

На правах рукописи

Казаков Алексей Владимирович

**ЛИМФОТРОПНАЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ ТЕРАПИЯ В
СОЧЕТАНИИ С РОНКОЛЕЙКИНОМ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ
БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ФОРМАМИ
ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ**

14.01.16 – фтизиатрия

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Лысов Анатолий Васильевич

Научный консультант:

доктор медицинских наук

Никонов Сергей Данилович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Кононенко Владимир Григорьевич

доктор медицинских наук

Жукова Елена Михайловна

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации»

Защита состоится «___» _____ 2010 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.201 при Новосибирском государственном медицинском университете Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52)

Автореферат диссертации разослан _____ 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

Н. Г. Патурина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Эпидемическая обстановка по туберкулезу в России и во всем мире остается напряженной (Rider G. L., 2001; Перельман М. И., 2001; Шилова М. В., 2008; Погожева Л. М., 2010).

Так заболеваемость туберкулезом по России (на 100 тыс. населения) в 2007 году составляла 83,2, в 2008 году – 85,1, а в 2010 году – 82,6. По Омской области этот показатель составил в 2007 году – 128,8, в 2008 году – 132,8, а в 2010 году – 129 на 100 тыс. населения.

Кроме того, отмечается рост количества остропрогрессирующих форм с распространенным поражением легочной ткани, множественными полостями распада, бактериовыделением, лекарственной устойчивостью, зачастую, первичной (Мишин В. Ю., 2004). По данным «НИИ организации и информатизации здравоохранения» по России увеличивается доля бактериовыделителей среди впервые выявленных больных туберкулезом (в 2007 году – 34,2 %, в 2008 году – 35,3 %). В Омской области, по данным Л. М. Погожевой (2010 г.), также наблюдается рост этого показателя (38,2 % в 2007 году, 43,5 % в 2008 году и 45,5 % в 2009 году).

Клиническое излечение в среднем по России у впервые выявленных больных достигает всего лишь 53,4 %. Наиболее низкие результаты лечения получены у больных с наличием бактериовыделения и полостей распада в легких. Также результаты лечения впервые выявленных больных туберкулезом в значительной мере зависят от наличия лекарственной устойчивости микобактерий (далее – МБТ) к противотуберкулезным препаратам. Клиническое излечение туберкулеза у больных с первичной множественной лекарственной устойчивостью (далее – МЛУ) находится на уровне 16 % (Шилова М. В., 2008).

Таким образом, повышение эффективности лечения больных распространенными формами туберкулеза легких является актуальной задачей современной фтизиатрии.

Цель исследования. Повышение эффективности этиопатогенетического лечения больных распространенными формами туберкулёза лёгких посредством лимфотропного введения противотуберкулезных препаратов в сочетании с ронколейкином.

Задачи:

1. Разработать способ комбинированной химиоиммунотерапии, основанный на адресной ретростернальной доставке противотуберкулезных

препаратов и ронколейкина к поражённому лёгкому в составе лимфотропной смеси.

2. Обосновать показанность иммунокоррекции с применением ронколейкина на основании данных исследования нарушений антигенспецифического иммунного ответа при распространенных формах туберкулеза легких.

3. На основании лимфосцинтиграфического исследования охарактеризовать особенности распределения лимфотропного радиофармпрепарата Наноцис в органах грудной и брюшной полостей в зависимости от пути введения и сочетания с ронколейкином и лимфотропной смесью.

4. Провести сравнительную оценку эффективности лечения больных распространёнными формами туберкулёза лёгких традиционным и предлагаемым способом верхней ретростеральной лимфотропной химиоиммунотерапии с ронколейкином.

Научная новизна работы. В данном исследовании впервые во фтизиатрической практике в соответствии с современными принципами доказательной медицины предприняты сравнительные исследования закономерностей и тенденций распределения лекарственных веществ в организме больного туберкулёзом лёгких при введении истинного лимфотропного радиофармпрепарата Наноцис в аксиллярные и ретростеральные клетчаточные пространства в комбинации с лимфотропной смесью и ронколейкином. Впервые во фтизиатрии применена аксиллярная и верхняя ретростеральная лимфосцинтиграфия с диагностическим лимфотропным радионуклидным фармпрепаратом Наноцис для выявления у ронколейкина свойства смещать тропизм радиоактивных меток к области специфического воспалительного процесса в лёгочной паренхиме и ретикулоэндотелию селезёнки. Применены самые точные способы компьютерной регистрации в визуальном, цифровом, графическом режимах.

Впервые зарегистрированы saniрующие, противовоспалительные, иммуномодулирующие и репаративные эффекты лечения больных распространённым туберкулёзом лёгких сочетанным применением ретростерального или аксиллярного введения ронколейкина и противотуберкулёзных препаратов в составе лимфотропной смеси.

Предложен новый способ ретростерального введения противотуберкулезных препаратов в комбинации с иммуномодулятором ронколейкином (приоритетная справка № 2009124682 от 29.06.09).

Практическая значимость исследования. Разработан метод ретростеральной лимфотропной противотуберкулёзной терапии в сочетании с ронколейкином, который повышает эффективность стандартного лечения больных распространенными формами туберкулёза лёгких за счёт адресной доставки вводимых химиопрепаратов в очаг туберкулёзного поражения, восстановления антигенспецифического иммунного ответа, активации санирующих и репаративных механизмов. Предложенный метод прост в исполнении, эффективен, лишён токсического воздействия на печень, хорошо переносится больными, и применим в повседневной практической деятельности противотуберкулезных учреждений.

Положения, выносимые на защиту:

1. У больных туберкулёзом лёгких подкожное введение терапевтических доз препарата ронколейкин вслед за лимфотропными средствами характеризуется надёжными иммуномодулирующими эффектами и отсутствием нежелательных острофазных иммунных реакций, присущих цитокинотерапии.

