

УДК 616—002.77.017.1—053 2

В. А. МКРТЧЯН, С. Л. ЕОЛЯН, А. А. ГАЛСТЯН, Е. В. ДАВИДЯН
Л. А. АДАМЯН, С. А. ЗАКАРЯН, К. Г. МАРТИРОСЯН

Ք ՎՈՓՐՍՍ ԿՐՐԵԿՑԻԱ ՖՈՆԿՑԻԱ ՏԻՏԵՄՅԻ ԻՄՄՈՆԻՏԵՏԱ Վ ԿԼԻՆԻԿԵ ԴԵՏՏՔՈ ԴԵՎՄԱՏԻՅՄԱ

Разработан новый способ лечения ревматизма при помощи обратного переливания аутологических лимфоцитов, инкубированных *in vitro* в среде, содержащей сыворотку многорожавших женщин.

На основании клинико-иммунологических методов исследования продемонстрировано снижение экспрессии аллергических и аутоаллергических реакций у больных первичным и возвратным ревмокардитом II—III степени активности процесса без дачи гормональных иммунодепрессивных препаратов.

Благодаря интенсивному развитию клинической иммунологии появилась реальная возможность интеграции иммунологических методов лечения во все области клинической медицины. Как отмечает Р. В. Петров [2], клиническая иммунотерапия представляет собой практическое приложение развивающейся отрасли иммунологии и иммуногенетики, которая разрабатывает пути фенотипической коррекции иммунного ответа. Разнообразие способов иммунотерапии и большой выбор средств, прямо или косвенно влияющих на аппарат иммуногенеза, позволяет снизить выраженность иммунологического конфликта, имеющего большое значение в патогенезе аутоиммунных заболеваний, в том числе и ревматизма.

Как известно, в клинике ревматизма широко применяются гормональные и химические иммунодепрессивные препараты. Осуществлено клиническое испытание антилимфоцитарной сыворотки [1], тем не менее вопросы регуляции иммуногенеза при ревматизме изучены недостаточно.

Следует отметить, что в доступной литературе нам не удалось найти аналогичного способа снижения экспрессии аллергических и иммунопатологических реакций в клинике ревматизма.

Исходя из данных литературы о том, что сыворотка многорожавших женщин проявляет иммуносупрессивную активность, мы задались целью изучить клеточные и гуморальные сдвиги детей, больных ревматизмом, и разработать способ иммунотерапии при помощи лимфоцитов, «обученных» *in vitro* сывороткой многорожавших женщин.

Под нашим наблюдением находились дети (122), больные ревматизмом, в возрасте от 5 до 15 лет с активностью ревматического процесса II—III степени. У 82 больных установлен первичный, у 40—возвратный ревмокардит. 20 больных первичным и возвратным ревматизмом, получивших обычное противоревматическое лечение, включая и гормональную терапию, составили контрольные группы.

У 62 больных первичным и 20 возвратным ревмокардитом с целью снижения иммунологического конфликта переливали аутологические лимфоциты, предварительно инкубированные в среде, содержащей сыворотку многорожавших женщин (Rh-, серонегативная на австралийский антиген).

Диагноз ревматизма и степень активности процесса определяли на основании тщательного клинико-лабораторного обследования. Из 82 больных первичным ревмокардитом II степень активности процесса установлена у 44, III—у 38, у 40 больных возвратным ревматизмом II степень активности диагностирована у 10, III—у 30 больных. Лишь 5 из 122 больных имели I степень нарушения кровообращения. У преобладающего большинства обследованных (91) установлено острое течение болезни и только у 31—подострое.

«Обучение» лимфоцитов *in vitro* производили следующим образом. Из 15—20 мл гепаринизированной венозной крови выделяли лимфоцитарную взвесь и инкубировали в среде, содержащей аутоплазму и сыворотку многорожавших женщин из расчета 0,2—0,5 мл на 1 мл клеточной взвеси. После 6—8 часовой инкубации при 37° клеточную взвесь центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин. Клеточный осадок ресуспендировали в стерильном физиологическом растворе и снова отмывали в том же режиме. Полученный клеточный осадок ресуспендировали в физиологическом растворе, хорошо взбалтывали и вводили внутривенно. Как правило, больным переливали аутологические лимфоциты периферической крови. Осложнений после проведения аутолейкотрансфузии не наблюдалось.

