

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

НАУЧНЫЕ ТРУДЫ

**КЛЕТОЧНЫЕ  
ФАКТОРЫ  
ИММУНИТЕТА  
В ДИАГНОСТИКЕ  
РЕВМАТИЧЕСКИХ  
БОЛЕЗНЕЙ**

Под редакцией  
члена-корреспондента  
АМН СССР В. П. Лозового

Новосибирск - 1981

## ЦИРКАДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

В.С.Туазв, В.С.Кожевников, О.Т.Кудаева

По современным представлениям срыв аутоотолерантности и возникновение аутоиммунного конфликта происходит из-за нарушений во взаимодействии иммунокомпетентных клеток и механизмов регуляции их активности. Важным фактором в иммунной системе, обеспечивающим эффекторные механизмы, является процесс миграции и перераспределения иммунокомпетентных клеток. Отмечены широкие возможности модуляций функций в иммунной системе, ее относительная автономность, механизмы компенсаций к изменяющемуся гормональному режиму (В.П.Лозовой и соавт., 1979). Выбор нами биоритмологического метода исследований заключается в том, что представляется возможность проследить динамику взаимосвязи иммунной системы с интегрирующими факторами целого организма, из которого определяющим является эндокринная система, и при этом исследовать последовательность включения в миграцию различных

иммуноцитов. Такие неспецифические воздействия как рапогрязелечение, широко используемое в терапии ревматоидного артрита, являются аналогами неспецифических изменений внешних параметров. Это может служить естественной моделью изучения адаптивных са-ногенетических реакций иммунной системы человека.

Основной целью исследования являлась характеристика суточных ритмов циркуляции субпопуляций лимфоидных клеток периферической крови, их функциональная активность и чувствительность к воздействию гидрокортизона и тимозина.

В один сезон (весна) обследованы больные ревматоидным артритом (РА) с активностью процесса I-II степени в фазе пролиферативно-экссудативного воспаления: I-до начала рапогрязетерапии, II - в процессе рапогрязетерапии, в период "бальнеореакции", характеризующейся особенностями ряда клинико-лабораторных показателей. На первом этапе обследование начиналось на 3-й день адаптации к режиму. Медикаментозное лечение исключалось. Забор крови из локтевой вены проводился в течение суток через 6 часов (12, 18, 24, 6). Лимфоциты выделялись в градиенте фиколл-верографин плотностью 1,077 (Б.Б.Хейфец, В.А.Абалкин, 1973) и определялись в принадлежности к Т- и В-классам в тестах розеткообразования: Е-активные (Еа), ЕАС; Е-активированные (Еh-I); Е-стабильные (Ес); Е-ауторозеткообразование (Еh); Е-восстановленные (Ев); ЕА. Спонтанная БТЛ, спонтанная и индуцированная Т-супрессорная активность определялась по включению <sup>3</sup>H-тимидина. Определялась чувствительность лимфоцитов Т- и В-классов к воздействию IV фракции тимусного экстракта телят в дозе 300 мкг/мл *in vitro*, а также к действию физиологических концентраций гидрокортизона ("Sigma" G.B.) в дозе 0,5 мкг/мл с добавлением сыворотки человека IV группы. Инкубация проводилась в течение 1 часа. Оценивалась avidность рецепторов лимфоидных клеток к эритроцитам барана (Yu D.T.H. et al., 1977). К среднеavidным относили лимфоциты, прикрепившие 3-10, а к высокоavidным - более 10 эритроцитов. Лимфоциты, которые не выявлялись в тестах Е- и ЕАС-РОК, относили к так называемым нулевым клеткам.