2. Лимфосцинтиграфические исследования с современными лимфотропными радиофармпрепаратами (Наноцис) раскрывают новые возможности изучения транспортных свойств лимфатической системы, на основе которых создан вариант технологии направленной (таргетной) доставки ряда противотуберкулёзных препаратов в очаг туберкулезного поражения.

3. Лимфотропная противотуберкулезная химиотерапия в сочетании с ронколейкином у больных распространенными формами туберкулёза лёгких является эффективным и технически доступным методом лечения, позволяющим существенно повысить эффективность химиотерапии к 6 месяцу с приростом частоты абациллирования на 18,5 % у пациентов 18 – 50 лет, и на 19,2 % у пациентов 14 – 17 лет, а по заживлению полостей деструкции – на 43,2 % и 47,2 % соответственно.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на Научно-практическом обществе фтизиатров (Омск, 2009 г.), на Межрегиональной конференции «Актуальные вопросы туберкулеза» (Омск, 2009 г.), на XVII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2010 г.). Апробация работы состоялась 18.01.10 г. на расширенном

заседании кафедры фтизиатрии и фтизиохирургии Омской государственной медицинской академии (далее – ОмГМА) и врачей Бюджетного учреждения здравоохранения Омской области «Специализированная детская туберкулезная клиническая больница» (далее – БУЗОО СДТКБ).

Внедрение в практику. Результаты проведённых научных исследований внедрены в работу Бюджетного учреждения здравоохранения Омской области Клинический противотуберкулезный диспансер № 4 (далее – БУЗОО КПТД № 4), Бюджетного учреждения здравоохранения Омской области Клинический противотуберкулезный диспансер (далее – БУЗОО КПТД), БУЗОО СДТКБ.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 3 статьи – в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК для публикаций результатов исследования.

Структура и объём работы. Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав с изложением материалов и результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы, иллюстрирована 18 таблицами и 24 рисунками. Указатель литературы содержит 212 наименований работ, в том числе 136 отечественных и 76 иностранных авторов.

Личный вклад автора. Весь материал обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Омской государственной медицинской академии.

Для решения поставленных задач проведено открытое, простое, рандомизированное, сравнительное, проспективное, контролируемое, многоцентровое исследование больных с прогрессирующим туберкулезом легких, которые находились на лечении в БУЗОО КПТД № 4, БУЗОО КПТД, БУЗОО СДТКБ.

В исследование было включено 122 впервые выявленных больных распространёнными формами туберкулёза лёгких.

Критерии включения в исследование: впервые выявленные больные распространёнными формами туберкулёза лёгких (казеозная пневмония, инфильтративный туберкулёз с распадом), возраст от 14 до 50 лет, лечение пациента в условиях стационара, информированное согласие на проведение исследования.

Критерии исключения: одновременное участие в другом клиническом

исследовании, несоответствие критериям включения, выраженная хроническая декомпенсированная сердечно-сосудистая, дыхательная, печеночная, почечная недостаточность, терминальное состояние больного, черепно-мозговая травма, острые нарушения мозгового кровообращения, злокачественные заболевания и болезни крови, психические заболевания, наркомания, токсикомания, системные и аутоиммунные заболевания, отсутствие готовности к сотрудничеству со стороны пациента, отказ тщательно соблюдать все предписания и назначения исследователя согласно протоколу.

Период лечения от момента выявления туберкулёзного процесса до начала лимфотропной противотуберкулёзной терапии в сочетании с ронколейкином составлял от 5 суток до 6 месяцев. При этом в случаях длительного предшествующего лечения проводимая терапия не остановила прогрессирование туберкулезного процесса.

Дизайн исследования. На 1 этапе исследования пациенты были разделены по возрастному критерию на 2 группы: в первую группу включены лица в возрасте от 18 до 50 лет ($n = 67$), во вторую группу – в возрасте от 14 до 17 лет ($n = 24$). На втором этапе внутри групп сформированы подгруппы таким образом, что в первой группе созданы подгруппы А, Б и В, а во второй группе – подгруппы А и Б. В подгруппах А первой и второй групп курс химиотерапии усилен лимфотропной доставкой химиопрепаратов в сочетании с ронколейкином. При этом подгруппе А первой группы введение осуществлялось в ретростернальную клетчатку при двухсторонней локализации туберкулезного процесса. В подгруппах Б первой и второй групп химиотерапии осуществляли без введения ронколейкина и лимфотропного введения противотуберкулезных препаратов. В подгруппе В первой группы пациентам, в дополнение комплексной противотуберкулезной терапии, осуществляли иммунокоррекцию ронколейкином типичным способом, вводя препарат в подкожно-жировую клетчатку плечевой области. Подгруппы А, Б и В первой группы и подгруппы А и Б второй группы сопоставимы по возрасту, полу, форме туберкулезного процесса и его распространённости, а также по частоте встречаемости лекарственной устойчивости МБТ к противотуберкулёзным препаратам.

Для оценки состояния пациентов мы пользовались общепринятой схемой физикального обследования. Оценивали цвет кожных покровов, питание, наличие отёков, частоту и глубину дыхания. Проводили перкуссию, аускультацию, измеряли артериальное давление, частоту сердечных

сокращений, пульс и температуру тела. Основные жалобы пациентов на одышку, слабость, кашель с гнойной мокротой, повышение температуры тела оценивали, используя количественную градацию этих симптомов по 4-х бальной шкале, за основу которой нами была взята «Шкала одышки Medical Research Council» (Чучалин А. Г., 2007) (табл.1).

Таблица 1

Шкала оценки клинических симптомов.

