

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ДЖЕРЕЛО У БОЛЬНЫХ С ВИЧ-АССОЦИИРОВАННЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

Л.Г. Николаева, Т.В. Майстат

Резюме. Представлены результаты изучения влияния иммуномодулятора Джерело на показатели клеточного иммунитета у 40-а больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом легких, разделенных на 2 группы. Основная группа получала иммуномодулятор Джерело 2 раза в день на фоне антимикобактериальной терапии в течение 2-х месяцев, в группе сравнения назначали только антимикобактериальную терапию. В результате проведения иммуномодулирующей терапии выявлены достоверные изменения уровней $CD3^+$, $CD3^+CD4^-$, $CD4^+HLA-DR^+$, $CD3^+CD16^+CD56^-$ клеток, коэффициента $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности включения иммуномодулятора Джерело в терапию больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом легких.

Ключевые слова: ВИЧ-ассоциированный туберкулез, иммуномодулирующая терапия

В последние годы одновременно развиваются эпидемии двух социально опасных заболеваний – ВИЧ/СПИДа и туберкулеза, часто поражающие одни и те же группы населения [1]. Одна из причин низкой эффективности лечения больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом – высокая частота медикаментозной резистентности микобактерий к противотуберкулезным препаратам, мультирезистентность. По данным авторов, медикаментозная резистентность у больных с коинфекцией составляет 10–43% [2]. В таких случаях стандартные режимы, предусмотренные DOTS-стратегией, не будут иметь должного эффекта [3, 4]. Низкие результаты лечения и высокую смертность больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом авторы связывают со значительными иммунологическими нарушениями [5].

Для успешного персистирования *M.tuberculosis* используют механизмы, которые нарушают функции Т-лимфоцитов [6, 7]. Как правило, у больных выявляются изменения в Т-клеточном звене иммунитета, что проявляется снижением их количества, функциональной и цитотоксической активности [8]. Репликация вируса иммунодефицита человека так же тесно связана с функционированием иммунной системы. Более того, $CD 4^+$ -лимфоциты, играющие основную роль в организации и регуляции защитного иммунного ответа, являются его основной мишенью. Такая общность повреждающего воздействия ВИЧ и *M.tuberculosis* на иммунную систему человека делает актуальным поиск патогенетических методов лечения, способных улучшить состояние иммунитета у больных с сочетанной патологией.

Препаратами, способными воздействовать на различные звенья системы иммунитета являются иммуномодуляторы (ИМ), конечной целью которых является направленная иммунокоррекция [9]. Учитывая значительное количество фармакологических препаратов с различными побочными эффектами в режиме химиотерапии больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом, перспективным патогенетическим средством можно считать препараты растительного происхождения. Таким иммуномодулятором является фито-концентрат Джерело, разработанный в Украине НВ ТОВ «Экомед».

Целью настоящей работы явилось изучение влияния ИМ Джерело на показатели клеточного иммунитета у больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом легких.

Материалы и методы

Исследования проводились на кафедре дерматовенерологии и ВИЧ/СПИД Харьковской медицинской академии последипломного образования, расположенной на базе КУОЗ «Областной центр профилактики и борьбы со СПИДом» г. Харькова и в условиях пенитенциарной системы Харьковской области (ИК № 17).

В соответствии с поставленной целью под нашим наблюдением находилось 40 больных. Использовались следующие критерии отбора пациентов: клиническая стадия IV ВИЧ-инфекции, впервые диагностированный инфильтративный туберкулез легких, отсутствие антиретровирусной терапии. В исследованиях участвовали только мужчины в возрасте от 19 до 42 лет. Диагноз ВИЧ-инфекции был установлен на основании данных иммуноферментного теста и подтвержден методом иммунного блотинга. Пациенты были разделены на две самостоятельные рандомизированные группы. Все больные добровольно участвовали в исследовании, давали письменное согласие и имели право по желанию прекратить терапию. Фитоконцентрат Джерело назначался на протяжении 2 месяцев на фоне антимикобактериальной терапии согласно стандартам DOTS. Все пациенты были обследованы до начала приема фитоконцентрата, через 1 месяц и 2 месяца терапии.

Основная группа пациентов получала ИМ Джерело 2 раза в день по 50 капель в 100 мл воды. Группу сравнения составили больные только с антимикобактериальной химиотерапией. В качестве контроля было исследовано 19 образцов периферической крови здоровых лиц той же возрастной группы (доноров крови).

