



ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВО

УКРАЇНА

(19)

(11)

9772

(13)

СІ

UA

(51)5 GO! N33/53

# ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ МАКРООРГАНІЗМУ

1

(20)94311486,08,09.93

(21) 4907011/SU

(22)16.11.90

(46) 30.09.96. Бюл. № 3

(56) 1. Оценка иммунного статуса человека. Методические рекомендации Минздрава. М., 1984.

2. Заявка Японии № 59-25184, кл. G 01 N 33/54, опублик. 15.06.84.

3. Авторское свидетельство СССР ГФ 1123703, кл. A 61 K 39/00, 15.02.84.

4. Авторское свидетельство СССР № 1121004, кл. A 61 K 10/00, 30.10.84.

(71) Інститут молекулярної біології і генетики АН УРСР і Науково-дослідна лабораторія прикладної логіки

(72) Сенюк Ольга Федорівна (UA). Гергей Томаш (HU)

(73) Сенюк Ольга Федорівна (UA)

(57) 1. Способ определения состояния макроорганизма путем иммунологического исследования периферической крови, включающий получение изолированных лимфоцитов и лейкоконцентрата из периферической крови, проведение НСТ-спонтанного и индуцированного теста сепментоядерных нейтрофилов и моноцитов в лейкоконцентрате, определение Е-розеткообразования изолированных лимфоцитов, предынкубированных с теофиллином и ЕАС-розеткообразования изолированных лимфоцитов, определение естественной клеточной киллерной активности, проведение реакции бласттрансформации изолированных лимфоцитов на Т- и В-клеточный митоген, отличающийся тем, что дополнительно из периферической крови выделяют аутологичные эритроциты и плаз-

му, которую разделяют на белокассоциированную и безбелковую фракции, а затем проводят иммунологические исследования в следующем порядке: после проведения НСТ-теста и определения Е-и ЕДС-розеткообразования изолированных лимфоцитов и\* предынкубированных с теофиллином, определяют Е- и ЕАС-розеткообразование изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии лейкоконцентрата, белокэссоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и в присутствии различных препаратов гормонального, противовоспалительного или иммуномодулирующего действия, определяют розеткообразование изолированных лимфоцитов и отдельно в присутствии лейкоконцентрата белокэссоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и в присутствии аутоэритроцитов совместно с различными иммуностропными препаратами, определяют естественную клеточную киллерную активность сначала изолированных лимфоцитов, а потом отдельно в присутствии белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы, проводят реакцию бласттрансформации на Т-и В-клеточный митоген после изолированных лимфоцитов, отдельно от изолированных лимфоцитов в присутствии белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и иммуностропных препаратов.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве иммуностропного гормонального препарата используют дексазон, в качестве противовоспалительного - индометацин и в качестве иммуномодулятора - интерферон.

Изобретение относится к биологии и медицине и может быть использовано для изучения различных состояний сложной биологической системы при моделировании широкого спектра патологических процессов аутоиммунных, опухолевых, инфекционных и т.п., а также для диагностических исследований и индивидуального подбора лекарственных средств путем иммунологического тестирования периферической крови при лечении аутоиммунных, опухолевых инфекционных заболеваний, бесплодия или в процессе пре- и посттрансплантационного мониторинга.

Известны способы тестирования периферической крови для определения иммунного состояния организма, например путем определения содержания инсулина и исследования динамики его изменения: определения резистентности организма при инкубировании лейкоцитов с тест-микробной взвесью в присутствии аутологичной сыворотки; определения иммунореактивности при одновременном проведении двух реакций розеткообразования: лимфоцитов с эритроцитами барана в присутствии иммуностимулирующего препарата (левамизола, спленина и т.д.) и лимфоцитов в присутствии аутоплазмы.

Общим недостатком известных способов является проведение одного-двух иммунологических тестов, по которым нельзя объективно оценить сложную иммунную систему организма.

Более информативно исследование проводят при осуществлении двухэтапного способа диагностического определения иммунного состояния человека, являющийся способом-прототипом. Первый этап, называемый ориентирующим, включает следующие операции: определение относительного и абсолютного количества лимфоцитов; тесты Е- и ЕАС-розеткообразования для определения относительного и абсолютного количества J- и В-лимфоцитов крови; определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов основных классов (М, G, A); определение фагоцитарной активности лейкоцитов.

Этот этап может быть осуществлен в условиях клинической лаборатории в течение суток.

Второй этап, называемый аналитическим, включает следующие операции: определение субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов (Т-хелперов, Т-супрессоров); прямой тест определения спонтанной миграции лейкоцитов и тест торможения миграции лейкоцитов с использованием в качестве стимулятора фитогемаггутина

(FGA); оценка функциональных свойств иммунорегуляторных клеток в тестах канканавалин-А-индуцированной супрессорной активности; постановка важных тестов гиперчувствительности замедленного и немедленного типа на туберкулин, грибковые антигены, ДННВ, искомые аллергены; оценка пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов в реакции бласттрансформации на митогены, антигены, аллогенные клетки; определение В-лимфоцитов, несущие поверхностные иммуноглобулины разных классов; оценка синтеза иммуноглобулинов в культуре В-лимфоцитов; непрямого теста торможения миграции лейкоцитов; оценка активности киллерных клеток (К- и ЕК-лимфоцитов); тесты на оценку наиболее значимых медиаторов иммунной системы, в том числе интерлейкин - продуцирующей активности клеток; определение различных компонентов комплемента; оценка различных компонентов фагоцитоза и рецепторного аппарата фагоцитов.

Если первый этап обязательный, то второй этап является рекомендательным, так как отличается значительной трудоемкостью (необходимо специальное оборудование, дефицитные реактивы, большой опыт и высокая квалификация исполнителя) и продолжительностью (общее время 5-7 сут).

Однако несмотря на определение широкого диапазона иммунологических параметров, способ-прототип является недостаточно точным. Он объективен исключительно в отношении системы *in vitro*, так как не учитывает участия гуморальных и клеточных факторов микроокружения в иммунном ответе, не исследует индивидуального действия иммуностимулирующих препаратов, применяемых при терапии конкретного патологического процесса. Кроме того, из-за значительной продолжительности процесса - 7 сут, этот способ не обеспечивает оперативной диагностической информации.

Целью изобретения является повышение точности диагностики и эффективности коррекции состояния макроорганизма при одновременном ускорении способа.

Для достижения цели в способе определения состояния макроорганизма путем иммунологического исследования периферической крови, проводят НСТ-спонтанный и индуцированный тест сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов в лейкоконцентрате, определение Е-розеткообразования изолированных лимфоцитов, предынкубированных с теофиллином, определение естественной клеточной киллерной активности изолированных лимфоцитов, реак-

цию бласттрансформации изолированных лимфоцитов на Т- и В-клеточные митогены, дополнительно из периферической крови выделяют аутологичные эритроциты и плазму, которую разделяют на белокассоциированную и безбелковую фракции, а затем проводят иммунологические исследования в следующем порядке: после проведения НСТ-теста и определения Е-роzetkoобразования изолированных лимфоцитов, предварительно 10 кубированных с теофиллином и ЕАС-роzetkoобразования изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии лейкоконцентрата, белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и в присутствии 15 лейкоконцентрата совместно с каждым из иммуностимулирующих препаратов гормонального, противовоспалительного и иммуномодулирующего действия определяют роzetkoобразование изолированных лимфоцитов с 20 аутоэритроцитами и последовательно в присутствии лейкоконцентрата, белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и совместно с каждым из указанных иммуностимулирующих препаратов.; определяют 25 естественную клеточную киллерную активность после изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии лейкоконцентрата и белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы; проводят 30 реакцию бласттрансформации на Т- и В-клеточные митогены после изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии белокассоциированной и безбелковой фракций аутоплазмы и совместно с каждым 35 из указанных иммуностимулирующих препаратов. Существенные отличия нового способа в сравнении с известными аналогами заключаются в многоплановом исследовании периферической крови, что обеспечивается 40 изучением поведения в комплексе всех компонентов крови: изолированные лимфоциты, лейкоконцентрат, аутоэритроциты и аутоплазма, дополнительно разделенная на белокассоциированную и безбелковую 45 фракции, а также их различных сочетаний в присутствии лекарственных препаратов. Благодаря такому разностороннему иммунологическому исследованию определяют состояние всего макроорганизма. Так, на 50 пример, предложенная схема позволяет изучить параметры изолированных лимфоцитов с учетом клеточных факторов микроокружения (в лейкоконцентрате), а также с учетом влияния естественных пространственных связей между лимфоцитами, которые могут резко изменять показатели поведения изолированных лимфоцитов, исследуемых в способе-прототипе. Включение в объект исследований безбелковой и

белокассоциированной фракции аутоплазмы позволяет определить не только суммарное воздействие гуморальных факторов, как в известных способах, но и разграничить, в какой фракции плазмы находятся агрессивные (патологические) и компенсаторные (защитные) субстанции. Такое вычленение является принципиально важным, так как позволяет, используя современные инструментальные методики экстракорпоральной детоксикации (плазмфарез, гемодиализ, гемосорбция и их сочетания), удалять из макроорганизма вещества, поддерживающие патологический процесс, не ослаблять макросистему одновременным удалением субстанций, вырабатываемых ею для инactivation чужеродной информации.

Кроме того, предложенный способ позволяет выявить способности лимфоцитов распознавать аутологичные тканевые антигены, например, экспрессируемые на мембранах собственных эритроцитов. Этот феномен отражает выраженность реакций против перекрестно реагирующих антигенов (например, антигенов эндо- и экзогенной микрофлоры и антигенов собственных тканей, представленных на эритроцитах, на которых в разной степени присутствуют мембраноассоциированные структуры, характерные и для других органов: почек, миокарда, печени, поджелудочной железы, соединительной, нервной ткани и т.д.) Он, как эпизодический, сопровождает большинство инфекционных заболеваний, а в определенном количестве случаев превращается в основное патогенетическое звено болезни, что имеет место при аутоиммунных поражениях соединительной и нервной ткани, почек, сердца, суставов и т.д. как следствие стрептококковой инфекции.

