

---

В.В. Янченко, Н.С. Аляхнович, О.В. Смирнова, О.Г. Величинская, Д.К. Новиков  
Витебский государственный медицинский университет

## Immugenin clinical and immunological effects in patients with chronic obstructive lung disease

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

### Аннотация

---

α

---

В настоящее время активно ведутся испытания новых специфических и неспецифических иммуномодулирующих лекарственных средств для предупреждения и лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). При ХОБЛ наблюдается дисбаланс ферментов и цитокинов, что приводит к стойкой ремодуляции бронхов, при которой традиционная терапия недостаточна [1, 2]. В целом, при ХОБЛ отмечены нарушения различных звеньев системы иммунитета: Т- и В-лимфоцитов, мононуклеарных фагоцитов, полинуклеаров, ком-

α

---

племента. В результате возникает стойкий дисбаланс в системе иммунитета, не восстанавливающийся в процессе обычного лечения [1, 2, 3, 4]. Дополнительная интенсивная терапия антибиотиками, противовоспалительными препаратами на этом фоне может вызвать лекарственную аллергию и другие осложнения, а также привести к появлению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Поэтому ремодуляции бронхов при ХОБЛ требуют целенаправленной иммунокоррекции [1, 4, 5, 6, 7].

Синтетический дипептид L-лизил-L-глутаминовая кислота является аналогом пептидного метаболита интерферона- $\alpha 2b$ , который в организме человека образуется естественным путём отщепления двух концевых аминокислот молекулы интерферона- $\alpha 2b$  под действием дипептидаз.

Иммугенин (L-лизил-L-глутаминовая кислота) предназначен для коррекции патологических состояний, проявляющихся изменением специфического и неспецифического иммунитета.

Нами проведены клинические испытания ампульной лекарственной формы иммунгина, содержащей 0,01% раствор L-лизил-L-глутаминовой кислоты у лиц с ХОБЛ, среднетяжелого течения и рецидивирующими бактериальными инфекциями в фазе начала ремиссии. Лекарственное средство иммунгин для клинических испытаний было предоставлено Государственным научным учреждением «Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси». Исследование выполнено по протоколу простого слепого рандомизированного контролируемого проспективного исследования в параллельных группах пациентов с плацебо контролем на фоне стандартной терапии основного заболевания.

:

1. Пациенты обоего пола в возрасте от 35 до 65 лет.
2. Документально подтвержденный диагноз ХОБЛ средней степени тяжести с наличием обструкции по показателям  $ОФВ_1/ЖЕЛ < 70\%$ ,  $ОФВ_1 = 50-79\%$  от должных величин после применения 400 мкг сальбутамола, а также клиники: кашля, одышки, мокроты и факторов риска (курение в анамнезе, либо воздействие промышленных и/или бытовых поллютантов).
3. Два и более обострения ХОБЛ в течение 12 месяцев, предшествующих включению в испытание, которые и служили критерием назначения иммуномодулирующей терапии.
4. Признаки обострения ХОБЛ на протяжении последних 4 недель (усиление кашля, одышки, количества и гнойности мокроты длительностью более суток), потребовавшие изменения схемы лечения и/или госпитализации).
5. Достижение ремиссии обострения по клиническим признакам (кашель, одышка, мокрота) и лабораторным данным (лейкоциты  $< 9 \times 10^9/л$ , палочкоядерные лейкоциты  $< 8-10\%$ , температура тела ниже  $37^\circ C$ ) не менее чем за 2 дня до начала проведения иммуномодулирующей терапии в рамках протокола.

6. Отмена системных глюкокортикостероидов более 7 суток, отсутствие приема ингаляционных кортикостероидов последние 4 недели.
7. Получение письменного согласия на добровольное участие в испытании.