Для оценки эффективности лечебных мероприятий (во всех группах больных), помимо клинических наблюдений, применялись следующие методы иммунологического исследования: тест аллергической альтерации нейтрофилов по [4]; реакцию спонтанного розеткообразования (Е-РОК) по [3]; цитотоксический тест иммунных лимфоцитов на аллогенные клетки эмбрионального миокарда по [5]; реакцию бласттрансформации лимфоцитов периферической крови по [12]; реакцию торможения миграции лейкоцитов по [7], а также определение титра АСЛО и АСК в сыворотке крови.

В качестве антигенов использовали экстракт здоровой сердечной мышцы (умерших вследствие несчастных случаев) и стрептококковый аллерген.

Результаты исследований по реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) представлены в табл. 1, из которой видно, что в первые дни стационарного лечения независимо от характера применяемых ле-

чебных мероприятий у большинства обследованных ИМ (индекс миграции) больше 0,5, т. е. результаты отрицательные. Через 10 дней после начала антиревматической терапии и переливания «обученных» лимфоцитов снижается процент положительных реакций во всех группах, кроме контрольной группы первичного ревмокардита.

При использовании сердечного антигена в контрольной группе обследованных первичного ревмокардита происходит увеличение процента положительных реакций, в то время как при переливании «обученных» лимфоцитов процент положительных реакций остается почти на одинаковом уровне.

В группе больных возвратным ревматизмом происходит подавление аутоаллергических реакций, о чем свидетельствует снижение процента положительно реагирующих больных на сердечный антиген при лечении «обученными» лимфоцитами и повышение при лечении обычными способами.

Как показали наши исследования по реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ), процент бластоцитов при высокой степени активности ревматического процесса невысок (табл. 2). Под влиянием лечения реактогенные способности лимфоцитов в контрольных группах больных меняются. Так, например, если при лечении «обученными» лимфоцитами в ответ на рестимуляцию сердечным антигеном и стрептококковым аллергеном заметных сдвигов в проценте бласт-клеток не наблюдается, то в контрольных группах первичного и возвратного ревматизма выявляется тенденция повышения процента трансформированных клеток.

При определении Е-РОК наша задача заключалась лишь в уточнении влияния переноса «обученных» лимфоцитов на количество спонтанно розеткообразующих Т-клеток в периферической крови. Исследования показали, что при активном ревмокардите (контрольные группы обследованных) имеет место снижение процента Е-РОК по сравнению с таковыми у практически здоровых детей. В дальнейшем наблюдается увеличение процента Е-РОК, что к концу первого месяца лечения почти приближается к доступным величинам. Введение «обученных» лимфоцитов при первичном и возвратном ревмокардите не приводит к заметному снижению процента Т-клеток независимо от сроков обследования больных.

При изучении цитопатогенного действия сенсibilизированных лимфоцитов на эмбриональные миокардиальные клетки-мишени человека выяснилось, что в период поступления больных на стационарное лечение почти у 50% обследованных результаты реакции положительные. Через 10 дней после применения соответствующих лечебных мероприятий в контрольной группе больных первичным ревмокардитом наблюдается некоторое повышение процента положительных реакций. В противоположность этому при переносе «обученных» лимфоцитов процент положительных реакций снижается с 66 до 26,3. При II—III степени активности возвратного ревмокардита наблюдается в основном такая же тенден-

Таблица 1

Данные по РТМЛ в клинике ревматизма

Г р у п п а	Число случаев	При поступлении				Через 10 дней			
		стрептококковый антиген	P*	сердечный антиген	P	стрептококковый антиген	P	сердечный антиген	P
		число положит. ответов		число положит. ответов		число положит. ответов		число положит. ответов	
Лечение активного первичного ревмокардита „обученными“ лимфоцитами	60	20(33,3%)	>0,05	5(8,3%)	>0,05	5(8,3%)	<0,01	6(10%)	<0,01
Лечение активного первичного ревмокардита преднизолоном	20	8(40%)		3(15%)		10(50%)		9(45%)	
Лечение активного возвратного ревмокардита „обученными“ лимфоцитами	20	7(35%)	>0,05	3(15%)	>0,05	3(15%)	>0,05	1(5%)	<0,01
Лечение активного возвратного ревмокардита преднизолоном	15	5(33,3%)		3(20%)		3(20%)		5(33%)	

Примечание. P*—по ϕ критерию Фишера.