При обследовании пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом определяли процентное и абсолютное количество популяций лимфоцитов: Т (CD3⁺), В (CD20⁺), натуральных киллеров (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), а также субпопуляций Т-лимфоцитов: Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺) и активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-

DR⁺). Кроме этого вычисляли иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – соотношение Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов. Иммунофенотипирование клеток проводилось с использованием панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов человека (CD-маркеры) «Клоноспектр», г. Москва с помощью иммуофлуоресцентной микроскопии в городской иммунологической лаборатории г. Харькова.

При статистическом анализе все значения по каждому отдельному показателю иммунного статуса для каждой группы пациентов представляли собой нормально распределенную совокупность. Для оценки достоверности данных был использован критерий Стьюдента. Средние значения каждого отдельного показателя иммунного статуса в основной группе сравнивали с соответствующими показателями группы сравнения ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты предыдущих исследований [10,11] свидетельствуют о возможности ИМ Джерело нормализовать метаболизм в лимфоидных тканях и сбалансировано влиять на все звенья иммунитета. Фитоконцентрат Джерело это оральный иммуномодулятор. По своему составу он является полиэлектролитом, ингредиенты которого экстрагированы из растительного сырья. Препарат содержит в своем составе водно-спиртовые экстракты цветов календулы (*Calendula officinalis*), корневища девясила (*Inula helenium*), плодов облепихи (*Avena sativa*), корневища лапчатки (*Potentilla erecta*), плодов фенхеля (*Foeniculum vulgare*), корня родиолы розовой (*Rodiola rosea*), плодов шиповника (*Rosa canina*), корня солодки (*Glycyrrhiza glabra*), плодов можжевельника (*Juniperus communis*), травы горца птичьего (*Polygonum aviculare*), листьев алоэ (*Aloe arborecens*), травы тысячелистника (*Achillea millefolium*), листьев крапивы (*Urtica dioica*), листьев подорожника (*Plantago major*), травы золототысячника (*Centaureum minus*), листьев шалфея (*Salvia aethiopsis*), травы душицы (*Origanum vulgare*), чаги (*Inonotus obliquus*), травы полыни (*Artemisia absinthium*), корневища аира (*Acorus calamus*), травы сушеницы болотной (*Gnaphalium uliginosum*), корня эхиноцеи (*Echinacea purpurea*), травы тимьяна (*Thymus serpyllum*), корневища одуванчика (*Taraxacum officinale*), травы череды (*Bidens tripartita*).

К началу иммуномодулирующей терапии у пациентов обеих групп выявлены изменения показателей клеточного иммунитета относительно контроля. При исследовании показателей популяционного состава лимфоцитов в течение 2-х месяцев терапии ИМ Джерело у больных основной группы отмечена положительная динамика контролируемых показателей в отличие от пациентов группы сравнения.

На рис. 1 представлена динамика изменения количества иммунных клеток у пациентов основной группы, получавших фитоконцентрат

Джерело, и группы сравнения в относительных и абсолютных значениях. К началу исследования (1-й забор крови) у больных обеих групп отмечалось выраженное снижение $CD3^+$ -, $CD3^+CD4^+$ - клеток и активированных $CD3^+HLA-DR^+$ - лимфоцитов по сравнению с контролем ($p<0,01$). Относительное содержание $CD3^+CD8^+$ - клеток имело тенденцию к увеличению, а соотношение $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ было снижено ($1,2\pm 0,13$ и $1,2\pm 0,12$ соответственно) (табл. 1). Отмечалось достоверное повышение уровней $CD20^+$ - и $CD3^+CD16^{++}CD56^+$ - клеток ($p<0,05$).

Таблица 1

Уровень иммунорегуляторного индекса у пациентов двух групп

Показатель	Контроль (доноры крови) (n = 19)	Основная группа (n = 20)			Группа сравнения (n = 20)		
		1 забор крови	2 забор крови	3 забор крови	1 забор крови	2 забор крови	3 забор крови
$CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$	$1,7\pm 0,04$	$1,2\pm 0,13$	$1,42\pm 0,08$	$1,54\pm 0,08$	$1,2\pm 0,12$	$1,0\pm 0,08^*$	$0,9\pm 0,06^{**}$

Примечание. Значение показателя достоверно отличается от такового у больных основной группы, * – $p<0,01$, ** – $p<0,001$.

Результаты проведенного исследования показали (рис.1), что уже через месяц приема иммуномодулятора Джерело у пациентов основной группы обнаруживалось достоверное ($p<0,05$) повышение уровня относительного и абсолютного количества $CD3^+CD4^+$ -, активированных $CD3^+HLA-DR^+$ - клеток ($p<0,01$). Отмечалась тенденция к повышению относительного и абсолютного количества $CD3^+$ -, $CD20^+$ - клеток, абсолютного количества $CD3^+CD8^+$ - лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса до $1,42\pm 0,08$ (табл. 1). Относительное содержание $CD3^+CD8^+$ - лимфоцитов, а также $CD3^+CD16^{++}CD56^+$ - клеток имело тенденцию к уменьшению. Исследование популяционного состава лимфоцитов у пациентов через два месяца иммуномодулирующей терапии выявило достоверное увеличение ($p<0,05$) относительного содержания $CD3^+$ -, относительного и абсолютного содержания $CD3^+CD4^+$ - лимфоцитов ($p<0,01$), относительного и абсолютного количества $CD3^+HLA-DR^+$ - клеток ($p<0,01$). Вместе с тем у больных определялось достоверное увеличение ($p<0,05$) соотношения $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ до $1,54\pm 0,08$ (табл. 1). Относительное содержание $CD3^+CD16^{++}CD56^+$ - клеток достоверно снизилось ($p<0,01$). Прослеживалась тенденция к уменьшению относительного содержания $CD20^+$ - лимфоцитов и тенденция к повышению уровня $CD3^+CD8^+$ - клеток.

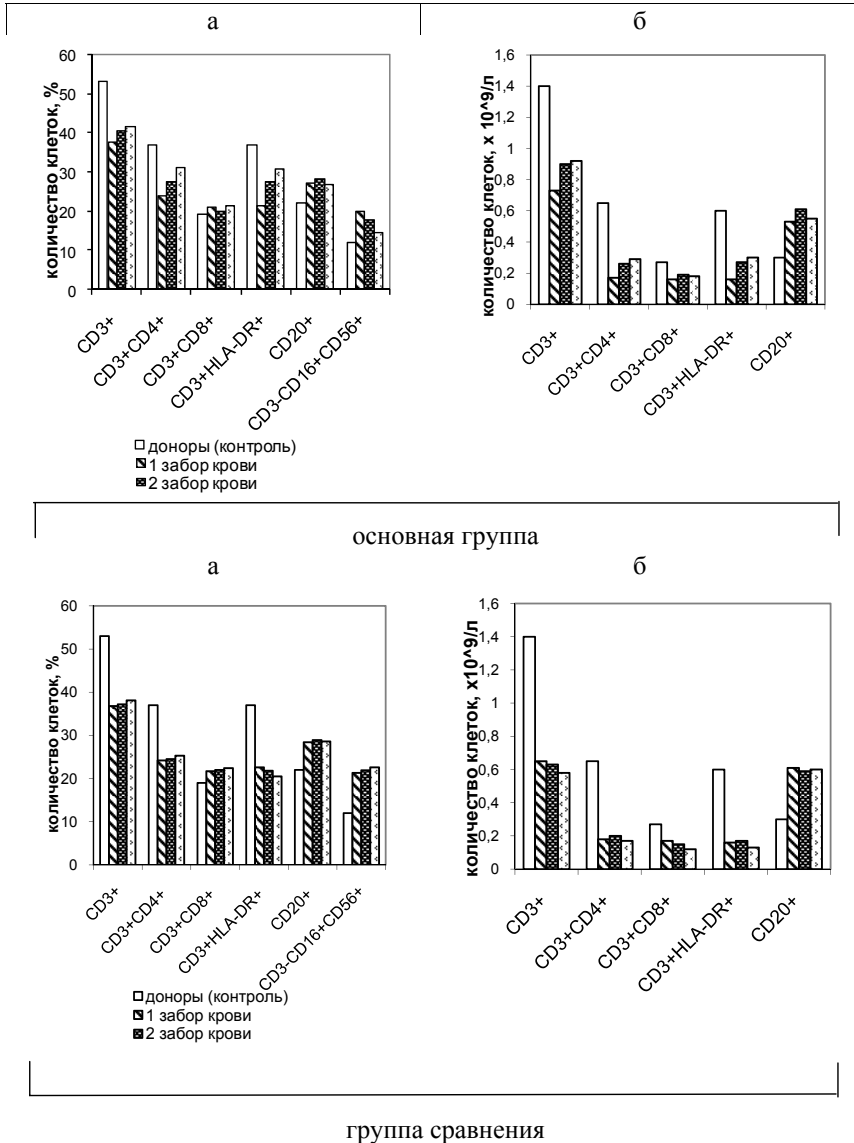


Рис. 1. Динамика показателей клеточного иммунитета у пациентов двух групп. а – относительное, б – абсолютное значение.

У пациентов группы сравнения на протяжении 2-х месяцев наблюдения была выявлена тенденция к повышению относительного количества $CD3^{+}$ -, $CD3^{+}CD4^{+}$ -, $CD3^{+}CD8^{+}$ - лимфоцитов, однако абсолютное количество этих фракций имело выраженную тенденцию к уменьшению. Относительное значение $CD3^{+}CD16^{++}CD56^{+}$ -клеток так же изменилось в сторону увеличения. Количество активированных Т-лимфоцитов как абсолютное, так и относительное в данной группе имело тенденцию к понижению, показатель $CD20^{+}$ - лимфоцитов оставался без динамики, а уровень иммунорегуляторного индекса у больных за период наблюдения достоверно снизился ($p < 0,05$).

Сравнительный анализ результатов исследования по окончании периода наблюдения продемонстрировал достоверные различия ряда иммунологических показателей у пациентов основной группы и группы сравнения. Так уровень относительного количества $CD3^{+}$ -клеток был достоверно выше в основной группе, чем в группе сравнения ($(41,6 \pm 1,02)\%$ и $(38,1 \pm 1,24)\%$ соответственно) ($p < 0,05$). Достоверные различия абсолютного значения $CD3^{+}$ -лимфоцитов отмечались уже через месяц приема ИМ Джерело и составили $0,9 \pm 0,07 \cdot 10^9/\text{л}$ в основной группе и $0,63 \pm 0,09 \cdot 10^9/\text{л}$ в группе сравнения ($p < 0,05$). Абсолютное количество $CD3^{+}$ -клеток по результатам 3-го забора крови у пациентов основной группы было $0,92 \pm 0,06 \cdot 10^9/\text{л}$, а в группе сравнения – $0,58 \pm 0,11 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Достоверные различия отмечались так же в показателях $CD3^{+}CD4^{+}$ -лимфоцитов ($p < 0,05$). Так относительное количество $CD3^{+}CD4^{+}$ -клеток у пациентов основной группы составило $(31 \pm 1,47)\%$, а группы сравнения – $(25,3 \pm 1,42)\%$. Абсолютные значения этого показателя определялись как $0,29 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$ в основной группе и $0,17 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$ в группе сравнения.

Относительное количество $CD3^{+}CD8^{+}$ -лимфоцитов как в основной группе, так и в группе сравнения имело тенденцию к повышению ($p > 0,05$). Абсолютное же значение $CD3^{+}CD8^{+}$ -клеток у пациентов основной группы достоверно превышало таковое в группе сравнения ($0,18 \pm 0,01 \cdot 10^9/\text{л}$ и $0,12 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$ соответственно ($p < 0,05$)).

Выраженные отличия наблюдались при вычислении уровней иммунорегуляторного индекса у пациентов исследуемых групп (табл.1). Через 1 месяц приема иммуномодулятора Джерело коэффициент $CD3^{+}CD4^{+}/CD3^{+}CD8^{+}$ был достоверно выше у больных в основной группе, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Аналогичная динамика в исследуемых группах сохранилась и через 2 месяца иммуномодулирующей терапии ($p < 0,001$).

По окончании периода наблюдения в основной группе наиболее высокими оказались показатели абсолютного и относительного количества активированных $CD3^{+}HLA-DR^{+}$ -клеток ($p < 0,01$). Абсолютное значение $CD3^{+}HLA-DR^{+}$ -лимфоцитов составило $0,3 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$ в основной группе и

$0,13 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$ в группе сравнения, относительное – $(30,5 \pm 1,84)\%$ и $20,5 \pm 1,56\%$ соответственно.

У пациентов двух групп через 2 месяца наблюдения не отмечалось выраженных различий между уровнями как абсолютного, так и относительного количества $\text{CD}20^+$ -лимфоцитов.

Показатель относительного количества $\text{CD}3^+\text{CD}16^{++}\text{CD}56^+$ -клеток в основной группе был достоверно ниже такового в группе сравнения ($p < 0,001$).

Выводы

1. Исследование популяционного состава лимфоцитов у пациентов основной группы, получавших ИМ Джерело, через 2 месяца терапии выявило значительное увеличение относительного и абсолютного количества $\text{CD}3^+$ -лимфоцитов и субпопуляции Т-хелперов – $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ -клеток. В иммунопатогенезе ВИЧ-инфекции важную роль играет снижение количества $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ -лимфоцитов. Уменьшение количества циркулирующих $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ -клеток у ВИЧ-инфицированных ведет к регуляторной дезорганизации иммунореактивности, резкому уменьшению эффекторных возможностей иммунной системы и прогрессированию заболевания. Кроме того, согласно современным представлениям, ключевая роль в формировании иммунитета к туберкулезной инфекции принадлежит различным субпопуляциям Т-клеток и альвеолярным макрофагам. При этом важную роль в генерации антимикробной активности макрофагов выполняют $\text{CD}3^+$ - и $\text{CD}4^+$ -лимфоциты. Снижение уровня субпопуляций хелперов у больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом легких может быть обусловлено как сочетанным влиянием ВИЧ и микобактерий на развитие вторичной иммунной недостаточности, так и токсическим действием патогенной микрофлоры на клетки, а также перераспределением антигенреактивных клеток и их сосредоточением в очаге инфекции. Увеличение общего количества фракции Т-лимфоцитов и ее субпопуляции $\text{CD}4^+$ -клеток является критерием эффективности терапии ВИЧ-инфекции и туберкулеза.

2. К патогномичным иммунологическим признакам ВИЧ-инфекции относится так же коэффициент $\text{CD}3^+\text{CD}4^+/\text{CD}3^+\text{CD}8^+$ (иммунорегуляторный индекс). Увеличение этого показателя в группе пациентов, получавших ИМ Джерело, можно рассматривать как благоприятный прогностический фактор.

3. Уже на ранних стадиях ВИЧ-инфекции нарушается функциональное состояние Т-лимфоцитов, проявляющееся существенным снижением их способности реагировать на различные митогены и антигены. Еще задолго до очевидного снижения количества Т-хелперов уменьшается активность нормальных киллеров. Как повышение цитопатогенной активности можно

трактовать достоверное повышение уровня активных CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов у больных основной группы. Кроме того, с активированными Т-лимфоцитами связана продукция IFN- γ . Известно, что интерфероны наряду с противовирусным обладают так же и иммуномодулирующим и антибактериальным действием, что делает их важными составляющими неспецифической эффекторной системы противоинфекционной защиты организма. Более того, число копий РНК ВИЧ обратно пропорционально проценту клеток CD4⁺HLA-DR⁺ и клеток CD8⁺HLA-DR⁺.

4. Обратная корреляционная связь существует между уровнем активированных CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов и количеством CD3⁺CD16⁺CD56⁺-клеток. По литературным данным исследователей активированные Т-лимфоциты продуцируют цитокины, подавляющие пролиферацию CD3⁺CD16⁺CD56⁺-клеток. Возможным кандидатом на такой цитокин является ИЛ-21. Так же, приближение уровня CD3⁺CD16⁺CD56⁺-лимфоцитов к норме у пациентов основной группы свидетельствует о стабилизации воспалительного процесса.

5. При прогрессировании ВИЧ-инфекции происходит уменьшение количества и снижение активности цитотоксических лимфоцитов CD3⁺CD8⁺, что является следствием как прямого воздействия вирусной экспансии, так и нарушений регуляторных влияний. Поэтому тенденция к повышению абсолютного и относительного количества CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов в основной группе в отличие от группы сравнения является благоприятным прогностическим фактором.

6. На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что включение ИМ Джерело в терапию пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом способствует восстановлению функций иммунной системы, снижая риск прогрессирования заболевания, и в перспективе, возможно, уменьшению летальности в данной группе больных. Схемы лечения пациентов с сочетанной патологией должны содержать не только туберкулостатические препараты, но и средства позволяющие изменить динамику развития приобретенного иммунодефицита и предотвратить появление необратимых изменений иммунной системы.