Изучение действия иммуностимулирующих препаратов в совокупности предложенных тестов никогда ранее не проводилось. Оно способствует уточнению клинического диагноза, так как демонстрирует поведение лимфоцитов в присутствии различных факторов:

- противовоспалительных - блокирующих синтез продуктов арахидоновой кислоты: простагландинов, лейкотриенов, простациклинов, эйкозеноидов и т.д.;
- гормональных - аналогов преднизолона, кортизона и т.д.;
- иммуномодулирующих - медиаторов различных звеньев иммунного ответа: интерферонов, интерлейкинов, тимопоэтинов, миелопептидов и др.

По результатам исследования конкретизируют природу воспалительных реакций или признаки наличия воспалительных ме-

диаторов, формулируют индивидуальные прогнозы эффективности предлагаемого лечения, т.е. уточняют, какие лекарственные средства и в какой дозировке способны нормализовать исходно патологические состояния лимфоцитов.

Предложенный способ позволяет провести иммунологические исследования периферической крови всего за 4-6 ч (по короткой) и за 3 сут (по полной схеме) в отличие от известного способа, где анализы проводят в течение 7 сут. Новый способ позволяет провести компьютеризацию обработки результатов исследования в автоматическом режиме.

Способ иллюстрируется описанием общей схемы и примерами выполнения, представленными в форме карты иммунологических исследований периферической крови с рекомендациями клиницисту специально для конкретного больного.

Способ осуществляется по следующей схеме.

У пациента забирают 15 мл венозной периферической крови, которую стабилизируют 2,7%-ным раствором ЭДТА (трилон В) в соотношении 1:10. Из 10 мл крови в стандартном градиенте плотности фиколл - верографина (1.076-1.078) выделяют пул мононуклеарных клеток, из которых инкубацией на пластиковых поверхностях удаляют прилипающие (моноциты, макрофаги) клетки. Из оставшейся крови (5 мл) отбирают лейкоконцентрат, максимально освобожденный от эритроцитов и плазмы (около 2 мл). Клетки лейкоконцентрата освобождают от плазмы трехкратным центрифугированием и отмыванием физиологическим раствором. Половину объема полученной плазмы пропускают через фильтры с диаметром пор 0,17 мкм и, таким образом, отделяют безбелковую фракцию от белокассоциированной.

В условиях *in vitro* традиционными методами определяют Е- и, ЕАС-роzetkoобразование, розетkoобразование с аутологичными эритроцитами, Е-роzetkoобразование лимфоцитов, после предынкубации с теoфиллином: показатели НСТ-спонтанного и индуцированного теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов; активность естественных киллерных клеток; способность лимфоцитов трансформироваться в бласты при внесении различных митогенов. Все указанные реакции проводят в соответствии с Методиками согласно рекомендациям, описанным в способе-а рототипе[1].

I - НСТ-спонтанный и индуцированный тест сегментоядерных нейтрофилов и моно-

цитов, учитываемый в лейкоконцентрате (естественном клеточном, гуморальном и пространственном микроокружениях).

II - Е-роzetkoобразование (экспрессия характерных Т-клеточных рецепторов):

а) изолированных лимфоцитов (определяют процентное и абсолютное содержание Е-роzetkoобразующих клеток);

б) предынкубированных с теoфиллином изолированных лимфоцитов (Т-хелперные и Т-супрессорные клетки, определяют их абсолютные количества и соотношение);

в) в присутствии лейкоконцентрата (определяют отклонение от а);

г) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (в качестве эффекторных клеток используют изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат) определяют отклонение от а и в;

д) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы в качестве эффективных клеток используют изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат, определяют отклонение от а в;

111 - ЕАС-роzetkoобразование (экспрессия характерных В-клеточных маркеров);

а) изолированных лимфоцитов (определяют процентное и абсолютное содержание ЕАС-роzetkoобразующих клеток);

б) в присутствии лейкоконцентрата (определяют отклонение от а);

в) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (определяют отклонение от а и б, в качестве эффекторных клеток используют изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат);

г) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (определяют отклонение от а и б, эффекторные клетки - изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат).

IV - Розетkoобразование с аутологичными эритроцитами;

а) изолированных лимфоцитов (определяют процентное и абсолютное количество);

б) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (эффекторные клетки - изолированные лимфоциты определяют отклонение от а);

в) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (эффекторные клетки - изолированные лимфоциты, определяют отклонение от а).

V - Определение Е-роzetkoобразования лимфоцитов лейкоконцентрата в присутствии иммуностропных препаратов\* (предынкубация с препаратом длится в течение 30 мин при 36,7°С);

- субтерапевтическая (0,1 терапевтической дозы) и терапевтическая доза индометацина;

- субтерапевтическая (0,1 терапевтической дозы) и терапевтическая доза дексазона;

- субтерапевтическая и терапевтическая доза альфа-2-рекомбинантного интерферона.

VI - Определение розеткообразования лимфоцитов, предынкубированных согласно условий этапа V, с аутологичными эритроцитами.

VH - Определение естественной киллерной активности (против аутологичных опухолевых клеток, при отсутствии последних в качестве мишеневых используют клетки перевиваемой линии человеческого миелолейкоза - K-562);

а) изолированных лимфоцитов;

б) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изолированные лимфоциты), определяют отклонение от з);

При необходимости в схему тестирования могут быть внесены и другие препараты (различные гормоны: инсулин, глюкагон, кортизол; иммуномодуляторы: лимфо- и монокины; антибиотики, цитостатики, наркотические вещества и т.д.) в зависимости от конкретных задач;

в) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изолированные лимфоциты), определяют отклонение от а.

VIII - Реакция бласттрансформации лимфоцитов на Т-клеточный митоген, например, фитогемогглютинин (FGA, Serva, 30 мкг/мл) и преимущественно В-клеточный митоген, например, липополисахарид (LPS, Serva, 100 мкг/мл);

а) изолированных лимфоцитов (учет индекса стимуляции);

б) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изоли-

рованные лимфоциты, определяют отклонение от а);

в) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изолированные лимфоциты, определяют отклонение от а);

г) внесение в тест-системы, кроме фитогемагглютинаина различных иммуностропных препаратов;

10 ~ субтерапевтических и терапевтических доз индометацина;

- субтерапевтических и терапевтических доз дексазона;

- к -2-рекомбинантного интерферона в диапазоне клинически используемых доз, пересчитанных на *in vitro* культивирование: 12, 60, 300, 1500, 3000, 7500, 15000 МЕ/мл.

Короткая схема исследования требует минимального времени для воспроизведения. В ней отсутствуют методы, требующие стерильности и условий для работы с радиоактивными метками. Она включает I-VI этапы. Но ее информативность явно недостаточна для исследования опухолевой болезни, при которой необходимо получение объективных данных и о характере взаимных влияний blastомы и макроорганизма.

3Q Полная схема более трудоемка и включает все описанные этапы. Она позволяет более детально исследовать состояние макроорганизма, в том числе опухолевую болезнь, и более избирательно подойти к выбору вида и дозы корректирующих препаратов.

Короткая схема

Пример 1.1.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО А.				возраст 60 лф24
ф-ла венозной крови: мон. 7 п,0	с.61	э 4		Д.24.01.90 норма 4,0-9,0 x 10 <sup>9</sup> /л 18-38%
Общее количество лейкоцитов 7,8	Процентное содержание лимфоцитов 24	Абсолютное количество лимфоцитов 1,87	НСТ-тест:	0,8-3,6 x 10 <sup>9</sup> /л
нейтрофилов спонт. 5	индуц. 9			спонт. < индуц.
моноцитов спонт. 3	индуц. 5			спонт. < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК) изолированные на фиколле;				
процентное содержание	21			40-60% 0.6-2,1 x 10 <sup>9</sup> /л
абсолютное количество	0,39	-		
модуляция аутоплазмой:				
цельной	-	12		модуляции нет
без белка		6		модуляции нет'
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейкоконцентрате:				
процентное содержание	15			
модуляция аутоплазмой:				

цельной	10	модуляции нет
без белка	3	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:		
индометацином	27 23	дексазоном 20 20
Л-2-рекомбинантным интерфероном		17 20
В-лимфоциты (ЕАС-РОК),		
изолированные на фиколле:		20-26% 0,3-
процентное содержание	6	0,5 x 10 <sup>9</sup> /л
абсолютное количество	0,11	
модуляция аутоплазмой:		модуляции нет
цельной	1	модуляции нет
без белка	4	
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:		
процентное содержание	4	
модуляция аутоплазмой:		
цельной	1	модуляции нет
без белка	0	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с зугологичными эритроцитами:		
процентное содержание	0	нет
абсолютное количество	0	нет
модуляция аутоплазмой:		
цельной	0	модуляции нет
без белка	0	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином	0 0	дексазоном 0
А-2-рекомбинантным интерфероном		0
Т-хелперы: Т-супрессоры	2,0	2,2:3,3
(теофиллиновый тест)		

30

## 1.2. Заключение

Пациент А. Дата исследования 24 01.90.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

©акторы клеточного микроокружения усугубляют ситуацию - уменьшают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность 45 изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов, 50

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата 55 участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лим-

фоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения практически не изменяют пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Таким образом, нарушения в иммунокомпетентной сфере обусловлены иммунодепрессивным воздействием на функции

лимфоцитов клеточного и гуморального микроокружения.

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются: удалением факторов белокассоциированной и безбелковой фракции аутологичной плазмы, дексазоном, индометацином.

