

Проанализировав содержание отдельных липидных компонентов сыворотки крови и фракции ЛПВП/ТГ, ХС, процентное отношение ХС и ТГ в ЛПВП в зависимости от их уровня в сыворотке крови (в каждой из выделенных групп), мы пришли к заключению, что при сахарном диабете фракция ЛПВП обогащается и ТГ, т. е. они необычной структуры и играют определенную роль во внутрисосудистом обмене ТГ.

О возможности появления необычной структуры ЛПВП у больных с поражением печени и алкогольным гепатитом с высоким содержанием ТГ сообщил Т. Форте [6].

Наши исследования подтверждают, что ЛПВП могут играть роль во внутрисосудистом обмене ТГ. R. Heller и соавт. [12] связывают это с транспортом частиц апоСII.

Появление ЛПВП, обогащенных ТГ, позволяет предположить развитие нарушений на уровне ЛПВП — клеточных взаимодействий, лежащих в основе механизма липидных расстройств.

Выводы

1. Определение содержания ТГ во фракции ЛПВП помогает выявить структурные нарушения в этой фракции у больных инсулиннезависимым сахарным диабетом и ИБС.

2. Расчет процентного содержания ХС ЛПВП от содержания общего ХС сыворотки крови является более информативным, чем определение аб-

солютного содержания ХС в этой фракции при инсулиннезависимом сахарном диабете и ИБС.

3. Расчет коэффициентов ХС/ТГ и ХС ЛПВП/ТГ ЛПВП выявляет перераспределение ХС и ТГ в транспортных формах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Думбрава В. А., Богатый Ю. П. // *Здравоохранение*. — Кишинев. — 1986. — № 2. — С. 44–51.
2. Гашимова А. Д., Соколов А. И. // *Вопр. мед. химии*. — 1989. — № 1. — С. 114–118.
3. Курашвили Л. В., Бобылева Л. В. // *Лаб. дело*. — 1991. — № 7. — С. 75–76.
4. Лопухин Ю. М., Арчаков Л. И. // *Клин. мед.* — 1991. — № 1. — С. 37–41.
5. Никитин Ю. П., Тихонов А. В. // *Кардиология*. — 1984. — № 1. — С. 29–32.
6. Форте Т. // *Образование и структура липопротеидов высокой плотности. Советско-американский симпозиум, 1-й: Материалы*. — Л., 1981.
7. Чазов Е. И., Климов А. Н. // *Дислипидопроteinемия и ишемическая болезнь сердца*. — М., 1980. — С. 140–150.
8. Шагаева М. М., Собенин В. А., Славина Л. С. // *Пробл. эндокринологии*. — 1993. — № 6. — С. 11–17.
9. Щербакова И. А., Перова Н. В. и др. // *Вопр. мед. химии*. — 1991. — № 2. — С. 23–26.
10. Dmoszynska-Giahnopolou A. // *Pol. Arch. Med. Wewnet.* — 1973. — Vol. 62, N 4. — P. 293–297.
11. Eisenberg S., Levy R. // *Adv. Lipid. Res.* — 1975. — Vol. 13. — P. 1–83.
12. Heller R., Sotzmain R., Ziebreiz A. // *Z. Med. Lab. Diagnost.* — 1991. — Bd 32, N 5. — S. 67–71.
13. Kaghyar M. // *J. clin. Invest.* — 1977. — Vol. 60. — P. 171–181.
14. Vrana A., Fabry P. // *World Rev. Nutr. Diet.* — 1983. — Vol. 42. — P. 56–111.

Поступила 22.08.97

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.441-006.5-06:616.441-008.61]-06:617.7]-07:616.155.32

Т. И. Родионова, М. Ю. Ледванов, В. В. Фирстова

ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ АУТОИММУННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ У БОЛЬНЫХ ДИФFUЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ

Кафедра эндокринологии Саратовского медицинского университета, лаборатория иммунологии Российского научно-исследовательского противочумного института "Микроб"

