

The authors developed a panel of reference sera containing antibodies to human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). Sera from the citizens living in 6 different geographic regions were examined for HTLV-I antibodies in 2 commercial screening test-systems (Abbott HTLV-I EIA, Serodia HTLV-I) as well as in immunoblotting test. Basing on the international criteria of HTLV-I

seropositivity, a panel of 70 reference sera has been formed and described. This panel was used to determine specific immunoreactivity of synthetic peptides corresponding to fragments of HTLV-I structural proteins. The screening of the peptides allowed selection of the most diagnostically significant fragments convenient for serodiagnosis of HTLV-I infection.

ИММУНОПАТОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994
УДК 617-089.168.1-06:616.9]-085.276.2

Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, А. А. Бутаков,
Г. М. Андропова, Е. Г. Буланова, В. А. Будагян

ИММУНОТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ПОСЛЕ-ОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ИММУНОСТИМУЛЯТОРА ГЛИКОПИНА

Институт иммунологии Минздрава РФ; Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина РАН, Москва

Как известно, пептидогликаны клеточной стенки бактерий обладают выраженными иммуностимулирующими свойствами. Изучение и применение в клинической практике этих веществ как иммуностимуляторов началось с установления в 1974 г. связи иммуностимулирующего эффекта адьюванта Фрейнда с мурамилпептидами — компонентами клеточной стенки *Mycobacteria tuberculosis* [7]. Эти данные послужили основанием для получения синтетического аналога минимального компонента клеточной стенки N-ацетилмурамил-L-аланин-D-изоглутамина [9], который по иммуностимулирующей активности эквивалентен целым микобактериям в составе полного адьюванта Фрейнда.

Глюкозаминилмурамилпептиды, в частности N-ацетилглюкозаминил-мурамил-L-аланин - D-изоглутамин (ГМДП), были изолированы при анализе противоопухолевого препарата бластолизина, который представляет собой гидролизат клеточной стенки *Lactobacillus bulgaricus* [6]. Развивая это направление, Т. Андропова и В. Иванов [4] разработали оригинальную методику для получения гликопептида клеточной стенки бактерий ГМДП, которая включает конденсацию дипептида с дисахаридом, полученным из *M. lyso-deikticus*.

В многочисленных экспериментах показаны выраженные иммуностимулирующие свойства

ГМДП, причем в наибольшей степени стимулирующий эффект распространяется на фагоцитоз и клеточный иммунитет. Установлено, что ГМДП усиливает образование макрофагами фактора некроза опухолей и интерлейкина-1 [2], индуцирует экспрессию Ia-антигенов на клеточной мембране макрофагов [10], усиливает продукцию макрофагами одного из главных факторов бактерицидности — супероксидного радикала и понижает активность 5-нуклеотидазы [5]. После 4-кратного введения ГМДП лимфоциты мышей-опухоленосителей линии С57В1/6 (лимфома EL-4) строго специфично лизировали клетки этой лимфомы при полном отсутствии литического эффекта у мышей-опухоленосителей, не получивших ГМДП [3]. Фармкомитет России разрешил клинические испытания ГМДП, получившего название гликопин.

В связи с данными о выраженной способности гликопина стимулировать функциональную активность фагоцитарных клеток цель данной работы заключалась в клинической и иммунологической оценке эффективности гликопина в лечении и профилактике инфекционных осложнений после оперативного вмешательства на толстой кишке. Операции на толстой кишке часто сопровождаются гнойно-септическими осложнениями, возникающими как следствие снижения иммунной реактивности и прежде всего фагоцитарного звена иммунитета.