:

1. Беременные и кормящие грудью женщины.
2. Возраст менее 18 и более 65 лет.
3. Прием иммуностимулирующих препаратов в последние 3 месяца до начала данного испытания.
4. Пациенты с неконтролируемыми сердечно-сосудистыми (неконтролируемая гипертензия), респираторными ( $ОФВ_1 < 50\%$  после вдыхания бронхолитика), гематологическими, иммунологическими, почечными, неврологическими, печеночными, эндокринными (неконтролируемый сахарный диабет) и другими заболеваниями, или с любым состоянием, которое по мнению исследователя, может подвергать пациента необоснованному риску, или потенциально влиять на результаты или интерпретацию результатов исследования.
5. ВИЧ-инфекция в любой стадии.
6. Сепсис.
7. Лихорадка (с температурой более  $38^\circ C$ ).
8. Пациенты с сопутствующим заболеванием с плохим прогнозом (например, онкопатологией).
9. Пациенты, которым вводились вакцины в течение 2 недель до скрининга.
10. Лица, злоупотребляющие алкоголем, с лекарственной или наркотической зависимостью, пациенты с неврастенией.
11. Недееспособные пациенты.
12. Непереносимость или гиперчувствительность к белковым лекарственным препаратам.
13. Большая хирургическая операция в течение предшествующих 3 месяцев.
14. Участие в иных клинических испытаниях менее чем за 30 дней до включения в настоящее исследование.

:

1. Желание пациента.
2. Непереносимость L-лизил-L-глутаминовой кислоты по мнению пациента или исследователя.
3. Несоблюдение протокола и/или отсутствие желания к сотрудничеству.
4. Применение любого препарата, обозначенного как неразрешенного, в ходе проведения исследования.

##### 5. Возникшее в ходе исследования обострение ХОБЛ.

Пациенты исследуемой группы получали стандартную терапию ХОБЛ, согласно действующим протоколам ведения пациентов Министерства здравоохранения Республики Беларусь с курсом инъекций иммугенина в дозе 0,1 мл/10 кг массы тела в сутки внутримышечно ежедневно в течение 5 дней. Пациенты контрольной группы получали стандартную терапию с введением плацебо в том же режиме.

Через 48-72 ч после начала терапии и на 7-9 сутки от её начала выполняли общий клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, исследование функции внешнего дыхания, определение иммунного статуса (иммунограмма, в том числе уровень сывороточных иммуноглобулинов и цитокинов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10). Через 3 месяца выполняли расчет показателей первичных конечных точек: оценивали продолжительность ремиссии, частоту развития нежелательных эффектов.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6,0. Различия считали достоверными при вероятности  $p < 0,05$ .

Основой иммунокоррекции является восстановление количественных и качественных показателей активных иммунокомпетентных клеток и иммунорегуляторных белков [4, 5, 6, 8, 9]. Важное защитное значение имеют местные факторы иммунитета, особенно секреторный иммуноглобулин А, активный против бактерий и токсинов [1, 5]. В качестве маркеров иммунного ответа при ХОБЛ рекомендуется исследовать уровни провоспалительных и регуляторных цитокинов - ФНО- и ИЛ-10 [10, 11, 12, 13, 14].

Оценка уровня иммуноглобулинов и цитокинов позволяет количественно оценить изменения иммунного статуса при применении иммугенина в начале, на высоте и в конце иммуномодулирующей терапии [10, 11, 14].

Цитокины и иммуноглобулины в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием фотометра универсального «Витязь Ф300» (Беларусь).

Использован набор ИФА для определения фактора некроза опухоли альфа (номер по каталогу А-8756 Вектор-Бест, Россия); набор ИФА для определения интерлейкина-10 (номер по каталогу А-8774 Вектор-Бест, Россия); наборы

ИФА для определения иммуноглобулина Е (номер по каталогу А-8660 Вектор-Бест).

Иммуноглобулины А, М, G в сыворотке крови определяли с использованием наборов реагентов «Сыворотки диагностические моноспецифические против IgG(H+L), IgA(H), IgM(H) человека, сухие» ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России.

В период проведения клинических испытаний было проведено первичное обследование 129 пациентов - добровольцев с диагнозом ХОБЛ. Из них по критериям включения были отобраны 40 человек, которые были рандомизированы с помощью лототрона на две группы по 20 человек - «А» - получившие иммугенин и «В» - получившие плацебо.

В группе А оказалось 15 женщин (средний возраст 50,6; от 35 до 63 лет) и 5 мужчин (средний возраст 43,6; от 35 до 54 лет).