Исследовали электрофоретическую подвижность (ЭФП) лимфоцитов крови в динамике лечения аутоиммунной офтальмопатии (АО) у 103 больных диффузным токсическим зобом и у 30 практически здоровых лиц контрольной группы с целью изучения возможности использования ее в качестве одного из критериев тяжести течения АО и оценки эффективности терапии. Больные находились в состоянии медикаментозного эутиреоза. Лечение АО проводили традиционными методами (нестероидными противовоспалительными препаратами, глюкокортикоидами, глюкокортикоидами в сочетании с лучевой терапией орбит) в зависимости от степени тяжести. У больных АО регистрируются значительные изменения в распределении лимфоцитов крови по ЭФП. Электрокинетический потенциал лимфоцитов находится в обратной корреляционной зависимости от тяжести АО. Назначение специальной терапии АО через 14 дней приводит к повышению ЭФП лимфоцитов, а через 28 дней — к возвращению к значениям у здоровых лиц. Достоверные изменения ЭФП лимфоцитов предшествуют статистически значимой положительной динамике орбитального индекса и могут служить одним из ранних критериев оценки эффективности лечения АО.

Electrophoretic mobility (EPM) of blood lymphocytes was studied in 103 patients with diffuse toxic goiter (DTG) and autoimmune ophthalmopathy (AO) and 30 healthy controls in order to assess the value of this parameter as a criterion of AO severity and assessment of the efficacy of therapy of AO. The patients were in a state of drug-induced euthyrosis. AO was treated traditionally (nonsteroid antiinflammatory drugs, glucocorticoids, and glucocorticoids combined with radiotherapy of the orbits), depending on the severity of the condition. The distribution of blood lymphocytes by EPM is notably changed in AO. The electrokinetic potential of lymphocytes inversely correlates with the severity of AO. Specific therapy for AO results in increase of lymphocyte EPM in 14 days and its normalization in 28 days. Significant changes of lymphocyte EPM anticipate the statistically significant positive changes of the orbital index and can serve as an early criterion for assessing the efficacy of treatment of AO.

Офтальмопатия при диффузном токсическом зобе (ДТЗ) относится к числу хронических аутоиммунных заболеваний [8, 9]. Патогенез аутоиммунной офтальмопатии (АО) характеризуется выраженными изменениями популяционной и субпопуляционной гетерогенности и функциональной активности иммунокомпетентных клеток как в ретроорбитальных тканях, так и в циркуляции [4, 5, 7]. Последнее закономерно сопровождается появлением в крови лимфоцитов с измененным поверхностным фенотипом. Тестирование дифференцировочных, а также мембранно-связанных рецепторов контактного взаимодействия (эти рецепторы составляют до 40% всех охарактеризованных к настоящему моменту поверхностных антигенов иммунокомпетентных клеток) позволяет осуществлять прогнозирование развития АО и разрабатывать оценочные критерии эффективности назначаемой терапии [6].

В настоящее время хорошо известно, что с изменением функциональной активности лимфоцитов, структуры их поверхностных антигенов меняется физическое состояние клеточных мембран и в первую очередь электрический заряд [1, 3]. Исследование электрокинетического потенциала популяций лимфоцитов с помощью непрерывного проточного распределительного клеточного электрофореза является чувствительным методом интегральной оценки изменений архитектоники мембран иммунокомпетентных клеток, связанной со сменой поверхностных рецепторов.

Нередко установление степени тяжести АО и оценка адекватности проводимой терапии на основании лишь клинических параметров бывают затруднены, особенно в ранние сроки лечения; требуется проведение дополнительных чувствительных лабораторных исследований.

Целью настоящей работы явилось исследование электрокинетического потенциала лимфоцитов крови в динамике АО у больных ДТЗ и изучение возможности использования его в качестве одного из критериев тяжести течения АО и оценки эффективности проводимой терапии.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 103 больных ДТЗ в сочетании с АО (80 женщин и 23 мужчины) в возрасте от 20 до 60 лет. ДТЗ диагностировали на основании анамнеза, клинических признаков, определения содержания в крови тироксина, трийодтиронина, тиреотропного гормона гипофиза наборами для радиоиммунологического анализа фирмы "ВУК-Mallinkrodt", ультразвукового исследования щитовидной железы. Наличие АО устанавливали по совокупности анамнестических данных, характерных для данного заболевания офтальмологических проявлений. Диагноз верифицировали при помощи компьютерной томографии орбит на СТ-MAX-640 ("General Electric"). Оценку степени тяжести АО и динамики патологического процесса осуществляли при расчете орбитального индекса (ОИ) Крисса [10]. В зависимости от исходных показателей ОИ (в баллах) выделены 3 группы больных АО: 20 (19,4%) больных АО I степени, 60 (58,3%) больных АО II степени и 23 (22,3%) больных АО III степени. Все больные находились в состоянии медикаментозного эути-

