

- Vol. 85.— P. 318—324.
10. *Konig G., Behr J.* // Atemwegs Lungehkr.— 1989.— Bd. 15, N 11.— S. 605—609.
 11. *Le Roy E. C., Black C. M., Fleischmajer R. et al.* // J. Rheum.— 1988.— Vol. 15.— P. 202—205.
 12. *Miller K. C., Smith E. A., Kinsella M. et al.* // Am. Rev. Resp. Dis.— 1990.— Vol. 141.— P. 301—306.
 13. *Park B. H.* // Lancet.— 1968.— Vol. 2.— P. 532—534.
 14. *Pistelli R., Maini C. Z., Fuso Z. et al.* // Respiration.— 1987.— Vol. 51.— P. 296—306.
 15. *Rossi G. A., Bitterman P. B., Rennard S. J. et al.* // Am. Rev. Resp. Dis.— 1985.— Vol. 131.— P. 612—617.
 16. *Sibille Y., Reynold H. Y.* // Ibid.— 1990.— Vol. 141.— P. 471—501.
 17. *Silver R. M., Matcalf J. F., Stanley J. H. et al.* // Arthr. Rheum.— 1984.— Vol. 127.— P. 1254—1262.
 18. *Wallaert B., Hatron P. Y., Grosbois J. M. et al.* // Am. Rev. Resp. Dis.— 1986.— Vol. 133.— P. 574—580.
 19. *Wallaert B., Bart F., Aerts C. et al.* // Thorax.— 1988.— Vol. 43.— P. 24—30.

Поступила 02.03.92.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.248-07:616.233-008.8-07

*Л. К. Романова, Е. Ю. Москалева, С. И. Овчаренко, Т. Б. Младковская,
Г. П. Ильин*

ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО СМЫВА ПРИ ОБОСТРЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Лаборатория пульмонологии НИИ морфологии человека РАМН; лаборатория иммунологии Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения, г. Москва

IMMUNOREGULATORY AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF BRONCHO-ALVEOLAR LAVAGE DURING ASTHMA EXACERBATIONS.

L. K. Romanova, E. Yu. Moskaleva, S. I. Ovcharenko, T. B. Mladkovskaya, G. P. Iljin.

Summary

Cytotoxic activity of cell free fraction (CFF) of the broncho-alveolar lavage (BAL) according to its ability to lyse the cells from the monocytoid human blast cell line J96 was assessed in 8 asthmatics and 4 normals. Immunoregulatory properties of CFF were assessed according to its influence on spontaneous and konkanavaline A induced proliferation of peripheral human blood lymphocytes, cultivated in the presence of ³H-thymidine. As a rule during «normal» stage CFF has no cytotoxic and mitogenic activity, and very slightly inhibits mitogenic response of lymphocytes stimulated by konkanavaline in vitro. During the state of bronchial asthma CF of BAL presents high cytotoxic activity, which is not followed by appearance or rise in level of tumor necrotizing factor α . Immunoregulatory properties of BAL CFF are changing during asthma exacerbations: There appear some factors capable of inhibiting the spontaneous proliferation of peripheral human blood lymphocytes and strengthen their response to mitogens in comparison with the «normal» BAL CFF.

Резюме

У 8 больных бронхиальной астмой и 4 лиц без легочной патологии определяли цитотоксическую активность бесклеточной фракции (БФ) бронхоальвеолярных смывов (БАС) по её способности лизировать клетки моноцитоидной линии опухолевых клеток человека J 96. Иммунорегуляторные свойства БФ оценивали по её влиянию на спонтанную и индуцированную конканавалином А пролиферацию лимфоцитов периферической крови человека, культивируемых в присутствии ³Н-тимидина. В «норме» БФ смыва, как правило, не обладает цитотоксической и митогенной активностью, а также незначительно ингибирует индуцируемый конканавалином митогенный ответ лимфоцитов in vitro. При бронхиальной астме БФ БАС обладает высокой цитотоксической активностью, которая не сопровождается появлением или повышением концентрации фактора некроза опухоли α . Иммунорегуляторные свойства БФ БАС во время обострения бронхиальной астмы изменяются: в ней появляются факторы, способные подавлять спонтанную пролиферацию лимфоцитов периферической крови человека и усиливать их ответ на митогены по сравнению с БФ БАС в «норме».

