

ФАРМАКОЛОГИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНА У ПАЦИЕНТОВ С РАСПРОСТРАНЁННЫМИ ФОРМАМИ ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЁГКИХ, ПОЛУЧАЮЩИХ КОМПЛЕКСНУЮ ТЕРАПИЮ С ЦИКЛОФЕРОНОМ

А. М. Будрицкий, Н. С. Правада¹

Приведена оценка эффективности включения в комплексную терапию у впервые выявленных пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких препарата циклоферон путем изучения количества моноцитов с рецепторами к интерферону-гамма (методом проточной цитометрии) и концентрации интерферона-гамма в сыворотке крови (методом ИФА). Для решения поставленных задач обследовано 36 пациентов (18 пациентов получали стандартную химиотерапию и у 18 больных в схему терапии был включен циклоферон в течение 3 мес по 600 мг 3 раза в неделю). В группу контроля были включены 18 условно здоровых донора. В исследование не входили пациенты с множественной или широкой лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулёза. Анализ полученных данных показал статистически значимое увеличение уровня моноцитов с рецепторами к интерферону-гамма в первые 2 мес терапии (период клинических проявлений заболевания) с последующим снижением к 3 мес лечения (соответствует клиническому улучшению) у больных, получавших циклоферон, в отличие от пациентов, получающих только стандартную химиотерапию.

Ключевые слова: туберкулёз; циклоферон; моноциты с рецепторами к интерферону-гамма; интерферон-гамма.

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез (ТБ) по-прежнему входит в число инфекционных болезней, уносящих наибольшее число жизней. Согласно оценкам, число заболевших ТБ в 2013 г. составило 9 млн человек [1]. Особое беспокойство вызывают случаи распространённых форм туберкулёза лёгких из-за возможности прогрессирования и рецидивов процесса и неблагоприятных исходов заболевания, таких как инвалидность [2, 3]. Доказано, что при распространённых формах туберкулёза лёгких имеет место нарушение баланса цитокинов, в связи с чем увеличивается риск манифестации, ухудшается течение и прогноз заболевания [5 – 7]. Поэтому лечение таких пациентов требует коррекции иммунотропными препаратами [6].

Одним из перспективных препаратов в настоящее время является циклоферон, который относится к ранним индукторам интерферона 1 и 2 типа [2]. Циклоферон имеет сродство к рецепторам альвеолярных макрофагов, вследствие чего интерферон продуцируется в лёгких. Как и другие индукторы интерферона, циклоферон вызывает синтез значительных количеств интерферона (в том числе интерферона-гамма) в печени и в селезёнке. Интерферон-гамма усиливает миграцию макрофагов в поражённые ткани и активирует их, тем

самым усиливая и делая полноценными реакции фагоцитоза. Воздействие циклоферона на Т-клеточный иммунитет является не прямым, а опосредованным эндогенным интерфероном, синтезированным под влиянием индуктора интерферона (нормализует субпопуляции Т-лимфоцитов, активирует цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры). Под влиянием циклоферона происходит увеличение концентрации высокоавидных антител, что свидетельствует о положительном влиянии данного препарата на гуморальный иммунитет. Кроме того, происходит повышение чувствительности нейтрофилов к другим иммунокорректорам. Циклоферон является индуктором Th-1/Th-2 иммунного ответа, так он индуцирует синтез интерферона-гамма (ИФН- γ), интерлейкина-1 (ИЛ-1), ИЛ-6, ИЛ-2 [1].

Целью настоящего исследования стало изучение состояния интерферонового статуса у пациентов с распространёнными формами туберкулёза в совокупности с клиническими особенностями течения заболевания при включении в схему терапии циклоферона с целью прогнозирования течения туберкулёза и эффективности терапии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 36 впервые выявленных пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких. Основную группу (ОГ) составили 18 пациентов, которые на фоне основного лечения противоту-

¹ Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, 210023, Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Республика Беларусь.

беркулёзными лекарственными средствами (ПТЛС) согласно режиму химиотерапии (приказ МЗ РБ № 939 от 22.08.2012 г.) получали циклоферон в таблетках по схеме 600 мг 3 раза в неделю утром натощак за 30 мин до еды в течение 3 мес. Группу сравнения (ГС) составили 18 пациентов, получающих лечение только ПТЛС согласно режиму химиотерапии. Контрольную группу (КГ) для оценки уровня внутрилабораторной нормы иммунологических показателей составили 18 условно здоровых донора.

