

Автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата
медицинских наук

Захаровой Марии Викторовны

Неовир в комплексной терапии больных впервые выявленным
инфильтративным туберкулезом легких

14.01.16

Медицинские науки

Д 001.052.01

Учреждение Российской Академии Медицинских Наук «Центральный
научно-исследовательский институт туберкулеза РАМН»

Тел. 8 (499) 785-90-05

e-mail: cniit@cniittamn.ru

Предполагаемая дата защиты диссертации – 23.11.2010

Дата размещения на официальном сайте

На правах рукописи

Захарова
Мария Викторовна

**НЕОВИР В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ВПЕРВЫЕ
ВЫЯВЛЕННЫМ ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ**

14.01.16 – фтизиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2010

Работа выполнена на кафедре фтизиатрии ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет Росздрава.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

В. А. Стаханов

Научный консультант:

доктор биологических наук

М. В. Мезенцева

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Свистунова Анна Семеновна

доктор медицинских наук, профессор

Борисов Сергей Евгеньевич

Ведущее учреждение: ГОУ ВПО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Росздрава.

Защита состоится «23» ноября 2010 г. в 13.00 часов на заседании Диссертационного совета Д 001.052.01 при Центральном научно-исследовательском институте туберкулеза РАМН по адресу: 107564 Москва, Яузская аллея, дом 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Центрального НИИ туберкулеза РАМН

Автореферат разослан «___» _____ 2010г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

Заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

В.А Фирсова

Актуальность исследования

Несмотря на достижения современной фтизиатрии, основные эпидемические показатели отражают неблагоприятную ситуацию по туберкулезу, сложившуюся в нашей стране с середины 90-х годов прошлого века [Цыбикова Э.Б, 2007, Скачкова Е.И., 2009]. Остаются высокими показатели заболеваемости и смертности населения от туберкулеза [Скачкова Е.И., 2009]. Продолжает увеличиваться доля бактериовыделителей, в том числе с лекарственной устойчивостью возбудителя, растет число рецидивов туберкулеза [Скачкова Е.И., 2009]. Поэтому повышение эффективности лечения больных туберкулезом остается одной из главных задач фтизиатрической службы. Туберкулез возникает у иммунокомпromетированных лиц и многие исследователи относят его к разряду иммунопатологических заболеваний [Маянский А.Н., 2001, Новицкий В.В, 2006, Тюлькова Т.Е, 2008, Ерохин В.В., 2009]. Знание особенностей иммунопатогенеза туберкулеза необходимо для совершенствования патогенетической терапии, применение которой повышает эффективность лечения больных.

Изучение изменений в экспрессии генов ряда цитокинов у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких позволит более глубоко понять и охарактеризовать нарушение синтеза цитокинов на уровне транскрипции. Исследование функционирования цитокиновой системы больных туберкулезом, выявление нарушений в ее работе и последующая их коррекция несомненно будут способствовать повышению эффективности лечения больных.

Правильный подбор противотуберкулезных и иммуностропных препаратов – основа лечения больных туберкулезом легких. Иммуностропная терапия широко применяется во фтизиатрической практике. К 2010 году в Государственном реестре лекарственных средств РФ зарегистрировано 468 иммуностропных препаратов [И.Г. Козлов, 2010]. Поэтому имеется

необходимость внедрения в практику диагностических методов, с помощью которых можно определить конкретный иммунотропный препарат, необходимый пациенту, спрогнозировать его возможную эффективность при определении индивидуальной клеточной чувствительности к иммуномодулятору.

Важную роль в иммунопатогенезе туберкулеза играют интерфероны. Включение в схемы лечения больных препаратов ИФН способствует ускорению процессов рассасывания инфильтрации легочной ткани, закрытию полостей распада, позволяет в более короткие сроки ликвидировать симптомы интоксикации, добиться абациллирования больных. Препараты, способные вызывать синтез эндогенных интерферонов, также являются одними из перспективных иммунотропных препаратов.

Цель исследования:

Повышение эффективности лечения больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких путем включения в комплексную терапию индуктора интерферонов Неовира.

Задачи исследования:

1. Оценить клиническую эффективность комплексного лечения, включающего индуктор интерферонов Неовир, у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

2. Провести сравнительный анализ клинической эффективности стандартной химиотерапии и комплексного лечения, включающего Неовир, у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

3. Исследовать интерфероновый статус и цитокиновый профиль больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала специфической противотуберкулезной терапии.

4. Изучить клеточную чувствительность и резистентность к иммуностропным и противотуберкулезным препаратам биологическим методом у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения и в процессе проведенного лечения.

5. Изучить изменения интерферонового статуса и цитокинового профиля больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в процессе комплексного лечения, в том числе с применением Неовира.

6. Определить взаимосвязь клинической эффективности и изменений цитокинового профиля и интерферонового статуса у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Научная новизна:

Впервые научно обоснована эффективность комплексного лечения, включающего индуктор интерферонов Неовир, больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Впервые изучен интерфероновый статус больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких с определением клеточной чувствительности к иммуностропным и противотуберкулезным препаратам.

Впервые исследован цитокиновый профиль больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких с определением экспрессии генов 11 цитокинов (ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО- α) и проведен корреляционный анализ связи параметров цитокинового профиля с клинико-рентгенологическими проявлениями туберкулезного процесса.

Впервые исследованы изменения цитокинового профиля и интерферонового статуса больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в процессе противотуберкулезной терапии и

определены параметры цитокинового профиля, коррелирующие с эффективностью проводимого лечения.

Впервые изучено влияние Неовира на цитокиновый профиль и интерфероновый статус больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Практическая значимость работы:

Включение Неовира в комплексную терапию позволяет повысить клиническую и иммунологическую эффективность лечения больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Применение биологического метода для исследования интерферонового статуса и методов ОТ-ПЦР для изучения цитокинового профиля позволяет выявлять изменения в системе цитокинов у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких, что необходимо для осуществления коррекции выявленных нарушений.