На эпителиальной поверхности респираторного отдела легких расположен жидкий слой (lung lining fluid [3, 16]), содержащий продукты секреции бронхиолярного и альвеолярного эпителия,

а также цитокины, продуцируемые клетками внутренней среды легких (альвеолярными макрофагами, лимфоцитами, нейтрофильными и эозинофильными лейкоцитами и др.). Одним из компо-

Таблица 2

Клеточный состав БАС больных при обострении бронхиальной астмы и в группе сравнения

Исследуемый показатель	Группа сравнения («норма»)	Бронхиальная астма
Число случаев	4	8
Абсолютное число клеток в 1 мл БАС · 10 ⁴	31,3 ± 10,1	24,3 ± 7,1
в том числе:		
альвеолярные макрофаги + моноциты (АМ+Мон)	28,5 ± 9,3	20,8 ± 6,5
лимфоциты (Л)	2,1 ± 0,5	0,6 ± 0,2
нейтрофилы (Н)	0,6 ± 0,4	1,9 ± 0,9
эозинофилы (Э)	0,2 ± 0,1	1,0 ± 0,2*
Эндотельмоная цитограмма, %		
АМ+Мон	90,3 ± 2,0	83,3 ± 2,8
Л	7,9 ± 2,0	3,7 ± 1,1
Н	1,3 ± 0,6	7,3 ± 2,2*
Э	0,5 ± 0,2	5,8 ± 1,3*
Соотношение клеток		
АМ+Мон:Л	11,4	22,5
АМ+Мон:Э	180,6	14,4
АМ+Мон:Н	69,5	11,4
АМ+Мон:Э+Н	50,2	6,4

Примечание. Звездочка — $p < 0,05$.

вышения проницаемости воздушно-кровяного барьера в легких обследованных больных.

Из представленных данных следует, что БФ БАС человека почти не обладает митогенной активностью, лишь незначительно ингибирует индуцируемый КонА митогенный ответ ЛПК *in vitro* и, как правило, не проявляет цитотоксических свойств (цитотоксичность БФ БАС обнаружена лишь у одного из 5 обследованных пациентов без признаков легочной патологии). ФНО α в пределах чувствительности метода (10 пг/мл БФ БАС) не обнаружен. Можно думать, что иммуномодулирующее действие БФ БАС определяется фосфолипидами альвеолярного сурфактанта, т. к. показано, что фосфатидилхолин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, составляющие во фракции фосфолипидов альвеолярного сурфактанта 66,0; 4,0; 2,0; 5,0 и 4,9 % соответственно, подавляют в дозозависимой степени пролиферацию ЛПК человека, индуцируемую митогенами и аллоантигенами *in vitro* [12, 16]. Холестерин, фосфатидилэтанолламин и сфингомиелин, входящие в состав сурфактанта в количестве 8,0; 5,0 и 1,0 % соответственно, напротив, оказывают стимулирующее действие на пролиферацию ЛПК, культивируемых в бессывороточной среде [12, 16]. Фосфолипидный профиль альвеолярного сурфактанта, а следовательно, и его иммуномодулирующие свойства могут изменяться при легочных заболеваниях и стероидной терапии [12]. При БА, в частности, обнаружено снижение поверхностно-активных свойств БАС [2] и изменение фосфолипидного

профиля альвеолярного сурфактанта [15], что позволяет думать о появлении при этом заболевании новых иммунорегуляторных свойств жидкой внутриальвеолярной среды.