В группе В оказалось 8 женщин (средний возраст 48,6; от 29 до 63 лет) и 12 мужчин (средний возраст 50,25; от 37 до 62 лет).

Группы были сопоставимы по возрасту ( $p=0,636$ ), но имели достоверные различия по полу ( $p=0,025$ ).

Введение иммугенина на фоне стандартной терапии ХОБЛ не влияло на показатели общего и биохимического анализа крови, приводило к понижению относительной плотности мочи, что косвенно указывало на повышение реабсорбции веществ почками пациентов с ХОБЛ. Эти наблюдения подтвердили безопасность применения раствора L-лизил-L-глутаминовой кислоты.

Клиническая эффективность применения L-лизил-L-глутаминовой кислоты оценивалась при сравнении числа обострений и случаев ОРЗ, а также по времени до возникновения обострения симптомов ХОБЛ в группах пациентов, получавших иммугенин (А) и получавших плацебо (В). Установлено, что в течение 3 месячного срока наблюдения после завершения терапии у лиц группы А достоверно реже наблюдались обострения ХОБЛ и случаи ОРЗ (критерий Волд-Волфовица  $p=0,01$ ). Время до возникновения обострения было большим у пациентов, получавших иммугенин, причем у большинства из них до конца периода наблюдения обострение ХОБЛ не зафиксировано (17 человек из 20) (табл. 1).

Стандартная терапия в сочетании с введением иммугенина приводила к улучшению функ-

ции внешнего дыхания пациентов с ХОБЛ. Показатель ОФВ<sub>1</sub> достоверно увеличился у лиц группы А (p=0,01): до лечения составил 80% от должного, после лечения – 85% от должного, в отличие от пациентов группы В, у которых показатель ОФВ<sub>1</sub> не изменился.

Результаты сравнения показателей иммунограммы и цитокинового профиля в сыворотке крови пациентов группы А и В до (А0 и В0), на 2-3 день (А1 и В1) и на 7-9 день (А2 и В2) введения иммугенина представлены в таблице 2.

Концентрация иммуноглобулина А в сыворотке крови достоверно различалась в пробах до (А0) и во время (А1) введения иммугенина (p=0,05); во время (А1) и после (А2) лечения (p=0,02). Оказалось, что уровень иммуноглобулина А во время лечения повышался, после лечения снижался. На фоне иммугенина концентрация иммуноглобулина А в сыворотке была самой высокой (табл.2).

Имуноглобулин А – один из ключевых белков системы иммунитета, который транспортируется из крови и подслизистого слоя на повер-

хность эпителия, обеспечивая в дальнейшем специфический мукозальный иммунитет [1, 5, 9], поэтому повышение концентрации иммуноглобулина А в сыворотке крови можно оценивать как положительное иммуномодулирующее действие иммугенина при лечении ХОБЛ.

Уровень иммуноглобулина G в крови у больных был исходно повышен. Во время лечения и после лечения статистически достоверно различался между пробами А1 и А2 (p=0,03) - на фоне лечения ещё больше повышался, а после лечения приходил в норму (табл.2).

Понижение исходно повышенного уровня иммуноглобулина G в сыворотке крови после лечения иммугенином косвенно указывает на снижение антигенной нагрузки в организме пациентов с ХОБЛ и нормализацию иммунного статуса.

Концентрация ФНО- в сыворотке крови пациентов группы А на 7-9 день введения иммугенина достоверно возросла, по сравнению с концентрацией до и на 3-5 день лечения в этой же группе (p=0,01); концентрация ИЛ-10 имела тенденцию к снижению (табл.2).

**Таблица 1. Сравнительная эффективность применения иммугенина и плацебо у пациентов с ХОБЛ**

Группы пациентов	Количество пациентов	обострений ХОБЛ		ОРЗ	Продолжительность ремиссии
А	20	0,15 ± 0,37 <sup>B</sup>		0,25 ± 0,91 <sup>B</sup>	86,15 ± 11,50
В	20	0,4 ± 0,88 <sup>A</sup>		0,35 ± 0,49 <sup>A</sup>	77,3 ± 26,41

Примечание - надстрочный шрифт с обозначениями <sup>A, B</sup> – достоверные различия между группой иммугенина<sup>A</sup> и группой плацебо<sup>B</sup> (p<0,05).