### 1.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных иммунодепрессивных факторов в нативной

аутоплазме; параллельный курс противовоспалительной терапии субтерапевтическими дозами индометацина и дексазона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование. Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 2. Полная схема 2.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО А.				возраст 60,0 лф24	
ф-ла венозной крови: мон 7    ПО    с 61    эА				Д 24.01.90 норма	
Общее количество лейкоцитов    7~8				4,0-9,0 x 10 <sup>9</sup> /л	
Процентное содержание лимфоцитов    24				18-38%	
Абсолютное количество лимфоцитов 1,87 НСТ-				0,8-3,6 x 10 <sup>9</sup> /л	
тест ■					
нейтрофилов    спонт. 5		индуц.    9		спонт. < индуц.	
моноцитов    спонт. 3		индуц.    5		спонт. < индуц.	
Т-лимфоциты (Е-FOK), изолированные на фиколле:					
процентное содержание    21				40-60% 0,6-	
абсолютное количество    0,39				2,1 10 <sup>9</sup> /л	
модуляция аутоплазмой:					
цельной		"		12    модуляции нет	
без белка				6    модуляции нет	
Т-лимфоциты (Е-POK) в лейкоконцентрате:					
процентное содержание				15	
модуляция аутоплазмой:    *    »'■«,,					
цельной		* 10		модуляции нет	
без белка		3		модуляции нет	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:					
индометацином    27		23    дексазоном		20    20	
А-2-рекомбинантным интерфероном				17    20	
В-лимфоциты (ЕАС-POK), изолированные на фиколле;					
процентное содержание    6				20-26%	
абсолютное количество    0,11				0,3-0,5 10 <sup>9</sup> /л	
модуляция аутоплазмой;					
цельной;		*    1		модуляции нет	
без белка		4		модуляции нет	
В-лимфоциты (ЕАС-POK) в лейкоконцентрате:					
процентное содержание    4					
модуляция аутоплазмой:    • *					
цельной		1		модуляции нет	
без белка		0		модуляции нет	
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами;					
процентное содержание    0				нет	
абсолютное количество    0				нет	
модуляция аутоплазмой:					
цельной		0		модуляции нет	
без белка    -		0		модуляции нет	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе;					
индометацином    0		0    дексазоном			
А-2-рекомбинантным интерфероном    0					
Т-хелперы; Т-супрессоры    2,0 (теофиллиновый тест)				2,2:3,3	
Естественная киллерная активность лимфоцитов:					
				24 модуляция    19,29 + 0,8%	
аутоплазмой:					

цельной				29				модуляции нет
без белка				42				модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:								
индометацином	10	13	дексазоном	13	16			
X-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):				12	10,	60		12.
300	10,	1500	14,	300	8,	7500	0,	15000 0;
Реакция бласттрансформации лимфоцитов:								
Уровень спонтанного выше FGA-индуцированного								
бластогенеза								3-8
FGA-индуц.	бластогенез			0,65				3-8
Кон-А	"-			1,23				3-6
LPS	"-			0,38				
модуляция аутоплазмой:								
цельной спонт.				0,69				модуляции нет
	FGA			1,0				модуляции нет
	Кон-А		0,08					модуляции нет
	LPS			1,0				модуляции нет
без белка спонт.				0,97				модуляции нет
	FGA			1,53				модуляции нет
	Кон-А			0,02				модуляции нет
	LPS			2,1				
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:								
индометацином	1,4	1,4	дексазоном	1,9	2,1			
A-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):								
уровня спонтанного								
бластогенеза	12	0,86	60	1,0,	300			1.0.
1500	1,1,	3000	1,3,	7500	1,0,	15000	1,3 FGA-	
индуцированного бластогенеза	12			0,9,	60	0,6,	300 1500	0,6.
0,6,	3000	0,6,	7500	0,7,	15000	0,5		

## 2.2. Заключение

Пациент А. Дата исследования 24.01.90.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения усугубляют ситуацию - уменьшают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфо-20 цитов образовывать ЕАС-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения практически не изменяют пониженную активность изолированных В-лимфоцитов. 35 Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не 45 изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию -50 уменьшает сниженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы резко угнетает 55 Кон-А-индуцированный бластогенез лимфоцитов, снижая его до уровня FGA- и LPS-индуцированного бластогенеза.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает уровень ЕК-активности лимфоцитов.



Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы резко увеличивает уровень ЕК-активности лимфоцитов.

Таким образом, нарушения в иммунокомпетентной сфере обусловлены иммунодепрессивным воздействием на функции лимфоцитов факторов клеточного и гуморального микроокружения.

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются: удалением факторов белокассоциированной и безбелковой фракции аутологичной плазмы, дексазоном, индометацином.

2.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных иммунодепрессивных факторов в нативной аутоплазме: параллельный курс противовоспалительной терапии субтерапевтическими дозами индометацина и дексазона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 3. Короткая схема

3.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО	Б.	возраст	42
ф-ла венозной крови мон	17 п 0	с 64	э 0
общее количество лейкоцитов	4,8	лф 19	Д 22.11.89 4,0-9,0 x 10 <sup>9</sup> /л 18-
процентное содержание лимфоцитов		норма	38% 0,8-3,0 x10 <sup>9</sup> /л
абсолютное количество лимфоцитов			
НСТ-тест:			
нейтрофилов спонт.	12	индуц.	8
моноцитов спонт.	9	индуц.	5
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание		18	40-60 %
абсолютное количество		0,16	0,6-2,1 x10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:			
цельной		0	модуляции нет
без белка		0	модуляции нет
Т-лимфоцитов (Е-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание		36	
модуляция аутоплазмой:			
цельной		0	модуляции нет
без белка		2	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:			
индометацином	25	23	дексазоном 22 18
А-2-рекомбинантным интерфероном		19	34
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание		28	20-26% 0,3-0,5 x10 <sup>9</sup> /л
абсолютное количество		0,26	
модуляции аутоплазмой:			
цельной		0	модуляции нет
без белка		2	модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание		15	
модуляция аутоплазмой:			
цельной		17	модуляции нет
без белка		25	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:			
процентное содержание		14	нет
абсолютное количество		0,13	нет
модуляция аутоплазмой:			
цельной		24	модуляции нет
без белка		26	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:			
индометацином	2	0	дексазоном 0 0
А-2-рекомбинантным интерфероном		18	6
Т-хелперы: Т-супрессоры	0,33		2,2:3,3
(теофиллиновый тест)			

### 3.2. Заключение

Пациент Б. Дата исследования 22.11.89.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

5

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения частично компенсируют ситуацию - увеличивают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белоксассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белоксассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белоксассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Белоксассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы нормализует способность В-лимфоцитов участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

ф-ла венозной крови: мон 17 п 0  
общее количество лейкоцитов 4,8  
процентное содержание лимфоцитов 19  
Абсолютное количество лимфоцитов 0,91  
НСТ-тест:  
нейтрофилов спонт 12 индуц.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцировочных антигенов аутологичных тканей), причем (in vitro способность лимфоцитов образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.), так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона).

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются: удалением аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов белоксассоциированной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, дексазоном и интерфероном.

### 3.3. Рекомендации клиницистам.

Показано; детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белоксассоциированных аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов аутоплазмы: параллельный курс лечения субтерапевтическими дозами дексазона и терапевтическими дозами интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 4. Полная схема

4.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

возраст 42  
с 64 эО лф 19 Д22.11.89  
норма 4.0-9,0 x 10<sup>9</sup>/л 18-38% 0,8-3,6 x 10<sup>9</sup>/л  
спонт. < индуц.

8

моноцитов	спонт.	9	индуц.	5	спонт.	< индуц.
Т-лимфоцит (Е-РОК), изолированные на фиколле:						
процентное содержание			18		40-60%	0,6-2,1 x10 <sup>9</sup> /л
абсолютное количество			0,16			
модуляция аутоплазмой:	цельной		0		модуляции нет	модуляции нет
	без белка		0		нет	
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейко концентрате:						
процентное содержание			36		модуляции нет	модуляции нет
модуляция аутоплазмой:	цельной		0		нет	
	без белка				модуляция препаратами в	
субтерапевтической и терапевтической дозах:						
индометацином	25	23	дексазоном	22	18	
Я-2-рекомбинантным интерфероном				19	34	
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:						
процентное содержание			28		20-26%	
абсолютное количество			0,26		0,3-0,5x10 /л	
модуляция аутоплазмой:	цельной	"	0		модуляции нет	
	без белка		2		модуляции нет	
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:						
процентное содержание			15			
модуляция аутоплазмой:	цельной		17		модуляции нет	
	без белка		25		модуляции нет	
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:						
процентное содержание			14		нет	
абсолютное количество			0,13		нет	
модуляция аутоплазмой:	цельной		24		модуляции нет	
	без белка		26		модуляции нет	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:						
индометацином	2	0	дексазоном	0	0	
Я-2-рекомбинантным интерфероном				18	6	
Т-хелперы: Т-супрессоры						
(теофиллиновый тест) Естественная			0,33		2,2:3,3	
киллерная активность						
лимфоцитов:			21		19,29 + 0,8%	
модуляция аутоплазмой:	цельной		10		модуляции нет	
	без белка		15		модуляции нет	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:						
индометацином	21	15	дексазоном	19	10	
Я-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):			12	20,	60	21,
300	17,	1500	14,	3000	10,	7500
			18.	15000	24;	
Реакция бласттрансформации лимфоцитов:						
Уровень спонтанного ниже FGA-индуцированного бластогенеза						
FGA-индуц. бластогенез			1,73		3-8	
Кон-А -Я-			0,89		3-8	
LPS -"-			0,55		3-6	
модуляция аутоплазмой:						
цельной спонт.			0,38		модуляции нет	
FGA			1,0		модуляции нет	
Кон-А			0,08		модуляции нет	
LPS			1,0		модуляции нет	
без белка спонт.			0,62		модуляции нет	
FGA			1,53		модуляции нет	
Кон-А			0,02		модуляции нет	

LPS	2,1	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе, индометацином	1,4 1,4, дексазоном	1,9 2,1
А-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):		
уровня спонтанного blastogenesis	12 0,86 60	1,0
300 1,0, 1500 1,1, 3000 1,3, 7500 1,0, 15000 1,3		
FGA-индуцированного blastogenesis	12 0,9, 60 0,6, 300	
0.6. 1500 0.6. 3000 0.6, 7500 0,7. 15000 0,5		

#### 4.2. Заключение.

Пациент Б. Дата исследования 22.11.89.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями;

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения частично компенсируют ситуацию - увеличивают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая Фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании,

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки повышена

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы нормализует способность В-

лимфоцитов участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы угнетает способность лимфоцитов участвовать в лектинииндуцированной реакции бласттрансформации и увеличивает способность лимфоцитов отвечать на LPS.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает способность лимфоцитов отвечать на митогены бласттрансформацией.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы снижает уровень ЕК-активности лимфоцитов.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов, увеличенный уровень спонтанного blastogenesis лимфоцитов, отрицательная регуляция А-2-рекомбинантным интерфероном ЕК-активности и способности лимфоцитов трансформироваться в бласты под влиянием лектина. нормализующее воздействие на эти показатели противовоспалительных препаратов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцированных антигенов аутологичных тканей), причем In vitro способность лимфоцитов образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.), так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона).