Действительно, при обострении бронхиальной астмы БФ БАС обладала способностью угнетать спонтанную пролиферацию ЛПК — индекс стимуляции снижался с 1,2 в присутствии БФ БАС лиц из группы «норма» до 0,6 при добавлении БФ БАС, полученной от больных в момент обострения БА (см. табл. 1). В то же время в отличие от «нормы» БФ БАС больных БА не только не угнетала индукцию пролиферации ЛПК под действием КонА, но даже незначительно ее усиливала. Показатель модификации митогенного ответа ЛПК при БА оказался увеличенным по сравнению с «нормой» на 57 % (см. табл. 1). Изменение иммуномодулирующей активности БФ БАС при БА аналогично изменению подобной активности альвеолярных макрофагов, которые преобладают среди клеток БАС, составляя 84,4 % от их общего числа (см. табл. 2). Так, показано, что альвеолярные макрофаги, полученные из БАС здоровых людей, позволяют индуцируемую КонА (или фитогемагглютинином) пролиферацию ЛПК [8], и эта ингибиторная активность альвеолярных макрофагов значительно снижается при бронхиальной астме [14].

В БФ БАС в период обострения БА обнаружена высокая цитотоксическая активность. Возможно, что именно с появлением цитотоксических факторов в БФ БАС связано отмеченное выше угнетение спонтанной пролиферации ЛПК под действием БФ БАС больных БА. Следует особо под-

Таблица 3

Индивидуальные показатели цитотоксической активности бесклеточной фракции БАС и абсолютного числа эозинофилов и нейтрофилов в БАС в «норме» и при бронхиальной астме

Группа наблюдения	Цитотоксическая активность, усл. ед.	Число клеток в 1 мл БАС · 10 ⁴		
		Эозинофилы	Нейтрофилы	Эозинофилы + нейтрофилы
«Норма»				
Ч — ва	0	0,1	0,2	0,3
Т — ий	5,3	0	0,1	0,1
Д — ов	0	0,4	1,8	2,2
Б — в	0	0,2	0,1	0,3
Бронхиальная астма				
С — в	20,9	0,6	0,3	0,9
П — а	18,8	1,2	0,3	1,5
И — о	16,8	0,5	1,5	2,0
К — н	14,4	0,6	2,4	3,0
Сол — в	14,0	0,9	0,3	1,2
М — а	12,0	2,0	2,0	4,0
У — в	10,1	0	7,7	7,7
Ж — в	8,9	1,8	0,3	2,1

черкнуть, что повышение цитотоксической активности БФ БАС при БА не было связано с ФНО α .

Наши представления об источниках, функции, о точках приложения и результатах действия цитотоксических факторов во внутренней среде легких *in vivo* при различной легочной патологии и, в частности, при бронхиальной астме, крайне ограничены. Биологическая активность бесклеточной фракции БАС может определяться продуктами секреции эпителиальных клеток воздухоносных путей, начиная с субсегментарного бронха, альвеолоцитов либо клеток, находящихся в легких в «свободном» состоянии и потому легко извлекаемых в процессе получения БАС. Состав и соотношение этих клеток существенно изменяется при БА (см. табл. 2). Действительно, в БАС больных в период обострения БА происходит снижение абсолютного содержания альвеолярных макрофагов с моноцитами, а также лимфоцитов при достоверном увеличении числа нейтрофилов и эозинофилов. Относительное число эозинофилов в БАС при БА возрастает в 11,6, а нейтрофилов — в 5,6 раза по сравнению с «нормой» (см. табл. 2). Мы попытались сопоставить число эозинофилов и нейтрофилов в 1 мл БАС с цитотоксическими свойствами БФ БАС (табл. 3). Однако в каждом отдельном случае не удалось выявить прямой положительной зависимости между степенью цитотоксичности БФ БАС и абсолютным числом эозинофилов в смыве. Более того, у одного больного (У — в) при наличии цитотоксической активности в БФ эозинофилы в БАС обнаружены не были. Вместе с тем у этого больного отмечено в БАС сравнительно высокое относительное содержание нейтрофильных лейкоцитов (10,9%), что могло послужить одной из предпосылок появления цитотоксической активности в БФ БАС. Сравнивая между тем показатели содержания нейтрофилов в 1 мл БАС в «норме» и при бронхиальной астме в каждом отдельном случае мы также не смогли установить корреляции между уровнем нейтрофилоза БАС и его цитотоксической активностью.