Симптом	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла
Кашель	Отсутствует	Редкий	Частый, но не мешающий сну	Частый, приступообразный, нарушающий сон
Мокрота	Отсутствует	Отдельными плевками и сопровождает не каждый приступ кашля	При каждом приступе кашля выделяется незначительное количество	Более 50 мл в сутки.
Температура тела	36,6-37 °С	37,1-37,9 °С	38-39,5 °С	39,6 °С и больше
Слабость, недомогание	Обычная физическая активность	После долгой ходьбы, бега	При выполнении обычной физической нагрузки двигательной активности	В состоянии покоя, после сна, не проходит в течение дня
Одышка	Одышка не беспокоит, за исключением очень интенсивной нагрузки	Одышка при интенсивной ходьбе или подъеме по лестнице	Одышка при ходьбе по ровной поверхности	Одышка при переодевании и в покое

Лучевые методы исследования. Рентгенографию органов грудной клетки в двух проекциях выполняли всем пациентам до и через 1, 2 и 6 месяцев после окончания лимфотропной терапии.

Микробиологический метод исследования. Всем пациентам проводили микробиологическое исследование мокроты, промывных вод бронхов и/или желудка, которое включало простую микроскопию с окраской по Цилю-Нильсону, посев исследуемого материала с определением чувствительности к протувотуберкулёзным препаратам.

Лабораторные методы регистрации эндогенной интоксикации (ЭИ).

Гематологические показатели ЭИ. Для оценки степени выраженности ЭИ определяли количество лейкоцитов периферической крови, составляли лейкограмму, подсчитывали лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по формуле Я. Я. Кальф-Калифа (1941) в модификации Б. А. Рейса и др. (1983).

Исследование выполняли перед началом проводимой терапии, на 2-й и 6-й месяц после окончания лимфотропной терапии. В сыворотке крови определяли активность ферментов АлАТ, АсАТ перед началом лимфотропной терапии, на 2-й и 6-й месяц после окончания лимфотропной терапии. Иммунологические исследования предусматривали комплексную оценку реакций клеточного и гуморального звена на туберкулёзную инфекцию. При этом оценивали содержание отдельных субпопуляций лимфоцитов, фагоцитарную активность, уровни иммуноглобулинов классов IgG, IgM, IgA, циркулирующих иммунных комплексов, а также иммунорегуляторный индекс ((ИРИ = Т-хелперы / Т-супрессоры) и уровни интерлейкинов IL-1 β , IL-4 и IL-2 перед началом лимфотропной терапии и через 1 месяц после её окончания в сыворотке крови. Оценка уровня качества жизни осуществлялась по шкале опросника SF-36v2.

Для оценки проводимых лечебных мероприятий были выбраны следующие критерии эффективности: регрессия клинических симптомов (снижение количества мокроты, снижение интенсивности кашля, снижение интенсивности одышки, снижение лихорадки), изменение лабораторных признаков (исчезновение возбудителя в мокроте, нормализация ОАК, улучшение иммунологических показателей), наличие положительной динамики при рентгенологическом обследовании лёгких, а также отсутствие побочных реакций на проводимую терапию.

Курс лечения в подгруппе А первой группы пациентов включал в себя лимфотропный этап химиоиммунотерапии с доставкой препаратов в загрузинную клетчатку при двухстороннем поражении лёгких, либо в клетчатку подмышечной области на стороне поражённого лёгкого при односторонней локализации туберкулёзного процесса.

Лимфотропная ретростернальная химиоиммунотерапия обеспечивает принудительную доставку в клетчаточное пространство переднего средостения раствора изониазида 10 % – 5 мл в сочетании с одним из противотуберкулёзных препаратов, разрешённых для внутримышечного и внутриволостного введения. К таким препаратам относятся стрептомицин, канамицин, амикацин, капуреомин, изониазид, капостат. Эффекты адресной доставки химиопрепаратов усиливают загрузинным введением лимфотропной смеси, содержащей гепарин – 5 тыс. ЕД – 1 мл., лидокаин 0,25 % или новокаин 0,5 % – до 40 мл, а иммунокоррекцию обеспечивают введением ронколейкина по 250 тыс. ЕД на завершающем этапе каждой процедуры шестикратно. Межпроцедурные интервалы составляли 48 часов. Для повышения

безопасности и упрощения методики ретростерального введения лекарств автор выполнял в ходе первой процедуры катетеризацию ретростерального клетчаточного пространства из надгрудного доступа.

Описание способа лимфотропной ретростеральной химиоиммунотерапии. Больной располагается на каталке или операционном столе в положении лежа на спине. Под плечи подкладывается валик таким образом, чтобы голова была запрокинута назад. Нижняя треть шеи, ярёмная вырезка и верхняя треть грудины обрабатывается дважды спиртом 70 % или антисептиком, разрешённым для хирургической обработки кожных покровов. Врач, облачённый в стерильные резиновые перчатки, осуществляет местную инфильтрационную анестезию кожных покровов 0,25 % раствором новокаина или 0,5 % раствором лидокаина. Выполняют верхнюю ретростеральную пункцию клетчаточного пространства переднего средостения с помощью длинной пункционной иглы, конец которой изогнут под углом 30^0 , а просвет иглы достаточен для катетеризации верхнего средостения по Сельдингеру. После погружения колющего конца иглы в загрудинное пространство на расстояние не более 4,5 см от поверхности кожи через дистальный просвет иглы вводят первую порцию лимфотропной смеси (0,25 % раствор новокаина – 20-40 мл или 0,5 % раствор лидокаина – 10-20 мл и 5 тыс. ЕД Гепарина).

Затем через иглу вводят суточную дозу одного или двух назначенных химиопрепаратов, разрешённых для внутримышечного и внутривенного введения. К таким препаратам относятся аминогликозиды (стрептомицин, канамицин, амикацин), а также капреомицин, изониазид, капостат. Инъекцию завершают введением раствора Ронколейкина 250 – 500 тыс. ЕД. По завершении инъекции шприц отсоединяют от иглы и через её просвет устанавливают пластиковый проводник, по которому иглу извлекают, а по проводнику вводят ретростерально подключичный катетер № 1 (150 мм) или № 1,4 (200 мм). Затем проводник извлекается, а катетер фиксируется к коже швом или пластырной лентой, после чего канюля катетера закрывается резиновой заглушкой. Уход за катетером заключается в ежедневной смене стерильной повязки с обработкой кожи в области введения катетера этиловым спиртом 70 % или антисептическими растворами. В дальнейшем введение противотуберкулезных препаратов, лимфотропных средств и ронколейкина осуществляется через установленный катетер (рис.1).