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются удалением аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов белокассоциированной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, дексазоном и интерфероном.

#### 4.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов аутоплазмы: параллельный курс

лечения субтерапевтическими дозами дексазона и терапевтическими дозами интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

10 Пример 5. Короткая схема.

5.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО В,	возраст	85	
ф-ла венозной крови: мон 15 п 0	с 71	э2	лф 12 Д 17.04.90
общее количество лейкоцитов	8,8	норма	4,0-9,0 $10^9/\text{л}$
процентное содержание лимфоцитов	12		18-38%
Абсолютное количество лимфоцитов	1,05		0,8-3,6 $10^9/\text{л}$
НСТ-тест:			
нейтрофилов спонт.	26	индуц. 6	спонт. < индуц.
моноцитов спонт.	0	индуц. 2	спонт. < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание		76	40-60%
абсолютное количество	0,8		0,6-2,1 $\times 10^9/\text{л}$
модуляция аутоплазмой:			
цельной		16	модуляции нет
без белка		70	модуляции нет
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание		6	
модуляция аутоплазмой:			
цельной		23	модуляции нет
без белка		35	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:			
индометацином	21	26	дексазоном 15 18
А-2-рекомбинантным интерфероном			34 4
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание		45	20~26%
абсолютное количество		0,48	0,3-0,5 $10^9/\text{л}$
модуляция аутоплазмой:			
цельной		12	модуляции нет
без белка		37	модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание		19	
модуляция аутоплазмой:			
цельной		2	модуляции нет
без белка		31	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:			
процентное содержание		26	нет
абсолютное количество		0,27	нет
модуляция аутоплазмой:			
цельной		46	модуляции нет
без белка		45	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:			
индометацином	10	0	дексазоном 10 6
А-2-рекомбинантным интерфероном		8	24
Т-хелперы: Т-супрессоры		(-)	2,2:3,3
(теофиллиновый тест)			

#### 5.3. Заключение

Пациент В. Дата исследования 17.04.90.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать 6-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает высокую активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки. повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертируют способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании,

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Сниженные показатели НСТ-теста моноцитов могут свидетельствовать о ригидности ферментов "дыхательного взрыва" и функциональной несостоятельности фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и извращенное за счет преобладания Т-хелперных клеток соотношение иммунорегуляторных клеток свидетельствуют а пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцировочных антигенов аутологичных тканей), причем *In vitro* способность лимфоцитов, образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.), так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона), а также за счет преобладания Т-лимфоцитов хелперов.

*in vitro* нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются удалением аутоагрессивных факторов белокассоциированной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, индометацином, дексазоном и интерфероном.

5.3. Рекомендации клиницистам. Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных аутоагрессивных факторов аутоплазмы; параллельный курс противовоспалительного лечения субтерапевтическими дозами индометацина, дексазона и интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 6. Полная схема. 6.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО В.  
ф-ла венозной крови мои 15 п 0  
общее количество лейкоцитов  
процентное содержание лимфоцитов  
Абсолютное количество лимфоцитов  
НСТ-тест:

возраст	85
с 71	э2 лф 12 Д 17.04 .90
8,8	норма 4 ,0-9,0 x10 <sup>9</sup> /л
12	18 -38% <sub>Q</sub>
1,05	0,8-3, 6x10 <sup>9</sup> /

нейтрофилов спонт. 26	индуц. 6	спонт, < индуц.
моноцитов спонт. 0	индуц. 2	спонт. < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:		
процентное содержание	76	40~60%
абсолютное количество	0,8	0,6-2,1 x10 <sup>4</sup> /л
модуляция аутоплазмой:		
цельной	16	модуляции нет
без белка	70	модуляции нет
Т-лимфоциты (Е-РОК) з лейкоконцентрате:		
процентное содержание	6	
модуляция аутоплазмой		
цельной	23	модуляции нет
без белка	35	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:		
индометацином 21	26	дексазоном 15 18
Х-2-рекомбинантным интерфероном	34	4
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:		
процентное содержание	45	20-26%
абсолютное количество	0,48	0,3-0,5 x10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:		
цельной	12	модуляции нет
без белка	37	модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:		
процентное содержание	19	
модуляция аутоплазмой:		
цельной	2	модуляции нет
без белка	31	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами		
процентное содержание	26	нет
абсолютное количество	0,27	нет
модуляция аутоплазмой:		
цельной	46	модуляции нет
без белка	45	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином 10	0	дексазоном 10 6
А-2-рекомбинантным интерфероном	8	24
Т-хелперы: Т-супрессоры	(-)	2,2;3,3
(теофиллиновый тест)		
Естественная киллерная активность лимфоцитов		
	32	19.29 + 0,8%
модуляция аутоплазмой		
цельной	2	модуляции нет
без белка	28	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином 10	5	дексазоном 13 10
Я-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):	12	24, 60 18,
300 20, 1500 14, 3000 18, 7500 24, 15000 20;		
Реакция бласттрансформации лимфоцитов: Уровень спонтанного ниже FGA-индуцированного бластогенеза		
FGA-индуц. бластогенез	3.14	3-8
Кон-А -"	1.35	3-8
LPS	3.37	3-6
модуляция аутоплазмой:		
цельной спонт.	1.83	модуляции нет
FGA	0.55	модуляции нет
Кон-А	2.89	модуляции нет
LPS	2.0	модуляции нет
без белка спонт,	1,65	модуляции нет
FGA	0.81	модуляции нет

	Кон-А			2,18				модуляции нет
	LPS			0,77				модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе;								
индометацином	2,7			1,4,	дексазоном	1,25	1,1	
Я-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):								
уровня спонтанного бластогенеза	16			0,76,	" 60		0,69,	
300	0,7,	1500	0,5,	3000	0,6,	7500	0,6,	15000 0,5
FGA-индуцированного бластогенеза								
300	2,1,	1500	2,6,	3000	1,2,	7500	0,7,	15000 0,4

### 6.3. Заключение

Пациент В. Дата исследования 17.04.90.

У пациента, обследуемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает высокую активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует способность В-

лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает уровень спонтанного и Кон-А-индуцированного бластогенеза. уменьшает уровень FGA- и LPS-индуцированного бластогенеза.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает уровень спонтанного бластогенеза, снижает уровень FGA- и LPS-индуцированного бластогенеза.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Сниженные показатели НСТ-теста моноцитов могут свидетельствовать о ригидности ферментов "дыхательного взрыва" и функциональной несостоятельности фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и извращенное за счет преобладания Т-хелперных клеток соотношение иммунорегуляторных клеток, исходно повышенный 40 уровень ЕК-активности лимфоцитов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцированных антигенов аутологичных тканей), причем in vitro способность лимфоцитов образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих 50 фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.), так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона), а также за счет преобладания Т-лимфоцитов хелперов.

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются удалением аутоагрессивных факторов ^





УКРАЇНА

UA

9772

(13)

CI

&lt;sns GQ1N 33/53

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДМОВСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІД

{54} СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ МАКРООРГАНІЗМУ

1

(20)94311486,08.09.93

(21)4907011/SU

(22)16.11.90

(46)30.09.96 Бюл (Sfc 3

(56) 1. Оценка иммунного статуса человека. Методические рекомендации Минздрава. М., 1984.

2. Заявка Японии N; 59-25184. кл. G 01 N 33/54, опублик. 15.06.84.

3. Авторское свидетельство СССР 1st 1123703, кл. A 61 K 39/00, 15.02.84.

4. Авторское свидетельство СССР № 1121004, кл. A 61 K 10/00, 30.10.84.

(71) Інститут молекулярної біології та генетики АН УРСР і Науково-дослідна лабораторія прикладної логіки

(72) Сенюк Ольга Федорівна (UA), Гергей Томаш (HU)

(73) Сенюк Ольга Федорівна (UA)

(57) 1. Способ определения состояния макроорганизма путем иммунологического исследования периферической крови, включающий получение изолированных лимфоцитов и лейкоконцентрата из периферической крови, проведение НСТ-спонтанного и индуцированного теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов в лейкоконцентрате, определение Е-розеткообразования изолированных лимфоцитов, предынкубированных с теофиллином и ЕАС-розеткообразования изолированных лимфоцитов, определение естественной клеточной киллерной активности, проведение реакции бласттрансформации изолированных лимфоцитов на Т- и В-клеточный митоген, отличающийся тем, что дополнительно из периферической крови выделяют аутологичные эритроциты и плаз-

му, которую разделяют на белокассоциированную и безбелковую фракции, а затем проводят иммунологические исследования в следующем порядке: после проведения НСТ-теста и определения Е- и ЕДС-розеткообразования изолированных лимфоцитов и предынкубированных с теофиллином, определяют Е- и ЕАС-розеткообразование изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии лейкоконцентрата, белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и в присутствии различных препаратов гормонального, противовоспалительного или иммуномодулирующего действия, определяют розеткообразование изолированных лимфоцитов и отдельно в присутствии лейкоконцентрата белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и в присутствии аутоэритроцитов совместно с различными иммуностропными препаратами, определяют естественную клеточную киллерную активность сначала изолированных лимфоцитов, а потом отдельно в присутствии белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы, проводят реакцию бласттрансформации на Т- и В-клеточный митоген после изолированных лимфоцитов, отдельно от изолированных лимфоцитов в присутствии белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и иммуностропных препаратов.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве иммуностропного гормонального препарата используют дексазон, в качестве противовоспалительного - индометацин и в качестве иммуномодулятора - интерферон.