Среди пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких преобладали мужчины (72,2 % в ОГ и 88,8 % в ГС). Пациенты ОГ были в возрасте от 26 до 62 лет (в среднем 44 ± 11 лет). Возраст пациентов ГС составил от 18 до 62 лет (в среднем 43 ± 11 лет). Диагноз инфильтративный туберкулёз выставлен 16 пациентам ОГ и 16 пациентам ГС; диссеминированный туберкулёз - 2 пациентам ОГ и 2 пациентам ГС. Пациенты ОГ, ГС и КГ статистически значимо не отличались по полу и возрасту ($p > 0,05$).

Помимо стандартного клинико-лабораторного обследования пациентов проводилось определение количества моноцитов с рецепторами к ИФН- γ в пробах цельной крови методом проточной цитометрии на аппарате Beckman Coulter FC 500. В качестве реактивов использовали тест-систему CD45CD14CD119 фирмы "Инвитроген" (США). Концентрации ИФН- γ в сыворотке крови определяли с использованием набора реактивов фирмы Вектор-Бест (Новосибирск) методом ИФА. Анализ спектра чувствительности выделенных от пациентов культур микобактерий туберкулёза показал сохранение чувствительности к основным группам противотуберкулезных препаратов.

Анализ полученных результатов проведен при помощи программы Статистика 10.1. При нормальном типе распределения данных оценивали среднее значение и стандартное отклонение. При распределении, отличном от нормального, полученные данные представлены в виде медианы и 25, 75 перцентилей – Me (25% ÷ 75%). Для оценки результатов статистической обработки данных использовали пороговое значение показателя вероятности нулевой гипотезы (p) с использованием t -критерия Стьюдента при нормальном распределении и критерия Манна–Уитни при распре-

делении, отличном от нормального. Результаты оценивались как статистически значимые при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что абсолютное количество моноцитов с рецепторами к ИФН- γ (CD45CD14CD119) в 1 мкл крови у пациентов ОГ составило при поступлении 5,2 ($1,9 \div 21,3$), через 1 мес лечения – 6,1 ($3,7 \div 21$), через 2 мес лечения – 13,5 ($3,9 \div 18$), через 3 мес лечения – 2,9 ($1,7 \div 4,8$). У пациентов ГС абсолютное количество моноцитов CD45CD14CD119 в 1 мкл крови составило: при поступлении 3,4 ($0,6 \div 16,5$), через 1 мес лечения – 2,4 ($0,3 \div 11,2$), через 2 мес лечения – 6,3 ($1,9 \div 16,2$), через 3 мес – 11,5 ($2,9 \div 67$). Абсолютное количество моноцитов CD45CD14CD119 в 1 мкл крови пациентов из КГ составило 1,3 ($0,2 \div 2$).

У пациентов ОГ количество моноцитов с рецепторами к ИФН- γ (CD45CD14CD119) статистически значимо больше при поступлении и в первые 2 мес лечения ($p < 0,05$), чем у здоровых доноров, и не отличается от данных в КГ через 3 мес комплексной терапии ($p > 0,05$). В процессе лечения количество моноцитов CD45CD14CD119 в крови пациентов ОГ снижается статистически значимо к 3 мес лечения ($p = 0,028$), что совпадает с положительной клинической, рентгенологической динамикой (у 14 из 18 человек, что составило 77,7 %) и абациллированием пациентов (16 из 17 человек, что составило 94,1 %). У пациентов ГС количество моноцитов с рецепторами к ИФН- γ (CD45CD14CD119) статистически значимо больше, чем в КГ через 2 и 3 мес терапии ($p < 0,05$). При этом в процессе лечения отмечается снижение количества моноцитов с рецепторами к ИФН- γ через 1 мес лечения, что на данном этапе является неблагоприятным фактором [4]. Со 2 мес терапии количество моноцитов CD45CD14CD119 у пациентов ГС увеличивается и продолжает расти к 3 мес лечения ($p < 0,05$). Данная динамика сопровождается и худшими клинико-рентгенологическими показателями у пациентов ГС, по сравнению с ОГ. Так, через 3 мес терапии в ГС абациллирование выявлено у 15 из 17 пациентов (88,2 %), а положительная рентгенологическая динамика отмечена только у 11 из 18 пациентов (61,1 %), что на 16,6 % меньше, чем в ГС. Динамика абсолютного количества

Таблица 1. Динамика показателей моноцитов с рецепторами CD45⁺CD14⁺CD119⁺ в процессе наблюдения (в 1 мкл крови, Me (25%; 75%))

