia.— 1987.— Vol. 34, N 3.— P. 55—56.
 11. Boyum A. // Scand. J. clin. Lab. Invest.— 1968.— Suppl. 97.— P. 7.
 12. Coons A. H., Kaplan M. N. // J. exp. Med.— 1950.— Vol. 91.— P. 1.
 13. Cozzi R. // Chron. Derm.— 1986.— Vol. 17, N 3.— P. 343—346.
 14. Hsien Kue Hsiung // Ann. Allergy.— 1982.— Vol. 48, N 6.— P. 345—348.
 15. Ishizaka K. // Int. Arch. Allergy.— 1989.— Vol. 88, N 1—2.— P. 8—13.
 16. Jondal M., Holm Y., Wigzell H. // J. exp. Med.— 1972.— Vol. 136.— P. 207—215.
 17. Kus J., Tse K. S., Vedal S. et al. // Clin. Allergy.— 1985.— Vol. 15, N 6.— P. 523—529.
 18. Nagy L., Ujhelyi E., Orosz M. // Orv. Hetil.— 1988.— Vol. 129, N 39.— P. 2079—2081.
 19. Nelson H. S. // Ann. Allergy.— 1985.— Vol. 55, N 3.— P. 441—447.
 20. Oehling A., Crisci C. D. // Allerg. Immunol.— 1980.— Bd 26, N 2.— S. 127—136.
 21. Ruby J., Douglass J., Czarny D. et al. // Int. Arch. Allergy.— 1986.— Vol. 81, N 4.— P. 381—384.

Поступила 17.03.92.

THE DIAGNOSTIC VALUE OF LYMPHOCYTES SURFACE ANTIGENS DETERMINATION IN ATOPIC ASTHMA PATIENTS (EXPERIENCE WITH MONOCLONAL ANTIBODIES OF LT SERIES)

Zhuravleva N. E., Poryadin G. V., Solmasi Zh. M.

Summary

The determination of surface lymphocyte antigens in patients with atopic bronchial asthma has been carried out using the monoclonal antibodies of the home series LT. The examined patients have been found to have some disorders of the expression antigens under investigation on immunoregulating cells. These disorders are more strongly marked during acute periods of the disease. The decrease of the expression of CD8 antigen is typical of bronchial asthma patients, the amount of CD8⁺ lymphocytes being 15,6±0,3 % in the acute period and 17,0±1,8 % during period of remission against 23,8±0,6 % in healthy donors.

The results obtained confirm the opinion about insufficiency of suppressor T-lymphocytes in the cases of atopic bronchial asthma and enable to recommend the determination of surface lymphocyte antigens as one of the immunological criteria when this disease takes place.