Изменение выраженности глазных симптомов в процессе лечения АО

Степень тяжести АО	Число больных	Показатели ОИ, баллы		
		до лечения	через 14 дней	через 28 дней
I	20	4,36 ± 0,53	3,82 ± 0,54	2,45 ± 0,41*
II	60	7,81 ± 0,26	6,95 ± 0,38	4,87 ± 0,31*
III	23	11,46 ± 0,47	10,13 ± 0,82	9,05 ± 0,42*

Примечание. * — $p < 0,05$ с ОИ до лечения.

реоза на фоне антитиреоидной терапии. У всех пациентов было начато специальное лечение АО традиционными методами с целью оказания противовоспалительного и иммуносупрессивного действия. В зависимости от степени тяжести АО использовали нестероидные противовоспалительные препараты, глюкокортикоиды, глюкокортикоиды в сочетании с лучевой терапией орбит. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц в возрасте от 20 до 60 лет.

У больных и лиц контрольной группы изучали электрофоретическую подвижность (ЭФП) лимфоцитов крови (у больных — до начала, через 14 и 28 дней специальной терапии АО).

Лимфоциты из крови людей выделяли общепринятым методом центрифугирования в градиенте плотности (Г. Фрик, З. Прейснер, 1979 г.). Препаративную электрофоретическую сортировку лимфоцитов проводили с помощью непрерывного свободного распределительного электрофореза на аппарате "Elphor Var V".

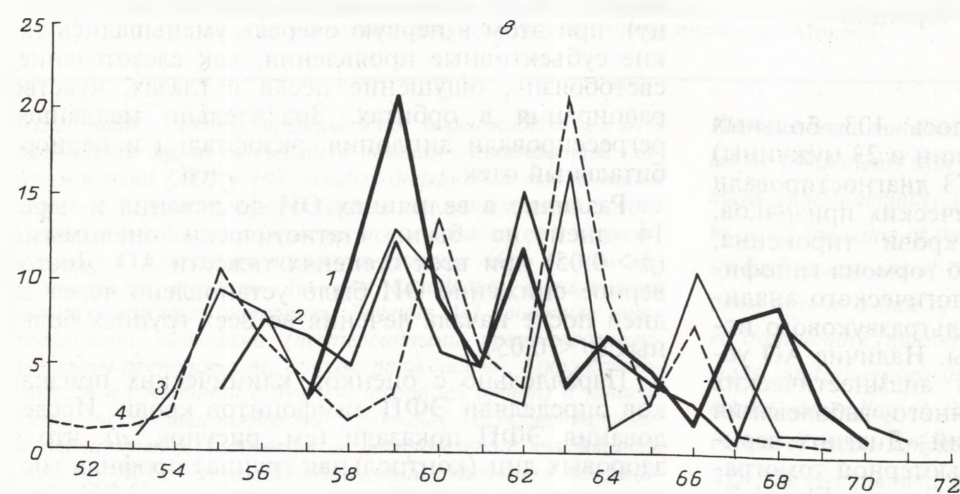
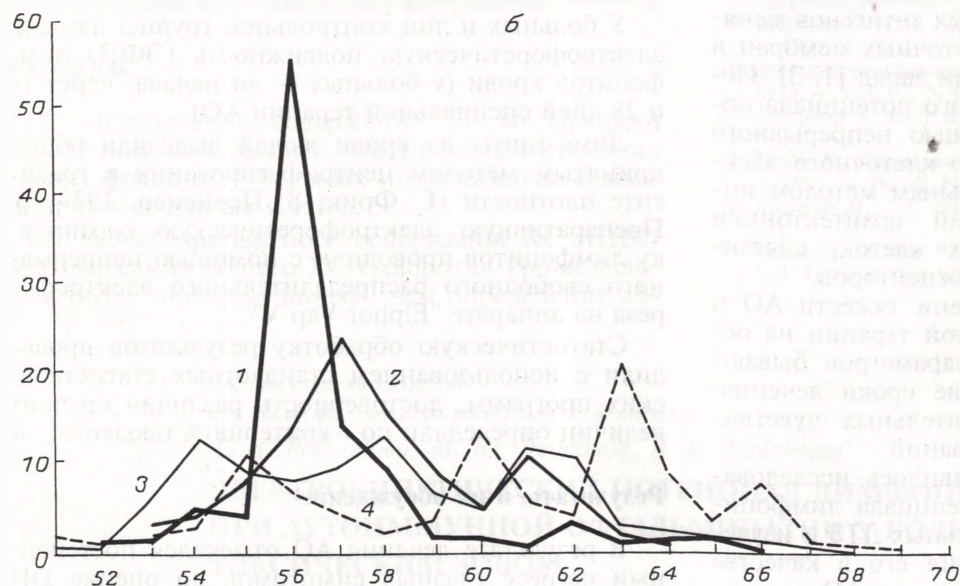
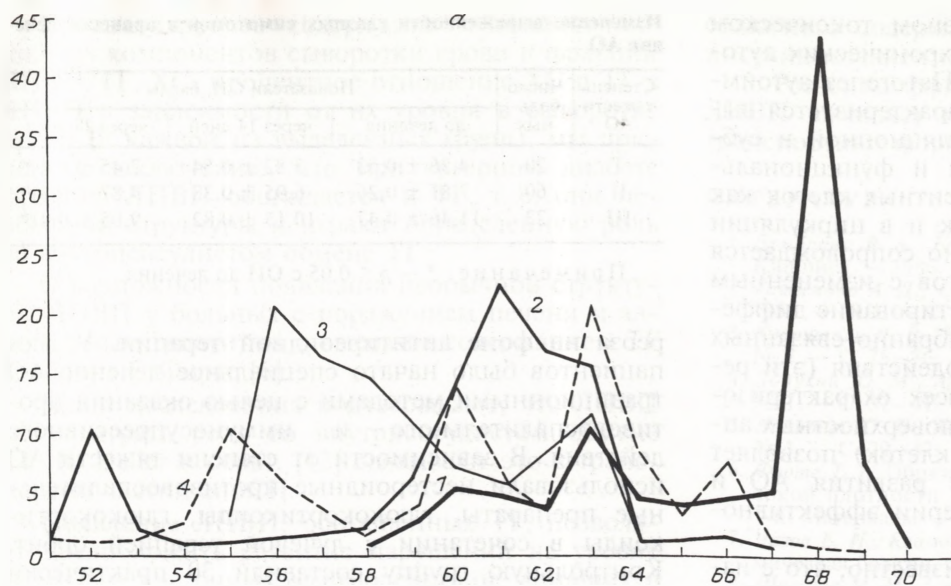
Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартных статистических программ, достоверность различия средних величин определяли по t -критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В результате лечения АО отмечался постепенный регресс глазных симптомов по оценке ОИ через 14 и 28 дней от начала терапии (см. таблицу), при этом в первую очередь уменьшались такие субъективные проявления, как слезотечение, светобоязнь, ощущение песка в глазах, чувство распирания в орбитах. Значительно медленнее регрессировали диплопия, экзофтальм и периорбитальный отек.

Различия в величинах ОИ до лечения и через 14 дней не были статистически значимыми ($p > 0,05$) при всех степенях тяжести АО. Достоверное снижение ОИ было установлено через 28 дней после начала лечения во всех группах больных ($p < 0,05$).

Параллельно с оценкой клинических признаков определяли ЭФП лимфоцитов крови. Исследования ЭФП показали (см. рисунок, а), что у здоровых лиц (контрольная группа) профиль гистограммы распределения клеток по ЭФП был представлен четырьмя пиками, содержащими $22,56 \pm 3,65$, $24,21 \pm 2,87$, $34,92 \pm 4,18$ и $18,31 \pm 2,05\%$ клеток соответственно. У больных АО III степени ЭФП основной массы клеток была значительно ниже контрольной ($p < 0,01$). Выявлены 3 электрофоретически гетерогенные популяции лимфоцитов. Популяция с наименьшим электрокинетическим потенциалом тестирова-



ЭФП лимфоцитов крови больных АО до (а) и через 14 (б) и 28 (в) дней после назначения лечения.