Сроки обследования	ОГ (n = 18)	ГС (n = 18)	КГ (n = 18)
При поступлении	4,8 (1,9; 21,3)*	3,4 (0,6; 13,3)	0,9 (0,2; 1,9)
Через 1 мес лечения	5,7 (3,7; 21)*	2,4 (0,3; 11,2)	-
Через 2 мес лечения	13 (3,9; 17,7)*	6,1 (1,9; 14,8)*	-
Через 3 мес лечения	2,9 (1,7; 4,8)*	11,5 (2,9; 61)*	-

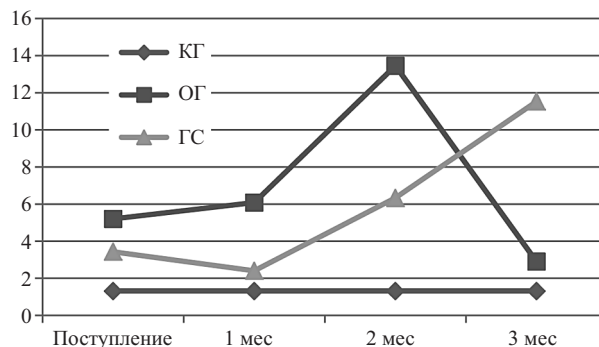
Примечание. КГ – контрольная группа (здоровые доноры), ОГ – основная группа (стандартная терапия + циклоферон), ГС – группа сравнения (стандартная терапия).

* Отличия от контроля достоверны ($p < 0,05$).

моноцитов CD45CD14CD119 в процессе лечения представлена на рисунке.

Изучение моноцитов с разной степенью экспрессии CD14 и CD119 представляет научный интерес, так как в случае снижения аффинности связывания рецептора и лиганда при нормальном количестве рецепторов ответ на воздействие интерферона-гамма снижается. Количество моноцитов с рецепторами с умеренной экспрессией CD14 и CD119 ($CD45^+CD14^+CD119^+$) в 1 мкл крови у пациентов ОГ составило при поступлении 4,8 (1,9; 21,3), через 1 мес лечения – 5,7 (3,7; 21), через 2 мес лечения – 13 (3,9; 17,7), через 3 мес – 2,9 (1,7; 4,8). В ГС количество моноцитов $CD45^+CD14^+CD119^+$ в 1 мкл крови составило при поступлении 3,4 (0,6; 13,3), через 1 мес лечения – 2,4 (0,3; 11,2), через 2 мес лечения – 6,1 (1,9; 14,8), через 3 мес – 11,5 (2,9; 61). Количество $CD45^+CD14^+CD119^+$ в 1 мкл крови в КГ составило 0,9 (0,2; 1,9). Полученные данные приведены в табл. 1.

Количество моноцитов $CD45^+CD14^+CD119^+$ в крови пациентов ОГ статистически значимо больше, чем в КГ при поступлении и в процессе 3 мес лечения ($p < 0,05$). Отмечается увеличение количества $CD45^+CD14^+CD119^+$ у пациентов ОГ в первые 2 мес комплексного лечения с включением циклоферона ($p > 0,05$), что обеспечивает адекватный иммунный ответ. К 3 мес лечения происходит статистически значимое снижение количества $CD45^+CD14^+CD119^+$, по сравнению с данными через 1 мес лечения ($p < 0,05$), что указывает на начало процесса выздоровления. Количество $CD45^+CD14^+CD119^+$ в ГС статистически значимо не отличается от КГ при поступлении и через 1 мес лечения ($p > 0,05$) и статистически значимо больше, чем в КГ через 2 и 3 мес лечения ($p < 0,05$). Через 1 мес лечения отмечается снижение количества моноцитов $CD45^+CD14^+CD119^+$ в крови пациентов ГС ($p > 0,05$), что на данном этапе неблагоприятно. Ко 2 мес лечения количество моноцитов $CD45^+CD14^+CD119^+$ в крови пациентов ГС статистически значимо увеличивается и продолжает расти к 3 мес лечения ($p < 0,05$). У пациентов, получающих комплексную терапию с применением циклоферона, через 3 мес лечения количество моноцитов $CD45^+CD14^+CD119^+$ статистически значимо меньше, чем у пациентов ГС ($p < 0,05$).



Динамика абсолютного количества моноцитов, несущих рецепторы к ИФН-γ ($CD45^+CD14^+CD119^+$) в 1 мкл крови пациентов туберкулезом легких в процессе лечения и у здоровых доноров. По оси ординат – количество моноцитов с рецепторами к ИФН-γ; по оси абсцисс – сроки обследования пациентов. КГ – контрольная группа (здоровые доноры), ОГ – основная группа (стандартная терапия + циклоферон), ГС – группа сравнения (стандартная терапия).