Материалы и методы. Иммуностимулирующую терапию гликопином проследили у больных раком прямой и ободочной кишки, которым выполнялись различные по объему хирургические операции, на базе 24-й клинической больницы Москвы. Для профилактики гнойно-септических послеоперационных осложнений 3 группы больных (43, 33 и 36 человек) принимали по 1, 2 и 3 мг ГМДП внутрь в течение 10 дней до операции; других медикаментов больные не получали. Применение препарата заканчивалось накануне операции. Лечение гликопином проводилось у 3 групп больных (41, 35 и 42 человека) с гнойно-септическими послеоперационными осложнениями по 1, 2 и 3 мг

Таблица 1

Летальность и гнойно-септические послеоперационные осложнения у больных, получавших ГМДП для профилактики

ГМДП, мг/сут	ГМДП				Плацебо			
	больные	осложнения		летальность	больные	осложнения		летальность
		абс.	%			абс.	%	
1	24	10	41,7	1	19	16	84,2	2
2	17	5	29,4	0	16	8	50,0	2
3	17	6	35,3	1	19	12	63,1	4
Сумма	58	21	36,2	2	54	36	66,6	8

Летальность и гнойно-септические послеоперационные осложнения у больных, получавших ГМДП для лечения

Доза ГМДП, мг/сут	ГМДП				Плацебо			
	больные	осложнения		летальность	больные	осложнения		летальность
		абс.	%			абс.	%	
1	20	12	60,0	3	21	17	80,0	6
2	17	7	41,2	1	18	10	55,6	3
3	21	7	33,3	0	21	14	66,7	2
Сумма	58	26	44,8	4	60	41	68,3	11

препарата внутрь в течение 10 дней. В каждой группе часть больных получали гликопин, другая часть — плацебо.

При оценке эффективности гликопина для профилактики послеоперационных гнойно-септических осложнений прежде всего учитывали летальность и частоту развития этих осложнений. При оценке результатов применения гликопина для терапии гнойно-септических процессов учитывали летальность, частоту развития дополнительных, не связанных с первичным процессом, гнойно-септических осложнений и характер течения (прогрессирование) основного гнойно-септического процесса.

При проведении профилактики гнойно-септических осложнений проводили клинический анализ крови (содержание гемоглобина и формула крови), биохимическое (содержание сахара, билирубина, креатинина, мочевины, общего белка и альбумина) и иммунологическое исследование крови перед началом приема гликопина и на 3—4-е сутки послеоперационного периода. При терапии гнойно-септических осложнений эти исследования проводили перед началом и на 2—3-и сутки после окончания приема гликопина.

Иммунологическое исследование крови включало определение методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител (производство Института иммунологии Минздрава России) и прибора «Erics-Profile 2» («Coulter») В-лимфоцитов (3F3), NK-клеток (CD16) и субпопуляций Т-лимфоцитов (CD5, CD4, CD8); определение с помощью стандартной методики пролиферативной активности мононуклеаров при их стимуляции Т-митогеном — фитогемагглютинином (ФГА) и определение функциональной активности фагоцитирующих клеток по образованию ими активных форм кислорода в тесте лиминолзависимой хемилюминесценции [1].

Проллиферативную активность оценивали по интенсивности включения в нестимулированные (спонтанная пролиферация) и стимулированные (индуцированная пролиферация) ФГА клетки ³H-тимидина (в импульсах в минуту), измеряемого на счетчике «В-Тгас» («Beckman»). Люминолзависимую хемилюминесценцию оценивали при сорбции клеток на пластик (спонтанная хемилюминесценция) и при их стимуляции опсонизированным зимозаном (индуцированная хемилюминесценция) по милливольтам на люминиметре 1251 (LKB).

Для анализа эффективности гликопина вычисляли процент изменения каждого гематологического, биохимического и иммунологического параметра после лечения по сравнению с таковым до лечения. С помощью *t*-критерия Стьюдента сравнивали процент изменения соответствующего параметра в группе больных, получавших ГМДП, и в группе больных, получавших плацебо.

Результаты и обсуждение. Применение гликопина с целью профилактики снижало частоту гнойно-септических осложнений у больных раком толстой кишки (табл. 1). Так, процент осложнений у больных, получавших в день 1, 2 и 3 мг гликопина, составил 41,7, 29,4 и 35,3, процент осложнений у больных, получавших плацебо, составил 84,2, 50,0 и 63,1 соответственно. Наибольший эффект наблюдался в отношении частоты нагноения раны, нагноения в малом тазу и пневмоний. Методом несмешанной доверительной оценки с 5% уровнем значимости [8] установлено, что разница суммарного процента осложнений в группах больных, получавших для про-

филактики гликопин (36,2), и суммарного процента осложнений в группах больных, получавших плацебо (66,6), статистически значима. Среди всех получавших для профилактики гликопин умерли 2 человека, а среди получавших плацебо — 8 человек.