1 — тяжелая форма; 2 — средняя тяжесть; 3 — легкая форма; 4 — контроль.
По осям ординат — процент выхода клеток; по осям абсцисс — номера фракций.

лась в 67—70-й фракции и содержала $58,27 \pm 5,24\%$ клеток, в то время как в норме в этих фракциях содержалось всего $2,98 \pm 0,65\%$

лимфоцитов. ЭФП лимфоцитов больных АО II степени была значительно выше, чем регистрируемая у больных АО III степени ($p < 0,05$). Максимальный выход клеток регистрировался в 58—64-й фракции и составлял $79,58 \pm 4,12\%$. Профиль распределения лимфоцитов также отличался от зарегистрированного как в контрольной группе, так и у больных АО III степени. У больных АО II степени идентифицировали 2 основных пика с максимальным выходом клеток в 52-й и 61-й фракциях. У больных АО I степени отмечались еще более высокие значения ЭФП основного пула лимфоцитов. Так, во фракциях с высокой ЭФП (51—59-я) у больных АО I степени регистрировалось $65,68 \pm 5,79\%$ клеток, в то время как у больных АО III и II степени — $3,15 \pm 0,62$ и $25,60 \pm 3,17\%$ клеток соответственно. В группе здоровых лиц в данном интервале фракций определялось $33,15 \pm 3,21\%$ лимфоцитов.

Через 14 дней после назначения терапии ЭФП лимфоцитов крови больных АО III степени значительно увеличивалась (см. рисунок, б) по сравнению с исходными данными. Максимальный выход клеток отмечался в 56-й фракции, что было на 12 каналов больше, чем до лечения. У больных АО II степени также наблюдалось повышение подвижности лимфоцитов в электрическом поле, но несколько менее выраженное. Максимальный выход клеток отмечался в 57-й фракции (до лечения — в 61-й). У больных АО I степени диапазон распределения лимфоцитов по ЭФП значительно расширился также за счет появления высокоподвижных фракций. В этот срок исследования у больных АО I степени во фракциях с высокой ЭФП (51—59-я) регистрировалось $64,18 \pm 4,11\%$ клеток, в то время как у больных АО III и II степени —

$90,48 \pm 6,33$ и $75,45 \pm 3,82\%$ клеток соответственно. Профили распределения лимфоцитов по ЭФП были характерны для каждой из групп обследо-

мых больных и статистически достоверно ($p < 0,05$) отличались как от контроля, так и от гистограмм, полученных до назначения терапии.

Через 28 дней с начала лечения распределение по ЭФП лимфоцитов больных АО практически укладывалось в диапазон фракций, характерный для здоровых лиц (53—71-я фракции) (см. рисунок, в). Гистограммы распределения лимфоцитов так же, как и в контроле, состояли из 4 хорошо выраженных пиков. Однако количество клеток, составляющее эти пики, и каналы максимального выхода клеток в них достоверно отличались от значений, обнаруженных в контрольной группе. У больных АО I степени во фракциях с высокой ЭФП (51—59-я) регистрировалось $34,28 \pm 6,17\%$ клеток, у больных АО III и II степени — $35,34 \pm 5,23$ и $35,81 \pm 2,11\%$ клеток соответственно, что статистически значимо ($p > 0,05$) не отличалось от средних значений нормы ($33,15 \pm 3,21\%$).

Обращает на себя внимание тот факт, что у больных без выраженного клинического улучшения (несмотря на проводимое в течение 28 дней лечение) в крови продолжало регистрироваться повышенное количество клеток с высоким электрокинетическим потенциалом: в 51—59-й фракции идентифицировалось $54,39 \pm 4,27\%$ клеток.