Полученные данные, представленные в табл. I-7, показывают, что у больных ревматоидным артритом до начала бальнеотерапии временная организация циркулирующих субпопуляций лимфоцитов отличается от данных у здоровых лиц (В.П.Лозовой и соавт., 1979) и характеризуется низким уровнем и слабо выраженным суточным

Таблица I

Суточная динамика относительного содержания субпопуляций лимфоцитов у больных РА на I этапе обследования

Тип клеток	Время суток, ч				Достоверн. различий
	6	12	18	24	
Е	50,3 $\pm$ 2,46 (29)	44,1 $\pm$ 2,99 (29)	43,7 $\pm$ 3,97 (29)	49,7 $\pm$ 3,05 (29)	xx
Еа	34,2 $\pm$ 2,20 (29)	30,3 $\pm$ 2,93 (29)	28,5 $\pm$ 3,26 (29)	25,2 $\pm$ 2,77 (29)	6-24 p < 0,05
Ев	40,3 $\pm$ 2,54 (17)	30,1 $\pm$ 2,12 (17)	32,1 $\pm$ 2,33 (17)	38,6 $\pm$ 2,56 (17)	6-12 p < 0,01
Ес	17,9 $\pm$ 3,81 (8)	9,7 $\pm$ 2,65 (8)	10,7 $\pm$ 1,65 (8)	20,0 $\pm$ 3,40 (8)	24-12 p < 0,05
Е <sub>h</sub> -I	6,9 $\pm$ 1,43 (8)	5,7 $\pm$ 1,12 (8)	3,9 $\pm$ 1,35 (8)	7,7 $\pm$ 1,22 (8)	24-18 p < 0,05
Е <sub>h</sub>	0,6 $\pm$ 0,28 (8)	1,2 $\pm$ 0,30 (8)	0,2 $\pm$ 0,27 (8)	0,9 $\pm$ 0,23 (8)	xx
ЕАС	18,5 $\pm$ 1,38 (29)	16,5 $\pm$ 0,85 (29)	16,0 $\pm$ 1,26 (29)	15,3 $\pm$ 1,15 (29)	xx
ЕА	12,1 $\pm$ 1,10 (17)	11,6 $\pm$ 1,11 (17)	10,9 $\pm$ 0,94 (17)	12,2 $\pm$ 0,92 (17)	xx
"0"	31,2 $\pm$ 3,37 (29)	3,97 $\pm$ 3,13 (29)	40,4 $\pm$ 4,53 (29)	35,0 $\pm$ 3,29 (29)	18-6 P < 0,01

Примечание: xx - отличие отсутствует (по Стьюденту).

ритмом, имеющим сдвиг на утренние часы. Обращает внимание отсутствие ритма у тотальных Е-РОК и ЕАС-РОК, определяющих основную совокупность лимфоцитов. Максимумы содержания Е-, Еа-, Ев, ЕАС-РОК синхронизированы на одно время (6<sup>00</sup>) и имеют при этом низкие показатели. На этом фоне выделяются значительным повышением (от нормы) уровня содержания, наличием ритма и синхронизацией на вечерне-ночные часы Ес- и Е<sub>h</sub>-I-РОК. Следует добавить, что поддержание ритма циркуляции Е-, Еа- и Ев-РОК прихо-

Таблица 2

Суточная динамика относительного содержания субпопуляций  
лимфоцитов у больных РА на II этапе обследования

Тип клеток	Время суток в часах				Достоверн. различий
	6	12	18	24	
Е	42,6 $\pm$ 3,16 (27)	52,6 $\pm$ 3,72 (28)	46,5 $\pm$ 3,52 (28)	46,4 $\pm$ 2,86 (27)	12-6 p < 0,05
Еа	28,7 $\pm$ 4,33 (27)	34,3 $\pm$ 4,73 (28)	35,1 $\pm$ 4,10 (28)	34,3 $\pm$ 1,28 (27)	xx
Ев	31,7 $\pm$ 3,89 (15)	30,2 $\pm$ 5,41 (16)	40,7 $\pm$ 3,55 (16)	43,9 $\pm$ 1,83 (15)	24-12 p < 0,05
Ес	16,0 $\pm$ 3,54 (6)	29,6 $\pm$ 6,20 (7)	26,1 $\pm$ 1,14 (7)	17,2 $\pm$ 3,66 (6)	xx
Еh-I	15,2 $\pm$ 1,21 (6)	12,7 $\pm$ 2,13 (7)	11,0 $\pm$ 1,22 (7)	13,7 $\pm$ 1,87 (6)	6-18 p < 0,05
Еh	0,7 $\pm$ 0,33 (6)	0,3 $\pm$ 0,18 (7)	1,14 $\pm$ 0,40 (7)	0,3 $\pm$ 0,21 (6)	xx
ЕАС	28,0 $\pm$ 1,62 (27)	26,8 $\pm$ 2,11 (28)	20,5 $\pm$ 1,07 (28)	24,0 $\pm$ 1,31 (27)	6-18 p < 0,001
ЕА	19,9 $\pm$ 1,27 (15)	17,6 $\pm$ 0,97 (16)	17,1 $\pm$ 0,88 (16)	20,0 $\pm$ 0,89 (15)	xx
"0"	29,6 $\pm$ 3,51 (27)	21,1 $\pm$ 3,61 (28)	33,1 $\pm$ 3,43 (28)	30,0 $\pm$ 3,19 (27)	18-12 p < 0,05

