

жительным бактериям. Он же несет основную протективную функцию. В связи с этим явный дефицит антител к ПГ и ГМГМ (структурной единице ПГ) в бронхиальном секрете больных ОДП, возможно, свидетельствует о дефекте специфического гуморального иммунитета на местном уровне (разницы в содержании специфических антител в сыворотке не получено). Наблюдающееся снижение уровня антител к Ре-антигену (общему антигену грамотрицательных бактерий) в бронхиальном секрете больных пневмонией указывает на дефект местного гуморального ответа и на грамотрицательные бактерии.

Полученные данные о снижении уровня антител к ПГ и ТК слюне больных ХБ по сравнению с группой здоровых доноров предполагают возможную причину хронизации воспалительного процесса в легких. Однако некоторая стимуляция специфических антител к ПГ и ГМДП в слюне больных ОДП, противоположная тенденции в бронхиальном секрете, косвенно указывает на состояние декомпенсации данного звена местного иммунитета у больных ОДП на уровне слизистой бронхиального дерева (возможно, из-за чрезмерного связывания специфических антител массивным поступлением антигена). Таким образом, при тяжелых воспалительных процессах в легких наблюдается неполноценность местного иммунного ответа на основную гамму бактериальных специфичностей.

Обращает на себя внимание тот факт, что при ХБ изменения уровня Ig и антител проявляются в слюне, а при ОДП наибольшие изменения касаются бронхиального секрета. Возможное объяснение полученных результатов можно найти в том, что, по данным P. Brandtzaeg [11], верхние отделы респираторного и пищеварительного тракта имеют единую систему иммунного обеспечения, отличную от дистальных отделов дыхательных путей. Возможно, что при ХБ нарушения местного иммунитета в первую очередь касаются верхних отделов респираторного тракта и дают возможность хронизации процесса, что и находит свое отражение в слюне. При ОДП наибольшие изменения иммунитета наблюдаются в дистальных отделах дыхательных путей.

Выводы

1. У больных острой долевой пневмонией (ОДП) обнаружено снижение уровня sIgA как в секрете бронхиального дерева, так и в слюне по сравнению с больными хроническим бронхитом (ХБ).

2. У больных ХБ как в стадии ремиссии, так и при обострении имеется снижение IgM по сравнению с донорами и больными ОДП.

3. У больных ОДП отмечено снижение антител к пептидогликану (ПГ), тейхоевым кислотам (ТК), Ре-антигену и тетрасахариду в бронхиальном секрете по сравнению с больными ХБ.

4. У больных ХБ в слюне снижен уровень антител к ПГ и ТК по сравнению с донорами и больными ОДП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова А. М., Сепчаивчи Р. И. // Иммунокоррекция и иммунореабилитация больных с хроническими заболеваниями легких. — 1989. — С. 164.
2. Гриневич А. С., Мартынов А. И. // Современные методы иммунохимической и молекулярно-биологической диагностики в медицине. — И., 1992. — С. 54—63.
3. Караулов А. В., Марциковский В. Ю., Хваталан И. В. // Тер. арх. — 1986. — № 4. — С. 114—117.
4. Коионов А. В., Непомияч Г. И., Зиновьев А. С. // Арх. пат. — 1987. — № 6. — С. 32—40.
5. Король О. И., Мовчан И. С. // Проблемы этиологии, патогенеза, клиники и лечения бронхиальной астмы. — Л., 1981. — С. 54—55.
6. Печегин Б. В., Кулаков А. В., Макаров Е. А. // Иммунология. — 1995. — № 1. — С. 42—45.
7. Сидоренко И. В., Борисова А. М., Буранов А. В. и др. // Клеточный иммунитет в патогенезе заболевания легких. — Л., 1988. — С. 76—81.
8. Хорошилова Н. В. // Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1994.
9. Шаталов Н. Н. // Тер. арх. — 1989. — № 3. — С. 54—57.
10. Шульженко А. Е. Особенности нарушения в системе местной защиты респираторного тракта у больных ХНЗЛ: дис. ... канд. мед. наук. — М., 1992.
11. Brandtzaeg P., Karlosson G., Hansson G. et al. // Clin. exp. Immunol. — 1986. — Vol. 67. — P. 626—636.
12. Callera M. L., Condemi J. J., Ishizaka K. et al. // J. Allergy. — 1971. — Vol. 47. N 4. — P. 187—197.

