

20

ISSN 0206-4952

# ИММУНОЛОГИЯ



Илья  
Ильич  
МЕЧНИКОВ  
1845-1916

**М** ИЗДАТЕЛЬСТВО  
«МЕДИЦИНА»

1.1993

7. Гнездицкая Э. В., Бухова В. П., Базанова Е. А., Малкина Л. А. // Иммунология.— 1990.— № 2.— С. 123—126.
8. Лямперт И. М., Дробышевская Э. И., Рыжикова Е. В. и др. / Итоги науки и техники. Сер. Иммунология.— М., 1988.— Т. 22.— С. 43—67.
9. Braun D. G., Schalch W., Rodkey L. S. et al. // Pathogenic Streptococci / Ed. M. T. Parker. Readbooks.— Chertsey, 1978.— P. 84—85.
10. Coligan J. H., Kindt J. J., Krause R. M. // Immunochemistry.— 1978.— Vol. 15.— P. 755—760.
11. Guillet G., Fizet D. // Clin. exp. Derm.— 1984.— Vol. 9.— P. 514—517.
12. Kieda S., Mansighy M. // International Workshop on Human Leucocyte Different Antigens, 2-d.— Boston, 1984.— Vol. 1.— P. 531—535.
13. Lyampert I. M., Beletskaya L. V., Borodiuk N. A. et al. // Immunology.— 1976.— Vol. 31.— P. 47—55.

Поступила 04.03.92

COMMON DETERMINANTS OF GROUP A STREPTOCOCCAL POLYSACCHARIDES AND STAPHYLOCOCCUS CROSS-REACTING WITH ANTIGENS OF MAMMALIAN EPIDERMIS — Ye. A. Bazanova, E. V. Gnezditskaya, L. F. Evseeva, V. G. Nesterenko

It is established that a molecule of group A streptococcal polysaccharide (A-SP) has two different antigenic determinants (DT) common with staphylococcus Wood-46 polysaccharide. Antibodies to them were found in the blood of BALB/c and CBA mice immunized by streptococcal group A cultures killed by heating and pepsin-treated. One of these DTs as well as specific DT A-SP is suggested to incorporate  $\beta$ -N-acetyl glucosamine. Unlike antibodies to specific DT A-SP, antibodies to it do not react with epidermis. Another DT A-SP common with staphylococcal polysaccharide includes ramnose. Relevant antibodies react with cytoplasm of cells from all the layers of mouse epidermis. It is evident that staphylococcal polysaccharide, similar to streptococcal A polysaccharide, is a cross-reacting antigen and incorporates DT common with one of the epidermal antigens from mammalian epithelial tissue.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616.379-008.64-092:612.017.41-07

И. С. Халилова, Е. Б. Гельфгат, Т. З. Джохаридзе, С. А. Джавадов

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОГО СТАТУСА И АНТИТЕЛ К ИНСУЛИНУ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

НИИ кардиологии им. акад. Д. Абдуллаева Минздрава Азербайджанской Республики, Баку

В последние годы все большее внимание исследователей привлекает состояние иммунной системы организма при сахарном диабете (СД) [14]. Изучение иммунной системы организма имеет большое значение для выяснения патогенетических механизмов развития СД и его осложнений. Показано, что в развитии СД и его осложнений участвуют различные нарушения как гуморального, так и клеточного иммунитета [1, 8]. Некоторые из авторов придерживаются мнения, что в патогенезе инсулинзависимого СД (ИЗСД) клеточные иммунологические реакции играют более важную роль, чем гуморальные [11]. Нарушения иммунитета при ИЗСД многообразны, что может быть связано с его патогенетической неоднородностью. Этот тип СД рассматривается как полиэтиологическое органоспецифическое аутоиммунное заболевание [14]. Инсулиннезависимый тип СД (ИНЗСД) не является аутоиммунным заболеванием, но при этой форме диабета обна-

руживается нарушение некоторых гуморальных факторов иммунитета [9]. Многими исследователями установлено, что препараты инсулина, применяемые для лечения больных СД, обладают иммуногенными свойствами: попадая в организм, они вызывают выработку антител (АТ) к инсулину [4]. АТ к инсулину у больных СД, получающих инсулин, играют важную роль в нарушении механизма иммунитета, принимают участие в патогенезе инсулинорезистентности и служат фактором риска возникновения диабетической микроангиопатии [14]. По одной из гипотез, поражения сосудов микроциркуляции при СД возникают вследствие иммунокомплексной патологии [6]. Главной причиной повышения уровня иммунных комплексов является дефект в механизмах клиренса комплексов антиген — антитело [6, 7].