Изобретение относится к биологии и медицине и может быть использовано для изучения различных состояний сложной биологической системы при моделировании широкого спектра патологических процессов аутоиммунных, опухолевых, инфекционных и т.п., а также для диагностических исследований и индивидуального, подбора лекарственных средств путем иммунологического тестирования периферической крови при лечении аутоиммунных, опухолевых инфекционных заболеваний, бесплодия или в процессе пре- и посттрансплантационного мониторинга.

Известны способы тестирования периферической крови для определения иммунного состояния организма, например путем определения содержания инсулина и исследования динамики его изменения: определения резистентности организма при инкубировании лейкоцитов с тест-микробной взвесью в присутствии аутологичной сыворотки; определения иммунореактивности при одновременном проведении двух реакций розеткообразования: лимфоцитов с эритроцитами барана в присутствии иммуностимулирующего препарата (левамизола, спленина и т.д.) и лимфоцитов в присутствии аутоплазмы.

Общим недостатком известных способов является проведение одного-двух иммунологических тестов, по которым нельзя объективно оценить сложную иммунную систему организма.

Более информативно исследование проводят при осуществлении двухэтапного способа диагностического определения иммунного состояния человека, являющийся способом-прототипом. Первый этап, называемый ориентирующим, включает следующие операции: определение относительного и абсолютного количества лимфоцитов; тесты Е-и ЕАС-розеткообразования для определения относительного и абсолютного количества/- и В-лимфоцитов крови; определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов основных классов (М, G, А); определение фагоцитарной активности лейкоцитов.

Этот этап может быть осуществлен в условиях клинической лаборатории в течение суток.

Второй этап, называемый аналитическим, включает следующие операции: определение субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов (Г-хелперов, Т-супрессоров); прямой тест определения спонтанной миграции лейкоцитов и тест торможения миграции лейкоцитов с использованием в качестве стимулятора фитогемагглютинаина

(FGA); оценка функциональных свойств иммунорегуляторных клеток в тестах канканавалин-А-индуцированной супрессорной активности; постановка важных тестов гиперчувствительности замедленного и немедленного типа на туберкулин, грибковые антигены, DННВ, искомые аллергены; оценка пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов в реакции бласттрансформации на митогены, антигены, аллогенные клетки; определение В-лимфоцитов, несущие поверхностные иммуноглобулины ■ разных классов; оценка синтеза иммуноглобулинов в культуре В-лимфоцитов; непрямой тест торможения миграции лейкоцитов; оценка активности киллерных клеток (К- и ЕК-лимфоцитов); тесты на оценку наиболее значимых медиаторов иммунной системы, в том числе интерлейкин - продуцирующей активности клеток; определение различных компонентов комплемента; оценка различных компонентов фагоцитоза и рецепторного аппарата фагоцитов.

Если первый этап обязательный, то второй этап является рекомендательным, так как отличается значительной трудоемкостью (необходимо специальное оборудование, дефицитные реактивы, большой опыт и высокая квалификация исполнителя) и продолжительностью (общее время 5-7 сут).

Однако несмотря на определение широкого диапазона иммунологических параметров, способ-прототип является недостаточно точным. Он объективен исключительно в отношении системы *in vitro*, так как не учитывает участия гуморальных и клеточных факторов микроокружения в иммунном ответе, не исследует индивидуального действия иммунотропных препаратов, применяемых при терапии конкретного патологического процесса. Кроме того, из-за значительной продолжительности процесса - 7 сут, этот способ не обеспечивает оперативной диагностической информации.

Целью изобретения является повышение точности диагностики и эффективности коррекции состояния макроорганизма при одновременном ускорении способа.

Для достижения цели в способе определения состояния макроорганизма путем иммунологического исследования периферической крови, проводят НСТ-спонтанный и индуцированный тест сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов в лейкоконцентрате, определение Е-розеткообразования изолированных лимфоцитов, предынкубированных с теофиллином, определение естественной клеточной киллерной активности изолированных лимфоцитов, реак-

цию бласттрансформации изолированных лимфоцитов на Т- и В-клеточные митогены, дополнительно из периферической крови выделяют аутологичные эритроциты и плазму, которую разделяют на белокассоциированную и безбелковую фракции, а затем проводят иммунологические исследования в следующем порядке: после проведения НСТ-теста и определения Е-розеткообразования изолированных лимфоцитов, предынкубированных с теофиллином и ЕАС-розеткообразования изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии лейкоконцентрата, белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и в присутствии лейкоконцентрата совместно с каждым из иммуностимулирующих препаратов гормонального, противовоспалительного и иммуномодулирующего действия определяют розеткообразование изолированных лимфоцитов с аутоэритроцитами и последовательно в присутствии лейкоконцентрата, белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы и совместно с каждым из указанных иммуностимулирующих препаратов; определяют естественную клеточную киллерную активность после изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии лейкоконцентрата и белокассоциированной и безбелковой фракции аутоплазмы; проводят реакцию бласттрансформации на Т- и В-клеточные митогены после изолированных лимфоцитов последовательно в присутствии белокассоциированной и безбелковой фракций аутоплазмы и совместно с каждым из указанных иммуностимулирующих препаратов. Существенные отличия нового способа в сравнении с известными аналогами заключаются в многоплановом исследовании периферической крови, что обеспечивается изучением поведения в комплексе всех компонентов крови: изолированные лимфоциты, лейкоконцентрат, аутоэритроциты и аутоплазма, дополнительно разделенная на белокассоциированную и безбелковую фракции, а также их различных сочетаний в присутствии лекарственных препаратов. Благодаря такому разностороннему иммунологическому исследованию определяют состояние всего макроорганизма. Так, например, предложенная схема позволяет изучить параметры изолированных лимфоцитов с учетом клеточных факторов микроокружения (в лейкоконцентрате), а также с учетом влияния естественных пространственных связей между лимфоцитами, которые могут резко изменять показатели поведения изолированных лимфоцитов, исследуемых в способе-прототипе. Включение в объект исследований безбелковой и

Оолокассоциированной фракции аутоплазмы позволяет определить не только суммарное воздействие гуморальных факторов, как в известных способах, но и разграничить, в 5 какой фракции плазмы находятся агрессивные (патологические) и компенсаторные (защитные) субстанции. Такое вычленение является принципиально важным, так как позволяет, используя современные инстру-

15 ментальные методики экстракорпоральной детоксикации (плазмафарез, гемодиализ, гемосорбция и их сочетания), удалять из макроорганизма вещества, поддерживающие патологический процесс, не ослаблять

15 макросистему одновременным удалением

субстанций, нарабатываемых ею для инак-

тивации чужеродной информации.

Кроме того, предложенный способ по-

зволяет выявить способности лимфоцитов

20 распознавать аутологичные тканевые анти-

гены, например, экспрессируемые на мемб-

ранах собственных эритроцитов. Этот

феномен отражает выраженность реакций

против перекрестно реагирующих антиге-

25 нов (например, антигенов эндо- и экзоген-

ной микрофлоры и антигенов собственных

тканей, представленных на эритроцитах, на

которых в разной степени присутствуют

мембраноассоциированные структуры, ха-

30 рактерные и для других органов: почек, ми-

окарда, печени, поджелудочной железы,

соединительной, нервной ткани и т.д.). Он,

как эпизодический, сопровождает большин-

ство инфекционных заболеваний, а в опре-

35 деленном количестве случаев превращает-

ся в основное патогенетическое звено бо-

лезни, что имеет место при аутоиммунных

поражениях соединительной и нервной тка-

ни, почек, сердца, суставов и т.д. как след-

40 ствие стрептококковой инфекции.

Изучение действия иммуностимулирующих

препаратов в совокупности предложенных

тестов никогда ранее не проводилось. Оно

способствует уточнению клинического диаг-

45 ноза. так как демонстрирует поведение лим-

фоцитов в присутствии различных

факторов:

- противовоспалительных - блокирую-

щих синтез продуктов арахидоновой кисло-

50 ты: простагландинов, лейкотриенов,

простаглицлинов, эйкозаноидов и т.д.;

-гормональных-аналоговпреднизоло-

на, кортизона и т.д.;

- иммуномодулирующих - медиаторов

55 различных звеньев иммунного ответа: ин-

терферонов, интерлейкинов, тимопоэтинов,

миелопептидов и др.

По результатам исследования конкре-

тизируют природу воспалительных реакций

или признаки наличия воспалительных ме-

диаторов, формулируют индивидуальные прогнозы эффективности предлагаемого лечения, т.е. уточняют, какие лекарственные средства и в какой дозировке способны нормализовать исходно патологические состояния лимфоцитов.

Предложенный способ позволяет провести иммунологические исследования периферической крови всего за 4-6 ч (по короткой) и за 3 сут (по полной схеме) в отличие от известного способа, где анализы проводят в течение 7 сут. Новый способ позволяет провести компьютеризацию обработки результатов исследования в автоматическом режиме.

Способ иллюстрируется описанием общей схемы и примерами выполнения, представленными в форме карты иммунологических исследований периферической крови с рекомендациями клиницисту.

Способ осуществляется по следующей схеме.

У пациента забирают 15 мл венозной периферической крови, которую стабилизируют 2,7%-ным раствором ЭДТА (трилон В) в соотношении 1:10. Из 10 мл крови в стандартном градиенте плотности фиколл-верографина (1.076-1.078) выделяют пул мононуклеарных клеток, из которых инкубацией на пластиковых поверхностях удаляют прилипающие (моноциты, макрофаги) клетки. Из оставшейся крови (5 мл) отбирают лейкоконцентрат, максимально освобожденный от эритроцитов и плазмы (около 2-3 мл). Клетки лейкоконцентрата освобождают от плазмы трехкратным центрифугированием и отмыванием физиологическим раствором. Половину объема полученной плазмы пропускают через фильтры с диаметром пор 0,17 мкм и, таким образом, отделяют безбелковую фракцию от белокассоциированной.

