

ФАРМАКОЛОГИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ЦИКЛОФЕРОН В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ С РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ФОРМАМИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

С. Н. Демидик¹, Д. С. Суханов²

Представлены данные об исходных уровнях цитокинов (IFN- γ и IL-4) у здоровых и пациентов с различной распространенностью туберкулезного воспаления в легких. Показано, что у пациентов с распространенными формами туберкулеза легких исходно низкий уровень IFN- γ при относительно высокой концентрации IL-4 (в сравнении с ограниченными формами) указывает на наличие выраженного дисбаланса между Th1- и Th2-типами иммунного ответа. Применение циклоферона в комплексном лечении больных распространенными формами туберкулеза легких способствует повышению концентрации IFN- γ при исходно низких значениях (ниже среднего значения этого показателя у здоровых). Активация Th1-иммунного ответа под действием циклоферона способствует ранней ликвидации клинических проявлений интоксикации, положительной клинико-рентгенологической динамике и прекращению бактериовыделения, что по данным когортного анализа приводит к успешным результатам лечения.

Ключевые слова: туберкулез, иммуностимулирующие препараты, циклоферон, интерферон-гамма, интерлейкин-4, цитокины

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез назван экспертами ВОЗ “глобальной медико-социальной проблемой человечества” [3]. Актуальность проблемы туберкулеза сегодня возрастает с формированием лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ), что снижает эффективность антибактериальной терапии. Для разработки новых эффективных методов лечения туберкулеза необходимо понимание клеточно-молекулярных механизмов иммунологического контроля туберкулезной инфекции. Биологические свойства МБТ влияют на параметры иммунного ответа, которые во многом определяют исход туберкулезного процесса и возможности его лечения. При туберкулезе развитие иммунного ответа идет преимущественно в направлении образования лимфоцитов Th1, которые несут основную нагрузку в обеспечении протекторного ответа, главным образом за счет продукции интерферона-гамма (IFN- γ) с последующей IFN- γ -зависимой активацией макрофагов [10, 13]. Количественная и функциональная недостаточность лимфоцитов Th1 ведет к неконтролируемому росту МБТ и тяжелому течению туберкулезной инфекции. При дифференцировке наивных лимфоцитов с образованием Т-хелперов 2 типа (Th2) происходит подавление активности гена IFN- γ с активацией гена интерлейкина-4 (IL-4), что стимулирует гуморальное звено иммунитета, в целом “непротекторное” по отношению к туберкулезу [8, 10, 15]. Таким образом сбалансированность Т-клеточного ответа при туберкулезной инфекции имеет большое значение.

В терапии туберкулеза с проявлениями иммунного дисбаланса велико значение иммуностимулирующих препаратов [1, 6, 14]. Перспективными иммуностимулирующими препаратами в комплексной терапии туберкулеза могут быть индукторы интерферона. Обладая теми же свойствами, что и интерфероны, индукторы стимулируют пролиферацию, дифференцировку клеток костного мозга, используя механизмы естественного (врожденного) и адаптивного (приобретенного) иммунитета. Они способны включать систему интерферона, вызывая в клетках организма синтез собственных (эндогенных) интерферонов. Во фтизиатрической практике нашел применение тилорон (амиксин), положительно влияющий на клинико-рентгенологическое течение инфекционного процесса [2, 11]. Однако при длительном использовании препарат способен к образованию стабильных комплексов с молекулами ДНК, что в ряде случаев ограничивает его применение. Одним из наиболее безопасных и эффективных низкомолекулярных индукторов интерферона является циклоферон [метиллюминола (метилглюкоамино) акридонат] (ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”, Россия) относящийся к ранним индукторам интерферонов. Имея низкую токсичность, препарат обладает выраженным иммуномодулирующим действием. В клетках моноцитарной линии *in vitro* образует нестабильные комплексы с ДНК, не влияет на экспрессию генов TNF- α . Несмотря на широкое применение в медицинской практике иммуномодуляторов, в том числе индукторов интерферонов, механизм их действия остается во многом неизвестным [4, 9].