Определение чувствительности к противотуберкулезным и иммуностропным препаратам биологическим методом позволяет рекомендовать рациональные схемы лечения больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Положения, выносимые на защиту:

1. У больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких имеются изменения в интерфероновом статусе в виде снижения способности к продукции ИФН- α и ИФН- γ ; в цитокиновом профиле в виде нарушений механизмов синтеза ИФН- γ , усиления синтеза провоспалительных цитокинов на транскрипционном уровне и дисбаланса функциональной активности макрофагального звена иммунной системы в продукции цитокинов.

2. Исследование интерферонового статуса и цитокинового профиля больных, включающее определение чувствительности к иммуностропным и противотуберкулезным препаратам, повышает диагностические возможности и эффективность лечебных мероприятий во фтизиатрии.

3. Включение в комплексное лечение больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких иммуностропного препарата Неовир положительно влияет на клиническую эффективность терапии и сопровождается нормализацией механизмов синтеза ИЛ-6 и ИЛ-12.

Внедрение результатов исследования:

Результаты исследования внедрены в практику работы ПТКД № 4 г. Москвы, лаборатории микробиологии латентных инфекций ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, а также в учебный процесс на кафедре фтизиатрии ГОУ ВПО РГМУ.

Апробация работы:

Работа апробирована на совместном заседании кафедры фтизиатрии ГОУ ВПО РГМУ, ПТКД № 4, г. Москвы, ТКБ № 7 г. Москвы, лаборатории микробиологии латентных инфекций НИИЭМ им. Гамалеи РАМН.

Основные положения работы доложены и обсуждены на симпозиуме «Новые технологии в диагностике и лечении туберкулеза» в рамках XVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 2009), научно-практической конференции молодых ученых, посвященной Всемирному дню борьбы с туберкулезом «Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей» (Москва, 2009), II Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2010), научно-практической конференции «Современные

технологии оказания противотуберкулезной помощи населению» (Екатеринбург, 2010).

Публикации:

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 2 статьи в ведущих рецензируемых журналах ВАК.

Объем и структура диссертации:

Работа изложена на 134 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, состоящего из 229 источников, в том числе 74 иностранных. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 22 рисунком, 3 клиническими примерами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа основана на наблюдении за 63 больными впервые выявленным инфильтративным туберкулезом, проходивших комплексное обследование и лечение в условиях ПТКД №4 г. Москвы в течение 2008-2010 гг. Возраст больных от 18 до 60 лет, преобладали больные в возрасте до 40 лет. Большинство пациентов (68%) составили мужчины. Обследование пациентов проводилось в соответствии с действующим Федеральным стандартом, утвержденным приказом Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003.

У 42 (66,7%) больных поражение легочной ткани туберкулезным процессом ограничивалось 2 сегментами, деструкция легочной ткани выявлена у 35 (55,6%) больных, из них у 25 (71,4%) больных деструкция превышала 1 см. Бактериовыделителями являлись 36 (57,1%) больных, в том числе 8 (22,2%) больных выделяли МБТ устойчивые к действию ПТП. У

всех больных туберкулезный процесс проявлялся симптомами интоксикации в различном сочетании, преобладали больные со слабо и умеренно выраженной интоксикацией. 42 (66,7%) больных предъявляли респираторные жалобы. Изменения в анализах крови зафиксированы у 37 (58,7%) больных, у 75,7% из них выявлен лейкоцитоз у 62,2% больных – ускорение СОЭ. При проведении фибробронхоскопии у 17,5% больных выявлена различная патология бронхиального дерева, специфическая у 36,4% из них, в том числе инфильтративный туберкулез бронха – у 1 (9,1%) больных, пигментные пятна – у 1 (9,1%) больных, рубцовые изменения – у 2 (18,2%) больных.

Все больные получали лечение в соответствии со стандартными режимами химиотерапии, утвержденными приказом Минздрава РФ № 109.

Для решения поставленной задачи сформированы две группы больных, сопоставимые по клинико-рентгенологическим проявлениям туберкулезного процесса. В схему лечения 32 больных основной группы, помимо стандартной химиотерапии, включен индуктор ИФН – Неовир. Препарат назначался со 2 недели лечения в виде внутримышечных инъекций в разовой дозе 250 мг, курс лечения состоял из 10 инъекций, введение препарата осуществлялось 2 раза в неделю. 31 больной контрольной группы получал только стандартную химиотерапию. Оценка эффективности терапии проводили путем анализа динамики исчезновения симптомов интоксикации, жалоб со стороны дыхательной системы, нормализации гематологических показателей, скорости абацилирования, рентгенологически контролировали темпы рассасывания инфильтративных изменений, уменьшение и закрытие полостей распада.

У всех больных до начала противотуберкулезной терапии исследовался цитокиновый профиль и расширенный интерфероновый статус с определением чувствительности к ряду иммуномодуляторов и ПТП. У 61 больного исследования интерферонового статуса и цитокинового профиля проведены трехкратно – до начала лечения, у больных основной группы – на 2 и 30 день после окончания курса иммунотерапии с применением неовира, у