Поступила 10.01.95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 1996

УДК 616.233-002.2-085.276.41-07

О. П. Артемова, А. М. Борисова, Б. В. Пинегин,
А. В. Кулаков, Н. Х. Сетдикова

ВЛИЯНИЕ ГЛИКОПИНА НА СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ БРОНХИТОМ

Институт иммунологии Минздрава РФ, Москва

В настоящее время установлено, что при хронических неспецифических заболеваниях легких (ХНЗЛ) наблюдается снижение как системного, так и местного иммунитета. Особое значение имеет нарушение местного иммунитета, потому что именно слизистая бронхов является как бы входными воротами инфекции при ХНЗЛ. В связи с этим встал вопрос о способах стимуляции местного иммунитета. Создан препарат гликопин — N-ацетил гл юкозам и н ил-М-анетилмурам ил-аланил D-изоглутамин (ГМДП), способный стимулировать фагоцитоз, гуморальный и клеточный иммунитет [4]. ГМДП, будучи минимальной структурной единицей пептидогликана (ПГ), главного компонента клеточной стенки, ответственного за развитие естественного иммунитета против грамположительных бактерий [8], обуславливает его иммуностимулирующие и адьювантные свойства [4, 5]. Уже получен хороший клинический эффект при использовании ГМДП у больных хроническим бронхитом (ХБ); встал вопрос о действии ГМДП на иммунитет слизистой бронхов у этих больных. Изучение этого вопроса и явилось целью нашей работы.

Методика исследований. В исследование был включен 31 больной (возраст от 18 до 55 лет) хроническим бронхитом в фазе ремиссии (ХБР). из них 16 (52%) женщины и 15 (48%) мужчин. Клинический диагноз ставили в соответствии с классификацией заболеваний легких, принятой во ВНИИ пульмонологии Минздрава России. Давность заболевания в среднем

Таблица 1

Уровень иммуноглобулинов (в мкг/мл) в бронхиальном секрете при лечении ГМДП в дозе 60 мг

Класс иммуноглобулинов	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
IgA	52,16 ± 14,3	7,30 ± 26,9	27,0 ± 6,0	40,6 ± 13,0
IgM	2,3 ± 0,7	4,8 ± 2,7	5,6 ± 3,2	4,2 ± 2,5
IgG	34,5 ± 14,6	24,6 ± 7,9	12,0 ± 3,9	26,8 ± 18,47
IgD	163,3 ± 76,0	351,7 ± 293,0	1174 ± 665	2721 ± 1735
IgE	33,3 ± 4,5	0	540 ± 389	40,0 ± 30,0
slgA	ISO ± 119	59 ± 31,7	64,0 ± 15,6	72,0 ± 35,6

Таблица 3

Уровень антител в бронхиальном секрете при лечении ГМДП в дозе 60 мг

Специфичность антител	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
ПГ	0,25 ± 0,08	0,30 ± 0,07	0,68 ± 0,27	0,34 ± 0,15
ГМГМ	0,19 ± 0,06	0,36 ± 0,10	0,47 ± 0,20	0,36 ± 0,16
ГМДП	0,11 ± 0,05	0,30 ± 0,09	0,46 ± 0,20	0,33 ± 0,13
Re-антиген	0,10 ± 0,02	0,15 ± 0,05	0,18 ± 0,06	0,16 ± 0,04
ТК	1,0 ± 0,5	0,98 ± 0,50	1,20 ± 0,50	1,00 ± 0,47

по группе составила 10,6 ± 3,5 года, частота обострения ХБ — в среднем 3,6 ± 1,2 раза в год, средняя длительность одного обострения в обследуемой группе — 20,4 ± 4,6 дня.

У обследованных больных было вялое, затяжное течение ХБ с частыми (более 3 раз в год) и длительными обострениями (21 день и более) с малой эффективностью традиционной терапии. Из сопутствующих заболеваний наиболее часто отмечали хронические воспалительные заболевания ЛОР-органов, желудочно-кишечного тракта и астеноневротический синдром.

В зависимости от получаемой дозы препарата больные ХБП были разделены на 2 группы: 1-я — 21 больной, препарат им назначали в курсовой дозе 60 мг (по 10 мг в течение 6 дней).

2-я — 10 больных, получавших препарат в курсовой дозе 180 мг (по 30 мг в течение 6 дней).

ГМДП назначали per os в виде таблеток утром до еды в соответствующей дозе в течение 6 дней.

Контрольную группу составили больные, получавшие плацебо — таблетки, по внешнему виду не отличающиеся от ГМДП. В 1-й группе принимали плацебо 11 человек, во второй группе — 5 человек. Подбор больных для назначения ГМДП или плацебо осуществляли методом "двойного слепого контроля".

Клинико-иммунологическое исследование проводили до и после (на 10-й день после назначения препарата) лечения, наблюдение за пациентами осуществляли в течение 6 мес.

Помимо общеклинического обследования, у больных ХБ определяли показатели гуморального звена местного иммунитета: уровень различных классов иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE и slgA) в слюне и бронхиальном секрете, содержание специфических антител к ПГ и его структурным компонентам: ГМДП, тетрасахариду, состоящему из N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты (ГМГМ), тейховым кислотам (ТК) и Re-антигену в слюне и бронхиальном секрете.

Методика исследования описана в предыдущей статье этого номера.

Для обработки данных использовали метод мультивариационного анализа (суммарный учет изменений уровней в зависимости от дозы, времени и динамики после применения плацебо).

Результаты. Установлено, что у больных, получавших ГМДП в курсовой дозе 60 мг, увеличивался уровень IgA в бронхиальном секрете с 52,2 ± 14,3 до 73 ± 26,9 мкг/мл при 10% уровне значимости (табл. 1), при использовании этой до-

зы препарата в бронхиальном секрете наблюдается повышение изначально низких и снижение изначально высоких уровней IgA и slgA. Например, у больного X. начальная концентрация составила 5 мкг/мл, после курса ГМДП увеличилась до 50 мкг/мл, у больного Y. начальная концентрация IgA была 100 мкг/мл, после применения гликопина — 20 мкг/мл.

В слюне обнаружено повышение содержания slgA (с 30 ± 14,4 до 94 ± 57 мкг/мл и IgM с 1,7 ± 0,5 до 3,3 ± 1,9 мкг/мл), при этом использование плацебо привело к снижению уровня этих иммуноглобулинов (IgM с 9,4 ± 4 до 1,6 ± 0,5 мкг/мл, slgA с 177 ± 91 до 132 ± 75 мкг/мл); (табл. 2). На содержание IgA и slgA в слюне (как и в бронхиальном секрете) ГМДП также оказывает иммунокорректирующее действие (повышение изначально низких и понижение изначально высоких уровней). Например, у больного X. после применения ГМДП изначально низкое содержание slgA (6 мкг/мл) увеличивается до 25 мкг/мл, а у больного Y. после применения ГМДП изначально высокое содержание slgA (200 мкг/мл) уменьшается до 100 мкг/мл.

Уровни специфических антител в бронхиальном секрете и слюне до и после лечения ГМДП и плацебо в курсовой дозе 60 мг представлены в табл. 3 и 4.