Примечание: xx - отсутствие достоверности различий по Стъ-денту.

дится на долю среднеарифметической их части: Е-РОК 6<sup>00</sup> (31,1 $\pm$ 1,22) 12<sup>00</sup> (24,9 $\pm$ 1,63) - p < 0,01, Еа-РОК 6<sup>00</sup> (22,4 $\pm$ 1,52) 18<sup>00</sup> (16,0 $\pm$ 1,52) - p < 0,01; Ев-РОК 6<sup>00</sup> (24,7 $\pm$ 2,76) 12<sup>00</sup> (18,2 $\pm$ 1,60) - p < 0,05. Значительно повышенное содержание 0 - лимфоцитов, кортизончувствительность среди Ев-РОК различной арифметической: 3-10 (27,7 $\pm$ 2,60 и 20,1 $\pm$ 1,38; p < 0,05); более 10 (10,6 $\pm$ 1,56 и 6,3 $\pm$ 0,86; p < 0,05), обуславливавшая эффект ингибирования кортизоном

Таблица 3

Суточная динамика чувствительности субпопуляций лимфоцитов у больных РА к воздействию гидрокортизона *in vitro* на I этапе обследования

Тип клеток	Время суток, ч							
	6		12		18		24	
	К	О	К	О	К	О	К	О
Е	45,5 $\pm$ 2,75 (21)	42,1 $\pm$ 3,57 (21)	44,8 $\pm$ 2,20 (21)	31,2 $\pm$ 3,40 (21)	39,5 $\pm$ 3,49 (19)	41,7 $\pm$ 3,98 (19)	44,4 $\pm$ 3,23 (21)	36,5 $\pm$ 4,44 (21)
	xx		p < 0,001		xx		xx	
Еа	33,6 $\pm$ 2,65 (29)	30,2 $\pm$ 2,83 (29)	32,9 $\pm$ 2,61 (29)	29,5 $\pm$ 2,90 (29)	30,7 $\pm$ 3,27 (27)	27,0 $\pm$ 3,75 (27)	33,0 $\pm$ 3,12 (29)	33,7 $\pm$ 2,60 (29)
	xx		xx		xx		xx	
Ев	38,9 $\pm$ 3,01 (17)	26,8 $\pm$ 1,53 (17)	31,6 $\pm$ 3,51 (17)	31,0 $\pm$ 2,39 (17)	27,7 $\pm$ 1,56 (17)	33,1 $\pm$ 2,27 (17)	31,9 $\pm$ 3,20 (17)	31,3 $\pm$ 2,49 (17)
	p < 0,05		xx		xx		xx	
ЕАС	25,1 $\pm$ 2,30 (9)	27,7 $\pm$ 2,88 (9)	26,8 $\pm$ 2,73 (9)	21,8 $\pm$ 3,14 (9)	26,2 $\pm$ 2,97 (9)	25,7 $\pm$ 4,69 (9)	17,9 $\pm$ 2,17 (9)	18,0 $\pm$ 3,00 (9)
	xx		xx		xx		xx	

Примечание: К-контроль, О-опыт, xx - отсутствие достоверности различий по Стъденту