Показатель	Группа А			Группа В		
	Ме [LQ-UQ] или M±SD(n = 20)			Ме [LQ-UQ] или M±SD(n = 20)		
	А0	А1	А2	В0	В1	В2
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	6,9[5,7-8,2]	6,6[5,6-7,6]	6,6[5,7-7,9]	8,0[6,9-8,8]	7,5[6,0-8,9]	7,7[6,5-9,7]
Лимфоциты, %	31,7±8,4	30,1±9,2	30,6±9,1	27,2±11,0	28,5±8,8	29,4±12,3
Т-лимфоциты (CD3), %	49,8±6,6	48,1±5,9	47,0±5,6 <sup>B2</sup>	48,2±5,6	50,0±5,1	51,1±6,52 <sup>A2</sup>
В-лимфоциты (CD19), %	20,6±4,4	21,2±4,0	20,4±4,4	18,5	21,5	24,0[20,0-26,0] <sup>B0</sup>
				[16,0-22,5] <sup>B1, B2</sup>	[20,0-24,0] <sup>B0</sup>	
Имуноглобулин, А г/л	3,2±1,2 <sup>A1</sup>	3,4±1,2 <sup>A0, A2</sup>	2,7±1,1 <sup>A1</sup>	3,3±1,4	3,4±1,4	3,0±1,2
Имуноглобулин, М г/л	1,4[0,9-2,1]	1,3[0,9-2,3]	1,2[1,0-2,1]	1,2[0,9-2,0]	1,2[0,9-1,6]	1,4[0,9-2,0]
Имуноглобулин, G г/л	16,9±5,8	17,6±4,9 <sup>A2</sup>	13,7±6,2 <sup>A1</sup>	14,8±5,2	15,0±4,4	14,6±5,5
Имуноглобулин E, ME/мл	613,6±313,2	629,8±298,2	615,5±313,9	622,2±241,5	630,9±205,6	591,8±231,1
Фагоцитарный индекс, %	85,0[80,0-90,5]	85,0[80,0-92,0]	86,0[76,5-90,0]	82,4±10,5	84,3±8,6	82,5±9,1
Фагоцитарное число, ед	9,6[8,2-11,0]	10,0[8,9-11,3]	9,2[8,5-10,1] <sup>B2</sup>	10,3±1,9	10,6±1,9	10,4±1,5 <sup>A2</sup>
ФНО- , пг/мл	3,4[1,6-7,3] <sup>A2</sup>	2,9[1,7-6,2]	12,4[3,8-23,0] <sup>A0, B2</sup>	2,0[1,6-4,6]	2,1[1,3-4,1]	4,1[1,6-5,9] <sup>A2</sup>
Интерлейкин-10, пг/мл	9,6[1,7-13,8]	6,7[0,9-12,8]	7,0[2,8-10,3] <sup>B2</sup>	12,0[6,7-24,1]	10,0[6,0-23,3]	14,7[9,0-19,7] <sup>A2</sup>

<sup>A0, A1, A2, B0, B1, B2</sup> – достоверные различия между соответствующими показателями групп А и В, до лечения-1, во

время лечения-2, после лечения-3, (p<0,05).

Между показателями иммунного статуса пациентов групп А и В до и на 2-3 день введения иммугена и плацебо достоверных различий не выявлено.

На 7-9 день от начала лечения отмечались достоверные различия между показателями иммунного статуса пациентов, получавших иммуген (А2) или плацебо (В2) (табл. 2). Во время приема иммугена снижались Т-лимфоциты ( $p=0,04$ ), фагоцитарное число ( $p=0,04$ ) и уровень цитокина ИЛ-10 ( $p=0,001$ ); повышался уровень цитокина ФНО- $\alpha$  ( $p=0,01$ ).

Разнонаправленность изменений концентрации ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10 в сыворотке крови пациентов на 7-9 день введения иммугена, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, можно объяснить противоположным действием этих цитокинов.