Отмечается четкая тенденция к повышению уровня антител к ГМГМ в бронхиальном секрете (от 0,19±0,06 до 0,36±0,1) и антител к ГМДП (от 0,11±0,05 до 0,3±0,09), при этом при использовании плацебо уровень этих антител не изменяется и даже слегка снижается: ГМГМ от 0,47 ± 0,2 до 0,36 ± 0,16 для антител к ГМДП от 0,46 ± 0,2 до 0,33 ± 0,13.

Прослеживается тенденция к росту содержания антител в слюне: к ГМГМ от 0,1 ± 0,02 до

таблица 2

Уровень иммуноглобулинов (в мкг/мл) в слюне при лечении ГМДП в дозе 60 мг

Класс иммуноглобулинов	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
IgA	18,3 ± 6,3	18,8 ± 5,3	54,8-U 18,9	28,0 ± 11,9
IgM	1,7 ± 0,5	3,3 ± 1,9	9,4 X 4,0	1,6 ± 0,5
IgG	12,7 ± 2,9	14,4 ± 3,4	49,0-r 37,7	16,4 ± 9,0
IgD	26,4 ± 10,0	21,4 ± 10,0	1682 1500	564 ± 364
IgE	1642 ± 1067	1364 ± 482	640 + 366	1080 ± 533
slgA	30,0 ± 14,4	94 ± 57	177 4, 91	132 ± 75

Таблица 4

Уровень антител в слюне при лечении ГМДП в дозе 60 мг

Специфичность антител	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до примен	после применения
ПГ	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,04	0,27 ± 0,09	0,21 ± 0,05
ГМГМ	0,10 ± 0,02	0,20 ± 0,05	0,24 ± 0,04	0,24 ± 0,05
ГМДП	0,07 ± 0,02	0,12 ± 0,04	0,15 ± 0,04	0,16 ± 0,04
Re-антиген	0,04 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,08 ± 0,02
ТК	0,37 ± 0,12	0,57 ± 0,2	0,50 ± 0,30	0,50 ± 0,05

Таблица 5
Уровень иммуноглобулинов (в мкг/мл) в бронхиальном секрете при лечении ГМДП в дозе 180 мг

Класс иммуноглобулинов	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
IgA	16,0 ± 14,3	341 ± 201	1 1,4 ± 3,4	16,4 ± 8,6
IgM	10,8 ± 7,0	10,4 ± 7,0	4,0 ± 2,0	7,8 ± 1,0
IgG	900 ± 577	1700 ± 1028	339 ± 188	1030 ± 992
IgD	321 ± 192	314 ± 189	144 ± 56	132 ± 49
IgE	206 ± 173	146 ± 126	45,0 ± 17,9	451 ± 388
slgA	161 ± 97	170 ± 151	288 ± 170	382 ± 135

Таблица 6

Уровень иммуноглобулинов (в мкг/мл) в слюне при лечении ГМДП в дозе 180 мг

Класс иммуноглобулинов	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
IgA	9,04 ± 2,49	8,6 ± 2,4	7,8 ± 1,4	104 ± 98
IgM	5,4 ± 3,7	9,2 ± 7,7	1,8 ± 1,2	2,0 ± 0,9
IgG	530 ± 302	1094 ± 977	65,0 ± 35,9	59 ± 35
IgD	88,0 ± 65,9	88,4 ± 65,8	27,0 ± 9,5	29,0 ± 8,8
IgE	132 ± 42	88,0 ± 33,8	304 ± 135	213 ± 76
slgA	134,0 ± 81,5	240,0 ± 128,8	113 ± 73	175 ± 111

0,199 ± 0,05, к ГМДП от 0,07 ± 0,02 до 0,12 ± 0,04. При этом при применении плацебо не изменяются уровни антител к ГМГМ (до лечения 0,24 ± 0,04, после него — 0,24 ± 0,05) и к ГМДП (до лечения 0,15 ± 0,04 и после него 0,16 ± 0,04).