Литература

1. World Health Organization. Guidelines for HIV surveillance among tuberculosis patients. Second edition. – WHO : Geneva, 2013. – 32 p.
2. Хаудамова Г.Е. Особенности течения туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных / Г.Е. Хаудамова, Б.К. Аруинова, Н.Ш. Бидайбаев // Пробл. туб. – 2001. – № 5. – С. 34–36.
3. Kimerling M.E. Prevalence of pulmonary tuberculosis among HIV-infected persons in a home care program in Phnom Penh, Cambodia / M.E. Kimerling, J.Schuchter, E. Chnthol // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2002. – V. 6, № 11. – P. 988–994.
4. Olalla J. Paradoxical responses in a cohort of HIV-infected patients with mycobacterial disease / J. Olalla, F. Pulido, R. Rubio // Int. J. Inf. Dis. – 2002. – V. 6, № 1. – P. 71–75.

5. Пинегин Б.В. NK-клетки: свойства и функции / Б.В. Пинегин, С.В. Дамбаева // Иммунол. – 2007. – № 2. – С. 105–113.
6. Human immunity to M.tuberculosis: T cell subsets and antigen processing / W.H. Boom, H. David, A. Scot [et al.] // Tuberc. – 2003. – Vol. 83, № 1–3. – P. 98–106.
7. Global trend in resistance to antituberculosis drugs / M.A. Espinal, A. Laszlo, L. Simonsen [et al.] // N. Eng. J. Med. – 2001. – V. 344. – P. 1294–1303.
8. VanHeyningen T.K. IL-6 produced by macrophages infected with Micobacterium species suppressed T cell responses / T.K. VanHeyningen, H.L. Collins // J. Immunol. – 1997. – V. 158, № 1. – P. 330–337.
9. Ершов Ф.И. Иммуномодуляторы – новое поколение противовирусных средств / Ф.И. Ершов // Эксперим. и клин. Фармакол. – 1995. – Т. 58. – № 2. – С. 74–78.
10. Пилипчук В.С. Клинико-экспериментальные аспекты обоснования необходимости иммунотерапии при лечении больных с туберкулезом // Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. Зб. научных работ. – 2003. – В. 7. – С. 75–84.
11. Куцына Г.А. Влияние иммуномодулятора «Джерело» на иммунные показатели у ВИЧ-инфицированных / Г.А. Куцына, Р.Б. Чхетиани, Е.Г. Загайданова // Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. Сб. научных работ. – 2003. – В. 7. – С. 51–59.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОМОДУЛЯТОРА ДЖЕРЕЛО У ХВОРИХ НА ВІЛ-АСОЦІЙОВАНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ

Л.Г. Ніколаєва, Т.В. Майстат

Резюме. Представлено результати вивчення впливу імуномодулятора Джерело на показники клітинного імунітету у 40-а хворих з ВІЛ-асоційованим туберкульозом легень, розділених на 2 групи. Основна група отримувала імуномодулятор Джерело 2 рази в день на тлі антимікобактеріальної терапії протягом 2-х місяців, в групі порівняння призначали тільки антимікобактеріальну терапію. В результаті проведення імуномодулюючої терапії виявлені достовірні зміни рівнів $CD3^+$, $CD3^+ CD4^+$, $CD4^+ HLA-DR^+$, $CD3-CD16^{++} CD56^+$ -клітин, коефіцієнта $CD3^+ CD4^+/CD3^+ CD8^+$. Отримані результати свідчать про доцільність включення імуномодулятора Джерело в терапію хворих з ВІЛ-асоційованим туберкульозом легень.

Ключові слова: ВІЛ-асоційований туберкульоз, імуномодулююча терапія

EFFICIENCY OF APPLICATION IMMUNOMODULATOR DZHERELO PATIENTS WITH HIV-ASSOCIATED TUBERCULOSIS

L.G. Nikolaeva, T.V. Maystat

Summary. The results of the study of the effect of immunomodulator Dzherelo on cellular immunity in 40-well patients with HIV-associated pulmonary tuberculosis, divided into 2 groups. The main group received immunomodulator Dzherelo 2 times a day on a background of antimycobacterial therapy for 2 months, in comparison, was administered only antimycobacterial therapy group. As a result of immunomobaseband therapy revealed significant changes in levels of $CD3^+$, $CD3^+ CD4^+$, $CD4^+ HLA-DR^+$, $CD3-CD16^{++} CD56^+$ -cells coefficient $CD3^+ CD4^+/CD3^+ CD8^+$. Semi-obtained results indicate the feasibility of introducing an immunomodulator Dzherelo therapy in patients with HIV-associated pulmonary tuberculosis.

Key words: HIV-associated tuberculosis, immunomodulatory therapy