В условиях *in vitro* традиционными методами определяют Е- и ЕАС-роzetkoобразование с аутологичными эритроцитами, Е-роzetkoобразование лимфоцитов, после предынкубации с теoфиллином: показатели НСТ-спонтанного и индуцированного теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов; активность естественных киллерных клеток; способность лимфоцитов трансформироваться в бласты при внесении различных митогенов. Все указанные реакции проводят в соответствии с Методиками согласно рекомендациям, описанным в способе-прототипе [1].

I - НСТ-спонтанный и индуцированный тест сегментоядерных нейтрофилов и моно-

цитов, учитываемый в лейкоконцентрате (естественном клеточном, гуморальном и пространственном микроокружении).

II - Е-роzetkoобразование (экспрессия характерных Т-клеточных рецепторов):

а) изолированных лимфоцитов (определяют процентное и абсолютное содержание Е-роzetkoобразующих клеток);

б) предынкубированных с теoфиллином изолированных лимфоцитов (Т-хелперные и Т-супрессорные клетки, определяют их абсолютные количества и соотношение);

о) в присутствии лейкоконцентрата (определяют отклонение от а);

г) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (в качестве эффекторных клеток используют изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат) определяют отклонение от а и в;

д) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы в качестве эффекторных клеток используют изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат, определяют отклонение от а и в;

III - ЕАС-роzetkoобразование (экспрессия характерных В-клеточных маркеров):

а) изолированных лимфоцитов (определяют процентное и абсолютное содержание ЕАС-роzetkoобразующих клеток);

б) в присутствии лейкоконцентрата (определяют отклонение от а);

в) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (определяют отклонение от а и б, в качестве эффекторных клеток используют изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат);

г) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (определяют отклонение от а и б, эффекторные клетки - изолированные лимфоциты и лейкоконцентрат).

(V - Розеткообразование с аутологичными эритроцитами;

а) изолированных лимфоцитов (определяют процентное и абсолютное количество);

б) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (эффекторные клетки - изолированные лимфоциты определяют отклонение от а);

в) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (эффекторные клетки - изолированные лимфоциты, определяют отклонение от а).

V - Определение Е-роzetkoобразования лимфоцитов лейкоконцентрата в присутствии иммуностропных препаратов\* (предынкубация с препаратом длится в течение 30 мин при 36,7°C);

- субтерапевтическая (0,1 терапевтической дозы) и терапевтическая доза индометацина;

- субтерапевтическая (0,1 терапевтической дозы) и терапевтическая доза дексазона;

- субтерапевтическая и терапевтическая доза альфа-2-рекомбинантного интерферона.

VI - Определение розеткообразования лимфоцитов, предынкубированных согласно условий этапа V, с аутологичными эритроцитами.

VII - Определение естественной киллерной активности (против аутологичных опухолевых клеток, при отсутствии последних в качестве мишеневых используют клетки перевиваемой линии человеческого миелолейкоза - K-562):

а) изолированных лимфоцитов;

б) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изолированные л-лимфоциты), определяют отклонение от а);

При необходимости в схему тестирования могут быть внесены и другие препараты (различные гормоны: инсулин, глюкагон, кортизол<sup>1</sup> иммуномодуляторы, лимфо- и монокины; антибиотики, цитостатики, наркотические вещества и т.д.) в зависимости от конкретных задач;

в) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изолированные лимфоциты), определяют отклонение от а).

VIII - Реакция бласттрансформации лимфоцитов на Т-клеточный митоген, на пример, фитогемагглютинин (FGA, Serva, 30 мкг/мл) и преимущественно В-клеточный митоген, например, липополисахарид (LPS, Serva, 100 мкг/мл);

а) изолированных лимфоцитов (учет индекса стимуляции);

б) в присутствии безбелковой фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изоли-

рованные лимфоциты, определяют отклонение от а);

5 в) в присутствии белокассоциированной фракции аутоплазмы (эффektorные клетки - изолированные лимфоциты, определяют отклонение от а);

г) внесение в тест-системы, кроме фитогемагглютинина различных иммуностропных препаратов:

1Q - субтерапевтических и терапевтических доз индометацина;

- субтерапевтических и терапевтических доз дексазона;

15 - А-2-рекомбинантного интерферона в диапазоне клинически используемых доз, пересчитанных на *in vitro* культивирование: 12, 60, 300, 1500, 3000, 7500, 15000 МЕ/мл.

Короткая схема исследования требует 2Q минимального времени для воспроизведения. В ней отсутствуют методы, требующие стерильности и условий для работы с радиоактивными метками. Она включает I-VI этапы. Но ее информативность явно 25 недостаточна для исследования опухолевой болезни, при которой необходимо получение объективных данных и о характере взаимных влияний бластомы и макроорганизма.

30 Полная схема более трудоемка и включает все описанные этапы. Она позволяет более детально исследовать состояние макроорганизма, в том числе опухолевую болезнь, и более избирательно подойти к 35 выбору вида и дозы корректирующих препаратов.

Короткая схема

Пример 1.1.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО А.			возраст 60 лф24
ф-ла венозной крови: мои. 7 п.О	с.61	э 4	Д.24.01.90 норма 4.0-
Общее количество лейкоцитов 7,8	Процентное		9.0 x 10 <sup>9</sup> /л 18-38%
содержание лимфоцитов 24	Абсолютное		0,8-3.6 x 10 <sup>9</sup> /л
количество лимфоцитов 1,87	НСТ-тест.		
нейтрофилов спонт. 5	индуц. 9		спонт. < индуц.
моноцитов спонт. 3	индуц. 5		спонт. < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК) изолированные на фиколле:			
процентное содержание	21		40-60% 0,6-2,1
абсолютное количество	0,39		x 10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:			
цельной	*	- 12	модуляции нет
без белка		6	модуляции нет'
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание	15		
модуляция аутоплазмой:			

цельной	10	модуляции нет
без белка	3	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:		
мидометацином	27 23	дексазоном 20 20
Л-2-рекомбинантным интерфероном		17 20
В-лимфоциты (ЕАС-РОК),		
изолированные на фиколле:		20-26% 0,3-
процентное содержание	6	0,5 x 10 <sup>9</sup> /л
абсолютное количество	0,11	
модуляция аутоплазмой:		модуляции нет
цельной	1	модуляции нет
без белка	4 В-	
лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:		
процентное содержание	4	
модуляция аутоплазмой:		
цельной	1	модуляции нет
без белка	0	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:		
процентное содержание	0	нет
абсолютное количество	0	нет
модуляция аутоплазмой:		
цельной	0	модуляции нет
без белка	0	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином	0 0	дексазоном 0
А-2-рекомбинантным интерфероном		0
Т-хеллеры; Т-супрессоры 2,0		2,2,3,3
(теофиллиновый тест)		

30

## 1.2. Заключение

Пациент А Дата исследования 24 01.90.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый 35 следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшают сниженную 40 активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность 45 изолированных Т-лимфоцитов

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата 55 участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лим-

фоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки понижена

Факторы клеточного микроокружения практически не изменяют пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность 50 изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании

Таким образом, нарушения в иммунокомпетентной сфере обусловлены иммунодепрессивным воздействием на функции

лимфоцитов клеточного и гуморального микроокружения.

In vitro нарушенные показатели лимфодной функции нормализуются: удалением факторов белокассоциированной и безбелковой фракции аутологичной плазмы, дексазоном, индометацином.

### 1.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных иммунодепрессивных факторов в нативной

аутоплазме; параллельный курс противовоспалительной терапии субтерапевтическими дозами индометацина и дексазона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование. Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

10

Пример 2. Полная схема 2.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО А.	возраст 60,0 лф24
ф-ла венозной крови: мон 7 п 0 с 61 э 4	Д 24.01.90 норма
Общее количество лейкоцитов 7-8	4,0-9,0 x 10 <sup>9</sup> /л
Процентное содержание лимфоцитов 24	18-38%
Абсолютное количество лимфоцитов 1,87 НСТ-тест ■	0,8-3,6 x 10 <sup>9</sup> /л
нейтрофилов спонт. 5 индуц. 9	спонт. < индуц.
моноцитов спонт. 3 индуц. 5	спонт. < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:	
процентное содержание 21	40-60% 0,6-
абсолютное количество 0,39	2,1 10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:	
цельной 12	модуляции нет
без белка 6	модуляции нет
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейкоконцентрате:	
процентное содержание 15	
модуляция аутоплазмой: *	
цельной 10	модуляции нет
без белка 3	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:	
индометацином 27 23 дексазоном 20 20	
А-2-рекомбинантным интерфероном 17 20	
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:	
процентное содержание 6	20-26%
абсолютное количество 0,11 0,3-0,5 10 <sup>9</sup> /л	
модуляция аутоплазмой:	
цельной: 1	модуляции нет
без белка - 4	модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:	
процентное содержание 4	
модуляция аутоплазмой: - , » . « *	
цельной 1	модуляции нет
без белка 0	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:	
процентное содержание 0	нет
абсолютное количество 0	нет
модуляция аутоплазмой:	
цельной 0	модуляции нет
без белка 0	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:	
индометацином 0 0 дексазоном	
А-2-рекомбинантным интерфероном 0	
Т-хелперы: Т-супрессоры 2,0 (теофиллиновый тест)	2,2:3,3
Естественная киллерная активность лимфоцитов:	
аутоплазмой: 24 модуляция	19,29 + 0,8%

цельной	29	модуляции нет
без белка	42	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином	10 13 дексазоном	13 16
А-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл): 12 10, 60 12,		
300 10, 1500 14, 300 8, 7500 0,	15000 0;	
Реакция бласттрансформации лимфоцитов:		
Уровень спонтанного выше FGA-индуцированного		
бластогенеза		3-8
FGA-индуц. бластогенез	0,65	3-8
Кон-А	-"-	3-6
LPS	-"-	0,38
модуляция аутоплазмой:		
цельной спонт.	0,69	модуляции нет
FGA	1,0	модуляции нет
Кон-А	0,08	модуляции нет
LPS	1,0	модуляции нет
без белка спонт.	0,97	модуляции нет
FGA	1,53	модуляции нет
Кон-А	0,02	модуляции нет
LPS	2,1	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином	1,4 1,4 дексазоном	1,9 2,1
Л-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл): уровня спонтанного		
бластогенеза	12 0,86 60 1,0, 300 1,0	
1500 1,1, 3000 J.3, 7500 1,0, 15000 1,3		
FGA-индуцированного бластогенеза 12 0,9, 60 0,6, 300 0,6		
1500 0.6, 3000 0.6, 7500 0.7, 15000 0.5		

## 2.2. Заключение

Пациент А. Дата исследования 24.01.90.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения усугубляют ситуацию - уменьшают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность<sup>3</sup> изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная Фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения практически не изменяют пониженную активность изолированных В-лимфоцитов. 35 Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не 45 изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - 50 уменьшает сниженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы резко угнетает 55 Кон-А-индуцированный бластогенез лимфоцитов, снижая его до уровня FGA- и LPS-индуцированного бластогенеза.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает уровень ЕК-активности лимфоцитов.



Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы резко увеличивает уровень ЕК-активности лимфоцитов.

Таким образом, нарушения в иммунокомпетентной сфере обусловлены иммунодепрессивным воздействием на функции лимфоцитов факторов клеточного и гуморального микроокружения,

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются: удалением факторов белокассоциированной и безбелковой фракции аутологичной плазмы, дексазоном, индометацином.

2.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных иммунодепрессивных факторов в нативной аутоплазме: параллельный курс противовоспалительной терапии субтерапевтическими дозами индометацина и дексазона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 3. Короткая схема

3.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови;

ФИО	Б.	возраст	42
ф-ла венозной крови	мон 17 п 0	лф 19	Д 22.11.89 4,0-
общее количество лейкоцитов	с 64 4,8	норма	9,0 хЮ <sup>9</sup> /л 18-
процентное содержание лимфоцитов	19		38% 0,8-3,0
абсолютное количество лимфоцитов	0,91		хЮ <sup>9</sup> /л
НСТ-тест:			
нейтрофилов спонт.	12	индуц.	8
моноцитов спонт.	9	индуц.	5
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание	18		40-60%
абсолютное количество	0,16		0,6-2,1 хЮ <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:			
цельной	0		модуляции нет
без белка	0		модуляции нет
Т-лимфоцитов (Е-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание	36		
модуляция аутоплазмой:			
цельной	0		модуляции нет
без белка	2		модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:			
индометацином	25	23	дексазоном 22 18
Х-2-рекомбинантным интерфероном	19	34	
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание	28		20-26%
абсолютное количество	0,26		0,3-0,5 х10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:			
цельной	0		модуляции нет
без белка	2		модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание	15		
модуляция аутоплазмой:			
цельной	17		модуляции нет
без белка	25		модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:			
процентное содержание	14		нет
абсолютное количество	0,13		нет
модуляция аутоплазмой:			
цельной	24		модуляции нет
без белка	26		модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:			
индометацином	2	0	дексазоном 0 0
А-2-рекомбинантным интерфероном	18		6
Т-хелперы: Т-супрессоры	0,33		2,2:3,3
(теофиллиновый тест)			

### 3.2. Заключение

Пациент Б. Дата исследования 22.11.89.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

5

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения частично компенсируют ситуацию - увеличивают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных Т-лимфоцитов. 15

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании. - 25

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е- 30 розеткообразовании,

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения 35 инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов. 40

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не 45 изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы нормализует способность В- 50 лимфоцитов участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

ФИО Б.  
ф-ла венозной крови: мон 17 п 0  
общее количество лейкоцитов 4,8  
процентное содержание лимфоцитов 19  
Абсолютное количество лимфоцитов 0,91  
НСТ-тест: нейтрофилов спонт., 12  
индуц.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцировочных антигенов аутологичных тканей), причем In vitro способность лимфоцитов образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.). так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона),

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются: удалением аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов белокассоциированной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, дексазоном и интерфероном,

### 3.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов аутоплазмы: параллельный курс лечения субтерапевтическими дозами дексазона и терапевтическими дозами интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 4. Полная схема

4.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

возраст	42
с64	эО лф 19 Д 22.11.89
норма	4,0-9,0 x 10 <sup>9</sup> /л
	18-38% 0,8-3,6 x 10%
8	спонт. < индуц.

моноцитов спонт.	9	индуц. 5	спонт. < индуц.
Т-лимфоцит (Е-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание	18	40-60%	0,6-2,1 хЮ <sup>9</sup> /л
абсолютное количество	0,16		
модуляция аутоплазмой:			модуляции нет модуляции
цельной	0		нет
без белка	0		
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание	36		
модуляция аутоплазмой:			модуляции нет модуляции
цельной	0		нет
без белка	2		модуляция препаратами в
субтерапевтической и терапевтической дозах:			
индометацином 25 23 дексазоном 22 18			
А-2-рекомбинантным интерфероном		19	34
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:			
процентное содержание	28	20-26%	
абсолютное количество	0,26	0,3-0,5 х 10 /л	
модуляция аутоплазмой:			
цельной	0	модуляции нет	
без белка	2	модуляции нет	
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:			
процентное содержание	15		
модуляция аутоплазмой:			
цельной	17	модуляции нет	
без белка	25	модуляции нет	
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:			
процентное содержание	14	нет	
абсолютное количество	0,13	нет	
модуляция аутоплазмой:			
цельной	24	модуляции нет	
без белка	26	модуляции нет	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:			
индометацином 2 0 дексазоном 0 0			
А-2-рекомбинантным интерфероном	18	6	
Т-хелперы: Т-супрессоры	0,33	2,2:3,3	
(теофиллиновый тест) Естественная			
киллерная активность			
лимфоцитов:	21	19,29 + 0,8%	
модуляция аутоплазмой:			
цельной	10	модуляции нет	
без белка	15	модуляции нет	
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:			
индометацином 21 15 дексазоном 19 10			
А-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):	12	20, 60 21,	
300 17, 1500 14, 3000 10, 7500 18, 15000 24;			
Реакция бласттрансформации лимфоцитов:			
Уровень спонтанного ниже FGA-индуцированного бластогенеза			
FGA-индуц. бластогенез	1,73	3-8	
Кон-А -"	*	0,89	3-8
LPS -"	.*	0,55	3-6
модуляция аутоплазмой:			
цельной спонт.	0,38	модуляции нет	
FGA	1,0	модуляции нет	
Кон-А	0,08	модуляции нет	
LPS	1,0	модуляции нет	
без белка спонт.	0,62	модуляции нет	
FGA	1,53	модуляции нет	
Кон-А	0,02	модуляции нет	

LPS				21				модуляции нет			
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:											
индометацином				1,4	1,4,	дексазоном		1,9	2,1		
Л-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл) <sup>1</sup>											
уровня спонтанного бластогенеза				12	0,86	60	1,0				
300	1,0,	1500	1,1,	3000	1,3,	7500	1,0,	15000	1,3		
FGA-индуцированного бластогенеза				12	0,9,	60	0,6,	300			
0,6,	1500	0,6,	3000	0,6,	7500	0,7,	15000	0,5			

#### 4.2 Заключение.

Пациент Б. Дата исследования 22 Л 1.89.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки понижена.

Факторы клеточного микроокружения частично компенсируют ситуацию - увеличивают сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Безбелковая фракция аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковой фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения усугубляет ситуацию - уменьшает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы практически не изменяет пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы нормализует способность В-

лимфоцитов участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы угнетает способность лимфоцитов участвовать в лектинииндуцированной реакции бласттрансформации и увеличивает способность лимфоцитов отвечать на LPS.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает способность лимфоцитов отвечать на митогены бласттрансформацией.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы снижает уровень ЕК-активности лимфоцитов.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов, увеличенный уровень спонтанного бластогенеза лимфоцитов, отрицательная регуляция

Л-2-рекомбинантным интерфероном ЕК-активности и способности лимфоцитов трансформироваться в бласты под влиянием лектина, нормализующее воздействие на эти показатели противовоспалительных препаратов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцированных антигенов аутологичных тканей), причем In vitro способность лимфоцитов образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.) так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона).

In vitro нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются удалением аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов белокассоциированной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, дексазоном и интерфероном.

#### 4.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных аутоагрессивных и иммуноблокирующих факторов аутоплазмы: параллельный курс

лечений субтерапевтическими дозами дексазона и терапевтическими дозами интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

#### Пример 5. Короткая схема.

5.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови-

ФИО В.	возраст	85
ф-ла венозной крови: мон 15 п 0	с 71	лф 12 Д 17.04.90
общее количество лейкоцитов	8,8	норма 4,0-9,0 10 <sup>9</sup> /л
процентное содержание лимфоцитов	12	18-38%
Абсолютное количество лимфоцитов	1,05	0,8-3,6 10 <sup>9</sup> /л
НСТ-тест:		
нейтрофилов спонт. 26	индуц. 6	спонт. < индуц.
моноцитов спонт. 0	индуц. 2	спонт. < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:		
процентное содержание	76	40-60% 0,6-
абсолютное количество	0*8	2,1 x 10 <sup>9</sup>
модуляция аутоплазмой:		
цельной	16	модуляции нет
без белка	70	модуляции нет
Т-лимфоциты (Е-РОК) в лейкоконцентрате:		
процентное содержание	6	
модуляция аутоплазмой:		
цельной	23	модуляции нет
без белка	35	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:		
индометацином 21	26	дексазоном 15 18
А-2-рекомбинантным интерфероном	34	4
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:		
процентное содержание	45	20-26%
абсолютное количество	■ 0,48	0.3-0,5 10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:		
цельной	■ 12	модуляции нет
без белка	37	модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:		
процентное содержание	19	
модуляция аутоплазмой:		
цельной	2	модуляции нет
без белка	31	модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами:		
процентное содержание	26	нет
абсолютное количество	0,27	нет
модуляция аутоплазмой:		
цельной	46	модуляции нет
без белка	45	модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:		
индометацином 10 0	дексазоном 10	6
Л-2-рекомбинантным интерфероном	{-}	2,2:3,3
Т-хелперы. Т-супрессоры (теофиллиновый тест)		

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями<sup>1</sup>

#### 5.3 Заключение

Пациент В. Дата исследования 17.04 90.