Введение лимфотропной смеси, химиопрепаратов и ронколейкина в подмышечную область осуществлялось путём чрезкожной пункции

аксиллярной клетчатки мышечной иглой с последующей тугой инфильтрацией клетчаточного пространства. Процедура выполняется на стороне поражённого лёгкого. Такой курс лечения больных в подгруппе А второй группы предусматривал систематическое введение в клетчатку подмышечной области канамицина – 1,0 г в разведении на 1 мл растворителя, раствора изониазида 10 % – 5 мл и комплексной лимфотропной смеси (ЛС), содержащей гепарин – 5 тыс. ЕД – 1 мл., лидокаин 0,25 % (новокаин 0,5 %) – до 35 мл., и шестикратное применение ронколейкина – 125 тыс. ЕД (рис. 2). Лимфотропную смесь, химиопрепараты и ронколейкин вводили три раза в неделю.

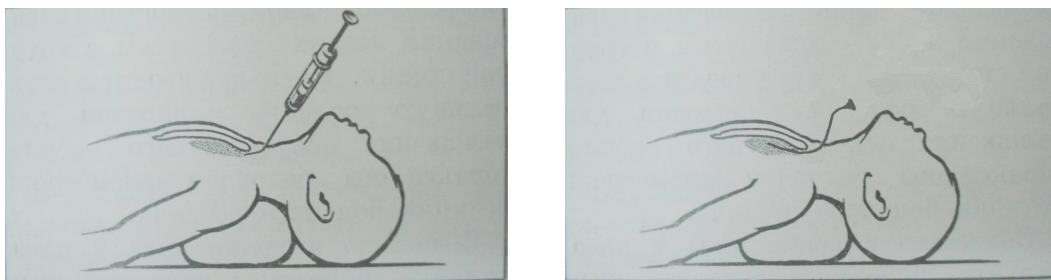


Рис.1. Схема верхней ретростеральной пункции



Рис. 2. Введение лимфотропной смеси в подмышечную область

Общая продолжительность курса лимфотропной химиоиммунотерапии составляла 2 – 3 недели.

В подгруппе В первой группы курс лечения включал в себя трёхкратное применение ронколейкина – 500 тыс. ЕД подкожно в область плеча. В подгруппах Б первой и второй групп – лечение пациентов проводилось по схемам в соответствии со стандартным режимом химиотерапии (Приказ МЗ РФ № 109).

После окончания курса лимфотропной химиоиммунотерапии с ронколейкином (подгруппа А первой и второй групп), курса иммунотерапии ронколейкином (подгруппа В первой группы) дальнейшее лечение проводилось

по схемам в соответствии со стандартным режимом химиотерапии (Приказ МЗ РФ № 109).

Изучение особенностей иммунопатогенеза прогрессирующих форм деструктивного туберкулёза лёгких предусматривало оценку частоты встречаемости РPD-анергии. Для этого нами проведено вложенное исследование иммунологической РPD стимулированной активности моноклеарных клеток (далее – МНК) у 57 больных туберкулезом легких и 47 здоровых доноров. Контрольная (доноры) и основная (больные туберкулезом) группы были однородны по возрасту и полу. Группа обследованных больных включала пациентов с инфильтративной формой туберкулеза (28), очаговой формой (2), туберкулемой (2) и фиброзно-кавернозным туберкулезом (23). На момент обследования у 26 больных имелись выраженные признаки интоксикации (слабость, потливость, лихорадка, снижение веса, бактериовыделение). МНК выделяли из периферической крови стандартно в градиенте плотности фиколла-верографина. Для стимуляции клеток использовали очищенный туберкулин (purified protein derivate, РPD; РАО Биопрепарат, г. С.-Петербург) в дозах 100, 50 и 5 мкг/мл, конканавалин А (далее – Кон А) в дозе 15 мкг/мл и моноклональные анти-CD3-антитела (далее - CD3-MAT) в дозе 1 мкг/мл. Относительное содержание лимфоцитов, экспрессирующих Fas антиген определяли на проточном цитофлюориметре (FACS, Becton Dickinson), используя моноклональные антитела LT95 (Сорбент, Москва).

Для оценки фармакокинетических особенностей распределения лекарственных препаратов при их лимфотропном введении в составе комплексной смеси и определения роли ронколейкина в оптимизации адресной доставки вводимых лимфотропно веществ в пораженное туберкулёзом лёгкое было впервые предпринято радиосцинтиграфическое исследование. В качестве маркера использован радиофармпрепарат Наноцис (^{99m}Tc -коллоид сульфида рения) пр-ва Франции. Вводимая лимфотропно активность составляла 48МБк, лучевая нагрузка 0,3 мЗв. Техническое воплощение сцинтиграфического способа регистрации распределения Наноциса при лимфотропном введении предусматривает однократное введение диагностической дозы препарата в подкожную клетчатку на стороне пораженного туберкулезом легкого и в грудную клетчатку в условиях лаборатории радиоизотопной диагностики Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина с последующей

регистрацией накопления препарата во внутренних органах в течение одного часа на гамма-камере DIGIRAD 2020ec (Digirad Corp.). Данное исследование выполнялось при участии заведующего лабораторией к.м.н. Терехова Игоря Николаевича на основании договора о научно-техническом сотрудничестве с АНО Межрегиональным научно-техническим центром «Сибирский центр лазерной медицины» под руководством проф. С. Д. Никонова.