Таблица 4

Суточная динамика чувствительности субпопуляций лимфоцитов у больных РА к воздействию гидрокортизона *in vitro* на II этапе обследования

Тип клеток	Время суток в часах							
	6		12		18		24	
	К	0	К	0	К	0	К	0
Е	34,1 $\pm$ 2,63 (21)	24,5 $\pm$ 2,58 (21)	43,8 $\pm$ 2,53 (21)	36,2 $\pm$ 3,24 (21)	41,7 $\pm$ 3,41 (21)	31,7 $\pm$ 3,70 (21)	37,7 $\pm$ 2,42 (21)	37,1 $\pm$ 3,50 (21)
	p < 0,05		xx		xx		xx	
Еа	25,0 $\pm$ 3,02 (27)	24,7 $\pm$ 3,76 (27)	30,6 $\pm$ 3,27 (28)	29,6 $\pm$ 3,46 (28)	30,7 $\pm$ 3,69 (28)	35,3 $\pm$ 3,83 (28)	33,5 $\pm$ 3,77 (27)	31,2 $\pm$ 1,39 (27)
	xx		xx		xx		xx	
Ев	33,9 $\pm$ 3,50 (15)	26,5 $\pm$ 3,57 (15)	37,3 $\pm$ 4,70 (16)	35,6 $\pm$ 5,05 (16)	46,8 $\pm$ 3,18 (16)	43,1 $\pm$ 3,22 (16)	46,4 $\pm$ 2,49 (15)	42,3 $\pm$ 3,57 (15)
	xx		xx		xx		xx	
ЕАС	35,0 $\pm$ 2,09 (9)	28,9 $\pm$ 1,80 (9)	43,7 $\pm$ 5,46 (9)	38,2 $\pm$ 3,40 (9)	25,7 $\pm$ 1,97 (9)	25,3 $\pm$ 2,34 (9)	27,8 $\pm$ 1,91 (9)	28,4 $\pm$ 2,33 (9)
	xx		xx		xx		xx	

Примечание: К-контроль, 0-опыт, xx - отсутствие достоверности различий по Стьюденту.

Таблица 5

Суточная динамика чувствительности субпопуляций лимфоцитов у больных РА к воздействию тимозина *in vitro* на I и II этапах обследования

Тип клеток	Время суток в часах								
	6		12		18		24		
	К	0	К	0	К	0	К	0	
Ea	I	33,6 $\pm$ 2,65 (29)	27,6 $\pm$ 3,48 (21)	32,9 $\pm$ 2,61 (29)	33,9 $\pm$ 2,51 (21)	30,7 $\pm$ 3,27 (27)	35,4 $\pm$ 3,32 (19)	33,0 $\pm$ 3,12 (29)	29,5 $\pm$ 3,18 (21)
		xx		xx		xx		xx	
II	I	25,0 $\pm$ 3,02 (27)	26,1 $\pm$ 3,66 (21)	30,6 $\pm$ 3,27 (28)	35,6 $\pm$ 4,32 (21)	30,7 $\pm$ 3,69 (28)	30,7 $\pm$ 4,10 (21)	33,5 $\pm$ 3,77 (27)	32,9 $\pm$ 4,52 (21)
		xx		xx		xx		xx	
Eb	I	38,9 $\pm$ 3,01 (17)	47,1 $\pm$ 4,36 (9)	-	-	-	-	-	-
		xx							
II	I	33,9 $\pm$ 3,50 (15)	26,8 $\pm$ 2,75 (9)	37,3 $\pm$ 4,70 (16)	34,5 $\pm$ 5,93 (9)	46,8 $\pm$ 3,18 (16)	53,5 $\pm$ 5,13 (9)	46,4 $\pm$ 2,49 (15)	50,8 $\pm$ 4,94 (9)
		xx		xx		xx		xx	

Примечание: К - контроль, 0 - опыт, xx - отсутствие достоверности различий по Стьеденту



Таблица 6

Спонтанное включение  $^3\text{H}$ -тимидина 3-х суточными культурами МНК от больных РА на I и II этапе обследования