Целью настоящей работы было изучить динамику IFN- γ и IL-4 в сыворотке крови у пациентов с распространенными формами туберкулеза легких в комплексной терапии с включением циклоферона с оценкой клинико-рентгенологических результатов основного курса лечения специфического процесса.

¹ Кафедра фтизиопульмонологии (зав. – С. Б. Вольф) Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь.

² Кафедра фтизиатрии и торакальной хирургии (зав. – проф. А. В. Елькин) Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе Гродненского областного клинического центра “Фтизиатрия” с 2009 г. по настоящее время. Обследовано 238 пациентов: 32 пациента – с ограниченными формами туберкулеза; 206 пациентов с распространенными (поражение 3-х и более сегментов) формами туберкулеза легких методом рандомизации разделены на основную группу (ОГ) и группу сравнения (ГС). 95 пациентов ГС получали только химиотерапию согласно протоколам лечения. 111 пациентов ОГ на фоне химиотерапии получали циклоферон. Препарат назначали в первые 2 недели после поступления в стационар в виде раствора 125 мг/мл по 2 мл 1 раз в день внутримышечно согласно инструкции по медицинскому применению.

Пациенты ОГ и ГС существенно не отличались по возрасту и половому составу, характеристике туберкулезного процесса, режимам этиотропной терапии. Среди больных ОГ и ГС преобладали мужчины соответственно – 69 и 70,4%, $p > 0,05$. Средний возраст обследованных ОГ $43 \pm 11,3$, ГС – $46 \pm 12,5$ года, $p > 0,05$. При поступлении в клинику у обследованных преобладали следующие клинические формы туберкулеза легких: инфильтративный – 74,6 и 79,6%, диссеминированный – 21,1 и 18,5% соответственно в ОГ и ГС. Наличие полостей распада подтверждено томографически у 74,1% и 78,9% пациентов ОГ и ГС. Бактериовыделители в группах составляли 76 и 79,6% соответственно. Отмечена высокая частота наличия множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) МБТ обследованных пациентов – 46,3 и 41,9% в ОГ и ГС ($p > 0,05$).

У всех пациентов были проведены стандартные общеклинические, рентгенологические, лабораторные исследования. Определяли концентрацию IFN- γ и IL-4 в сыворотке крови до лечения (в течение первой недели) и через 2 месяца терапии методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем “Цитокин”, Санкт-Петербург. В качестве внутрилабораторной нормы были взяты результаты определения уровня исследуемых цитокинов у 45 здоровых лиц (ретроспективный контроль).

Учитывая большую вариабельность индивидуальных значений IFN- γ у обследованных до начала лечения, для детальной оценки динамики его концентрации все пациенты были разделены на подгруппы. Критерием разделения явилось среднее значение концентрации IFN- γ сыворотке крови здоровых лиц. 58 пациентов составили группу с исходным низким уровнем IFN- γ и 46 – со значением этого показателя выше среднего уровня здоровых лиц.

К концу стационарного этапа лечения проводили комплексную оценку эффективности лечения больных по следующим критериям: “значительное улучшение”, “улучшение”, “относительная стабилизация”, “клинический эффект”, “прогрессирование” [6].

Для оценки результата терапии использовали стандартные определения исхода лечения больных туберкулезом в соответствии со стратегией DOTS: “излечен”, “лечение завершено”, “неудача в лечении”, “лечение прервано”, “смерть больного”, “больной выбыл из-под наблюдения”. Успешное лечение определяется как сумма

числа пациентов с зарегистрированными исходами лечения “излечен”, “лечение завершено” [7].

