

УДК 616.61—089.843—059:615.365.018.53:616.002—77

В. Т. Антоненко, А. С. Тимченко

ІМУНОДЕПРЕСИВНА ТА ІМУНОСТИМУЛЮЮЧА ЕФЕКТИВНІСТЬ БИЧАЧОГО АНТИЛІМФОЦИТАРНОГО ГАММА-ГЛОБУЛІНУ ДЛЯ ЛЮДИНИ

Антилімфоцитарні гамма-глобуліни застосовують в експерименті і клініці для впливу на функціональну активність лімфоцитів кісткового мозку, тимуса, лімфовузлів, а також для пролонгації строків приживлення алотрансплантованих органів і лікування захворювань з аутоімунним компонентом.

Продуцентом антилімфоцитарних антитіл можуть бути різні види теплокровних тварин (кози, барани, осли, коні, велика рогата худоба). Видові особливості імунологічної реактивності, а також різна вираженість спорідненості в антигенному наборі між антигенами лімфоцитів людини і тварин можуть істотно позначатися на активності антисироватки або АЛГ та їх реактогенності. Частіше продуцентами антитіл для клінічних цілей використовують коней, кіз і ослів. У Радянському Союзі в клініці застосовують, переважно кінський та осличий гамма-глобуліни. Ці препарати мають високу імунодепресивну активність, містять у високому титрі лімфоцитотоксини і лімфоанглютиніни. Водночас вони мають виражену сенсibiliзуючу активність, викликаючи ряд ускладнень (сироваткова хвороба, анафілатичні реакції, феномен Артюса тощо).

Беручи до уваги широку доступність та поширеність великої рогатої худоби, ми, починаючи з 1970 р., вивчали можливість одержання бичачого АЛГ і дали оцінку його ефективності та реактогенності. Слід відзначити, що ступінь вираженості перехресної реактивності між антисироватками проти імуноглобуліну G — людини та імуноглобулінами корови незначна [3]. Це вказує на чіткі антигенні відмінності, що немало важно у формуванні імунної відповіді. За даними цих же авторів [3], коні і барани менш гетерогенні по відношенню до людини; з іншого боку, імунна відповідь на різні антигени у великої рогатої худоби за силою менш значна, ніж у коней і ослів. Ми неодноразово в цьому переконувались не тільки за даними титру антитіл, але й за розвитком сенсibiliзації до антигенів лімфоцитів людини, що виникає у вигляді феномена Артюса при повторних циклах імунізації ослів і коней.

Методика досліджень

Антилімфоцитарну сироватку для виділення АЛГ одержували імунізацією тварин гомогенатом лімфоцитів лімфовузлів брижєйки людей, які загинули від випадкових травм. На три цикли імунізації корові вводили 3—3,5 г білка. Імунну сироватку одержували на 14 день після останньої імунізації. АЛС після попередньої інкубації при 56°С двічі виснажували тричі відмитими нормальними еритроцитами (групи А, В, О). З імунної сироватки виділяли гамма-глобулін спиртовим методом Кона в модифікації Нічмана.

Активність бичачого АЛГ вивчали *in vitro*, а також у клініці Інституту трансплантації органів і тканин АМН СРСР, гематологічній клініці Київського інституту

гематології та переливання крові (при пересадці нирок, хронічному лімфолейкозі) та у хворих на ревматоїдний поліартрит (кафедра терапії-I Київського інституту удосконалення лікарів).

Результати досліджень

Фізико-хімічну та імунологічну характеристику бичачого антилімфоцитарного гамма-глобуліну (серія 3, 4) наведено в таблиці.

Реактогенність бичачого АЛГ для людини досліджена на семи добровольцях — хворих на хронічний лімфолейкоз. Одноразове введення 12 мл АЛГ під шкіру стегна (правого і лівого) викликало в місці введення незначну гіперемію, зменшення кількості лейкоцитів і лімфоцитів, збільшення кількості гранулоцитів. Істотних зрушень показників зсідальної і антизсідальної систем крові не виявлено. Не відзначено підвищення температури та інших об'єктивних ознак реактогенної дії препарату в перші 6 год. В ряді випадків (два із семи) через 24 год після введення препарату спостерігалась припухлість у місці введення препарату та підвищення температури до 38° С, внаслідок посиленого розпаду лейкоцитів, що характеризує препарат як активний.

АЛГ був застосований при лікуванні ревматоїдного поліартрити з торпідним перебігом, який не піддається впливу інших медикаментозних засобів (В. Г. Шумко). У процесі лікування вивчали переносимість пре-

Фізико-хімічна та імунологічна характеристика бичачого антилімфоцитарного гамма-глобуліну

Досліджувані показники	Серія	
	3	4
Дата виготовлення	18 липня 1972 р.	11 квітня 1973 р.
Кількість у серії	800 мл	650 мл
Вміст білка	10,6 %	10,6 %
pH	7,28	7,32
Фізичні властивості	прозорий	прозорий
Гамма-глобулін	97 %	97,2 %
Альбумін	3 %	2,8 %
Стерильність до розливу	стерильний	стерильний
Стерильність після розливу	стерильний	стерильний
	нешкідливий	нешкідливий
	апірогенний	апірогенний
Гемаглютиніни	1:4	1:2
Антитромбоцитарні антитіла	1:2	1:4
Тест за Краузом	не визначали	не визначали
Преципітини	нема	нема
Титр лімфоцитотоксинів з інтактними лімфоцитами	1:512	1:512
Титр лімфоаглютининів	1:1024	1:256
Реакція бласттрансформації при 200 мкг білка на 1 мл середовища	100 % гальмування	100 % гальмування
Пригнічення розеткоутворення при титрі 1:1024	80 %	70 %
Непрямий метод Кунса	Високий ступінь специфічності	

Примітка. Бактеріологічний контроль здійснено в лабораторії Київського інституту епідеміології та мікробіології, а також на Київській станції переливання крові.

парату, зміни в периферичній крові, вміст імуноглобулінів та специфічних преципітуючих антитіл. Ці дані зіставляли з динамікою клінічної картини. Препарат вводили під шкіру один раз у три дні протягом трьох тижнів з розрахунку 10 мг/кг. Титр лімфоцитотоксинів серії 3 становив 1:512, лімфоаглютининів 1:1024. Третю та наступні ін'єкції препарату проводили на фоні введення 15 мг преднізолону внутрім'язово. Курсова доза препарату становила від 2800 до 4900 мг білка.

Препарат введений 12 хворим віком 40—60 років, давність захворювання: до трьох років — у трьох осіб, три — п'ять років — у чотирьох осіб, понад п'ять років — у п'яти осіб. Переважна суглобова форма захворювання була у десяти осіб, суглобово-вісцеральна — у двох.

Після перших ін'єкцій АЛГ спостерігалось загострення процесу, який полягав у посиленні болей у суглобах, деякому збільшенні набряклості суглобів, зменшенні об'єму їх рухів. Перші виразні прояви поліпшення самопочування хворих відзначались після трьох-чотирьох ін'єкцій на 10—12 день і полягали в зменшенні ранкової скованості, болей в суглобах та ексудативних явищ. Наприкінці курсу лікування у більшості хворих відзначалось виразне поліпшення загального стану, значне зменшення ексудативних явищ у суглобах або повна відсутність їх, значне збільшення об'єму рухів у суглобах або їх повне відновлення, причому динаміка поліпшення була більш виразна при поєднанні АЛГ з прийомом преднізолону.

Позитивна динаміка лабораторних показників та активності здійснювалась іноді повільніше.

Нами відзначена стимуляція кісткового мозку, яка проявлялась у збільшенні вмісту еритроцитів і гемоглобіну у хворих, яких лікували АЛГ. Виявлене збільшення імуноглобулінів М та зменшення IgG.

У зв'язку з тим, що АЛГ є гетерогенним білком, у сироватках лікованих хворих слід було чекати появи преципітуючих антитіл. Проте, застосована нами схема введень не дозволяла виявити преципітини у 11 з 12 хворих.

Відзначене поліпшення загального стану хворих, зниження РОЕ або її нормалізація, значне поліпшення ревмотестів, а в ряді випадків і нормалізація їх поліпшення співвідношення імуноглобулінів А і G, а також зменшення або повне зникнення мікроглобулярних білків, які, як правило, виявлялись до лікування і визначались на сефадексі G=200, переконливо демонструють позитивний терапевтичний ефект застосованого АЛГ.

АЛГ був застосований також ізольовано у чотирьох хворих. Значне поліпшення виявлене у трьох і поліпшення — у одного. З восьми хворих, які одержували комбіноване лікування, значне поліпшення настало у шести, поліпшення у одного і незначне — у одного хворого. У віддалені строки були прослідковані результати у семи хворих, з яких у шести виявлене поліпшення, причому, у трьох — до шести місяців, а у трьох — понад вісім місяців.

При пересадці нирки людині підшкірно або внутрім'язово вводили бичачий антилімфоцитарний γ -глобулін з вмістом білка в 1 мл — 100 мг, γ -глобулінів — 97%. Добова доза препарату становила 100—300 мг, а сумарна — 700—4400 мг. Введення препарату супроводжувалось лімфопенією. Одержаний позитивний імунодепресивний ефект у подовженні строків приживлення алотрансплантатів нирки [2]. Потреба в препараті може бути розширена за рахунок використання його для корекції імунологічних зрушень у хворих з набутим дефіцитом імунологічної активності лімфоцитів шляхом застосування стимулюючих доз АЛГ. Особливо в цьому плані можуть бути ефективні анти-Т і анти-В лімфоцитарні

γ-глобуліни. Незначний ступінь зруйнування лімфоцитів є фізіологічним компонентом у механізмі регенерації та репарації. Підходячи з цієї позиції до розробки способів корекції набутого імунodefіциту, слід розглядати специфічну імуностимулюючу терапію інтилімфоцитарними препаратами як цілком теоретично обґрунтовану, що сприяє, за літературними даними [1], не тільки підвищенню функціональної активності лімфоцитів, а й забезпечує збільшення їх кількості.

Ефективність стимулюючих доз бичачого АЛГ досліджена при лікуванні 30 хворих на хронічний остеомієліт нижньої щелепи (Ю. А. Юсубов). АЛГ вводили підшкірно по 0,01 мг/кг у розведенні 1:10 фізіологічним розчином один раз на три дні протягом десяти днів.

Вивчення бласттрансформації лімфоцитів периферичної крові до введення АЛГ свідчить про різке зменшення кількості трансформованих клітин у обслідуваних хворих ($28,9 \pm 3,1\%$; $p < 0,001$) у присутності стимулюючих доз АЛГ. Із застосуванням ФГА в культурі процентний вміст трансформованих елементів становив $26,5 \pm 2,7\%$ ($p < 0,001$), у контролі $64,8 \pm 3,9\%$.

При вивченні білкового спектра сироватки крові цих хворих, методом електрофорезу в поліакриламідному гелі було відзначено достовірне зменшення вмісту білка в преальбуміновій фракції 1, альбуміну (фракція 3) та збільшення його в преальбуміновій фракції 2. Підвищення вмісту білка спостерігалось у постальбумінових фракціях 4, 6 (α_1 -глобуліни; $p < 0,05$), у фракціях 9, 12 посттрансферинової області (α_2 -, β -глобуліни; $p < 0,01$). У зоні повільних глобулінів було виявлене зниження рівня білка у фракції 14 ($2,8 \pm 0,63$ мг%, $p < 0,001$), що містить IgG.

Збільшення вмісту білка у фракції 15 спостерігалось при тривалому перебігу патологічного процесу. Дослідження білкових фракцій крові після клінічного видужання хворих, яким вводили АЛГ, вказують на збільшення вмісту білка в преальбуміновій фракції 1, альбуміну (фракція 3) — $1,0 \pm 0,17$ мг%, $p < 0,01$; $43,9 \pm 0,97$ мг%, $p < 0,05$; нормалізацію білкового спектра в зоні постальбуміну, посттрансферину, за винятком фракції 12. В зоні повільних глобулінів виявлена тенденція до нормалізації фракційного складу білків у фракції 14 ($4,3 \pm 0,38$ мг%, $p < 0,01$), у фракції 15 ($14,0 \pm 0,4$ мг%, $p < 0,05$), у фракції 16 ($10,5 \pm 0,6$ мг%, $p < 0,001$). Отже, кількість бласттрансформованих клітин до моменту виписки хворих, лікованих АЛГ, збільшувалась ($56,7 \pm 3,5\%$ $p < 0,001$). У хворих наприкінці лікування АЛГ норицеві ходи очищались від гною, зникали запальні явища і нормалізувалась кісткова структура. Після відходження секвестрів норицеві ходи закривались і цим хворим, природно, хірургічне втручання не було необхідним.

Отже, бичачий АЛГ в стимулюючих дозах у хворих на хронічний одонтогенний і травматичний остеомієліт нижньої щелепи підвищує функції лімфоїдної системи, посилює синтез імуноглобуліну G, поліпшує перебіг остеомієліту, сприяє відторгненню секвестрів.

Висновки

1. Велику рогату худобу можна використати як продуцентів антилімфоцитарних цитотоксичних сироваток (АЛГ) високої імунодепресивної активності та помірної реактогенності.

2. Бичачий АЛГ в дозах 10—20 мг/кг при підшкірних введеннях забезпечує розвиток лімфопенії, зниження РОЕ, підвищення еритроцитів і Нв, значно поліпшує загальний стан хворих на хронічний ревматоїдний поліатрит.

3. Застосування АЛГ в дозах 0,01 мг/кг стимулює функціональну активність лімфоцитів, підвищує процент трансформації їх в бласти і макрофаги, що супроводжується позитивним ефектом у лікуванні хворих на хронічний остеомієліт нижньої щелепи.

Л і т е р а т у р а

1. Антоненко В. Т. Особенности формирования иммунного ответа при дефиците Т или В лимфоцитов и пути его коррекции.— В сб.: Матер. докл. Пленума правления Всес. об-ва ревматологов, Киев, 1975.
2. Радзивил Г. Г. и др. Применение антилимфоцитарного глобулина при трансплантации почки в раннем послеоперационном периоде.— Клинич. медицина, 1975, 3, 26—33.
3. Metha P. D., Reichlin E. M., Tomasi T. B. Comparative studies of vertebrate immunoglobulins.— J. Immunol., 1972, 109, 6, 272—277.

Центральна науково-дослідна лабораторія
Київського інституту удосконалення лікарів

Надійшла до редакції
22.III 1976 р.

V. T. ANTONENKO, A. S. TIMCHENKO

IMMUNODEPRESSIVE AND IMMUNOSTIMULATING EFFICIENCY OF BULL ANTILYMPHOCYTIC γ -GLOBULIN FOR PEOPLE

Summary

Possibility is studied of using the cattle for obtaining antilymphocytic preparations. Efficiency of the preparations is estimated when they are administered in the immunodepressive doses (10-20 mg/kg) to the patients with chronic rheumatoid polyarthrititis and with kidneys allotransplantation as well as in the stimulating doses (0.01 mg/kg) osteomyelitis of the lower jaw, the phenomena of the lymphocytes functional activity deficit being present. The results obtained indicate a wide possibility to use the cattle for obtaining the antilymphocytic preparations for immunodepression and immunostimulation in people.

Central Research Laboratory, Advanced Training
Institute for Doctors, Kiev