Обсуждая полученные результаты, следует отметить, что компоненты клеточных мембран имеют гидрофильные ионизированные полярные группы, ориентирующиеся в сторону водной среды, и обладают поверхностным ионным зарядом, который играет важную роль во многих процессах, обеспечивающих жизнедеятельность клеток. Электрический заряд в значительной степени определяет физико-химические свойства поверхности клетки и в свою очередь зависит от биологического состояния клетки и ее окружения. Колебания зарядов лимфоцитов у разных, но здоровых индивидуумов очень незначительны [2, 3]. Последнее приобретает большое значение для дифференциации многих патологических состояний. При патологии заряд может существенно меняться как в результате изменения физико-химической структуры клеточной поверхности (в том числе изменения поверхностного фенотипа, обусловленного сменой дифференцировочных антигенов, рецепторов контактного взаимодействия), так и вследствие нарушения состава окружающей среды — появления в крови антител, патологических белков, продуктов распада клеток. ЭФП связана не только с поверхностными, но и с внутренними физико-химическими свойствами клеток и отдельных структур [1, 2]. Поэтому изучение величины электрического заряда клеток приобретает важное значение для мониторинга изменений гомеостаза, в том числе иммунологического [3]. Повышение ЭФП лимфоцитов коррелировало с

тяжестью течения АО (коэффициент обратной корреляции $r = -0,87 \pm 0,11$; $p < 0,05$), т. е. чем тяжелее протекало заболевание, тем меньшую ЭФП имел основной пул лимфоцитов крови. Назначение специальной терапии АО приводило к достоверному повышению ЭФП лимфоцитов. Динамика возвращения электрокинетического потенциала лимфоцитов и профилей их распределения по ЭФП к контрольным значениям отражала эффективность проводимой терапии ($r = 0,82 \pm 0,17$; $p < 0,05$). Обнаруженные нами изменения ЭФП лимфоцитов крови в динамике терапии офтальмопатии могут явиться интегральным показателем выраженности иммунобиологической перестройки и позволяет составить представление о доле лимфоцитов периферической крови, вовлекаемых в патологический процесс.

Таким образом, метод препаративного клеточного электрофореза в свободном потоке можно рекомендовать в качестве дополнительного высокоинформативного и чувствительного критерия изменения иммунологического гомеостаза в комплексе клинко-лабораторных методов оценки тяжести течения и эффективности терапии АО.

Выводы

1. У больных АО регистрируются значительные изменения в распределении лимфоцитов крови по ЭФП. Электрокинетический потенциал лимфоцитов находится в обратной корреляционной зависимости от тяжести заболевания.
2. Назначение специальной терапии АО приводит через 14 дней к повышению ЭФП лимфоцитов, а затем (через 28 дней) — к возвращению к значениям, регистрируемым у здоровых лиц.
3. Достоверные изменения ЭФП лимфоцитов крови предшествуют статистически значимой положительной динамике ОИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дозморов И. М. // Итоги науки и техники. Иммунология. — М., 1984. — Т. 13. — С. 166—199.
2. Иенсен Г. Л. // Иммунологические методы: Пер. с нем. — М., 1979. — С. 195—208.
3. Bauer J. Cell Electrophoresis. — Martinsried, 1984.
4. Heufelder A. E., Bahn R. S. // Clin. exp. Immunol. — 1993. — Vol. 91. — P. 381—389.
5. Heufelder A. E. // Thyroid. — 1995. — Vol. 5. — P. 331—340.
6. Imai G., Ibaraki K., Odajima R., Shishiba G. // Eur. J. Endocrinol. — 1994. — Vol. 131. — P. 630—638.
7. Jaume J. C., Portolano S., Prummel M. F. et al. // Clin. Endocrinol. Metab. — 1994. — Vol. 78. — P. 348—352.
8. Kahaly G., Schuler M., Scwell A. C. et al. // Clin. Endocrinol. — 1990. — Vol. 33. — P. 35—44.
9. Kahaly G., Moncayo R., Stover C., Beyer J. // Res. exp. Med. — 1991. — Vol. 191. — P. 137—144.
10. Kriss J. P., McDougall G. R., Donaldson S. S. // Current Therapy in Endocrinology / Ed. D. T. Krieger. — New York, 1983. — P. 104—109.

Поступила 29.07.97