Исследуемые больные были разделены на пять подгрупп в зависимости от способа лимфотропной доставки радиофармпрепарата. Так, лицам первой подгруппы радиофармпрепарат Наноцис вводили в клетчатку подмышечной ямки на стороне пораженного легкого в составе комплексной лимфотропной смеси, усиленной рекомбинантным цитокином интерлейкином-2 в виде препарата ронколейкин в дозе 125 тыс.ЕД. Во второй подгруппе Наноцис вводили аналогичным доступом в составе комплексной лимфотропной смеси без усиления препаратом ронколейкин. Лицам третьей подгруппы радиофармпрепарат вводили без усиления лимфотропной смесью и цитокином также в подмышечную клетчатку на стороне пораженного легкого. В четвертой подгруппе была дана оценка распределению радиофармпрепарата Наноцис при его введении в ретростернальную клетчатку в составе лимфотропной смеси. В пятой подгруппе изучена роль интерлейкина-2 (ронколейкина) на распределение радиофармпрепарата Наноцис при его введении в ретростернальную клетчатку совместно с лимфотропной смесью (раствор новокаина 0,5 % – 15мл, раствор гепарина – 2,5 тыс. Ед)

Через 5 мин после введения Наноциса в объеме 0,3 мл осуществляли 1-ю фазу динамического исследования с темпом регистрации 20 кадров в положении больного на спине из передней проекции с захватом грудной клетки, области печени и селезёнки. Во 2-й фазе исследования регистрировали статическое накопление радиофармпрепарата с области грудной клетки в передней косой проекции, а также области печени и селезёнки в передней проекции. В 3-й статической фазе выполняли отсроченные 1-минутные кадры через 60 мин после введения радиофармпрепарата в передней проекции с тех же областей.

Статистические методы анализа. Формирование базы данных, ее преобразование проводили с применением пакета Microsoft Office. Полученные в работе количественные данные обработаны с помощью общепринятых в медико-биологических исследованиях методов системного анализа с применением программ пакета Microsoft Office, Biostatistica, SPSS 10.0 согласно

современным требованиям к проведению анализа медицинских данных.

Репрезентативность выборок в исследуемых группах проверяли с помощью критериев Крускала-Уоллиса, Манна-Уитни и χ^2 . Достоверность отклонений при парном сравнении величин определяли при помощи критерия Вилкоксона, при оценке рентгенологической динамики и динамики бактериовыделения использовали критерии χ^2 . Материал в таблицах был представлен как медиана $\pm$ среднее квартильное отклонение ($Me \pm Q$). $Q = [(Q_3 - Me) + (Me - Q_1)]/2$, где Q_3 – верхний квартиль; Q_1 – нижний квартиль; Me – медиана. При всех подсчетах достоверными считали различия при $p < 0,05$. Клинические исследования были выполнены на базах БУЗОО КПТД № 4, БУЗОО КПТД, БУЗОО СДТКБ с участием врачей О. Ю. Анфилофьевой, И. В. Бурковой, Ю. М. Мирюка. Иммунологические исследования проводились на базе Академического центра лабораторной диагностики г. Омска.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка антигенспецифического иммунного ответа на туберкулин (PPD) выявила наличие двух оппозитных типов реагирования. Так, у части больных отмечался высокий уровень ответа на PPD, в то время как у другой – глубоким угнетением PPD-стимулированной пролиферации. Это позволило разделить всех больных на 2 категории – группу PPD-ареактивных и PPD-реактивных больных. В первую группу вошли пациенты с уровнем ответа, не превышающим нижнюю границу нормативного диапазона (уровень PPD-стимулированной пролиферации < 5300 имп/мин, индекс стимуляции $< 2,7$). Вторую группу составили больные с уровнем ответа выше нижней границы нормативных значений. Из 44 обследованных больных PPD-ареактивность была выявлена у 21 пациента (47,7 %). Соответственно, 23 пациентов (52,3 %) составили группу PPD отвечающих больных. Индекс стимуляции PPD у пациентов первой группы составил в среднем $1,1 \pm 0,1$, тогда как у пациентов 2-ой группы – $10,0 \pm 2,0$, что в 2 раза превышало аналогичный показатель у здоровых доноров ($p < 0,01$). Чтобы выяснить, является ли снижение пролиферативного ответа на PPD свидетельством неспецифической иммуносупрессии или отражает исключительно дефект антигенспецифического ответа, наряду с PPD-стимулированной пролиферацией было проведено исследование пролиферативной активности МНК в культурах, стимулированных КонаА или CD3-мАТ (табл. 2). Учитывая наличие оппозитных вариантов реагирования периферических лимфоцитов на стимуляцию PPD, представлялось важным исследовать особенности

клинического течения туберкулеза легких в группах больных, различающихся по характеру ответа на PPD. Проведенный клинико-иммунологический анализ показал, что выявленная *in vitro* PPD-ареактивность сопряжена с более тяжелым вариантом течения туберкулезной инфекции. Так, если среди PPD-реактивных больных преобладали пациенты с очаговыми и инфильтративными формами туберкулеза, то в группе ареактивных больных – с фиброзно-кавернозным туберкулезом.

Таблица 2

Пролиферативный ответ на поликлональные активаторы в группах больных туберкулезом легких, оппозитных по реактивности к туберкулину (Me ± Q)

Стимул	Доноры (n = 14)	PPD-ареактивные больные (n = 12)	PPD-реактивные больные (n = 13)
PPD	9046 ± 933	2350 ± 220*	14510 ± 32068*#
Кон А	59900 ± 3900	18215 ± 3085*	25740 ± 3722*
Анти-CD3-мАТ	28350 ± 1800	14934 ± 2654*	19613 ± 2237

Примечание: * – достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми донорами; # – достоверность различий между группами больных.