Время (ч) начала куль- тивирования	I	Достов. различий	II
6	599 $\pm$ 120	$p < 0,01$	185 $\pm$ 44
12	651 $\pm$ 165	$p > 0,05$	235 $\pm$ 121
18	578 $\pm$ 246	$p > 0,05$	544 $\pm$ 188
24	597 $\pm$ 114	$p < 0,01$	191 $\pm$ 58

На II этапе между 6 и 18 часами различия достоверны по Т-критерию Стьюдента для зависимых выборок ( $p < 0,05$ )

Таблица 7

Активность спонтанных неспецифических супрессорных клеток в культурах МНК от больных РА, стимулированных КоИА

Время (ч) начала куль- тивирования	I	Достов. разли- чий	II
6	1,14 $\pm$ 0,112	$p > 0,05$	1,09 $\pm$ 0,540
12	1,03 $\pm$ 0,069	$p > 0,05$	1,43 $\pm$ 0,353
18	1,03 $\pm$ 0,130	$p > 0,05$	2,51 $\pm$ 1,059
24	0,96 $\pm$ 0,097	$p < 0,01$	2,45 $\pm$ 0,819

На II этапе между 6 и 18 часами различия достоверны по Т-критерию Стьюдента для зависимых выборок ( $p < 0,05$ ).

тотальных Е-РОК, а также отсутствие чувствительности в корри-  
зону в пуле Ев-РОК— все это свидетельствует о преобладании мо-  
лодых, менее зрелых форм. Вывод подтверждается стимулирующим  
влиянием тимозина на Ев-РОК и увеличением образования их высоко-  
аavidной доли: 10,6 $\pm$ 1,56 и 16,7 $\pm$ 2,39;  $p < 0,05$ . Количественные  
изменения в субпопуляционной структуре Т-лимфоцитов демонстрирует  
отсутствие ритма и низкий уровень Т-супрессорной активности,  
а также значительно повышенный уровень спонтанной ВТЛ, не имею-

щий суточного ритма в отличие от активированных (Ен-1) лимфоцитов, имеющих суточную периодику.

Бальнеотерапия является сильным десинхронизирующим фактором, рассогласующим установившиеся при болезни временные процессы выхода в циркуляцию иммунокомпетентных клеток и установлении новой суточной архитектоники и количественного соотношения в субпопуляционной структуре Т-лимфоцитов, при этом временные характеристики О-лимфоцитов стабильны, что отмечается и при других экстремальных воздействиях на организм человека (В.П. Лозовой и соавт., 1979). Саногенетический эффект бальнеотерапии проявляется также в нормализации количественного содержания иммунокомпетентных клеток, со снижением количества молодых, менее зрелых форм лимфоцитов и возрастанием их кортизонрезистентной доли с сохранением чувствительности к тимозину у менее зрелых их субпопуляций:  $E_{\text{в}} > 10; 20,9 \pm 1,68$  и  $34,2 \pm 5,22$ ;  $p < 0,01$ . При этом отмечается появление суточного ритма и увеличение Т-супрессорной активности, а также появление суточного ритма и снижение уровня спонтанной БТЛ в обоих случаях почти до уровня у здоровых лиц. Отличительным на этом фоне является увеличение и без того высоких показателей (по сравнению со здоровыми лицами) активированных лимфоцитов, а также оставшийся очень высоким уровень стабильных Т-лимфоцитов, которые, как известно, усиливают функцию натуральных киллеров (Galili U. et al., 1979). Возможно, это обстоятельство может лежать в основе усиления аутоиммунного конфликта у той части больных, у которой в процессе и по окончании бальнеотерапии наступает ухудшение клинического состояния.

#### Л и т е р а т у р а

Лозовой В.П. и соавт. Вестник АМН СССР, 1979, № 6, с.39-49.

Хейфец Б.Б., Абалкин В.А. Лабор. дело, 1973, № 10, с.5-79.

Yu D.T.H. et al. - Immunology, 1977, v.33, p.247.

Galili U. et al. - J. Immunol., 1979, v.122, p.3.