Не исключено поэтому, что степень цитотоксичности БФ БАС при БА определяется не только числом и функциональным состоянием эозинофилов и нейтрофилов при их активации, но, главным образом, суммой цитотоксических факторов (катионных эозинофильных белков, лимфотоксинов, комплемента, перекисей и других метаболитов), продуцируемых различными клетками внутренней среды легких, активированных действием антигенов, провоцирующих приступ БА.

1. Бесклеточная фракция БАС, полученная у лиц, не имеющих признаков легочной патологии, как правило, не обладает цитотоксической и митогенной активностью, а также незначительно ингибирует индуцируемую Кона пролиферацию лимфоцитов периферической крови *in vitro*.

2. При бронхиальной астме бесклеточная фракция БАС обладает высокой цитотоксической активностью, которая не сопровождается повышением в ней концентрации фактора некроза опухоли α (ФНО α).

3. Иммуномодуляторные свойства бесклеточной фракции БАС во время обострения бронхиальной астмы изменяются: в ней появляются факторы, способные подавлять спонтанную пролиферацию лимфоцитов периферической крови человека и усиливать их митогенный ответ на Кона по сравнению с БФ БАС в «норме».

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасин В. А., Журавлев А. В., Паламарчук Г. Ф., Новикова Л. Н. // Тер. арх.— 1985.— № 3.— С. 99—103.
2. Миррахимов М. М., Бримкулов Н. Н., Лямцев В. Т., Белов Г. В. // Там же.— 1987.— № 3.— С. 31—36.
3. Романова Л. К., Жаворонков А. А., Лемперт Б. А. и др. // Физиология человека.— 1977.— Т. 3, № 6.— С. 1006—1022.
4. Романова Л. К., Овчаренко С. И., Младковская Т. Б. и др. // Пульмонология.— 1992.— № 1.— С. 20—27.
5. Татарский А. Р., Алиева К. М. // Там же.— 1991.— № 2.— С. 48—54.
6. Федосеев Г. Б., Хлопотова Г. П. Бронхиальная астма.— Л., 1988.
7. Чучалин А. Г. Бронхиальная астма.— М., 1985.
8. Aubas P., Cosso B., Godard Ph. et al. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1984.— Vol. 130.— P. 875—878.
9. Bradford M. // Anal. Biochem.— 1976.— Vol. 72, N 1.— P. 248—254.
10. Boyum A. // Scand. J. Clin. Lab. Invest.— 1968.— Suppl. 97.— P. 31—50.
11. Hisamatsu Ken-ichi, Tetsuya Ganbo, Tsutomu Nakazawa et al. // Lipids.— 1991.— Vol. 26, N 12.— P. 1287—1291.
12. Huges D. A., Haslam P. L. // Eur. Respir. J.— 1990.— Vol. 3.— P. 1128—1139.
13. Mendes A. C., de Araujo T. A., Capela T., Freitas e Costa M. // International Conference on Bronchoalveolar Lavage, 3-rd: Abstracts.— Vienna, 1991.— P. 21S.
14. Mchel F. B., Godard Ph., Bousquet J. // Int. Arch. Allergy.— 1989.— Vol. 88.— P. 101—107.
15. Sahu S., Lynn W. S. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1977.— Vol. 115, N 2.— P. 233—239.
16. Wilsher M. L., Huges D. A., Haslam P. L. // Thorax.— 1988.— Vol. 43.— P. 354—359.
17. Wilsher M. L., Parker D. J., Haslam P. L. // Ibid.— 1990.— Vol. 45.— P. 3—8.