В группе PPD-ареактивных пациентов преобладали больные с прогрессирующим деструктивным туберкулёзом, длительными сроками заболевания и наличием симптомов интоксикации на момент обследования. Следовательно, снижение PPD-стимулированного ответа в большей степени характерно для больных с тяжелыми формами туберкулеза, прогрессирующим течением, интоксикацией и длительными сроками заболевания, что позволяет расценивать дефект антигенспецифического ответа в качестве неблагоприятного прогностического признака. Далее нами показано, что снижение пролиферативной активности при стимуляции PPD ассоциировано с угнетением продукции IL-2, играющего важную роль в противоинфекционном иммунитете при туберкулезной инфекции. В этой связи нами исследована возможность восстановления антигенспецифического иммунного ответа у больных с туберкулиновой анергией посредством ронколейкина.

Для этого 40 пациентам с исходно сниженным пролиферативным ответом на PPD стимуляцию был проведен курс введения ронколейкина в подкожную клетчатку плеча (6 введений по 250 тыс. ЕД, через день). Курсовая доза составила 1,5 млн. ЕД. Через 1 месяц был повторно проанализирован пролиферативный ответ на PPD (табл.3). Полученные нами результаты

свидетельствуют об изменении ответа лимфоцитов на PPD у больных туберкулезом легких в сторону восстановления реактивности.

Таблица 3

Изменение PPD-стимулированного пролиферативного ответа в ответ на лечение ронколейкином (n = 40)

PPD реактивность исходная (Me ± Q)	PPD реактивность через 1 месяц после курса ронколейкина (Me ± Q)
5813 ± 3647,25	19868 ± 6190,5*

Примечание: *- p<0,05 (критерий Уилкоксона)

Суммируя полученные данные, можно заключить, что у половины больных активными формами туберкулеза легких выявляется угнетение антигенспецифического ответа периферических лимфоцитов и наиболее выражены эти изменения у больных с распространенными формами туберкулеза легких, а применение ронколейкина в качестве иммуномодулятора в большинстве случаев позволяет преодолеть PPD-анергию.

Проведённое лимфосцинтиграфическое исследование показало преимущественное распространение радиофармпрепарата с вводимой ретростернально лимфотропной смесью в области проекции переднего средостения с последующим одинаковым распределением в обоих лёгких, а также значимое возрастание тропизма вводимых препаратов к очагу лёгочного поражения и иммунокомпетентным органам (селезенке) в присутствии ронколейкина. Однако у пациентов, получивших лимфотропную смесь без ронколейкина, вектор преимущественного накопления препарата Наноцис смещался в область печени, в то время как у пациентов, получивших в составе лимфотропной смеси ронколейкин, происходило двунаправленное распределение препарата с увеличением концентрации в поражённом участке легочной ткани и в селезенке при ослаблении накопления в печени (табл. 4).

Таблица 4

Накопление радиофармпрепарата Наноцис в проекции печени и селезенки (Me ± Q)

	Накопление радиофармпрепарата в печени (ед.)	Накопление радиофармпрепарата в селезенке (ед.)
Без ронколейкина	485 ± 242	375 ± 246*
В сочетании с ронколейкином	499 ± 217	570 ± 300*

Примечание: *p<0,05 (критерий χ^2)

Впервые зарегистрированная нами тенденция может быть объяснена тем известным фактом, что под влиянием ронколейкина значительно повышаются фаго- и пиноцитоз в иммунокомпетентных клетках, чувствительность к хемоаттрактантам, а также двигательная активность фагоцитов по градиенту хемотаксиса в сторону очага воспаления.

Результаты динамики клинических симптомов у пациентов подгрупп А, Б и В первой группы и подгрупп А и Б второй группы до начала и после проведения курса лимфотропной химиоиммунотерапии представлены в табл. 5.

Таблица 5

Динамика клинических симптомов ($Me \pm Q$)

Группы больных	Клинические симптомы ($Me \pm Q$)				
	Кашель	Мокрота	Лихорадка	Слабость	Одышка
1-я группа подгруппа А (n = 34)	$2 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	2 ± 1	$1 \pm 1,5$
1-я группа подгруппа А через 2 мес.	$1 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$
1-я группа подгруппа А через 6 мес.	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$
1-я группа подгруппа Б (n = 33)	$2 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
1-я группа подгруппа Б через 2 мес.	$2 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$0 \pm 0,5^*$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
1-я группа подгруппа Б через 6 мес.	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$0 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
1-я группа подгруппа В (n = 15)	$2 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
1-я группа подгруппа В через 2 мес.	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5$
1-я группа подгруппа В через 6 мес.	$1 \pm 0,5$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5$
2-я группа А (n = 12)	$1 \pm 0,125$	$0,5 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
2-я группа А через 2 мес.	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$
2-я группа А через 6 мес.	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$	$1 \pm 0,5^*$	$0 \pm 0,5^*$
2-я группа Б (n = 12)	$1 \pm 0,125$	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
2-я группа Б через 2 мес.	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$0 \pm 0,25^*$	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$
2-я группа Б через 6 мес.	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$	$0 \pm 0,25^*$	$1 \pm 0,5$	$1 \pm 0,5$

Примечание: * - $p < 0,05$ (критерий Уилкоксона)

После проведения курса лимфотропной терапии с ронколейкином в подгруппах А первой и второй групп достоверно отмечалась положительная динамика клинических симптомов в виде снижения интенсивности лихорадки, кашля, слабости и недомогания, а также в виде уменьшения количества отделяемой мокроты и интенсивности одышки.

В подгруппе В первой группы достоверное улучшение отмечалось при оценке количества отделяемой мокроты, лихорадки, а также слабости и недомогания. У пациентов подгрупп Б первой и второй групп проводимая стандартная химиотерапия сопровождалась достоверным улучшением только по шкале лихорадки, остальные же клинические показатели достоверно не изменились.

Динамика показателей общего анализа крови достоверна лишь по критерию ЛИИ в подгруппах А первой и второй групп, остальные показатели ОАК достоверно не изменились.

Отмечающиеся в показателях ЛИИ клинического анализа крови достоверные изменения в подгруппах А первой и второй групп указывают на нормализацию соотношения популяций лейкоцитов при применении лимфотропной химиоиммунотерапии.