Количество моноцитов с рецепторами с умеренной экспрессией CD14 и высокой экспрессией CD119 ($CD45^+CD14^+CD119^{++}$) в 1 мкл крови у пациентов ОГ при поступлении и в процессе 3 мес лечения составило 0 (0; 0) в 1 мкл. В ГС при поступлении и через 1 мес лечения количество $CD45^+CD14^+CD119^{++}$ в 1 мкл крови также было 0 (0; 0) в 1 мкл, однако через 2 мес лечения их количество увеличилось и составило 0 (0; 1,4) в 1 мкл, а через 3 мес – 0 (0; 1) в 1 мкл. У здоровых доноров количество $CD45^+CD14^+CD119^{++}$ составило 0 (0; 0) в 1 мкл. Количество $CD45^+CD14^+CD119^{++}$ в ГС через 2 мес лечения больше, чем в ОГ ($p < 0,05$), что является неблагоприятным прогностическим признаком [4].

Количество моноцитов с рецепторами с высокой экспрессией CD14 и умеренной экспрессией CD119 ($CD45^+CD14^{++}CD119^+$) в 1 мкл крови в КГ составило 0 (0; 0,2). Количество $CD45^+CD14^{++}CD119^+$ в 1 мкл крови у пациентов ОГ составило при поступлении 0 (0; 0,8), а далее (через 1, 2, 3 мес лечения) – 0 (0; 0). В ГС количество $CD45^+CD14^{++}CD119^+$ в 1 мкл крови при поступлении и в процессе наблюдения составило 0 (0; 0). В ОГ количество $CD45^+CD14^{++}CD119^+$ статистически значимо не отличается от КГ при поступлении и в процессе лечения ($p > 0,05$). В ГС количество $CD45^+CD14^{++}CD119^+$ статистически значимо меньше,

Таблица 2. Концентрация ИФН-γ в плазме крови пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких в процессе лечения (пг/мл, Ме (25%; 75%))

Сроки наблюдения	ОГ (n = 18)	ГС (n = 18)	КГ (n = 18)
При поступлении	1 (0,5; 3)*	5,5 (4,6; 8,6)*	0,4 (0; 1,1)
Через 1 мес лечения	0,8 (0; 4,4)*	2,4 (1; 7,7)*	-
Через 2 мес лечения	1,3 (0,1; 4,1)*	4,9 (1,7; 6,2)*	-
Через 3 мес лечения	3,2 (0,8; 9,9)*	2,7 (0,6; 7,4)*	-

Примечание. КГ – контрольная группа (здоровые доноры), ОГ – основная группа (стандартная терапия + циклоферон), ГС – группа сравнения (стандартная терапия).

* Отличия от контроля достоверны ($p < 0,05$).

чем в КГ ($p < 0,05$). Количество $CD45^+CD14^{++}CD119^+$ при поступлении преобладает в ОГ, по сравнению с ГС ($p = 0,05$). В процессе лечения количество $CD45^+CD14^{++}CD119^+$ в ОГ снижается и не отличается от ГС уже через 1 мес лечения ($p > 0,05$).

Количество моноцитов с рецепторами с высокой экспрессией $CD14$ и $CD119$ ($CD45^+CD14^{++}CD119^{++}$) у пациентов ОГ, ГС и в КГ составило 0 (0; 0) в 1 мкл.

При поступлении в стационар до начала лечения концентрация ИФН- γ в плазме крови у пациентов ОГ была 1 (0,5; 3) пг/мл, через 1 мес лечения – 0,8 (0; 4,4) пг/мл, через 2 мес лечения – 1,3 (0,1; 4,1) пг/мл, через 3 мес лечения – 3,2 (0,8; 9,9) пг/мл. У пациентов ГС концентрация ИФН- γ при поступлении составила 5,5 (4,6; 8,6) пг/мл, через 1 мес лечения – 2,4 (1; 7,7) пг/мл, через 2 мес лечения – 4,9 (1,7; 6,2) пг/мл, через 3 мес лечения – 2,7 (0,6; 7,4) пг/мл. В КГ концентрация ИФН- γ составила 0,4 (0; 1,1) пг/мл. Выявлено статистически значимо большее количество ИФН- γ в сыворотке крови у пациентов ОГ и ГС при поступлении и в процессе лечения по сравнению с КГ ($p < 0,05$). Полученные данные представлены в табл. 2.

У пациентов ОГ уровень ИФН- γ в крови статистически значимо меньше, чем у пациентов ГС при поступлении, через 1 и 2 мес лечения ($p < 0,05$), а через 3 мес лечения количество ИФН- γ в сыворотке крови у пациентов ОГ и ГС статистически значимо не отличается ($p > 0,05$). В процессе лечения концентрация ИФН- γ в сыворотке крови у пациентов ОГ статистически значимо увеличивается ($p < 0,05$). По сравнению с данными при поступлении количество ИФН- γ в сыворотке крови возросло у пациентов ОГ через 2 мес лечения в 1,4 раза, а через 3 мес лечения – в 3,2 раза ($p = 0,005$). Увеличение концентрации ИФН- γ в сыворотке крови пациентов с туберкулезом является благоприятным прогностическим признаком [7, 8].

У пациентов ГС статистически значимой динамики концентрации ИФН- γ в сыворотке крови не происходит. Через 1 мес лечения у пациентов ОГ концентрация ИФН- γ снижается в 2,2 раза; через 2 мес лечения – увеличивается в 2 раза по сравнению с данными через

1 мес лечения и становится практически равной данным при поступлении; через 3 мес лечения концентрация ИФН- γ снижается в 2 раза по сравнению с данными при поступлении. Известно, что недостаточная продукция ИФН- γ увеличивает риск манифестации туберкулеза, способствует распространению туберкулезного процесса, ухудшает течение и прогноз заболевания.

ВЫВОД

Включение в стандартную схему лечения пациентов с распространёнными формами туберкулеза лёгких и сохранённой лекарственной чувствительностью микобактерий туберкулеза к основным противотуберкулезным лекарственным средствам циклоферона (600 мг 3 раза в неделю *per os* в течение 3 мес) сопровождается нормализацией количества моноцитов, несущих рецепторы к интерферону-гамма к 3 мес лечения, в отличие от пациентов, получающих только стандартную химиотерапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом 2014 г., ВОЗ, Женева (2014), р. 171.
2. Ф. И. Ершов, Э. Б. Тазулахова, *От чего зависят эффекты индукторов интерферона*, Сб. науч. статей МЗ и социального развития РФ, Интерферон, Москва (2011), сс. 80 – 106.
3. А. К. Иванов, М. Г. Романцов, *Туберкулез: особенности клинического течения и возможности фармакотерапии на современном этапе*, Тактик-Студио, Санкт-Петербург (2010), с. 181.
4. О. Г. Иванова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Омск (2008).
5. Н. С. Правада, А. М. Будрицкий, *Мультирезистентный туберкулез: клинико-эпидемиологические особенности и тактика лечения*. Матер. междунар. науч.-практ. конф. «Внедрение новых подходов в борьбе с МЛУ / ШЛУ-ТБ в Беларуси», Минск (2014), сс. 102 – 104.
6. Т. Ю. Салина, Т. И. Морозова, *Цитокины и воспаление*, 1(11), 96 – 100 (2012).
7. Н. С. Шпаковская, Л. К. Суркова, Е. М. Скрыгина и др., *Мед. панорама*, № 10, 87 – 88 (2004).
8. E. Sahiratmadja, B. Alisjahbana, T. de Boer, et al., *Infect. Immun.*, 75(2), 820 – 829 (2007).

Поступила 17.06.15

ASSESSMENT OF INDICATORS FOR INTERFERON SYSTEM IN PATIENTS WITH COMMON FORMS OF PULMONARY TUBERCULOSIS RECEIVING COMPLEX THERAPY WITH CYCLOFERON

A. M. Budritskii and N. S. Pravada

Phthisiopulmonology Department, Vitebsk State Medical University, ul. Frunze 27, Vitebsk, 210023 Belarus

We have evaluated the efficacy of cycloferon inclusion in the complex therapy of newly diagnosed patients with common forms of pulmonary tuberculosis, based on monitoring of the number of monocytes with receptors to interferon-gamma (flow cytometry) and the concentration of interferon-gamma in the serum (ELISA). For this purpose, a group of 36 patients (18 patients received standard chemotherapy, and 18 additionally received 600 mg cycloferon tablets 3 times per week) was examined for 3 months. Control group consisted of 18 apparently healthy patients. The study did not include patients with multiple or extensively drug-resistant M. tuberculosis strains. The analysis of results showed a statistically significant positive dynamics of the level of monocyte receptors to interferon-gamma in patients receiving cycloferon as manifested by an increase in their number in the first 2 months of therapy (period of clinical manifestations of the disease), followed by a decrease in the 3rd months of treatment, which corresponds to clinical improvement, in contrast to patients treated with standard chemotherapy alone.

Keywords: tuberculosis; cycloferon; monocytes with receptors to interferon-gamma; interferon-gamma.