больных контрольной группы в аналогичные сопоставимые сроки, т.е до лечения, на 50 и 80 день лечения. Цитокиновый профиль и расширенный интерфероновый статус исследовались в лаборатории микробиологии латентных инфекций ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России. Интерфероновый статус с определением чувствительности к иммунотропным и ПТП исследовался биологическим методом. Оценивались следующие показатели интерферонового статуса: уровень сывороточного ИФН в плазме крови; уровень спонтанно продуцируемого ИФН; способность к продукции ИФН- α и ИФН- γ ; чувствительность к иммунотропным препаратам и ПТП. Определяли чувствительность к 5 препаратам ИФН- α (реаферону, реальдирону, роферону, интрону А, ЧЛИ) с использованием прайминг-эффекта к препарату, ИФН- γ (гаммаферону), индукторам ИФН (амиксину, кагоцелу, неовиру, циклоферону), а также к ронколейкину, полиоксидонию и ликопиду. Из ПТП биологическим методом определялась чувствительность больных к изониазиду, феназиду, рифампицину, этамбутолу, пипразинамиду, стрептомицину, канамицину, протионамиду, ПАСК, ципрофлоксацину. Цитокиновый профиль исследовался с использованием методов ОТ-ПЦР путем определения активности мРНК 11 цитокинов в МПК (ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО- α). Показатели интерферонового статуса и цитокинового профиля больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом сравнивались с результатами обследования 100 практически здоровых лиц, в том числе 40 мужчин и 60 женщин, в возрасте от 20 до 65 лет [Мезенцева М.В., 2005]. Материалом для исследования интерферонового статуса и цитокинового профиля являлись клетки, выделенные из гепаринизированной венозной крови здоровых лиц и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких. При исследовании чувствительности к препаратам ИФН среди здоровых людей можно выделить следующие группы: чувствительные только к ИФН- α , чувствительные только к ИФН- γ , чувствительные к ИФН- α и ИФН- γ ,

резистентные к ИФН. Отмечено, что среди здоровых людей преобладают чувствительные к ИФН, резистентность к ИФН выявляется у 7% здоровых лиц [Мезенцева М.В., 2005].

При исследовании цитокинового профиля у здоровых лиц, как правило, практически не выявляются мРНК ИФН- α , ИЛ-2, ИЛ-4, у трети выявляются мРНК ИФН- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-18, у 70-75% из них определяются мРНК ИЛ-12 и ФНО- α .

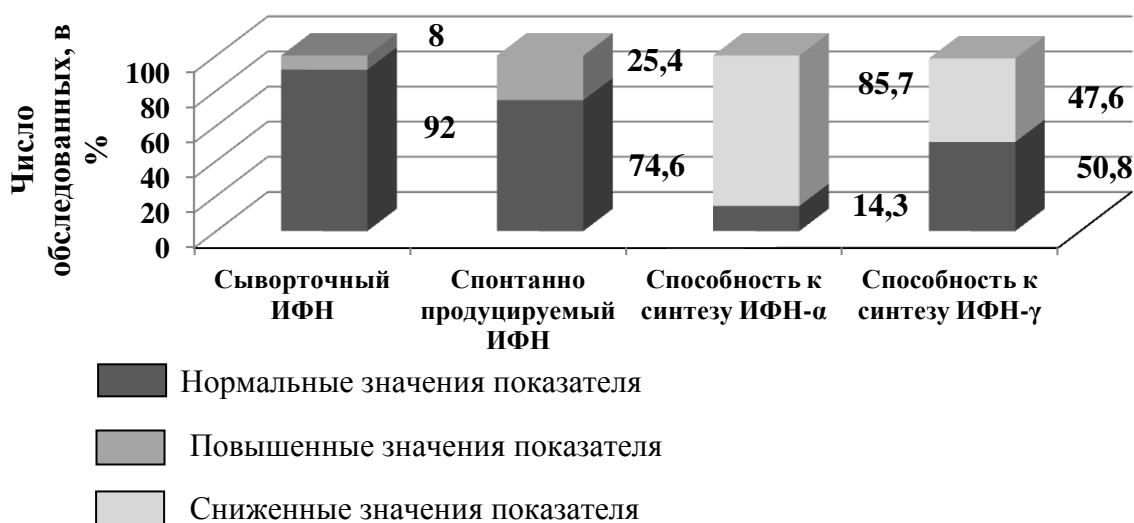
Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием методов параметрического и непараметрического анализов, на персональном компьютере с помощью статистической программы обработки данных Statistical Package for the Social Science версия 17.0.

Результаты исследования

Результаты исследования интерферонового статуса больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения показали, что у 85,7% больных имеется снижение способности к продукции ИФН- α , у 47,6% – к продукции ИФН- γ , у 8% – повышение уровня сывороточного интерферона, у 25,4% – повышение спонтанно продуцируемого интерферона (рис. 1).