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ “Statistica 6.1”. Показатели с распределением, отличающимся от нормального, описывали при помощи медианы и интерквартильного размаха. Статистический анализ данных проводили с использованием непараметрических методов (критерии Вилкоксона и Манна-Уитни, хи-квадрат). Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для сравнительной характеристики влияния распространенности туберкулезного процесса на уровни IFN- γ и IL-4 определяли их исходные концентрации у больных с ограниченными и распространенными формами заболевания. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Установлено, что значимых различий в исходной концентрации IFN- γ в сыворотке крови при ограниченных формах туберкулеза и у здоровых не выявлено. В то же время при распространенных формах туберкулеза, его содержание было в 1,4 раза ниже, чем у здоровых, $p_2 < 0,05$. Одновременно при распространенном характере туберкулезного воспаления в легких уровень IFN- γ в сыворотке оказался в 1,9 раза ниже в сравнении с пациентами, имеющими ограниченный туберкулезный процесс, $p_3 < 0,01$. При оценке исходного уровня IL-4 в сыворотке крови у больных с различной распространенностью туберкулеза легких наблюдалась иная картина. При ограниченных формах туберкулеза исходная концентрация IL-4 в сыворотке крови была в 6,5 раза ниже, чем у здоровых, $p_1 < 0,001$, а при распространенных формах – лишь в 1,6 раза ниже, $p_2 = 0,01$. Установлена зависимость исходного уровня IL-4 от распространенности туберкулезного процесса в легких, где его уровень у больных с распространенным процессом был в 4 раза выше, чем у пациентов с ограниченным, $p_3 = 0,001$. Полученные данные об исходном низком уровне IFN- γ и относительно высокой (в сравнении с ограниченными формами) концентрации IL-4 позволяют предположить наличие выраженного дисбаланса между Th1 – и Th2 – типами иммунного ответа у пациентов с распространенными формами туберкулеза органов дыхания. Полученные данные явились основанием для назначения индуктора интерферонов циклоферона пациентам с распространенными формами туберкулеза легких.

При оценке динамики концентрации IFN- γ до и после 2-х месяцев лечения у пациентов ОГ и ГС установлены различные темпы его прироста (табл.2). Через 2 месяца терапии уровень IFN- γ в ОГ с использованием циклоферона значимо вырос ($p < 0,01$) а в ГС достоверных различий в его динамике не выявлено, $p > 0,05$. Через 2 месяца терапии средние показатели концентрации IL-4 как в ОГ, так и в ГС при исходно одинаковом значении снижаются синхронно и статистически незначимо.

Динамика уровня IFN- γ и IL-4 у пациентов ОГ и ГС при различной исходной концентрации IFN- γ представлена в табл. 3.

При оценке динамики концентрации IFN- γ значимое влияние циклоферона отмечено у пациентов ОГ с исход-

Таблица 1. Показатели уровней IFN-γ и IL-4 в сыворотке крови у здоровых лиц, пациентов с ограниченными и распространенными формами туберкулеза легких, до лечения

Концентрация IFN-γ и IL-4, пг/мл	Здоровые (внутрилабораторная норма)	Ограниченные формы	Распространенные формы	<i>p</i>
IFN-γ	194,1 (77,7 – 596,4)	272,3 (94,3 – 918,3)	141,8 (48,6 – 267,5)	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,01$
IL-4	15,3 (12,8 – 24,7)	2,3 (1,8 – 2,9)	9,2 (3,1 – 15,3)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,01$ $p_3 = 0,001$

Примечание. *p* – U критерий Манна-Уитни (медиана и 25%-75% квартильные различия). Критерий сравнения между: p_1 – здоровыми и больными ограниченными формами туберкулеза; p_2 – здоровыми и больными распространенными формами туберкулеза; p_3 – группами больных туберкулезом.