В этой связи большой интерес представляет изучение клеточных и гуморальных факторов иммунитета и сравнительное исследование взаимосвязи титра АТ к инсулину при различных формах диабета. Комплексное изучение этих факторов может привести к пониманию основных молекулярных и клеточных механизмов повреждения органов и тканей при СД.

**Методика исследований.** Обследовано 39 больных СД и 24 здоровых донора. Больные были разделены на 3 основные группы: 1-я — 10 больных ИЗСД (возраст больных 25—65 лет); 2-я группа — 11 больных ИНЗСД (возраст больных 55—70 лет), которые ранее лечились пероральными сахаропонижающими средствами и были переведены на инсулинотерапию в связи с развитием резистентности к сульфаниламидным препаратам; 3-я группа — 18 больных (возраст 40—70 лет), не получавших инсулин.

Проводили анализ периферической крови больных и здоровых людей. Содержание АТ к инсулину определяли в сыворотке с помощью иммуноферментного метода [15] на спектрофотометре Miniskap (Финляндия) при длине волны 490 нм. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли методом спектрофотометрии после обработки сыворотки крови полиэтиленгликолем [13]. Количество Т- и В-лимфоцитов определяли методом розеткообразования с эритроцитами барана и мыши [3], уровень комплемента — методом иммунного гемолиза [3]. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке измеряли с помощью метода радиальной иммунодиффузии по Mancini и соавт. [10].

Статистическую обработку показателей иммунного статуса здоровых и больных СД проводили методом вычисления средней арифметической с использованием таблиц Стьюдента для определения достоверности различий.

Результаты и обсуждение

Установлено, что титр АТ к инсулину в сыворотке больных 1-й группы составляет  $337 \pm 51 \times 10^{-3}$  г/л (норма  $36 \pm 3 \cdot 10^{-3}$  г/л;  $p < 0,001$ ). Некоторое повышение титра АТ к инсулину ( $91 \pm 4 \cdot 10^{-3}$  г/л;  $p < 0,001$ ) обнаружено у больных 3-й группы. В сыворотке больных 2-й группы титр АТ к инсулину был достоверно увеличен ( $218 \pm 28 \cdot 10^{-3}$ ;  $p < 0,001$ ). Увеличение титра АТ к инсулину у больных СД, получающих инсулин, по-видимому, приводит к блокированию самих молекул инсулина, уменьшая его гипогликемический эффект и способствуя образованию иммунного комплекса инсулин — АТ к инсулину. Некоторыми исследователями было высказано предположение о роли последнего в развитии микроангиопатии у больных СД [6, 14]. Следует от-

метить, что высокий титр АТ к инсулину у больных СД, принимавших экзогенный инсулин (1-я и 2-я группы), тесно коррелирует с содержанием ЦИК в крови этих больных. Так, уровень ЦИК был резко повышен у больных 1-й ( $249 \pm 36$  усл. ед. опт. пл.;  $p < 0,001$ ) и 2-й ( $205 \pm 29$  усл. ед. опт. пл.;  $p < 0,001$ ) групп (норма  $62 \pm 3$  усл. ед. опт. пл.) и незначительно увеличен ( $79 \pm 5$  усл. ед. опт. пл.;  $p < 0,01$ ) у больных 3-й группы. Повышение уровня ЦИК свидетельствует также о нарушении механизма клиренса комплексов антиген — антитело. Содержание комплемента в сыворотке крови снижалось по мере тяжести течения СД. У больных 1-й группы содержание комплемента составило  $30 \pm 2,8$  СН<sub>50</sub> (норма  $51 \pm 0,9$  СН<sub>50</sub>;  $p < 0,001$ ); у больных 2-й группы —  $34 \pm 3$  СН<sub>50</sub> ( $p < 0,001$ ); 3-й группы —  $47 \pm 2,5$  СН<sub>50</sub> ( $p < 0,001$ ). По мере возрастания количества ЦИК в крови больных СД снижается содержание комплемента, что, по-видимому, отражает интенсивность связывания их с иммунными комплексами.

Количественный анализ Т- и В-лимфоцитов показал достоверное ( $p < 0,001$ ) снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов у больных 1-й ( $690 \pm 47 \cdot 10^6$  г/л; норма  $1101 \pm 25 \cdot 10^6$ /л) и 2-й ( $742 \pm 52 \cdot 10^6$ /л) групп и незначительное его снижение ( $993 \pm 44 \cdot 10^6$ /л;  $p < 0,05$ ) у больных 3-й группы. Абсолютное количество В-лимфоцитов снижалось у больных 1-й и 2-й групп, т. е. у больных с тяжелой и среднетяжелой формами диабета (соответственно  $116 \pm 6 \cdot 10^6$ /л и  $27 \pm 6 \cdot 10^6$ /л;  $p < 0,001$ ). При ИНЗСД легкой формы абсолютное количество В-лимфоцитов ( $149 \pm 5 \cdot 10^6$ /л) оставалось в норме ( $151 \pm 3 \times 10^6$ /л). Уменьшение количества Т-лимфоцитов было установлено также другими авторами [5]. В литературе имеются противоречивые данные о количестве и активности В-лимфоцитов. Одни авторы отмечают увеличение количества В-лимфоцитов и угнетение реакции бласттрансформации на фитогемагглютинин у больных СД, осложненным ретинопатией [2], другие отмечают уменьшение количества и функциональной активности В-лимфоцитов, а также снижение синтеза сывороточных иммуноглобулинов классов G, M, A [9]. Одним из возможных механизмов, вызывающих снижение количества Т- и В-лимфоцитов в циркулирующей крови, может быть ослабление пролиферативных процессов при применении препарата инсулина. Дефицит Т- и В-лимфоцитов, а также снижение их функциональной активности указывают на ослабление иммунной системы при этом заболевании и, возможно, является одним из причин осложнений диабета инфекционно-воспалительными заболеваниями [12].

Изучение содержания иммуноглобулинов (G, A, M) у больных СД показало достоверное его снижение, что, по-видимому, связано с дефицитом Т- и В-лимфоцитов. Так, содержание IgG в сыворотке больных 1-й группы составило  $7,1 \pm 0,6$  г/л (в контроле  $14,4 \pm 0,7$  г/л;  $p < 0,001$ ), во 2-й группе —  $6,5 \pm 0,8$  г/л ( $p < 0,001$ ), в 3-й группе —  $9,9 \pm 1,3$  г/л ( $p < 0,01$ ), содержание IgM — соответственно  $0,55 \pm 0,06$ ,  $0,58 \pm 0,09$  и  $0,64 \pm 0,08$  г/л (норма  $1,25 \pm 0,05$  г/л;  $p < 0,001$ ), содержание IgA  $1,08 \pm 0,11$  ( $p < 0,001$ ),  $1,74 \pm 0,28$  ( $p < 0,01$ )

и  $1,34 \pm 0,14$  г/л ( $p < 0,001$ ) при норме  $2,99 \pm 0,2$  г/л. Снижение уровня иммуноглобулинов обусловлено гипопродукцией их В-лимфоцитами, возникшей, по-видимому, вследствие нарушения функции контролирующих их Т-лимфоцитов.

Таким образом, результаты изучения показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных СД свидетельствуют о выраженных изменениях иммунной системы, особенно влияющих на течение этих заболеваний.

## Выводы

1. Обнаружено резкое увеличение титра АТ и количества ЦИК у больных СД, получавших экзогенный инсулин. При этом наблюдается снижение общего содержания комплемента, что связано с увеличением количества ЦИК.

2. У больных 1-й и 2-й групп наблюдается достоверное уменьшение абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов и содержания иммуноглобулинов классов G, M и A.

3. Резкое отклонение от норм основных показателей иммунного статуса у больных СД, получавших инсулин (1-я и 2-я группы), по сравнению с больными, не получавшими инсулин (3-я группа), по-видимому, связано с увеличением выработки АТ к инсулину в крови этих больных, что свидетельствует об иммуногенности экзогенного инсулина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Е. В., Сура В. В., Смирнова О. И. // Тер. арх.— 1986.— № 11.— С. 145—150.
2. Десяренко Т. В. // Республиканская конф., 4-я: Тезисы докладов.— Киев, 1979.— С. 106.
3. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля; Пер. с нем.— М., 1987.— С. 171—281.
4. Космач П. И., Гордиенко В. М. // Пробл. эндокринолог.— 1974.— № 4.— С. 104—110.
5. Brady I. I., Merlie K. // Brit. J. Haemat.— 1970.— Vol. 19.— P. 193—201.
6. Contreas L., Lernmark A., Mathiesen R. E. // Biomed. biochim. Acta.— 1985.— Vol. 44.— P. 129—132.
7. Irvine W. et al. // Clin. exp. Immunol.— 1977.— Vol. 30.— P. 16—21.
8. Lernmark A. // Diabetologia.— 1985.— Vol. 28.— P. 195—202.
9. Machimura N. et al. // Best Approach to the Ideal Therapy of Diabetes Mellitus. 1987.— P. 167—170.
10. Mancini G., Carbonara A. O., Heremans J. F. // Immunochimistry.— 1965.— Vol. 2.— P. 235—254.
11. Michael L. M. et al. // Diabetes.— 1988.— Vol. 27.— P. 1311—1315.
12. Moffitt J. E. et al. // J. Allergy.— 1989.— Vol. 84, N 2.— P. 191—196.
13. Riha J. et al. // J. molec. Immunol.— 1979.— Vol. 15.— P. 489—493.
14. Vaughn M., Verella G., Lopes-Virella M. F. // Clin. Immunol. Immunopath.— 1989.— Vol. 52, N 3.— P. 414—420.
15. Wilkin T. I. // J. immunol. Meth.— 1985.— Vol. 76.— P. 85—194.

Поступила 30.01.92

MAIN PARAMETERS OF THE IMMUNE SYSTEM AND INSULIN ANTIBODIES IN DIABETES MELLITUS PATIENTS.— I. S. Khalilova; E. B. Gelfgat, T. Z. Zhokharidze, S. A. Dzhabadov

The aim of the study was to investigate the relationship between insulin antibodies titer and main parameters of immune system in patients with diabetes mellitus (DM). The patients

were divided into three groups: group 1 had insulin-dependent DM, group 2 non-insulin-dependent DM treated by insulin and group 3 non-insulin-dependent DM untreated by insulin. Insulin antibodies titer was noticeably increased in groups 1 and 2 in accordance with an increase in immune complexes content and a decrease in T- and B-lymphocytes number, in complement and immunoglobulins level. Thus, the data obtained show a certain correlation between insulin antibodies titer and main parameters of immune system in patients with DM.

© С. Ф. КИРИКОВА, В. С. ШИРИНСКИЙ, 1993

УДК 616.72-002.77-039-07:616.155.32

С. Ф. Кирикова, В. С. Ширинский

## ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛИ $\alpha$ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В-ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Институт клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

По современным представлениям, развитие и персистенция воспаления при ревматоидном артрите (РА) обусловлены действием избытка аутоантител и различных иммунных комплексов в периферической крови (ПК), синовиальной жидкости (СЖ) и ткани (СТ) больных. Эти нарушения связаны с главным иммунопатологическим феноменом РА — поликлональной В-клеточной активацией.

Есть основания предполагать, что гиперактивация В-клеток у больных РА опосредована нарушением синтеза и рецепции многих цитокинов, одной из функций которых является контроль пролиферативной активности В-лимфоцитов [6—8].

В последнее время повышается интерес исследователей к роли фактора некроза опухоли альфа (ФНО  $\alpha$ ) в патогенезе РА, поскольку этот цитокин в значимых количествах определяется в СЖ и реже в ПК больных [9, 11]. Характер и механизм действия ФНО  $\alpha$  на В-лимфоциты больных РА, судя по данным литературы, остается малоизученным.

В связи с этим задачей настоящего исследования явилось изучение влияния человеческого рекомбинантного ФНО  $\alpha$  на пролиферативную активность культур, обогащенных В-лимфоцитами, полученных от здоровых людей и больных РА.

**Методика исследования.** Обследовано 13 здоровых людей и 13 больных классическим РА. Длительность заболевания варьировала от 2 до 15 лет. У одного больного установлена II рентгенологическая стадия заболевания, у остальных — II—III стадии. Активность воспалительного процесса у 4 больных соответствовала I, у остальных II—III степени. Преобладал серопозитивный вариант РА (69 %).

Тест-системой для оценки пролиферативной активности служили обогащенные В-лимфоцитами культуры, полученные из мононуклеаров ПК, выделенных традиционным методом в градиенте фикола — верографина, освобожденные от моноцитов (Мц) с помощью фагоцитоза частиц карбонильного железа и обогащенные В-лимфоцитами путем обработки клеток моноклональными антителами анти-CD3, анти-CD7, анти-CD8 (НПО «Препарат» при Нижегородском НИИЭМ) [1]. Полученные лимфоциты практически не отвечали на ФГА. Количество CD22<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>-клеток в обогащенной В-лимфоцитами суспензии составило  $59 \pm 2,7$  и  $2,8 \pm 0,7$  % соответственно при содержании Мц максимум 2 %. Жизнеспособность клеток обогащенной В-лимфоцитами суспензии составила более 90 % при окраске трипановым синим.

Для стимуляции пролиферации использован митоген лактоноса (МЛ) («Sigma») в концентрации 10 мкг/мл. Клетки культивировали в полной культуральной среде в планшетах