Применение гликопина для лечения гнойно-септических процессов, также дало положительный эффект: у больных, получавших этот препарат, реже возникали осложнения и прогрессирование основного процесса. В целом процент осложнений у больных, получавших в день 1, 2 и 3 мг гликопина, составил 60, 41,2 и 33,3, а процент осложнений у больных, получавших плацебо, составил 80,1, 55,6 и 66,7 соответственно (табл. 2). Однако разница суммарного процента осложнений в группах больных, получавших гликопин для лечения (44,8), и суммарного процента осложнений в группах больных, получавших плацебо (88,3), была статистически незначимой. Во всех группах, получавших гликопин для лечения, умерли 4 человека, а среди получавших плацебо — 11 человек. Как в этом случае, так и при применении гликопина для профилактики различие числа умерших с этим показателем у получавших плацебо было статистически незначимо.

Следует подчеркнуть, что ни в одном случае

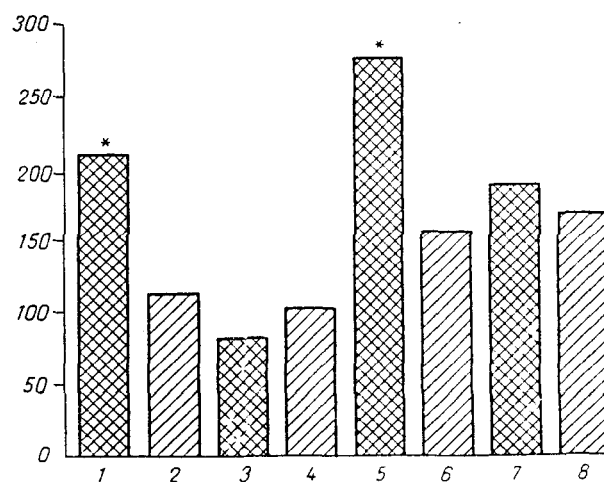


Рис. 1. Изменение форменных элементов крови больных при применении ГМДП в дозе 3 мг/сут.

По оси абсцисс: изменение % лейкоцитов после приема ГМДП (1) или плацебо (2), изменение % лимфоцитов после приема ГМДП (3) или плацебо (4), изменение % нейтрофилов после приема ГМДП (5) или плацебо (6), изменение % моноцитов после приема ГМДП (7) или плацебо (8); здесь и на рис. 2 по оси ординат — процент клеток после приема ГМДП относительно их процентного содержания до приема. Здесь и на рис. 2 и 3 звездочкой отмечено $p < 0.05$ по сравнению с данными при использовании плацебо.

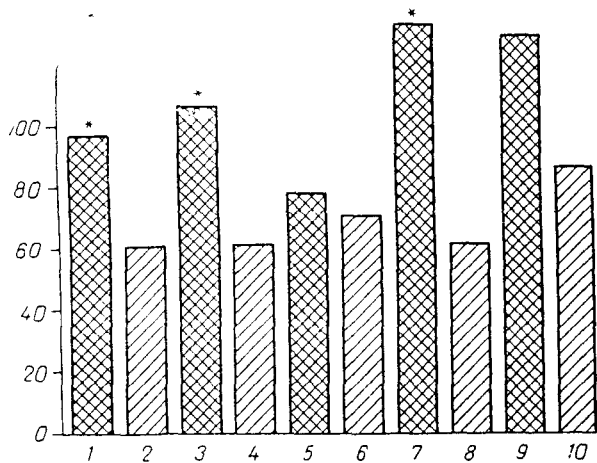


Рис. 2. Изменение субпопуляций лимфоцитов крови больных после приема ГМДП в дозе 3 мг/сут.

По оси абсцисс: изменение % CD5-клеток после приема ГМДП (1) или плацебо (2), изменение % CD4-клеток после приема ГМДП (3) или плацебо (4), изменение % CD8-клеток после приема ГМДП (5) или плацебо (6), изменение % CD16-клеток после приема ГМДП (7) или плацебо (8), изменение % В-клеток после приема ГМДП (9) или плацебо (10).