ным уровнем ниже среднего значения здоровых ($p = 0,001$). В то же время у пациентов ГС через 2 месяца терапии увеличение этого показателя было статистически не значимо ($p > 0,05$). Одновременно наблюдается значимое различие между уровнем IFN-γ в ОГ и ГС на фоне лечения, $p = 0,05$. Уровень IL-4 у пациентов анализируемых групп на фоне лечения имеет незначимый рост, однако, темпы роста различные: в ОГ на 14,7%, в ГС на 43%, т.е. в 1,4 раза больше. Анализ динамики концентрации IFN-γ в сыворотке крови у больных с исходно высоким его значением не выявил значимых различий в ОГ и ГС. При этом следует отметить, что у пациентов ОГ на фоне проводимой терапии отмечается его снижение, тогда как в ГС наблюдается тенденция к повышению уровня IFN-γ. Уровень IL-4 у пациентов как ОГ, так и ГС имеет тенденцию к снижению, разные темпы обусловлены различными исходными значениями.

При анализе эффективности стационарного лечения установлено, что более быстрая (до одного месяца) ликвидация клинических проявлений интоксикационного синдрома наблюдалась в ОГ – у 79,4%, против 53,9% в ГС, ($p < 0,001$). Негативация мокроты бактериологическим методом к 2-м месяцам терапии подтверждена у 51,1% пациентов ОГ, а в ГС – у 39,5% ($p > 0,05$). Через 4 месяца лечения прекращение бактериовыделения бактериологическим методом было установлено в ОГ у

Таблица 2. Динамика уровней IFN-γ и IL-4 в сыворотке крови у обследованных больных распространенными формами туберкулеза легких, пг/мл

Группы больных	Исходный уровень	Через 2 месяца	<i>p</i>
ОГ	IFN-γ (41,98 – 371,1)	248,7 (164,9 – 532,1)	$< 0,01^*$
	IL-4 (9,2 – 25,2)	12,4 (10,2 – 23,8)	$> 0,05$
ГС	IFN-γ (50,7 – 418,7)	227,7 (96,9 – 489,01)	$> 0,05$
	IL-4 (8,61 – 24,6)	12,7 (8,01 – 16,4)	$> 0,05$

Примечание. *p* – критерий Вилкоксона (медиана и 25%-75% квартильные различия).

75,3% пациентов, в ГС – у 59,2% ($p < 0,05$). При выписке из стационара негативация мокроты наблюдалась у 85,4 и 67,3% больных соответственно в ОГ и ГС ($p = 0,005$). Закрытие полостей распада в легких к концу стационарного этапа лечения достигнуто у 64,1% пациентов ОГ и у 48,2% – ГС ($p > 0,05$). Следует отметить, что в основной группе закрытие полостей происходило в более ранние сроки: до 4 месяцев – в 47,4% случаев, в группе сравнения лишь в 39,3%, $p > 0,05$. Положительная динамика очагово-инфильтративных изменений к 4-м месяцам терапии наблюдалась у 80,1% пациентов ОГ и 44,2% больных ГС, ($p = 0,001$). При оценке клинической эффективности стационарного лечения больных с распространенными формами туберкулеза легких по комплексным показателям были получены следующие результаты: “значительное улучшение” и “улучшение” достигнуто у 99,2% пациентов ОГ и у 64,2% – ГС ($p = 0,0001$); “относительная стабилизация”, отмечалась у 7,2% пациентов ОГ и у 20% – ГС, ($p < 0,01$); “клинический эффект” подтвержден у 3,6% больных ОГ и у 11,6% – ГС ($p < 0,05$); “прогрессирование” отмечено лишь у 4,2% пациентов ОГ.

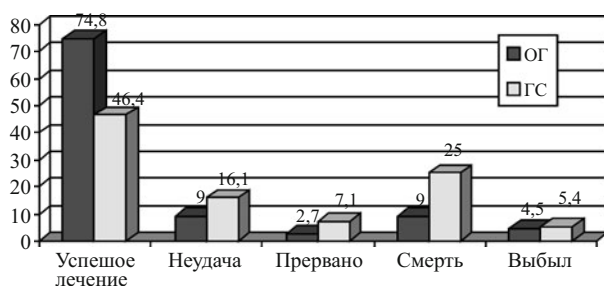
Результаты основного курса лечение больных с распространенными формами туберкулеза по данным когортного анализа представлены на рисунке.