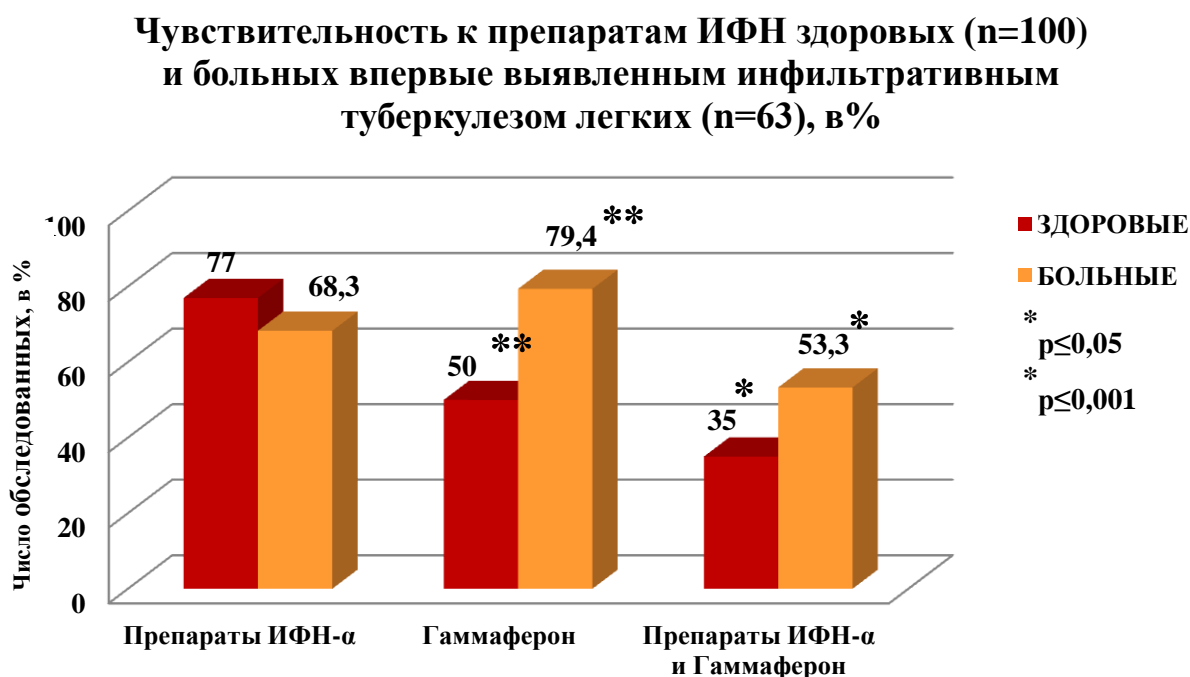
Рис. 1

Изменения интерферонового статуса у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения (n = 63)



При исследовании биологическим методом чувствительности больных к иммуностропным препаратам выявлено изменение клеточной чувствительности и резистентности к действию ИФН. Сведения о чувствительности к препаратам ИФН здоровых и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения представлены на рис. 2.

Рис. 2



Клеточная чувствительность к ИФН-γ (гаммаферону) больных в 1,5 раза выше, чем у здоровых лиц ($p \leq 0,001$) и преобладает над чувствительностью к препаратам ИФН-α. Все больные чувствительны хотя бы к одному из 5 иммуномодуляторов. 61,9% больных чувствительны к Неовиру.

В таблице 1 представлена характеристика резистентности к иммуностропным препаратам, определяемой биологическим методом, у здоровых лиц и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения.

Таблица 1

Резистентность к препаратам ИФН здоровых (n=100) и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких (n=63) до начала лечения

Характеристика чувствительности к препаратам ИФН	% здоровых лиц	Больные впервые выявленным инфильтративным туберкулезом		P
		Абс. число	%	
Чувствительны к препаратам ИФН-α и резистентны к гаммаферону	40	10	15,9	≤0,05
Чувствительны к гаммаферону и резистентны к препаратам ИФН-α	16	16	25,4	≥0,05
Резистентны ко всем препаратам ИФН-α и гаммаферону	7	3	4,8	≥0,05

Чувствительность к препаратам ИФН-α в сочетании с резистентностью к гаммаферону среди больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких фиксируется в 2,5 раза реже, чем среди здоровых лиц ($p \leq 0,05$). Частота встречаемости чувствительности к гаммаферону в сочетании с резистентностью к препаратам ИФН-α среди больных не достоверно выше, чем у здоровых.

У большинства больных была сохранена чувствительность к ПТП, определяемая биологическим методом. Не выявлено ни одного больного с полным отсутствием чувствительности ко всем ПТП препаратам. 36,5% больных оказались чувствительны ко всем использованным в исследовании ПТП, чувствительность ко всем препаратам первого ряда (основным) выше, чем к препаратам второго ряда (резервным) и выявляется у 50,8% и 41,3% больных соответственно.

В таблице 2 представлены сведения о продукции мРНК цитокинов у здоровых лиц и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом до начала лечения.

Таблица 2

Продукция мРНК цитокинов у здоровых лиц и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения

мРНК цитокинов	Число здоровых и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких с выявленной мРНК цитокинов (в %)				р
	Здоровые n=100		Больные n=63		
	Абс.ч	%	Абс.ч	%	
ИФН- α	5	5	60	95,2	$\leq 0,001$
ИФН- γ	30	30	27	42,9	$> 0,05$
ИЛ-1 β	35	35	31	49,2	$> 0,05$
ИЛ-2	5	5	48	76,2	$\leq 0,001$
ИЛ-4	5	5	45	71,4	$\leq 0,001$
ИЛ-6	20	20	31	49,2	$\leq 0,001$
ИЛ-8	10	10	35	55,6	$\leq 0,001$
ИЛ-10	20	20	58	92,1	$\leq 0,001$
ИЛ-12	70	70	31	49,2	$\leq 0,005$
ИЛ-18	30	30	58	92,1	$\leq 0,001$
ФНО- α	75	75	31	49,2	$\leq 0,005$
мРНК всех цитокинов	0	0	2	3,2	$> 0,05$

При исследовании цитокинового профиля до начала лечения более чем у 90% больных, в отличие от здоровых, была выявлена экспрессия генов ИФН- α и ИЛ-18, у 76,2% больных экспрессии гена ИЛ-2 и только у 49,2% больных экспрессия генов ФНО- α и ИЛ-12. Известно, что ИЛ-12 и ФНО- α участвуют в дифференцировке Т-лимфоцитов в Th1, стимулируют синтез ИФН- γ . Изменения в экспрессии генов перечисленных цитокинов свидетельствует о нарушении на транскрипционном уровне механизмов синтеза ИФН- γ и цитокинов, относящихся к Т-1 – типу.

О дисфункции макрофагального звена иммунной системы больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких свидетельствует выявленная у 92,1% больных экспрессия гена ИЛ-18, у 55,6% больных – экспрессия гена ИЛ-8, что выше чем у здоровых, и угнетение экспрессии гена ИЛ-12 у 50,8% больных.

Экспрессия гена ИФН- α зафиксирована нами у 95,2% больных. Известно о повышении уровня ИФН- α , регистрируемого методом ИФА, в сыворотке крови больных туберкулезом [Новицкий, 2006]. В нашем исследовании биологическим методом (ИФН статус) были выявлены низкие титры активного ИФН- α (таблица 3). Это может говорить о наличии у пациентов высокого ингибитора этого типа ИФН, вырабатываемого при гиперактивации системы ИФН.