При изучении влияния ГМДП в курсовой дозе 180 мг установлено, что достоверного влияния на уровни всех классов иммуноглобулинов как в секрете бронхиального дерева, так и в слюне не выявлено (табл. 5, 6). Однако прослеживается четкая тенденция к их снижению у больных, получавших ГМДП в указанной дозировке. Аналогичная ситуация наблюдается со специфическими антителами: наблюдается небольшое уменьшение уровня антител к ГМГМ в бронхиальном секрете (от 0,126 ± 0,09 до 0,06 ± 0,04) (табл. 7) и слюне (от 0,24 ± 0,09 до 0,17 ± 0,09) (табл. 8).

При применении курсовой дозы 60 мг ГМДП получен положительный клинический эффект, проявляющийся в удлинении сроков ремиссии до 6 мес.

Обсуждение. Согласно полученным данным, ГМДП при пероральном приеме оказывает стимулирующее воздействие на иммунитет слизистой бронхов и верхних отделов пищеварительного тракта, которое проявляется в увеличении уровней как иммуноглобулинов, так и специфических антител. Эти результаты совпадают с данными литературы о том, что ГМДП, будучи минимальным структурным компонентом ПГ, обуславливает его иммуностимулирующие и адаптогенные свойства [4, 5]. Было выявлено, что основное действие ГМДП направлено на стимуляцию функциональной активности фагоцитирующих клеток. Поэтому наблюдавшееся нами изменение уровней

Уровень антител в бронхиальном секрете при лечении ГМДП в дозе 180 мг

Специфичность	ГМДП	Плацебо
---------------	------	---------

Таблица 7
антител

антител	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
ПГ	0,34 ± 0,27	0,26 ± 0,16	0,22 ± 0,10	0,12 ± 0,04
ГМГМ	0,13 ± 0,09	0,06 ± 0,04	0,18 ± 0,10	0,08 ± 0,02
ГМДП	0,18 ± 0,11	0,18 ± 0,12	0,20 ± 0,16	0,07 ± 0,03
Рс-антиген	0,11 ± 0,05	0,15 ± 0,1	0,20 ± 0,13	0,133 ± 0,07
ТК	0,17 ± 0,10	0,18 ± 0,07	0,23 ± 0,12	0,10 ± 0,03

Таблица 8

Уровень антител в слюне при лечении ГМДП в дозе 180 мг

Специфичность а 1 (Ti) тсл	ГМДП		Плацебо	
	до лечения	после лечения	до применения	после применения
ПГ	0,18 ± 0,05	0,17 ± 0,09	0,29 ± 0,04	0,25 ± 0,03
ГМГМ	0,24 ± 0,09	0,17 ± 0,09	0,34 ± 0,03	0,29 ± 0,04
ГМДП	0,12 ± 0,05	0,10 ± 0,05	0,23 ± 0,06	0,19 ± 0,26
Рс-антиген	0,16 ± 0,05	0,16 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,12 ± 0,03
ТК	0,32 ± 0,09	0,29 ± 0,07	0,32 ± 0,03	0,25 ± 0,02

антител можно рассматривать как следствие этой стимуляции макрофагов. Кроме того, пероральное применение ГМДП оказывает влияние в первую очередь на состояние местного иммунитета (изменение уровней антител в сыворотке крови не установлено), что согласуется с положением об автономности иммунитета слизистых.

ГМДП в дозе 60 мг стимулирует синтез как иммуноглобулинов, так и специфических антител. В дозе 180 мг такой эффект отсутствует. Более того, прослеживается некоторая тенденция к угнетению антителообразования. Это четко совпадает с данными клинического исследования и изучения системного иммунитета: удлинение сроков ремиссии до 6 мес и стимуляция макрофагальных клеток периферической крови достигаются при курсовой дозе 60 мг (3).