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных Т-лимфоцитов,

Безбелковая фракция аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает высокую активность изолированных Т-лимфоцитов,

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании,

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки. повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Сниженные показатели НСТ-теста моноцитов могут свидетельствовать о ригидности ферментов "дыхательного взрыва" и функциональной несостоятельности фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами, увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и извращенное за счет преобладания Т-хелперных клеток соотношение иммунорегуляторных клеток свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы {антигены экзо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцировочных антигенов аутологичных тканей), причем *in vitro* способность лимфоцитов, образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.), так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона), а также за счет преобладания Т-лимфоцитов хелперов.

*in vitro* нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются удалением аутоагрессивных факторов белокассоциированной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, индометацином, дексазоном и интерфероном.

5.3. Рекомендации клиницистам. Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокассоциированных аутоагрессивных факторов аутоплазмы: параллельный курс противовоспалительного лечения субтерапевтическими дозами индометацина, дексазона и интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Пример 6. Полная схема. 6.1. Результаты иммунологического исследования периферической крови:

ФИО В.  
ф-ла венозной крови мои 15 п О  
общее количество лейкоцитов  
процентное содержание лимфоцитов  
Абсолютное количество лимфоцитов  
НСТ-тест;

возраст	85
с 71	э2 лф 12 Д17. 04.90
8,8	норма 4 ,0- х10 <sup>9</sup> /л
12	18-38%
1.05	0,8 -3.6 х10 <sup>9</sup> /

нейтрофилов спонт	26	индуц. б		спонт < индуц.
моноцитов спонт	0	индуц. 2		спонт < индуц.
Т-лимфоциты (Е-РОК), изолированные на фиколле:				
процентное содержание		-7-6 <sup>^</sup> ,		40~60%
абсолютное количество		0,8		0,6-2,1 x 10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:				
цельной		й		модуляции нет
без белка		70		модуляции нет
Т-лимфоциты (Е-РОК) з лейкоконцентрате:				
процентное содержание		6		
модуляция аутоплазмой				
цельной		23		модуляции нет
без белка		35		модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозах:				
индометацином	21	26	дексазоном	15 18
Я-2-рекомбинантным интерфероном				34 4
В-лимфоциты (ЕАС-РОК), изолированные на фиколле:				
процентное содержание		45		20-26%
абсолютное количество		0,48		0,3-0,5 x 10 <sup>9</sup> /л
модуляция аутоплазмой:				
цельной		12		модуляции нет
без белка		уф		модуляции нет
В-лимфоциты (ЕАС-РОК) в лейкоконцентрате:				
процентное содержание		19		
модуляция аутоплазмой:				
цельной		2		модуляции нет
без белка		31		модуляции нет
Розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами				
процентное содержание		26		нет
абсолютное количество		0,27		нет
модуляция аутоплазмой:				
цельной		46		модуляции нет
без белка		45		модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:				
индометацином	10	0	дексазоном	10 6
Я -2-рекомбинантным интерфероном				8 24
Т-хелперы: Т-супрессоры (теофиллиновый тест)				
		(•)		2,2:3,3
Естественная киллерная активность лимфоцитов				
		32		19,29 + 0,8%
модуляция аутоплазмой				
цельной		2		модуляции нет
без белка		28		модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:				
индометацином	10	5	дексазоном	13 10
Я-2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл).				12 24, 60 18,
300 20, 1500 14, 3000 18, 7500 24, 15000 20;				
Реакция бласттрансформации лимфоцитов: Уровень спонтанного ниже FGA-индуцированного бластогенеза				
FG <sup>^</sup> -индуц. бластогенез		3,14		3-8
Кон-А -"-		1,35		3-8
LPS		3,37		3-6
модуляция аутоплазмой.				
цельной спонт.		1,83		модуляции нет
FGA		0,55		модуляции нет
Кон-А		2,89		модуляции нет
LPS		2,0		модуляции нет
без белка спонт.		1,65		модуляции нет
FGA		0,81		модуляции нет

	Кон-А		2,18		модуляции нет
	LPS		0,77		модуляции нет
модуляция препаратами в субтерапевтической и терапевтической дозе:					
индометацином	2,7	1,4,	дексазоном	1,25	1,1
А -2-рекомбинантным интерфероном (ЕД/мл):					
уровня спонтанного бластогенеза	16	0,76,"	60		0,69,
300	0,7,	1500	0,5,	3000	0,6,
				7500	0,6,
					15000
					0,5
FGA-индуцированного бластогенеза					
12	1,12,	60			1,1
300	2,1.	1500	2,6,	3000	1,2,
				7500	0,7,
					15000
					0,4

### 6.3. Заключение

Пациент В. Дата исследования 17.04.90.

У пациента, обслуживаемого системой, вторичный иммунодефицит, описываемый следующими показателями:

Способность изолированных Т-лимфоцитов образовывать Е-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных Т-лимфоцитов,

Безбелковая фракция аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает высокую активность изолированных Т-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы в присутствии клеточного микроокружения частично компенсирует ситуацию - увеличивает сниженную способность Т-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в Е-розеткообразовании.

Способность изолированных В-лимфоцитов образовывать ЕАС-розетки повышена.

Факторы клеточного микроокружения инвертируют активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует активность изолированных В-лимфоцитов.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы частично компенсирует ситуацию - уменьшает активность изолированных В-лимфоцитов.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы усугубляет ситуацию - уменьшает пониженную способность В-лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы инвертирует способность В-

лимфоцитов лейкоконцентрата участвовать в ЕАС-розеткообразовании.

Белокассоциированная фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает уровень спонтанного и Кон-А-индуцированного бластогенеза. уменьшает уровень FGA- и LPS-индуцированного бластогенеза.

Безбелковая фракция нативной аутологичной плазмы увеличивает уровень спонтанного бластогенеза, снижает уровень FGA- и LPS-индуцированного бластогенеза.

Отсутствие повышения показателей НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов (индуцированный НСТ-тест) может свидетельствовать об истощении ферментов "дыхательного взрыва" фагоцитирующих клеток.

Сниженные показатели НСТ-теста моноцитов могут свидетельствовать о ригидности ферментов "дыхательного взрыва" и функциональной несостоятельности фагоцитирующих клеток.

Исходно увеличенное розеткообразование лимфоцитов с аутологичными эритроцитами,

увеличенные показатели спонтанного НСТ-теста сегментоядерных нейтрофилов и извращенное за счет преобладания Т-хелперных клеток соотношение иммунорегуляторных клеток, исходно повышенный

уровень ЕК-активности лимфоцитов свидетельствуют в пользу гипотезы о наличии во

внутренней среде организма раздражителя иммунокомпетентной сферы (антигены эк-

зо- или эндогенной микрофлоры, распознавание нормальных и дифференцировочных

антигенов аутологичных тканей), причем [г] *in vitro* способность лимфоцитов образовывать розетки с аутологичными эритроцитами увеличивается под воздействием обеих

фракций нативной аутоплазмы.

Таким образом, иммунное воспаление реализуется, вероятнее всего, как продуктами арахидоновой кислоты (простагландинами, лейкотриенами и т.д.), так и "воспалительными" гормонами (типа преднизолона), а также за счет преобладания Т-лимфоцитов хелперов.

*In vitro* нарушенные показатели лимфоидной функции нормализуются удалением аутоагрессивных факторов Г



рованной и безбелковой фракции нативной аутологичной плазмы, индометацином, дексазоном и интерфероном.

### 6.3. Рекомендации клиницистам.

Показано: детоксикационное лечение, направленное на снижение концентрации безбелковых и белокэссоциированных аутоагрессивных факторов аутоплазмы: параллельный курс противовоспалительного лечения субтерапевтического лечения субтерапевтическими дозами индометацина, дексазона и интерферона.

Спустя две недели после окончания лечения необходимо контрольное исследование.

Описание соответствует исследованным параметрам состояния иммунокомпетентной сферы.

Сопоставление нового способа с известными аналогами показывает следующие преимущества нового способа:

1) использование предложенной комплексной схемы диагностических исследований на основе общепринятых иммунологических приемов (определение Е-и ЕАС-розеткообразования, НСТ-тест, реакция бласгтрансформации и т.п.) путем дополнительного введения всех факторов микроокружения иммунокомпетентных клеток (клетки лейкоконцентрата, аутоэритроциты, аутоплазма, разделенная на белокэссоциированную и безбелковую фракцию) позволяет получить многоаспектную информацию о состоянии макроорганизма, уточнить клинический диагноз и сформулировать индивидуальный прогноз

эффективности предполагаемого лечения по учету реакции розеткообразования изолированных лимфоцитов в присутствии противовоспалительных, гормональных и иммуномодулирующих препаратов, в отличие от аналогов (1-4), где исследуют только изолированные лимфоциты, аутоыворотку, эритроциты барана, достигая узконаправленной цели;

2) суммарное время проведения всего комплекса иммунологических исследований сокращено до 4-6 ч - 3 сут (в отличие от прототипа - 7 суток);

3) максимальный забор крови уменьшен до 10-15 мл, в отличие от прототипа-27 мл;

4) постановка множества параллельных проб позволяет манипулировать широким диапазоном доз исследуемых лекарственных препаратов;

5) обработку результатов и составление заключений - рекомендаций осуществляют на компьютере в автоматизированном режиме.

Способ испытан на культуре клеток 61 здорового человека, 53 больных сепсисом, 21 больного аутоиммунными заболеваниями (ревматизм, бронхиальная астма, системная красная волчанка).

Диагностированные состояния макроорганизма и рекомендации по их коррекции, полученные после компьютерной обработки подтверждаются клиническими наблюдениями и контрольными лабораторными исследованиями.

Упорядник \_\_\_\_\_ Техред М.Моргентал \_\_\_\_\_ Коректор Н.Млюкова \_\_\_\_\_

Замовлення 4554

Тираж  
Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, КиТв-53, Львівська пл., 8

Підписне