Таблица 2

Результаты исследований по РВТЛ

Г р у п п а	Число случаев	При поступлении				Через 10 дней			
		стрептококковый антиген	P*	сердечный антиген	P	стрептококковый антиген	P	сердечный антиген	P
		% бластклет.		% бластклет.		% бластклет.		% бластклет.	
Лечение активного первичного ревмокардита „обученными“ лимфоцитами	60	2,8±0,6	>0,05	2,1±0,3	>0,05	2,9±0,8	<0,01	2,4±0,9	<0,01
Лечение активного первичного ревмокардита преднизолоном	20	3,1±1,0		2,4±0,3		7,2±1,0		6,2±0,6	
Лечение активного возвратного ревмокардита „обученными“ лимфоцитами	20	4,8±0,5	>0,05	3,6±0,5	>0,05	3,3±0,4	<0,01	2,9±0,8	<0,01
Лечение активного возвратного ревмокардита преднизолоном	15	3,1±0,6		2,8±0,6		7,1±1,1		6,6±1,0	

Примечание. P*—по t критерию Стьюдента.

ция. Через 30 дней после начала лечебных мероприятий происходит повышение процента отрицательных реакций.

Проведенные исследования по реакции аллергической альтерации нейтрофилов показали, что в период поступления больных под влиянием стрептококкового и сердечного антигенов происходит повышение процента разрушенных клеток. Через 10 дней в группе больных, получивших «обученные» лимфоциты, показатели данной реакции колебались в пределах допустимых величин (до 10% поврежденных клеток принимается за норму), тогда как в контрольной группе первичного ревмокардита процент лизированных нейтрофилов был выше допустимого независимо от характера применяемого в реакциях антигена. Через 30 дней после начала лечебных мероприятий наблюдается исчезновение в разнице процента разрушенных нейтрофилов. В группе обследованных возвратным ревмокардитом данные, полученные в 10-му дню, соответствуют таковым при первичном ревмокардите. Однако к 30-му дню процент разрушенных нейтрофилов под влиянием стрептококкового антигена остается выше нормальных величин.

При изучении динамики изменений титра АСЛО и АСК в сыворотке крови выяснилось, что в течение первых 10 дней их титр оставался без изменений. При переносе «обученных» лимфоцитов к этому сроку наблюдения происходит статистически достоверное снижение среднего титра АСЛО как при первичном (с $544,8 \pm 46,5$ до $189,6 \pm 28,6$), так и при возвратном ревмокардите (с $468,5 \pm 50,1$ до $294,4 \pm 31,8$). Титр АСК у различных групп обследованных независимо от сроков исследования заметным образом не изменяется, несмотря на выявленную тенденцию к снижению при переносе «обученных» лимфоцитов.

Таким образом, исходя из данных, представленных выше, можно заключить, что обработка лимфоцитов детей, больных ревматизмом, сывороткой многорожавших женщин сопровождается повышением их супрессорной на иммуногенез активности, что выражается в подавлении аллергических реакций замедленного типа и синтеза некоторых гуморальных антител после ретрасфузии такой лимфоцитарной взвеси в аутосистеме.

Естественно возникает вопрос: каким образом и за счет каких эффекторных агентов, содержащихся в сыворотке многорожавших, осуществляется супрессорное «обучение» лимфоцитов?

Из литературных данных известно, что в период беременности происходит угнетение гуморального и клеточного иммунитета матери [6, 8, 9, 11]. Можно предположить, что при беременности в сыворотке крови матери появляются иммуносупрессивные вещества белковой природы типа антител, альфа-глобулинов, гликопротеидов или же других острофазовых белков. Не исключается, что в период беременности происходит интенсивная пролиферация субпопуляции тимусзависимых супрессорных клеток, которые выделяют гуморальный супрессорный фактор. Помимо этого, в развитии физиологической иммунодепрессии матери, по всей вероятности, принимают активное участие плацента, трофобласт,

плод, тем более что экстракт плаценты и трофобласта по некоторым данным подавляет иммуногенез [10, 13].