Таблица 3

Показатели ИФН статуса у здоровых лиц (n=100) и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких (n=63) до начала лечения

Показатель	Титры ИФН, М \pm m, МЕ/мл	
	Здоровые	Больные
Способность к продукции ИФН- α	50 \pm 10,2*	12,38 \pm 9,2*

*– значения представлены в виде 10xlog₂(титр⁻¹)

В ходе исследования у 64,5% больных выявлена экспрессия генов противовоспалительных цитокинов и ИЛ-4, и ИЛ-10, что говорит о выраженной активации транскрипции этих цитокинов по сравнению со здоровыми. По данным литературы, ИЛ-4 и ИЛ-10 оказывают супрессивное действие на макрофаги и являются антагонистами клеточного типа иммунного ответа [Ройт А. , 2000].

У 8 (22,2%) бактериовыделителей, включенных в исследование, выявлена устойчивость МБТ к ПТП, что позволило провести сравнительный анализ цитокинового профиля у больных, выделяющих МБТ, чувствительные и устойчивые к ПТП. Достоверно значимые различия в выявлении мРНК цитокинов зарегистрированы в отношении частоты выявления мРНК ИЛ-12 (p=0,042). В группе больных, выделяющих МБТ устойчивые к ПТП, частота встречаемости мРНК ИЛ-12 была достоверно выше (мРНК выявлена у 75% больных), чем в группе больных выделяющих МБТ, чувствительные к ПТП (мРНК выявлена у 46,4% больных). Известно, что ИЛ-12 активирует дифференцировку Т-лимфоцитов, направляет

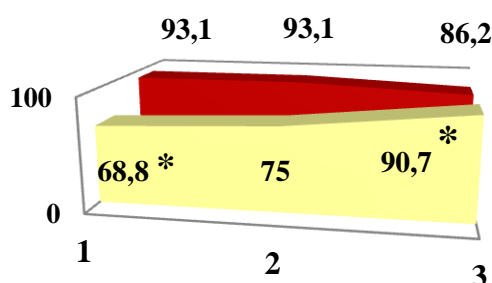
дифференцировку Th0 в сторону Th1, повышает их цитотоксическую активность, усиливает пролиферацию ЕК-клеток. Селективная ингибция синтеза ИЛ-12 позволяет патогенным микроорганизмам длительно персистировать в организме хозяина [Москалев А.В. 2006]. Вероятно, у больных, выделяющих МБТ устойчивые к ПТП, повышается потребность в этом цитокине.

На втором этапе исследования проводился сравнительный анализ эффективности лечения больных по стандартным режимам химиотерапии (контрольная группа) и с включением в схему лечения индуктора интерферонов Неовира (основная группа). Через 2 месяца лечения у всех больных основной группы купированы симптомы интоксикации. Достичь абациллирования, нормализации параметров гемограммы и достоверно значимого уменьшения площади инфильтрации легочной ткани удалось через 3 месяца комплексной терапии с применением Неовира. У больных контрольной группы симптомы интоксикации ликвидированы через 3 месяца, абациллирование достигнуто к 5 месяцу лечения. У 70,6% больных, получавших Неовир к 3 месяцу терапии удалось достигнуть закрытие деструкции легочной ткани, в контрольной группе – у 52,6% больных. Таким образом, включение в схему лечения больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом Неовира, позволяет достоверно в более короткие сроки купировать респираторные жалобы, симптомы интоксикации ($p \leq 0,05$), достигнуть абациллирования больных ($p \leq 0,05$), и получить положительную рентгенологическую динамику ($p \leq 0,05$). Положительная клиничко-рентгенологическая динамика у больных, получавших Неовир, сопровождалась изменениями в интерфероновом статусе и цитокиновом профиле.

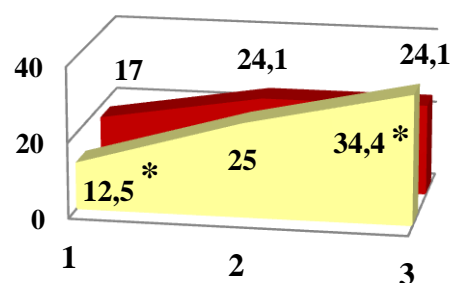
На рис. 3 представлены сведения о изменении числа больных в основной и контрольной группах с нормальными показателями спонтанно продуцируемого ИФН и способности к синтезу ИФН- α в процессе лечения.

Число больных с нормальными показателями спонтанно продуцируемого ИФН (А) и способности к синтезу ИФН-α (Б) в основной (n=32) и контрольной группах (n=29) в процессе лечения (в%)

А. Спонтанно продуцируемый ИФН



Б. Способность к синтезу ИФН-α



Сроки забора крови

- 1- до начала лечения
- 2- 50 день лечения
- 3- 80 день лечения

■ Контрольная группа

■ Основная группа

* $p \leq 0,05$

На 80 день лечения у больных основной группы, по сравнению с данными до начала лечения, выявлено достоверно значимое увеличение числа больных с нормализацией показателя спонтанно продуцируемого ИФН и способности к синтезу ИФН-α.

При исследовании чувствительности к иммунотропным препаратам на 50 день лечения в контрольной группе выявлено достоверно значимое уменьшение числа больных, чувствительных к гаммаферону ($p \leq 0,05$) по сравнению с основной группой. В основной группе к этому сроку наблюдения чувствительность к гаммаферону не изменилась по сравнению с данными до лечения (рис.4)

В процессе лечения в основной и контрольной группах выявлено увеличение числа больных одновременно резистентных к препаратам ИФН-α и ИФН-γ (рис. 5)

Рис. 4

Число здоровых лиц (n=100) и больных в основной (n=32) и контрольной группах (n=29) чувствительных к Гаммаферону в процессе лечения (в%)