При оценке динамики первичного иммунологического обследования пациентов подгруппы А первой группы, достоверного изменения какого-либо из показателей не было выявлено, что, наряду с относительно нормальными показателями первичного иммунологического обследования до начала химиоиммунотерапии сделало нецелесообразным дальнейшее слежение за этими показателями.

В противоположность этому, данные интерлейкинового профиля до начала химиоиммунотерапии свидетельствовали о преобладании экссудативного типа тканевой реакции. В частности, на фоне значительного повышения продукции провоспалительного цитокина IL-1 β наблюдалось прогрессирование туберкулезного поражения. Высокий же уровень продукции цитокина IL-2 на фоне тяжелого течения заболевания говорит о недостаточном его количестве именно в очаге туберкулезного поражения, что обуславливает необходимость адресной доставки (табл. 6).

Таблица 6

Динамика продукции интерлейкинов через 1 месяц после начала проводимой терапии (Me $\pm$ Q)

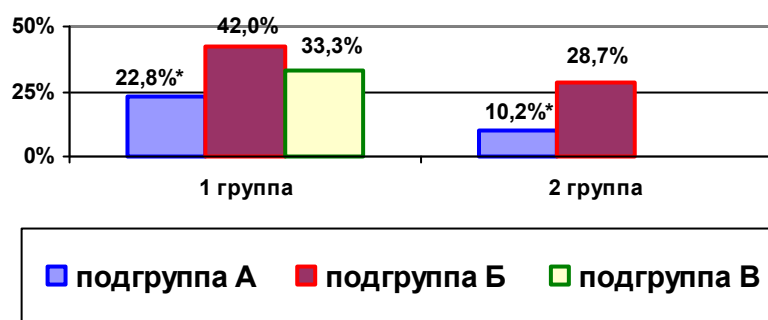
Группы больных	IL-1 β	IL-4	IL-2
1-я группа подгруппа А до начала лимфотропной химиоиммунотерапии	123,58 $\pm$ 18,07	16,83 $\pm$ 8,1	153,9 $\pm$ 89,9
1-я группа подгруппа В до начала химиоиммунотерапии	101,46 $\pm$ 38,86	13,06 $\pm$ 12	80,7 $\pm$ 18
1-я группа подгруппа А через 1 мес.	30,61 $\pm$ 2,07*	0 $\pm$ 2,23*	135,9 $\pm$ 113,3
1-я группа подгруппа В через 1 мес.	49,3 $\pm$ 10,5*	14 $\pm$ 6,7	116,5 $\pm$ 30,5

Примечание: *- p<0,05 (критерий Уилкоксона)

Через 1 месяц после лимфотропной химиоиммунотерапии с применением ронколейкина в подгруппах А и В первой группы продукция провоспалительного цитокина IL-1 β значительно снизилась. Продукция IL-4 достоверно снизилась в подгруппе А первой группы, что свидетельствует о снижении активности гуморального иммунитета. Уровень продукции IL-2 в подгруппе А первой группы находится на более высоких значениях, чем в подгруппе В первой группы, что говорит о более длительном поддержании концентрации IL-2 при его лимфотропном введении по сравнению со стандартным подкожным введением (табл. 6).

При исходной оценке качества жизни в подгруппах А и Б первой группы до начала исследования выявлялись снижения показателей по всем шкалам, а через 2 и 6 месяцев выраженное увеличение отмечалось лишь у больных в подгруппе А первой группы по шкалам физического функционирования (PF), ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием (RP) и жизненной активностью (VT) ($p < 0,05$ (критерий Уилкоксона)).

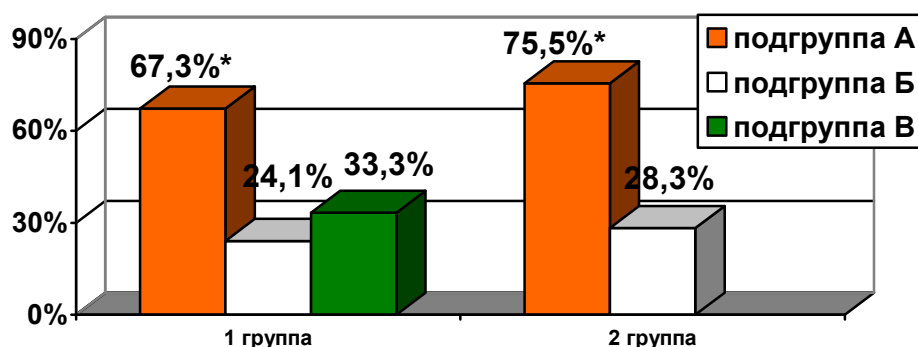
Динамика бактериовыделения по результатам посева к 6 месяцу (рис. 3) свидетельствует о том, что применение лимфотропной противотуберкулезной терапии, в сочетании с ронколейкином, достоверно повышает эффективность лечения по сравнению со стандартным лечением на 19,2 % в подгруппе А первой группы и на 18,5 % в подгруппе А второй группы по сравнению со стандартной терапией (* $p < 0,05$ (критерий χ^2). Различия между частотой бактериовыделения в подгруппах А и В первой группы составили 10,5 %, однако это отличие недостоверно ($p > 0,05$ (критерий χ^2)).



* $p < 0,05$ (критерий χ^2)

Рис. 3. Частота бактериовыделения (по методу посева) к 6 месяцу

Динамика закрытия полостей деструкции лёгочной ткани при использовании разных лечебных технологий представлена в диаграмме на рис. 4.



* $p < 0,05$ (критерий χ^2)

Рис. 4. Частота закрытия полостей распада лёгочной ткани в программах комплексного лечения через 6 мес.