применения гликопина не наблюдалось каких-либо побочных эффектов. Переносимость препарата была отличная.

При клиническом анализе крови установлено, что все дозы гликопина, использованные как для профилактики, так и для лечения гнойно-септических процессов, вызывали у больных статистически значимое повышение числа лейкоцитов, причем в основном за счет нейтрофилов. Наибольшее увеличение лейкоцитов у больных давала доза гликопина 3 мг/сут (рис. 1). На рис. 1—3 представлены данные по профилактическому применению гликопина в дозе 3 мг/сут.

При биохимическом анализе крови установлено, что, как правило, уровень гемоглобина, общего белка и альбумина у больных, получавших гликопин, был выше по сравнению с больными, получавшими плацебо. Уровень билирубина, мочевины и креатинина в крови больных, получавших гликопин, был ниже, чем у больных, получавших плацебо. Однако из-за большого разброса индивидуальных значений различие между этими показателями было значимо только в отношении гемоглобина при применении дозы гликопина 2 и 3 мг/сут и в отношении билирубина и креатинина при профилактическом применении гликопина в дозе 2 мг/сут.

При иммунологическом анализе крови установлено, что наиболее выраженные изменения иммунологических параметров вызывало профилактическое применение гликопина в дозе 3 мг/сут. По сравнению с плацебо эта доза гликопина (см. рис. 2) вызывала достоверное увеличение общей популяции Т-лимфоцитов (CD5), Т-хелперов (CD4) и NK-клеток (CD16). Значимое увеличение Т-хелперов вызывали и другие дозы гликопина. Вероятно, способность гликопина влиять на CD4-лимфоциты является характерной чертой его иммуностимулирующего действия. Часто после приема гликопина происходило увеличение и числа В-лимфоцитов, но значимое увеличение отмечено только при применении гликопина для лечения. В этом случае происходило и

достоверное увеличение содержания IgM. Остальные классы иммуноглобулинов под влиянием гликопина оставались практически на том же уровне.

Значительный интерес представляют данные о функциональной активности лимфоцитов и фагоцитирующих клеток. Как правило, применение всех доз гликопина усиливало пролиферативный ответ лимфоцитов на ФГА, но в силу больших индивидуальных различий это увеличение статистически недостоверно. Аналогичная ситуация наблюдалась и в отношении хемилюминесценции: практически все дозы гликопина усиливали образование активных форм кислорода, но достоверное увеличение было только при профилактическом применении гликопина в дозе 2 и 3 мг/сут (см. рис. 3). Следует отметить, что указанные иммунологические параметры у больных, получавших плацебо, как правило, имели отрицательную динамику.

Суммируя представленные данные, можно сделать вывод, что гликопин клинически эффективен и снижает частоту гнойно-септических осложнений после операции при применении как для профилактики, так и с целью лечения. Однако статистически значимая разница в проценте осложнений была только при профилактическом применении препарата. Мы полагаем, что это связано прежде всего со способностью гликопина стимулировать иммунореактивность. В этом исследовании показана выраженная способность гликопина стимулировать функциональную активность фагоцитирующих клеток. Последние данные четко совпадают с результатами экспериментальных исследований [2, 5, 10].

Как правило, гнойно-септические инфекционные осложнения после операций вызываются условно-патогенными микроорганизмами: стафилококками, стрептококками, кишечной палочкой и т. д., в борьбе с которыми главная роль принадлежит фагоцитозу. Так как гликопин стимулирует функциональную активность фагосцитов

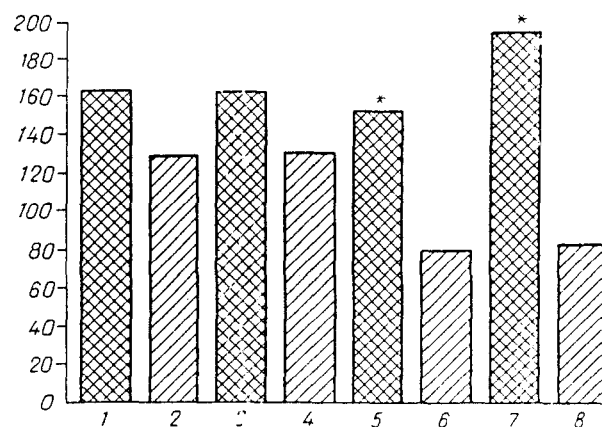


Рис. 3. Изменение функциональной активности лимфоцитов и фагоцитирующих клеток в крови больных при применении ГМДП в дозе 3 мг/сут.