Наряду с этим учитывая, что в сыворотке беременных выявляются анти-HLA антитела, нетрудно согласиться с предположением о том, что такая сыворотка в состоянии изменить функциональную активность и направленность лимфоцитов при их совместной инкубации *in vitro*.

Институт кардиологии
им. Л. А. Оганесяна

Поступила 10/V 1979 г.

Վ. Ա. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Ս. Լ. ՅՈՒՅԱՆ, Ա. Ա. ԳԱՍՏՅԱՆ, Ե. Վ. ԴԱՎԹՅԱՆ, Լ. Ա. ԱԴԱՄՅԱՆ,
Ս. Ա. ԶԱԲԱՐՅԱՆ, Կ. Գ. ՄԱՐՏԻՐՈՅԱՆ

ՄԱՆԿԱԿԱՆ ՌԵՎՄԱՏԻԶՄԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԻՄՈՒՆ ՍԻՍՏԵՄԻ ՅՈՒՆԿՑԻԱՅԻ ԿԱՆՈՆԱՎՈՐՄԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՁ

Ուսումնասիրված է հեղինակների կողմից առաջարկված նոր բուժամիջոցի ազդեցության արդյունավետությունը առաջնային և հետադարձ ռեմատիզմով հիվանդների վրա: Բուժամիջոցի սկզբունքը կայանում է նրանում, որ հիվանդ երեխայի արյունից ստացված լիմֆոցիտները *in vitro* ինկուբացվում են բազմածին կանանց արյան շիճուկի հետ, լվացվում շիճուկի մնացորդներից և ներարկվում նույն հիվանդին:

Բուժումը, առանց հորմոնալ հակառեմատիկ պրեպարատների կիրառման, նպաստում է ակրզիայի և աուտոպրզիայի արտահայտվածության նվազմանը և ակտիվ պրոցեսի շտապփուլի վերացմանը: Սեփական «ուսուցված» լիմֆոցիտների հետադարձ ներարկումը հիվանդները աանում են առանց բարդությունների, լավանում է նրանց ընդհանուր վիճակը, կանոնավորվում են լաբորատոր քննությունների արդյունքները և, որ ամենակարևորն է, իջնում է իմունոկոմպետենտ բջիջների ֆունկցիոնալ ակտիվությունը:

V. A. MKRTCHIAN, S. L. YOLIAN, A. A. GALSTIAN, E. V. DAVTIAN,
L. A. ADAMIAN, S. A. ZAKARIAN, K. G. MARTIROSIAN

ON IMMUNITY FUNCTION CORECTION IN INFANTILE RHEUMATISM

In the article it is shown the immunity function regulation possibility in rheumatism by transfusion of autologic lymphocytes „trained“ *in vitro* with serum of the women with multiple birth.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нестеров А. И., Сигидин Я. А., Говалло В. И., Григорьева М. П., Космиади Г. А. Вопр. ревматизма, 1970, 3, стр. 69.
2. Петров Р. В. Тез. докл. XL сессии общ. собр. АМН СССР. М., 1978, стр. 14.

3. Стефани Д. В., Вельгичев Ю. Е. Клиническая иммунология детского возраста. Л., 1977.
4. Фрадкин В. А. Аллергодиагностика in vitro. М., 1975.
5. Цероттин Ж. Ш., Бруннер К. В кн.: Методы изучения in vitro клеточного иммунитета. М., 1974, стр. 125.
6. Barnstable C. J., Bodmer W. F. Lancet, 1978, 8059, 326.
7. Дэвид Дж., Дэвид Р. В кн.: Методы изучения in vitro клеточного иммунитета. М., 1974, стр. 29.
8. Gall S. H., Semin perinatol., 1977, 2, 119.
9. Herva E. Acta univ. ouluen, 1977, 22(2), 57.
10. Gualole N., Bonnetblanc V. M., Catanrano G. Rev. Franc. allergol. et immunol. clin., 1977, 5, 269.
11. Ong K. S., Grieco M. H., Goel Z. J. Allergy and clin immunol., 1978, 3, 143.
12. Валентайн Ф. В кн.: Методы изучения in vitro клеточного иммунитета. М., 1974, 185.
13. Straube W., Hofmann R., Klausch B. Med. aktuell, 1978, 5, 220.