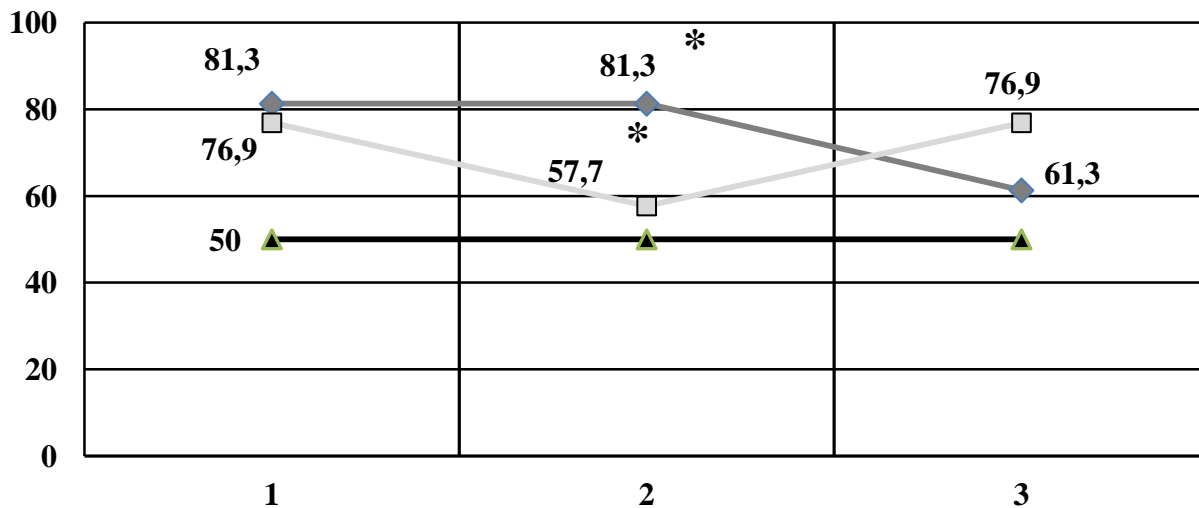
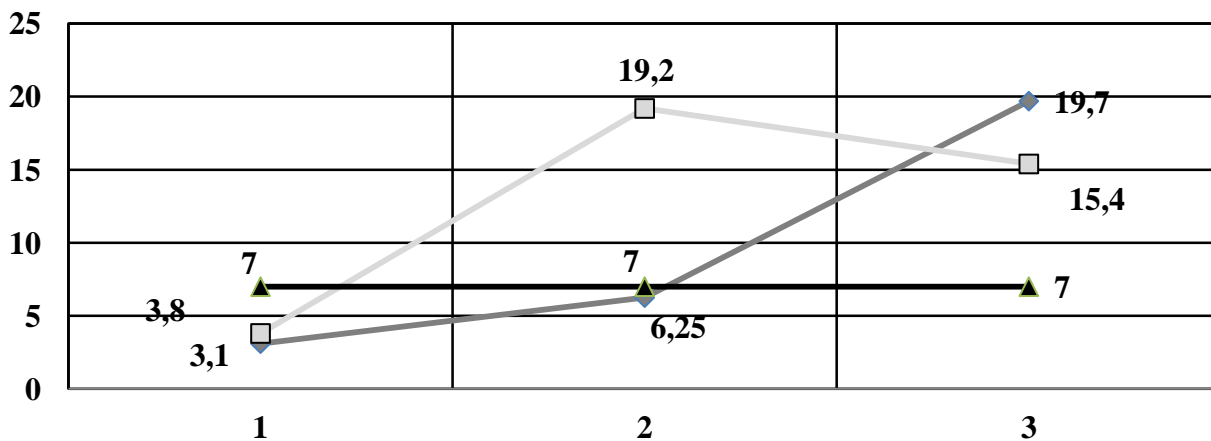


Рис.5

Число резистентных к препаратам ИФН-α и Гаммаферону среди здоровых (n=100) и больных основной (n=32) и контрольной группах (n=29) в процессе лечения (в%)



Сроки забора крови

1- до начала лечения

2 - 50 день лечения

3 - 80 день лечения

*p≤0,05

—◆— Основная группа
 —□— Контрольная группа
 —▲— Здоровые лица

При контрольных исследованиях цитокинового профиля на 50 и 80 день лечения между выделенными группами выявлены различия в экспрессии генов ряда цитокинов. Характеристика изменения частоты встречаемости мРНК цитокинов у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в процессе лечения по сравнению со здоровыми лицами представлена в таблице 4.

Таблица 4

Частота встречаемости мРНК цитокинов среди здоровых лиц и больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в процессе лечения (в %)

мРНК цитокинов	Здоровые	Число больных с выявленными мРНК цитокинов, в %					
		До начала лечения в группах		На 50 день лечения в группах		На 80 день лечения в группах	
		Основной n=32	Контрольной n=29	Основная n=32	Контрольной n=29	Основной n=32	Контрольной n=29
ИФН- γ	30	31,3	56,7	43,8	46,2	25*	50*
ИЛ-1 β	35	53,1	44,8	37,5	41,4	68,8**	41,4**
ИЛ-6	20 \wedge	46,9	51,7	31,3***	62,1***	37,5	44,8 \wedge
ИЛ-12	70	46,9	48,3	62,5	48,3	62,5****	31,0****

*p = 0,037, **p = 0,041, ***p = 0,02, ****p = 0,021, \wedge p = 0,05

При исследовании цитокинового профиля у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в процессе лечения нами зафиксировано иммуномодулирующее действие Неовира на уровне экспрессии генов цитокинов. Причем, Неовир способен одни гены активировать (ИЛ-1 β , ИЛ-12), а другие угнетать (ИЛ-6). Применение Неовира способствовало нормализации частоты выявления мРНК ИЛ-6 и ИЛ-12 цитокинов среди больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Нами проведен корреляционный анализ клинико-рентгенологических проявлений туберкулезного процесса, эффективности проводимого лечения и частоты встречаемости мРНК цитокинов. Для определения степени зависимости между изучаемыми параметрами и направленности связи использовали ранговый коэффициент корреляции Кендалла. Наличие

статистической значимости коэффициентов корреляции определялась при $p \leq 0,05$.