При оценке исхода основного курса успешное лечение (сумма числа пациентов с зарегистрированными исходами лечения “излечен” и “лечение завершено”) было достигнуто значимо чаще у пациентов ОГ (71,1%), чем в у больных ГС – 45,9% ($p < 0,01$). “Неудача в лечении” уста-

Таблица 3. Динамика уровня IFN-γ и IL-4 в сыворотке крови у пациентов ОГ и ГС при различной исходной концентрации IFN-γ, пг/мл

Уровень IFN-γ	Группы больных	Исходный уровень	Через 2 месяца	<i>p</i>
≤ 194,1 (<i>n</i> = 58)	ОГ (<i>n</i> = 36)	IFN-γ	42,9 (31,4 – 78,6)	234 (127,2 – 490,4) ^U
		IL-4	9,5 (9,2 – 21,1)	10,9 (10,1 – 25,6)
	ГС (<i>n</i> = 22)	IFN-γ	52,02 (35,3 – 93)	112,1 (40,8 – 217,3)
		IL-4	10 (8,9 – 24,3)	14,3 (10,9 – 19,5)
> 194,1 (<i>n</i> = 46)	ОГ (<i>n</i> = 27)	IFN-γ	465,4 (322,8 – 1010)	373,1 (187,6 – 813,9)
		IL-4	43,7 (30,7 – 85,2)	13,1 (12,4 – 14,5)
	ГС (<i>n</i> = 19)	IFN-γ	454,5 (281,5 – 1247,9)	471,8 (278 – 935,2)
		IL-4	17,9 (5,8 – 23,9)	9,1 (5,4 – 14,7)

Примечание. *p* – критерий Вилкоксона (медиана и 25%-75% квартильные различия), U критерий Манна-Уитни, $p = 0,05$.



Результаты основного курса лечения больных основной группы и группы сравнения.

новлена у 9% пациентов ОГ против 16,1% в ГС. Исход “лечение прервано” получен у 2,7% ОГ, а в ГС у 7,1%. Смерть больного на фоне основного курса лечения от любой причины зарегистрирована у 9% пациентов ОГ и 25% – ГС (из них у 12,5% больных от туберкулеза), $p < 0,01$. У 4,5 и 5,4% пациентов ОГ и ГС исход – “больной выбыл из-под наблюдения”.

ВЫВОДЫ

1. Исходно низкий уровень IFN- γ при относительно высокой (в сравнении с ограниченными формами) концентрации IL-4 указывает на наличие выраженного дисбаланса между Th1 – и Th2 – типами иммунного ответа у пациентов с распространенными формами туберкулеза органов дыхания.

2. Применение циклоферона в комплексном лечении больных распространенными формами туберкулеза легких способствует повышению концентрации IFN- γ при исходно низких значениях (ниже среднего значения этого показателя у здоровых).

3. Активация Th1-иммунного ответа под действием циклоферона способствует ранней ликвидации клинических проявлений интоксикации, положительной клинико-рентгенологической динамике и прекращению бактериовыделения, что по данным когортного анализа приводит к успешным результатам лечения в 71,1% случаев (против 45,9% на фоне стандартной терапии).