Таким образом, применение лимфотропной химиоиммунотерапии позволило в наиболее короткие сроки (1 – 2 месяца) купировать клинические проявления заболевания (уменьшить выраженность кашля, одышки, снизить количество отделяемой мокроты и нормализовать температуру тела). С наибольшей объективностью saniрующий эффект лечения проявил себя в достоверном уменьшении продукции провоспалительного цитокина IL-1 β , увеличении частоты абациллирования методом посева на 19,2 % у пациентов 18 – 50 лет, и на 18,5 % у пациентов 14 – 17 лет. Очевидные преимущества предлагаемого нами лечения проявились наиболее ярко при оценке репаративных эффектов в поражённом лёгком, поскольку было зарегистрировано увеличение частоты закрытия полостей распада в лёгком на 43,2 % у пациентов в возрасте 18 – 50 лет, и 47,2 % у подростков.

ВЫВОДЫ

1. У больных распространенными формами туберкулеза легких прогрессирование заболевания сопряжено с подавлением антигенспецифического иммунного ответа в половине случаев. Применение ронколейкина (IL-2) обеспечивает обратимость туберкулиновой анергии *in vivo*.

2. Результаты лимфосцинтиграфического исследования свидетельствуют о том, что введение лимфотропных веществ в за грудинное и аксиллярное клетчаточное пространства в сочетании с ронколейкином способствует их адресной доставке к очагу туберкулезного поражения и уменьшает накопление в печени.

3. Разработанный метод ретростерального лимфотропного введения противотуберкулезных препаратов в сочетании с ронколейкином позволяет осуществлять эффективный, технически доступный и безопасный курс

химиоиммунотерапии туберкулёза лёгких, лишённый токсических свойств.

4. Использование лимфотропной противотуберкулезной терапии, в сочетании с ронколейкином, у больных с распространенными формами туберкулеза легких повышает эффективность лечения к 6 месяцу лечения по сравнению со стандартной противотуберкулезной терапией на 18,5 % у пациентов 18 – 50 лет и на 19,2 % у пациентов 14 – 17 лет по показателю абациллирования, а по заживлению полостей деструкции – на 43,2 % и 47,2 % соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Лимфотропный способ введения противотуберкулезных препаратов в сочетании с ронколейкином предназначен для использования в противотуберкулезных стационарах врачами-фтизиатрами и фтизиохирургами в комплексной терапии больных распространенными формами туберкулеза легких.

2. Клиническими показаниями для лимфотропной противотуберкулезной терапии в сочетании с ронколейкином являются: туберкулезный процесс с преобладанием экссудативной воспалительной реакции, в том числе и с распадом легочной ткани, выраженный интоксикационный и бронхолегочный синдром, непереносимость противотуберкулезных препаратов по токсическому типу, лекарственная устойчивость МБТ к противотуберкулезным препаратам. Иммунологическими показаниями следует считать увеличение продукции IL-1 β более 50 пкг/мл и IL-4 более 10 пкг/мл.

3. Противопоказаниями для лимфотропной противотуберкулезной терапии в сочетании с ронколейкином являются: выраженная хроническая, декомпенсированная сердечно-сосудистая, дыхательная, печеночная, почечная недостаточность, терминальное состояние больного, черепно-мозговая травма, острые нарушения мозгового кровообращения, опухолевые образования, болезни крови, психические заболевания, наркомания, токсикомания, системные и аутоиммунные заболевания, поражения кожи в местах предполагаемого введения, отсутствие готовности к сотрудничеству со стороны пациента, отказ тщательно соблюдать все предписания и назначения врача.

4. При наличии двухстороннего поражения легких у взрослых рекомендуется применение лимфотропной противотуберкулезной терапии в сочетании с ронколейкином посредством ретростернального введения 3 раза в неделю.

5. При односторонней локализации туберкулезного процесса, а также при двухсторонней локализации туберкулезного процесса у подростков показано введение лимфотропной смеси, химиопрепаратов и ронколейкина в подмышечную область на стороне поражённого лёгкого.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лысов А. В., Никонов С. Д., **Казаков А. В.**, Редькин Ю. В., Гапоненко Г. Е. Опыт лимфотропного применения ронколейкина у больных прогрессирующим туберкулезом легких // **Аллергология и иммунология.** – 2009. – № 1. – Том 10. – М., – С.40, автора – 0,03 п.л.

2. Лысов А. В., **Казаков А. В.**, Никонов С. Д., Редькин Ю. В., Гапоненко Г. Е., Буркова И. В. Эффективность лимфотропной интермиттирующей химиоиммунотерапии в комплексном лечении больных прогрессирующим туберкулезом легких // **Туберкулез и болезни легких.** – М., 2009. – №6 – С. 28-34, автора – 0,15 п.л.

3. **Казаков А. В.** Фармакокинетика при лимфотропной терапии под влиянием ронколейкина у больных прогрессирующим туберкулезом легких // **Омский научный вестник.** – 2009. – № 1 (84). – С.37-40, автора – 0,5 п.л.

4. Лысов А. В., Никонов С. Д., **Казаков А. В.**, Редькин Ю. В., Мерко Е. А., Мирюк Ю. М. Эффективность лимфотропного введения противотуберкулезных препаратов и ронколейкина в комплексном лечении подростков, больных прогрессирующим туберкулезом легких // **Омский научный вестник.** – 2009. – № 1 (84). – С.79-82, автора – 0,08 п.л.

5. Лысов А. В., **Казаков А. В.** Опыт применения лимфотропной интермиттирующей химиоиммунотерапии с использованием ронколейкина у больных прогрессирующим туберкулезом легких // Человек и лекарство : сборник материалов XVII Российского национального конгресса. – Москва, 2010. – С. 327, автора – 0,06 п.л.

6. Лысов А. В., Редькин Ю. В., Никонов С. Д., **Казаков А. В.**, Гапоненко Г. Е., Буркова И. В., Анфилофьева О. Ю. Эффективность лимфотропной интермиттирующей химиоиммунотерапии в комплексном лечении больных прогрессирующим туберкулезом легких // Материалы научно-практической конференции врачей и научных работников, посвященной 85-летию фтизиатрической службы Омской области. – Омск, 2008. – С. 34 – 40, автора – 0,13 п.л.