В таблице 5 представлены данные о корреляционных связях частоты встречаемости мРНК цитокинов и клинико-рентгенологических проявлений туберкулезного процесса и его динамики в процессе лечения у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких.

Таблица 5

Корреляционные связи частоты встречаемости мРНК цитокинов и клинико-рентгенологических проявлений туберкулезного процесса

Клинико-рентгенологические проявления туберкулезного процесса	Частота встречаемости мРНК цитокинов	r	p
Размер инфильтрата до лечения	ИЛ-12 до лечения	-0,318	0,011
Размер инфильтрата через 3 месяца лечения	ИЛ-6 до лечения	+0,258	0,038
Сроки ликвидации интоксикации	ИЛ-1 β на 80 день лечения	-0,265	0,031
Сроки ликвидации респираторных жалоб	ИЛ-1 β на 80 день лечения	-0,312	0,01
	ИЛ-6 на 80 день лечения	+0,350	0,004

Зафиксирована умеренная положительная корреляционная связь между темпами рассасывания инфильтрации легочной ткани, сроками ликвидации респираторных жалоб и частотой встречаемости мРНК ИЛ-6. Увеличение частоты встречаемости мРНК цитокина ИЛ-6 среди больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких повышает вероятность замедленной динамики рассасывания инфильтрации в легочной ткани и длительного сохранения у них респираторных жалоб. Известно, что ИЛ-6 способен предотвращать вхождение Т-лимфоцитов в апоптоз и защищает лимфоциты от Fas-опосредованной клеточной гибели [Кетлинский, Симбирцев, 2008]. Возможно, Неовир оказывает воздействие

на Т-лимфоциты и предотвращает их апоптоз, поэтому потребность в ИЛ-6 снижается и экспрессия его гена у больных основной группы так же снижается, чего не происходит у больных контрольной группы.

Выявлена умеренная отрицательная корреляционная связь между частотой встречаемости мРНК цитокина ИЛ-12 до лечения и размером инфильтрата в легочной ткани у больных до начала лечения. Отмечено, что чем выше частота выявления мРНК ИЛ-12, тем меньше площадь инфильтрации легочной ткани до лечения. Зафиксирована умеренная отрицательная корреляционная связь между частотой встречаемости мРНК цитокина ИЛ-1 β , сроками ликвидации респираторных жалоб и интоксикации. С увеличением частоты выявления мРНК ИЛ-1 β у больных, растет вероятность укорочения сроков ликвидации интоксикации и респираторных жалоб.

Выводы

1. Включение в комплексную терапию больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких препарата Неовир достоверно повышает клиническую эффективность лечения по сравнению со стандартным режимом химиотерапии. Клиническая эффективность Неовира проявляется в уменьшении сроков ликвидации симптомов интоксикации на 1 месяц ($p \leq 0,05$), уменьшении сроков бациллярности больных на 2 месяца ($p \leq 0,05$), уменьшении площади инфильтрации легочной ткани к 3 месяцу лечения на 30,7 см² ($p \leq 0,05$) и ускорении закрытия деструкции легочной ткани.

2. Нарушения интерферонового статуса выявлены до начала лечения практически у всех больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких: у 85,7% - зафиксировано снижение способности к продукции ИФН- α , у 47,6% – к продукции ИФН- γ , у 8% - повышение уровня

сывороточного интерферона, у 25,4% – повышение уровня спонтанно продуцируемого интерферона.

3. Все больные чувствительны хотя бы к одному из иммуномодулирующих препаратов. 53,3% больных одновременно чувствительны к препаратам ИФН- α и ИФН- γ , 61,9% больных чувствительны к Неовиру.

4. У больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких изменена клеточная чувствительность и резистентность к действию интерферонов, определяемая биологическим методом: клеточная чувствительность к ИФН- γ у больных в 1,5 раза выше ($p \leq 0,001$), а к ИФН- α – в 2,5 раза ниже чем у здоровых лиц ($p \leq 0,05$). В процессе стандартной химиотерапии у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких развивается резистентность к ИФН- α и ИФН- γ .

5. Нарушения цитокинового профиля у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких до начала лечения выражаются в повышении активности экспрессии генов ИФН- α (у 95,2% больных), ИЛ-1 β (у 49,2% больных), ИЛ-2 (у 76,2% больных), противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 (у 64,5% больных), ИЛ-8 (у 55,6% больных), ИЛ-6 (у 49,2% больных) ИЛ-18 (у 92,1% больных), а также угнетении экспрессии генов ФНО- α и ИЛ-12 (у 50,8% больных), что свидетельствует о нарушении на транскрипционном уровне механизмов синтеза ИФН- γ , активации Th-2 типа иммунного ответа и дисфункции макрофагального звена иммунной системы.

6. Иммуномодулирующий эффект препарата Неовир проявлялся в нормализации у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких уровня спонтанно продуцируемого ИФН (у 21,9% больных) и способности к синтезу ИФН- α (у 21,9% больных), нормализацией частоты выявления экспрессии генов цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-12. При этом у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких

сохранялась чувствительность к ИФН- γ , а уровень резистентности к ИФН 1 и 2 типа снижался в 2,8 раза.

7. Выявлена корреляционная связь клинической и иммунологической эффективности комплексного лечения больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких, включающего Неовир. Экспрессия гена цитокина ИЛ-6 коррелирует с замедленной динамикой рассасывания инфильтрации в легочной ткани ($r= +0,258$, $p=0,038$) и длительным сохранением респираторных жалоб ($r= +0,350$, $p=0,004$) у больных в процессе лечения, экспрессия гена цитокина ИЛ-12 – с малой площадью инфильтрации легочной ткани до лечения ($r= -0,318$, $p=0,011$), экспрессия гена цитокина ИЛ-1 β – с ускорением ликвидации интоксикации ($r= -0,265$, $p=0,031$) и респираторных жалоб ($r= -0,312$, $p=0,01$) у больных в процессе лечения.