По оси абсцисс: изменение % спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов после приема ГМДП (1) или плацебо (2), изменение % пролиферативной активности лимфоцитов, индуцированной ФГА после приема ГМДП (3) или плацебо (4), изменение % спонтанной хемилюминесценции после приема ГМДП (5) или плацебо (6), изменение % хемилюминесценции, индуцированной опсонизированным зимозаном, после приема ГМДП (7) или плацебо (8).

По оси ординат — уровень оцениваемых показателей после приема ГМДП в процентах от их уровня до приема ГМДП.

и увеличивает число Т-хелперов, которые синтезируют цитокины, вооружающие фагоциты, то, возможно, положительный клинический эффект препарата тесно связан с его иммуностимулирующей активностью. Также нельзя исключить, что лечебный эффект гликопина частично обусловлен его положительным влиянием на функциональную активность печени, что проявляется в снижении уровня креатинина и билирубина в периферической крови больных, получавших этот препарат. Все это дает основание рекомендовать гликопин в комплексе методов, направленных на профилактику инфекционных послеоперационных осложнений.

Выводы

1. При назначении внутрь больным раком кишечника в течение 10 дней перед операцией иммуностимулятора гликопина (ГМДП) — минимального компонента клеточной стенки бактерий получено статистически значимое снижение числа послеоперационных гнойно-септических осложнений по сравнению с больными, получавшими плацебо. При приеме внутрь больными раком кишечника этого иммуностимулятора в течение 10 дней после операции снижались частота новых осложнений и прогрессирование основного процесса, но это различие по сравнению с больными, получавшими плацебо, было статистически незначимо.

2. У больных, получавших ГМДП, происходило значимое по сравнению с больными, получавшими плацебо, увеличение числа Т-хелперов (CD4) и функциональной активности фагоцитарных клеток периферической крови.

3. Полученные результаты позволяют рекомендовать ГМДП в комплексе методов, направленных на профилактику инфекционных послеоперационных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Изучение функционального состояния фагоцитов человека: (Кислородный метаболизм и подвижность клеток): Метод. рекомендации. / Земсков В. М., Барсуков А. М., Безносенко А. А. и др. — М., 1988.
2. Пименов А. А., Фукс Б. Б., Андропова Т. М. // Международный симпозиум «Структура, биосинтез и функции молекулярных элементов иммунной системы»: Тезисы докладов. — Пушкино, 1987. — С. 39.
3. Пименов А. А., Рахмилевич А. Л., Деев В. В. и др. // Вопр. мед. химии. — 1990. — Т. 36. — С. 58—60.
4. Андропова Т., Иванов В. // Sov. med. Rev. D. Immunol. — 1991. — N 4. — P. 1—63.
5. Balitsky K. P., Umansky V. Y., Tarakhovskiy A. M. et al. // Int. J. Immunopharmacol. — 1989. — Vol. 11. — P. 429—434.
6. Bogdanov L. C., Dalev P. G., Gurevich A. I. et al. // FEBS Lett. — 1975. — Vol. 57. — P. 259—261.
7. Chedid L., Lederer B. // Biochem. Pharmacol. — 1978. — Vol. 27. — P. 2183—2186.
8. Hey J. O. A. Introduction to Bayesian Statistical Inference for Economists. — New York, 1984. — P. 137.
9. Kusumoto S., Tarumi Y., Ikenaka K. et al. // Bull. chem. Soc. Jap. — 1976. — Vol. 49. — P. 533—539.
10. Nesmjjanov B. A., Khaiducov C. B., Komaleva R. L. et al. // Biomed. Sci. — 1990. — Vol. 1. — P. 151—154.