Зарегистрировано иммунокорректирующее влияние ГМДП в курсовой дозе 60 мг на уровень IgA и slgA в бронхиальном секрете и слюне: изначально низкое содержание иммуноглобулинов увеличивается, а изначально высокое — уменьшается. Это является очень важным эффектом ГМДП, поскольку именно IgA и slgA являются основным, первым барьером на пути инфекционных антигенов и блокаторами эффекторных (порой разрушительных) функций других иммуноглобулинов (IgG).

Пероральное применение ГМДП в курсовой дозе приводит также к росту уровня специфических антител именно к ГМГМ и ГМДП, которые являются основными протективными антителами к грамположительным бактериям [6—10].

Очень важным моментом является то, что нарастание содержания как IgA, slgA, так и антител к ГМГМ и ГМДП происходит в первую очередь в слизистой бронхов, являющейся входными воротами инфекции при ХБ.

Выводы. 1. ГМДП в курсовой дозе 60 мг оказывает стимулирующее влияние на уровни IgA, sIgA и специфических антител к ГМГМ и ГМДП в бронхиальном секрете и слюне, а в курсовой дозе ISO — некоторое ингибирующее влияние.

2. Стимулирующее действие ГМДП в курсовой дозе 60 мг на состояние гуморального звена местного иммунитета совпадает с положительным клиническим эффектом препарата в этой дозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гриневич А. С., Мартынов А. И. // Современные методы иммунохимической и молекулярно-биологической диагностики в медицине. — М., 1992. — С. 54—63.
2. Пинегин Б. В., Кулаков А. В., Макаров Е. А. // Иммунология. — 1995. — № 1. — С. 42—45.
3. Сетдикова Н. Х. Клинико-иммунологическая оценка эффективности применения гликопина у больных хроническим бронхитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1994.
4. Andronova T. M., Ivanov V. T. // Sov. med. Rev. D. Immunol. - 1991. - Vol. 4. — P. 1-63.
5. Lederer E. // Advances in Immunomodulation. — 1988. — P. 9-36.
6. Peterson R. K., Wilkinson B. J., Kim S. J., Schmeling D. // J. clin. Invest. - 1978. - Vol. 61. - P. 597-609.
7. Schachenmayer W., Hevmer B., Hatekamp O. // Z. Immun. — Forsh. - 1975. - Bd 149. - S. 179-186.
8. Shayegani M. K. // J. infect. Dis. — 1969. — Vol. I IS. — P. 402—410.
9. Verbrung H. A., Van Dijk W. C., Peters K. et al. // Immunology. — 1979. - Vol. 37. - P. 615-621.
10. Verbrign H. A., Van Dijk W. C., Peters K. et al. // Immunology. - 1980. - Vol. 124. - P. 1167-1173.

Поступила 10.01.95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 1S96

УДК 616.33-006.6+616J24-006.6:616.419-013.1 - 076.5

И. Н. Кусмарцева, С. Г. Афанасьев, А. А. Завьялов, Н. В. Чердынцева, С. А. Кусмарцев

НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИММУНОСУПРЕССОРНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА И ЛЕГКОГО

Институт онкологии и НИЛ экспериментального биомедицинского моделирования Томского научного центра СО РАМН, Томск.

Известно, что в механизмах иммуносупрессии у онкологических больных значительная роль принадлежит Т-супрессорам, макрофагам и различным гуморальным факторам, способным подавлять иммунный ответ. В последнее время в экспериментальных исследованиях на животных показано, что в негативной регуляции важных звеньев противоопухолевого иммунитета, таких, как продукция интерлейкина-2 (ИЛ-2), активность нормальных киллеров, активность цитотоксических Т-лимфоцитов, существенную роль могут играть естественные супрессорные клетки (ЕСК) костномозгового происхождения [6, 7, 12, 13].

При росте различных типов опухолей у животных, таких, как рак легкого РЛ-70 [3], аденокарцинома Льюис [12], карцинома Льюис [9], спонтанные опухоли молочной железы [2], наблюдается активация супрессорных клеток костного мозга (ККМ) и, кроме того, эти клетки при развитии опухолевого процесса обнаруживаются в селезенке и в самой опухоли [15]. Показано, что активация

супрессорных ККМ при росте аденокарциномы Льюис происходит за счет прямого воздействия колониестимулирующих факторов, вырабатываемых опухолевыми клетками [14].

В то же время в литературе данные об иммуносупрессорных клетках ККМ человека немногочисленны [1, 4, 8, 10] и полностью отсутствуют работы, посвященные исследованию ЕСК у онкологических больных с солидными опухолями.

Целью настоящей работы явилось изучение иммунорегуляторных свойств и некоторых характеристик неприлипающих к пластику ККМ у больных раком легкого (РЛ) и раком желудка (РЖ).

Методика исследований. Обследовано 17 больных РЛ, 15 больных РЖ и 4 человека с язвенной болезнью желудка. ККМ больных получали методом стерильной пункции во время операции. Свежевыделенные и отмытые средой 199 ККМ подвергали гипотонической обработке для лизиса эритроцитов и затем ресуспендировали в культуральной среде RPMI 1640 ("Flow"), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки ("Flow"), 2 мМ глутамин ("Flow"). 2 мМ HEPES-буфера ("Serva"), 5-Ю⁻³ М 2-меркаптоэтанол ("Serva") и 40 мкг/мл гентамицина. Прилипающие к пластику клетки удаляли путем инкубации костного мозга на чашках Петри при 37°C в присутствии 5% СО₂ во влажной атмосфере в течение 2 ч. Жизнеспособность клеток определяли путем окрашивания 0,1% трипановым синим.

Фракцию мононуклеарных клеток (МНК) из периферической крови здоровых доноров выделяли по методу Воуим [5] центрифугированием на градиенте плотности фиколла—пака ("Pharmacia") и отмывали средой 199. Супрессорную активность ККМ онкологических больных оценивали в тесте подавления ФГА-стимулированной пролиферации МНК, выделенных из периферической крови здоровых доноров. Для этого ККМ в различных соотношениях добавляли к 3 • 10³ МНК на лунку в присутствии 20 мкг/мл ФГА и инкубировали в 96-луночных круглодонных планшетах в течение 72 ч при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5% СО₂. За 18 ч до окончания культивирования в каждую лунку вносили по 37 кБк ³H-тимидина. Содержимое лунок с помощью харвестера переносили на стекловолоконистые фильтры с последующим измерением уровня радиоактивности на бета-счетчике "Mark-III". Степень супрессии оценивали по формуле: (1 - О/К) • 100%, где О — число импульсов в 1 мин в лунках "ККМ + МНК", К — число импульсов в 1 мин в лунках с МНК.

Супернатант неприлипающих ККМ онкологических больных исследовали на наличие супрессорного фактора. Для получения супернатанта 3 • Ю⁶ ККМ на 1 мл в культуральной среде помещали в 6-луночный планшет ("Costar") и инкубировали в течение 48 ч при 37°C. Затем центрифугированием (5 мин при 1000 об/мин) удаляли клеточный осадок, а собран-

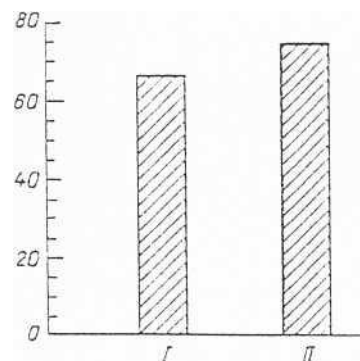


Рис. 1. Влияние прилипающих клеток на супрессорную активность ККМ больных РЛ.

Здесь п на рис. 2—3 пн ось ординат — процент супрессии. / — супрессорной активности нефракинопропаных ККМ; // — супрессорная активность ККМ после удаления прилипающих к пластику клеток.