Практические рекомендации

1. Рекомендовать включение в комплексное лечение больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких иммуностропного препарата Неовир, что сокращает сроки достижения положительного клинического и рентгенологического эффекта, коррелирующего с нормализацией ряда показателей цитокинового профиля.

2. Рекомендовать исследование интерферонового статуса у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких для определения показаний к проведению иммунотерапии, в т.ч. с определением чувствительности к иммуностропным препаратам для выбора средства иммунотерапии.

3. Рекомендовать исследование цитокинового профиля у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких для определения степени нарушений функций иммунной системы, прогноза течения заболевания и оценки эффективности проводимой терапии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Захарова М.В., Стаханов В.А. «Цитокиновый статус больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких». Материалы IX международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке» «Влияние Космической погоды на биологические системы в свете учения А.Л. Чижевского» 27-30 ноября 2008 года. С. 531

2. Захарова М.В. «Особенности интерферонового статуса больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких». Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза и других заболеваний легких. Сборник тезисов научно- практической конференции молодых ученых, посвященная дню борьбы с туберкулезом. Москва .2009 год. С. 41.

3. Захарова М.В., Стаханов В.А., Медуницына Н.Д., Семиошин В.В., Мезенцева М.В. «Влияние Неовира на интерфероновый статус больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких» Сборник материалов XVI российского национального конгресса «Человек и лекарство». 6-10 апреля 2009 года. Москва. С. 108

4. Захарова М.В., Стаханов В.А., Шаркова Т.И., Данькевич Е.Н., Мезенцева М.В. «Интерфероновый статус больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких» Сборник материалов XVI российского национального конгресса «Человек и лекарство». 6-10 апреля 2009 года. Москва. С. 109.

5. Стаханов В.А., Захарова М.В., Мезенцева М.В., Симонова А.В., Данькевич Е.Н. «Оценка иммунологической эффективности ронколейкина в комплексной терапии больных туберкулезом легких» Сборник материалов XVI российского национального конгресса «Человек и лекарство». 6-10 апреля 2009 года. Москва. С. 262.

6. Стаханов В.А., Захарова М.В., Шаповал И.М., Мезенцева М.В. «Цитокиновый профиль больных впервые выявленным инфильтративным

туберкулезом легких» Сборник материалов XVI российского национального конгресса «Человек и лекарство». 6-10 апреля 2009 года. Москва. С. 262.

7. Захарова М.В., Стаханов В.А., Мезенцева М.В. Цитокины в противотуберкулезном иммунитете // Вестник РУДН. – 2009. – №4. – С. 297-301.

8. Захарова М.В. «Дифференцированное назначение иммунотерапии больным впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких в зависимости от особенностей цитокинового профиля и интерферонового статуса». Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей. Сборник тезисов научно-практической конференции молодых ученых, посвященная всемирному дню борьбы с туберкулезом. Москва. 2010 год. С. 52-54.

9. Захарова М.В., Стаханов В.А., Данькевич Е.Н., Мезенцева М.В. «Нарушения механизмов синтеза цитокинов у больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких». Инфекционные болезни. Том 8, приложение № 1. Материалы II Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 19-31 марта 2010 года). С. 118.

10. Захарова М.В., Стаханов В.А., Козлова Н.М., Зотова И.М., Трегубова М. И., Мезенцева М.В. «Изменение цитокинового статуса больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких под влиянием Неовира». Сборник материалов XVII российского национального конгресса «Человек и лекарство». 12-16 апреля 2010 года. Москва. С. 324.

11. Стаханов В.А., Медуницына Н.Д., Захарова М.В., Шибанов А.М., Мезенцева М.В., Симонова А.В., Данькевич Е.Н., Иващенко Н.А. «Определение клинических и иммунологических показаний к назначению ронколейкина у больных туберкулезом легких». Сборник материалов XVII российского национального конгресса «Человек и лекарство». 12-16 апреля 2010 года. Москва. С. 333.

12. Захарова М.В., Стаханов В.А., Капунина О.И., Мезенцева М.В. «Нарушения цитокинового профиля больных впервые выявленным

инфильтративным туберкулезом легких». М а т е р і а л и науково-практичної конференції з міжнародною участю «Інфекції у практиці клініциста. Антибактеріальна, антивірусна, імунотерапія і імунопрофілактика в умовах поліклініки та стаціонар». 1 – 2 квітня 2010 року. Харків – 2010. – С.141-142.

13. Захарова М.В., Стаханов В.А., Шаповал И.М., Зотова И.Ф., Трегубова М.И., Капунина О.И., Мезенцева М.В. «Влияние Неовира на цитокиновый статус больных впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких». Развитие научных исследований и надзор за инфекционными заболеваниями. Материалы международной конференции / Под ред. А.Б. Жебруна. – СПб.: ФГУН НИИЭМ имени Пастера Роспотребнадзора, 2010. – 148 с. – С. 11.

14. Захарова М.В., Стаханов В.А., Семиошин В.В., Шаповал И.М., Зотова И.Ф., Трегубова М.И., Мезенцева М.В. «Синтез цитокинов у больных с впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких». Вестник уральской медицинской академической науки. Тематический выпуск по аллергологии и иммунологии. – 2010. – №2/1(29). – С. 134-135.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБН	-вирус болезни Ньюкасла
ВЭМК	-вирус энцефаломиокардита мышей
ИЛ	-интерлейкин
ИФА	-иммуноферментный анализ
ИФН	-интерферон
МБТ	-M. tuberculosis
МПК	-мононуклеары периферической крови

- мРНК -матричная рибонуклеиновая кислота
- ОТ-ПЦР -обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
- ПТП -противотуберкулезные препараты
- РНК -рибонуклеиновая кислота
- ТЕ -туберкулиновые единицы
- ФНО- α -фактор некроза опухоли α
- ЧЛИ -человеческий лейкоцитарный интерферон
- ФГА -фитогемагглютинин