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Белянина, А. К. Иванов, В. Г. Радченко, *Циклоферон в терапии больных туберкулезом легких с лекарственным и вирусным поражением печени*, Семакс, Санкт-Петербург (2010).
2. А. В. Мордык, А. В. Лысков, О. Г. Иванова, *Вестн. Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова*, № 4, 173 – 176 (2007).
3. В. В. Нечаев, А. К. Иванов, А. М. Пантелеев, *Социально-значимые инфекции*, Часть I, Береста, Санкт-Петербург (2011).
4. Д. С. Суханов, А. К. Иванов, А. Л. Коваленко, *Вопр. Курортол., физиотер. и леч. физ. культуры*, № 6, 34 – 37 (2009).
5. И. С. Гельберг, С. Б. Вольф, С. Н. Демидик и др., *Вестн. Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова*, № 1, 176 – 183 (2009).
6. *Исследование эффективности и переносимости ронколейкина при лечении прогрессирующего туберкулеза легких*, А. Б. Елькин (ред.), Санкт-Петербург (2009).
7. *Клиническое руководство по лечению туберкулеза*, Г. Л. Гуревич, Е. М. Скрягина, О. М. Калениц (ред.), Минск (2009).
8. Л. А. Шовкун, Э. А. Яговкин, Н. Э. Романцева, *Эпидемиол. и инфекцион. болезни*, № 2, 61 – 63 (2008).
9. М. Г. Романцов, А. Л. Коваленко, *Индуктор интерферона – циклоферон. Итоги и перспективы клинического применения*, Семакс, Санкт-Петербург (2007).
10. Н. С. Шмитова, И. Ю. Конакова, Н. А. Кондратьев и др., *Научные труды (К 85-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки, профессора М. М. Авербаха)*, Москва (2010), сс. 43 – 47.
11. Р. Г. Ковалева, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Санкт-Петербург (2006).
12. С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев, *Цитокины*, Санкт-Петербург (2008), сс. 425 – 430.
13. *Туберкулез. Особенности клинического течения и возможности фармакотерапии на современном этапе*, А. К. Иванов, М. Г. Романцов (ред.), Санкт-Петербург (2010).
14. *Циклоферон в клинической пульмонологии*, М. Г. Романцов, В. В. Ботвиньева (ред.), Санкт-Петербург (2005).
15. В. Palmer, N. Blyveis, A. Fontenot, et al., *J. Immunol.*, 8415 – 8423 (2005).

Поступила 25.01.12

CYCLOFERON IN THE COMPLEX THERAPY OF PATIENTS WITH WIDESPREAD FORMS OF PULMONARY TUBERCULOSIS

S. N. Demidik¹ and D. S. Sukhanov²

¹ Grodno State Medical University, ul. Gor'kogo 80, Grodno, 230015, Belarus

² Mechnikov State Medical Academy, Piskarevskii pr. 47, St. Petersburg, 195067, Russia

Research performed at the Grodno Regional Clinical Center “Phthisiology” was aimed at studying the dynamics of IFN- γ and IL-4 in serum of patients with widespread forms of pulmonary tuberculosis, treated by polychemotherapy with the use of cycloferon. Results of the clinical and laboratory evaluation of the effectiveness of the basic course of treatment are presented. A total of 238 patients, including 32 patients with limited forms of the pulmonary tuberculosis and 206 patients had widespread forms of pulmonary tuberculosis, were randomized into the basic group (BG) and comparison group (CG), where 95 CG patients received only polychemotherapy and 111 BG patients received polychemotherapy with the use of cycloferon. Data on the initial levels of cytokines (IFN- γ and IL-4) in healthy persons and patients with various spread of a tubercular inflammation in lungs are presented and compared. It is established that, in patients with widespread forms, initially low level of IFN- γ and high concentration IL-4 (in comparison with the limited forms) shows a severe disbalance between Th1- and Th2-mediated immune response. The administration of cycloferon in the complex therapy of patients with widespread forms leads to an increase in the IFN- γ concentration at initially low levels (below median level of this cytokine in healthy humans). Activation of the Th1-mediated immune response upon using cycloferon leads to an early elimination of clinical manifestations of the intoxication syndrome, positive roentgenological dynamics, conversion of sputum smear, and successful outcomes of treatment.

Key words: Tuberculosis, immunotropic drugs, cycloferon, gamma interferon, interleukin 4, cytokines