Поступила 02.07.93

R. M. Khaitov, B. V. Pinegin, A. A. Butanov, T. M. Andronova, Ye. G. Bulanova, V. A. Budagyan. — IMMUNOTHERAPY OF INFECTIOUS POSTOPERATIVE COMPLICATIONS WITH THE NEW IMMUNOSTIMULATOR GLYCOPIN

230 patients with colon cancer received for 10 days before or after the surgery oral doses (1, 2 or 3 mg/day) of immunostimulator N-acetylglucosaminyl-muramyl-1-alanine-D-isoglutamine (GM DP). Prophylactic administration of all the doses of the drug significantly reduced lethality and frequency of postoperative pyoseptic complications. Therapeutic use of GM DP reduced postoperative lethality, complications and cancer progression. This difference, though, was not significant versus placebo. In all the regimens studied GM DP was able to stimulate functional activity of phagocytosing cells and T-lymphocytes. A therapeutic effect of GM DP is attributed to its immunoreaction-stimulating ability. The authors recommend to include GM DP in combined programs to prevent postoperative infectious complications.

© Д. А. АДАМБЕКОВ, В. И. ЛИТВИНОВ, 1994

УДК 616-002.5-053.87/9-092:612.017.1]-07

Д. А. Адамбеков, В. И. Литвинов

ИММУННАЯ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова РАМН; НИИ туберкулеза РАМН, Москва

Старение, как известно, сопровождается нарушениями в различных звеньях гомеостаза, в том числе в системах иммунитета и неспецифической реактивности [2, 3, 8]. Туберкулез, являясь тяжелым хроническим заболеванием, сам по себе приводит к разнообразным нарушениям реактивности [1, 6, 7]. У больных пожилого и старческого возраста туберкулез протекает неблагоприятно. Вместе с тем о конкретных нарушениях реактивности у этой группы больных туберкулезом известно совершенно недостаточно. Этому вопросу посвящена настоящая работа.

Методика исследования. Обследовано 165 больных туберкулезом старше 60 лет (1-я группа) и 150 больных в возрасте 20—40 лет (2-я группа). В качестве контроля обследовано 65 здоровых людей старше 60 лет (3-я группа) и 56 человек в возрасте 20—40 лет (4-я группа). В 1-й группе было 78 мужчин и 87 женщин, во 2-й — 73 мужчины и 77 женщин, в 3-й — 31 мужчина и 34 женщины; в 4-й — 26 мужчин и 30 женщин.

В 1-й группе было 42 больных очаговым туберкулезом в фазе инфильтрации, 54 больных инфильтративным туберкулезом в активной фазе и 69 больных фиброзно-кавернозным туберкулезом в фазе инфильтрации и распада. Распад определялся у 28 больных очаговым и 31 больного инфильтративным туберкулезом, бактериовыделение отмечено у 108 больных этой группы.

Во 2-й группе было 43 больных очаговым туберкулезом в фазе инфильтрации, 47 больных инфильтративным туберкулезом в активной фазе, 60 больных фиброзно-кавернозным туберкулезом в фазе инфильтрации и распада. Распад определялся у 54 больных очаговым и инфильтративным туберкулезом бактериовыделение — у 92 больных.

Таким образом, в 1-й и 2-й группах были приблизительно одинаково представлены больные с разными формами туберкулеза, с распадом и бактериовыделением.

При иммунологическом обследовании определяли число Т-лимфоцитов, образующих розетки с бараньими эритроцитами (Е-РОК), реакцию бласттрансформации Т-лимфоцитов на ФГА, субпопуляции Т-лимфоцитов (Т-хелперов — CD4⁺ и Т-киллеров/супрессоров — CD8⁺) иммунофлюоресцентным методом с помощью моноклональных антител. Определяли также супрессорную активность, индуцированную конканавалином А (КонА), синтез интерлейкинов. Число В-лимфоцитов определяли методом комплементарного розеткообразования (ЕАС-РОК), их функцию — по спектру иммуноглобулинов сыворотки (IgG, IgM, IgA). Неспецифическую реактивность оценивали по фагоцитарной активности моноцитов (ин-