ФНО- $\alpha$  продуцируют клетки моноцитарно-макрофагальной системы под воздействием бактериальных токсинов. Концентрация циркулирующего ФНО- $\alpha$  обычно очень низка ( $<5$  пг/мл), однако она резко возрастает (максимум за 90 минут) после введения липополисахаридов и возвращается к норме в течение 4-х часов. Высокие уровни ФНО- $\alpha$  ( $>300$  пг/мл) обнаруживают во время септического шока [1, 6, 7, 8]. Сохранение высоких уровней указывает на возможность осложнений. Небольшое увеличение ФНО- $\alpha$  является признаком активации ответа клеток системы иммунитета на патогены и является позитивным признаком усиления иммунного ответа при иммунодефицитных болезнях.

ИЛ-10 выделяется Т-лимфоцитами-хелперами, В-клетками, макрофагами и подавляет образование провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ), т.е. способствует завершению иммунного ответа и регенерации поврежденных тканей [10, 11, 12, 13]. Таким образом, ИЛ-10 оказывает противоположное влияние на

ответ системы иммунитета, по сравнению с ФНО- $\alpha$  и является противовоспалительным регуляторным цитокином [12, 13].

Повышение концентрации ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови является позитивным иммуномодулирующим эффектом применения иммугена, так как ФНО- $\alpha$  является активационным цитокином, запускающим ответ клеток системы иммунитета на патогены, присутствующие в организме пациентов с ХОБЛ. Вероятно адекватное, нечрезмерное повышение концентрации ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови могло способствовать у пациентов группы иммугена сокращению числа случаев ОРЗ в дальнейшем.

Небольшие колебания уровней Т-лимфоцитов и фагоцитарного числа в пределах нормальных значений этих показателей можно считать неспецифическими.

1. Применение иммугена приводило к снижению количества обострений и числа случаев ОРЗ у пациентов с ХОБЛ.
2. У пациентов, принимающих иммуген, улучшалась функция внешнего дыхания на 7-9 день лечения.
3. Иммуген на фоне стандартной терапии ХОБЛ не влиял на показатели общего и биохимического анализа крови и был безопасным.
4. Установлено иммуномодулирующее действие иммугена у пациентов с ХОБЛ. Иммуген повышал уровень иммуноглобулина А в сыворотке крови во время лечения и нормализовал исходно повышенный уровень иммуноглобулина G после завершения лечения.
5. По сравнению с плацебо иммуген вызывал повышение ФНО- $\alpha$  и снижение ИЛ-10 в сыворотке крови пациентов с ХОБЛ на 7-9 день лечения.

1. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. М.: Медицинская литература; 2009, 448 с.
2. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2011 г.). Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. М.: Российское респираторное общество; 2012, 80 с.
3. Sleasman J.W., Virella G. Diagnosis of immunodeficiency diseases. Virella G. Medical Immunology. 6th ed. NY: Informa Healthcare; 2007; 397-407.
4. Горностаева Ю.А. Иммуномодулирующая терапия у пациентов с неспецифическими инфекционно-воспалительными процессами в легких. Consilium medicum. 2005; 12, № 11: 72-76.

5. Савалкин В.И., Алтынова Е.И., Нестерова К.И. и соавт. Роль изучения факторов местного иммунитета при патологии дыхательных путей. Фундаментальные исследования. 2011; № 10 (часть 1): 151-154.
6. Новиков Д.К., Новиков П.Д., Титова Н.Д. Иммунокоррекция, иммунопрофилактика, иммунореабилитация. Витебск, ВГМУ, 2006, 198 с.
7. Новиков П.Д., Коневалова Н.Ю., Титова Н.Д. Принципы оценки иммунного статуса и диагностики иммунодефицитных

---

болезней. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2005; №2: 8-22.

8. Atamas S.P., Charoval S.P., Keegan A.D et al. Future therapeutic treatment of COPD: Struggle between oxidants and cytokines Biol Rep. 2013; 5: 3-37.

9. Barczyk A. Cytokine production by bronchoalveolar lavage T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease. J Allergy Clin Immunol 2006; 117:1484-92.

10. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. Цитокины и воспаление 2002; 1(1): 9-17.

11. Mukhopadhyay S., Hoidal J. R., Mukherjee T. K. Role of TNF $\alpha$

Сведения об авторах: