

Н. В. Обухова

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ИНГАЛЯЦИОННОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОУРОКИНАЗЫ И ЛИПОФЛАВОНА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБАЛАНСА РЕГИОНАРНОГО (ЭНДОБРОНХИАЛЬНОГО) ЦИТОКИНОВОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ОБОСТРЕНИИ ХОЗЛ У ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ ТУБЕРКУЛЕЗ ЛЕГКИХ

ГУ «Донецкий государственный медицинский университет», г. Донецк

КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ІНГАЛЯЦІЙНОГО ВИКОРИСТАННЯ ПРОУРОКІНАЗИ ТА ЛІПОФЛАВОНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ДИСБАЛАНСУ РЕГІОНАРНОГО (ЕНДОБРОНХІАЛЬНОГО) ЦИТОКИНОВОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ЗАГОСТРЕННІ ХОЗЛ У ОСІБ, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Н. В. Обухова

Резюме

У хворих з хронічним обструктивним захворюванням легень (ХОЗЛ), які перенесли туберкульоз (ТВС) легенів, вивчений вплив різних схем лікування на регіонарний (в індукованому мокротинні) рівень цитокінів.

При загостренні ХОЗЛ неінфекційного характеру у хворих після клінічного лікування туберкульозу легень у порівнянні із хворими зі стабільним плином ХОЗЛ подібних хворих виявлене багаторазове зростання регіонарного (ендобронхіального) рівня остеопротегерину, а також прозапальних цитокінів IL-1 β і TNF- α з одночасним зниженням рівня цитокіну з антизапальною активністю IL-4.

Доведено перевагу застосування комбінованого лікування загострення ХОЗЛ із використанням β_2 -агоніста та антихолінергічного препарату (беродуал), а також курсу інгаляцій проурокинази (гемаза) і ліпофлавоно з метою корекції регіонарного (ендобронхіального) дисбалансу цитокінового гомеостазу — зниження рівня остеопротегерину й прозапального цитокіну IL-1 β в індукованому мокротинні.

Встановлено, що при комбінованому використанні беродуалу та курсу інгаляцій проурокинази й ліпофлавоно має місце синергічна дія препаратів, що характеризується істотним зниженням рівня прозапального цитокіну IL-1 β в індукованому мокротинні й зростанням ОФВ₁.

Доведено клінічну ефективність комбінованого лікування загострення ХОЗЛ із використанням беродуалу та курсу інгаляцій проурокинази й ліпофлавоно, що характеризується поліпшенням функції зовнішнього дихання — зростанням величини основного спірометричного параметру визначення ступеня тяжкості ХОЗЛ — ОФВ₁.

Ключові слова: остеопротегерин, TNF- α , бронхіальний епітелій, хронічне обструктивне захворювання легенів, туберкульоз легенів.

Укр. пульмонол. журнал. 2014, № 2, С. 78–81.

Обухова Наталья Владимировна

ГУ «Донецкий государственный медицинский университет»

Кафедра фтизиатрии и пульмонологии, ассистент

Тел.: 38 0501044441, auchadiev@mail.ru

CLINICAL EFFECTIVENESS OF INHALED PROUROKINASE AND LIPOFLAVON FOR CORRECTION OF LOCAL (ENDOBRONCIAL) IMBALANCE OF CYTOKINE HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH COPD EXACERBATION, CURED FROM PULMONARY TUBERCULOSIS

N. V. Obukhova

Abstract

In a cohort of patients with chronic obstructive pulmonary disease, who were cured from pulmonary tuberculosis, we have studied the effect of different regimens of treatment on local concentration of cytokines in induced sputum.

A several fold increase of endobronchial concentration of osteoprotegerin and pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β and TNF- α , with the parallel decrease of IL-4 level, is observed in patients with non-infectious COPD exacerbations in patients, treated from pulmonary tuberculosis in the contrast to regular COPD patients.

An advantage of combined use of Berodual and inhaled prourokinase and lipoflavon was proved in these patients. Such therapy significantly decreases the level of IL-1 β in induced sputum and increases FEV₁ value.

A clinical effectiveness of combination of inhalation therapy with Berodual and prourokinase/lipoflavon in COPD exacerbation patients was confirmed by improvement of pulmonary function, namely FEV₁ index, which is essential in determining a grade of disease severity.

Key words: osteoprotegerin, TNF- α , bronchial epithelium, chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary tuberculosis.

Ukr. Pulmonol. J. 2014; 2:78–81.

Nataliya V. Obukhova

SU The Donetsk State Medical University

Department of Tuberculosis and Pulmonology

MD, Associate Professor

Tel.: 380501044441, auchadiev@mail.ru

Если рассматривать хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ) как универсальную реакцию на воздействие всех известных и предполагаемых факторов риска [3], то именно накопленный клинический опыт позволяет утверждать, что перенесенный туберкулез (ТВС) легких может рассматриваться в качестве фактора высокого риска прогрессирования ХОЗЛ [4, 6].

В ряду возможных механизмов быстрого прогрессирования ХОЗЛ у лиц, перенесших туберкулез легких, центральное место занимает дисбаланс цитокінового гомеостазу, выполняющий при ТВС важную саногенетическую (“антимикобактериальную”) миссию, а при ХОЗЛ — патогенетическую, способст-

вующую поддержанию хронического воспалительного процесса в бронхолегочной системе [5, 8].

В рамках современной научной концепции формирования “антицитокіновых стратегий” в пульмонологической практике с определенной долей условности можно выделить два направления: разработка препаратов с антицитокіновой активностью и поиск новых терапевтических “мишеней” за счет углубления понимания цитокіно-ассоциированных патогенетических механизмов развития заболеваний.

Результаты проведенных нами экспериментов *in vitro* [2] свидетельствуют о целесообразности коррекции остеопротегерин-индуцированного синтеза провоспалительных цитокінов на уровне тканей бронхиального эпителия прежде всего у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких. Нами также

дано патофизиологическое обоснование целесообразности использования для коррекции нарушений функциональной интеграции дисбаланса системы протеолиз/ингибиторы протеолиза [1] активатора плазминогена мочевого типа (урокиназы), а также липофлавона.

В этой связи, по нашему мнению, важной задачей становится сравнительное изучение влияния на остеопротегерин-зависимые механизмы патогенеза ХОЗЛ таких основных бронходилататоров, рекомендуемых в качестве базисной терапии ХОЗЛ современными положениями GOLD, как β_2 -агонистов, антихолинэргических препаратов короткого и длительного действия и комбинации этих препаратов [7].

Целью исследования явилось научное обоснование целесообразности использования и оценка клинической эффективности оптимизированной базисной терапии для коррекции регионарного (эндобронхиального) остеопротегерин-зависимого дисбаланса цитокинового гомеостаза при ХОЗЛ у лиц, перенесших ТВС легких.

Материал и методы

Под наблюдением было 106 больных ХОЗЛ, которых распределили следующим образом. 1-ю (контрольную) группу составили 42 больных ХОЗЛ (бронхиальная обструкция I–II степени тяжести, стабильное течение), перенесших ТВС легких; базисную терапию ХОЗЛ до поступления в стационар не получали. Во 2-ю группу вошли 22 больных ХОЗЛ (I–II степени тяжести, обострение), перенесших ТВС легких. Всем больным 2-й группы в стационаре назначался беродуал (Boehringer Ingelheim); дозированный аэрозоль, по 2 ингаляции 3 раза в день курсом 21 день), сочетающий два компонента — ипратропий и фенотерол. В 3-ю группу вошли 24 больных ХОЗЛ (I–II степени тяжести, обострение), перенесших ТВС легких. Все больные 3-ей группы в стационаре получали по 10 ингаляций проурокиназы (Гемаза, ФГУ «РКНПК Росздрава» — ЭПБМП, Россия) по 30 МЕ в 15 мл физиологического раствора с использованием ультразвукового ингалятора) и липофлавона («БИОЛЕК», Харьков); в пересчете на фосфатидилхолин (лецитин) разовую дозу липофлавона на одну ингаляцию назначали из расчета 15 мг/кг массы тела на одну ингаляцию с использованием ультразвукового ингалятора) через день общим курсом 20 дней. В 4-ю группу вошли 18 больных ХОЗЛ (I–II степени тяжести, обострение), перенесших ТВС легких. Все больные 4-й группы в стационаре получали беродуал, а также по 10 ингаляций проурокиназы и липофлавона через день общим курсом 20 дней.

Концентрацию остеопротегерина в индуцированной мокроте, которую собирали после многократной ингаляции гипертонического раствора хлорида натрия через небулайзер, определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов Human Osteoprotegerin (OPG) ELISA Kit компании Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG (Австрия). Для определения в индуцированной мокроте уровня TNF- α и IL-4 были использованы тест-системы и реагенты тест-системы ProCon ТОО «Протеиновый контур» (Россия), уровня IL-1 β — тест-системы ТОО «Цитокин» (Россия). Оценка результатов осуществлялась фотометрически.

Результаты и обсуждение

Цифровые данные, характеризующие динамику уровня цитокинов в индуцированной мокроте под влиянием курса лечения у больных 2-й, 3-й и 4-й групп представлены в табли-

це.

Нами установлено (табл.), что у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких, уровень остеопротегерина в индуцированной мокроте при обострении хронического неспецифического заболевания (2-я и 3-я группы) на 35,2–31,1 % ($p < 0,001$) выше, чем у больных со стабильным течением заболевания (1-я группа).

Установлено также, что под влиянием 20-дневного курса применения комбинированного препарата беродуал (2-я группа) уровень остеопротегерина в индуцированной мокроте достоверно не меняется, а под влиянием курса ингаляций урокиназы и липофлавона (3-я группа) — снижается на 20,1 % ($p_1 < 0,001$). Таким образом, нами установлено, что курс ингаляций урокиназы и липофлавона у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких, оказывает достоверно более выраженное влияние на регионарный (эндобронхиальный) уровень остеопротегерина, чем препарат, сочетающий два компонента — ипратропий и фенотерол. Обращает на себя внимание, что у больных 3-й группы на втором этапе исследования (после лечения) уровень остеопротегерина в индуцированной мокроте остается на уровне показателя у больных 2-й группы (ремиссия ХОЗЛ), что не исключает реализации остеопротегерин-зависимых механизмов прогрессирования ХОЗЛ, доказанных в нашем исследовании.

Для поиска путей повышения эффективности местной (эндобронхиальной) антиosteoprotegerиновой стратегии (терапии) нами у больных 4-й группы применено сочетанное использование беродуала и курса ингаляций урокиназы и липофлавона. Нами установлено, что использование указанной комбинированной терапии у больных 4-й группы сопровождается снижением уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте на 37,6 % ($p < 0,01$, $p_1 < 0,001$) ниже уровня остеопротегерина у больных 1-й группы.

Таким образом, установлено, что применение 20-дневного курса комбинированного препарата беродуал при обострении ХОЗЛ не приводит к достоверному снижению уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте. Под влиянием курса ингаляций урокиназы и липофлавона (по 10 ингаляций чередуясь через день общим курсом 20 дней) выявлено достоверно снижение уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте относительно исходного (до лечения) уровня. Выявлено также, что для снижения уровня остеопротегерина в индуцированной мокроте ниже уровня цитокина у больных со стабильным течением ХОЗЛ (в фазе ремиссии) целесообразно сочетанное использование комбинированного препарата беродуал и курса ингаляций урокиназы и липофлавона. Необходимо также подчеркнуть, что для расшифровки особенностей синергического действия комбинированного препарата беродуал и курса ингаляций проурокиназы и липофлавона требуется продолжения научных поисков.

Установлено также, что у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких, уровень провоспалительного цитокина IL-1 β в индуцированной мокроте при обострении хронического неспецифического заболевания (2-я — 4-я группы) в 4,9–4,7 раза ($p < 0,001$) выше, чем у больных 1-й группы. Под влиянием курса лечения беродуалом (2-я группа) исследованный показатель достоверно снижается на 24,9 % ($p_1 < 0,001$), а ингаляций проурокиназы и липофлавона (3-я группа) — на 14,6 % ($p < 0,001$, $p_1 < 0,02$), что существенно меньше в сравнении с соответствующим этапом исследования у больных 2-й группы,

Динамика уровня цитокинов в индуцированной мокроте под влиянием курса лечения у больных 2-й, 3-й и 4-й групп, пг/мл на ед. белка

Группа	Этап исследования	Стат. показ.	OPG, пг/мл на ед. белка	IL-1 β	IL-4	TNF- α
1-я группа	При поступлении на обследование в противотуберкулезный диспансер	M \pm m n p P ₁	19772,00 \pm 701,49 42 — —	39,92 \pm 1,98 28 — —	8,54 \pm 0,39 28 — —	54,87 \pm 2,32 28 — —
2-я группа	До лечения	M \pm m n p P ₁	26735,14 \pm 1157,37 22 < 0,001 —	186,02 \pm 9,31 22 < 0,001 —	В диапазоне чувствительности тест-системы определялся в 9-ти из 22-х проб	322,27 \pm 10,74 22 < 0,001 —
	После лечения	M \pm m n p P ₁	23866,40 \pm 958,06 19 < 0,001 < 0,1	139,64 \pm 5,83 19 < 0,001 < 0,001	3,07 \pm 0,16 19 < 0,001 —	266,70 \pm 7,77 19 < 0,001 < 0,001
3-я группа	До лечения	M \pm m n p P ₁	25921,79 \pm 1009,95 24 < 0,001 —	194,52 \pm 9,34 24 < 0,001 —	В диапазоне чувствительности тест-системы определялся в 6-ти из 24-х проб	314,34 \pm 12,96 24 < 0,001 —
	После лечения	M \pm m n p P ₁	20720,93 \pm 928,76 21 < 0,5 < 0,001	166,10 \pm 6,73 21 < 0,001 < 0,02	2,94 \pm 0,14 21 < 0,001 —	299,76 \pm 12,57 21 < 0,001 < 0,5
4-я группа	До лечения	M \pm m n p P ₁	25816,64 \pm 1190,33 18 < 0,001 —	183,09 \pm 7,14 18 < 0,001	В диапазоне чувствительности тест-системы определялся в 7-и из 18-ти проб	306,32 \pm 6,84 18 < 0,001 —
	После лечения	M \pm m n p P ₁	16118,75 \pm 875,22 18 < 0,01 < 0,001	115,39 \pm 7,03 18 < 0,001 < 0,001	3,14 \pm 0,14 18 < 0,001 —	255,31 \pm 10,98 18 < 0,001 < 0,001

Примечание: p — достоверность различий в сравнении с больными 1-й группы, p₁ — достоверность различий в сравнении с соответствующим показателем до лечения у больных той же группы.

получавших беродуал (достоверность различия между ними < 0,01). Таким образом, нами установлено, что курс ингаляций проурокиназы и липофлавона у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких, оказывают существенно менее выраженное, чем беродуал, ингибирующее влияние на регионарный (эндобронхиальный) уровень провоспалительного цитокина IL-1 β .

У больных 4-й группы, получавших как беродуал, так и курс ингаляций проурокиназы и липофлавона, под влиянием проводимой терапии уровень IL-1 β в индуцированной мокроте снижается на 37,0 % (p₁ < 0,001), что существенно отличается от соответствующего показателя у больных 3-й группы, получавших беродуал (достоверность различия между ними < 0,01). Таким образом, при комбинированном использовании беродуала и курса ингаляций проурокиназы и липофлавона также имеет место синергическое действие, характеризующееся существенным снижением уровня провоспалительного цитокина IL-1 β в индуцированной мокроте.

Уровень цитокина IL-4 в индуцированной мокроте у больных 1-й группы составляет (8,54 \pm 0,39) пг/мл на ед. белка, а при обострении хронического неспецифического заболевания (2-я, 3-я и 4-я группы) снижается и определяется в диапазоне чувствительности тест-системы лишь в части проб. Под влиянием курса лечения беродуалом и курса ингаляций проурокиназы и липофлавона, а также комбинированной терапии исследованный показатель входит в диапазон чувствительности тест-системы, но остается существенно ниже, чем у больных 1-й группы.

Выявлено, что уровень провоспалительного цитокина TNF- α в индуцированной мокроте при обострении хронического неспецифического заболевания (2-я — 4-я группы) в 5,9–5,7 раза (p < 0,001) выше, чем у больных в фазе ремиссии

со стабильным течением заболевания (1-я группа). Под влиянием 20-дневного курса применения комбинированного препарата беродуал исследованный показатель достоверно снижается соответственно на 17,4 % — 16,7 % (p₁ < 0,001), а под влиянием курса ингаляций проурокиназы и липофлавона (3-я группа) — существенно не меняется. Таким образом, нами установлено, что беродуал у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких, оказывают анти-TNF- α -активное влияние на регионарный (эндобронхиальный) уровень провоспалительного цитокина. Влияния курса ингаляций проурокиназы и липофлавона на исследованный показатель нами не выявлено.

Нами также отмечено, что под влиянием 20-дневного курса применения комбинированного препарата беродуал (2-я группа) величина основного спирометрического параметра определения степени тяжести ХОЗЛ — ОФV₁ возрастает на 13,1 % (p₁ < 0,001), а под влиянием курса ингаляций проурокиназы и липофлавона (3-я группа) — на 16,6 % (p₁ < 0,001). У больных 4-й группы под влиянием проводимой терапии ОФV₁ возрастает на 34,0 % (p₁ < 0,001), что существенно отличается от соответствующего показателя как у больных 2-й группы, так и у больных 3-й группы, получавших курс ингаляций проурокиназы и липофлавона (p < 0,001). Таким образом, нами установлено, что у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких, при комбинированном использовании беродуала и курса ингаляций проурокиназы и липофлавона также имеет место синергическое действие препаратов, характеризующееся существенным возрастанием величины основного спирометрического параметра определения степени тяжести ХОЗЛ — ОФV₁.

Выводы

При обострении (неинфекционного характера) ХОЗЛ у больных после клинического излечения туберкулеза легких в сравнении со стабильным течением ХОЗЛ у подобных больных выявлено многократное возрастание регионарного (эндобронхиального) уровня остеопротегерина, а также провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α с одновременным снижением уровня цитокина с противовоспалительной активностью IL-4.

Доказано преимущество применения комбинированного лечения обострения ХОЗЛ с использованием β_2 -агониста и антихолинергического препарата (беродуал), а также курса ингаляций проурокиназы и липофлавона с целью коррекции регионарного (эндобронхиального) дисбаланса цитокинового гомеостаза — снижения уровня остеопротегерина и провоспалительного цитокина IL-1 β в индуцированной мокроте.

Установлено, что при комбинированном использовании беродуала и курса ингаляций проурокиназы и липофлавона имеет место синергическое действие препаратов, характеризующееся существенным снижением уровня провоспалительного цитокина IL-1 β в индуцированной мокроте и возрастанием ОФВ $_1$. Для расшифровки особенностей синергического действия указанных препаратов требуется продолжение научных поисков.

Доказана клиническая эффективность комбинированного лечения обострения ХОЗЛ с использованием беродуала и курса ингаляций проурокиназы и липофлавона, характеризующаяся улучшением функции внешнего дыхания — возрастанием величины основного спирометрического параметра определения степени тяжести ХОЗЛ — ОФВ $_1$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обухова, Н. В. Влияние активатора плазминогена на остеопротегерин-зависимое нарушение функциональной интеграции иммунной, фибринолитической систем и системы цитокинов у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких [Текст] / Н. В. Обухова // Украинский медицинский альманах. — 2012. — Т. 15, № 6. — С. 128–131.
2. Обухова, Н. В. Остеопротегерин-опосредованная лимфоидная (лейкоцитарная) регуляция синтеза цитокинов клетками эпителия бронхов у больных ХОЗЛ, перенесших туберкулез легких [Текст] / Н. В. Обухова // Таврический медико-биологический вестник. — 2013. — Т. 16, № 1(61). — С. 218–224.
3. Barnes, P. J. Chronic obstructive pulmonary disease: a growing but neglected epidemic [Text] / P. J. Barnes // PLoS. Med. — 2007. — Vol. 4. — P. 112.
4. COPD and the risk of tuberculosis — a population-based cohort study [Text] / M. Inghammar [et al.] // PLoS One. — 2010. — Vol. 13, No. 5. — P. 10138.
5. Detection of in vitro interferon-gamma and serum tumour necrosis factor-alpha in multidrug-resistant tuberculosis patients [Text] / A. Fortes, K. Pereira, P. R. Antas [et al.] // Clin. Exp. Immunol. — 2005. — Vol. 141, No. 3. — P. 541–548.
6. Ganiev, K. G. Sanatorium treatment in patients with tuberculosis associated with nonspecific lung diseases [Text] / K. G. Ganiev, T. A. Vavilova, N. A. Salakhutdinova // Probl. Tuberk. — 2000. — Vol. 4. — P. 34–36.
7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Diseases (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report. Updated 2013. [Electronic resource] — Режим доступа: <http://www.goldcopd.com>
8. The production of tumour necrosis factor-alpha is decreased in peripheral blood mononuclear cells from multidrug-resistant tuberculosis patients following stimulation with the 30-kDa antigen of Mycobacterium tuberculosis [Text] / J. S. Lee, C. H. Song, J. H. Lim [et al.] // Clin. Exp. Immunol. — 2003. — Vol. 132, No. 3. — P. 443–449.

REFERENCES

1. Obukhova NV. Vliyaniye aktivatora plazminogena na osteoprogerin-zavisimoye narusheniye funktsionalnoy integratsii immunnoy fibrinolicheskoy sistem i sistemy tsitokinov u bolnykh KHOZL, perenesshikh tuberkulez legkikh (Influence of plasminogen activator on osteoprotegerin-dependent immune violation functional integration, and fibrinolytic systems of cytokines in patients with COPD undergoing pulmonary tuberculosis). *Ukrayinskyi medychnyi almanakh*. 2012;No 15(6):128–131.
2. Obukhova NV. Osteoprogerin-oposredovannaya limfoidnaya (leykotsitarnaya) regulyatsiya sinteza tsitokinov kletkami epiteliya bronkhov u bolnykh KHOZL, perenesshikh tuberkulez legkikh (Osteoprotegerin-mediated lymphoid (leukocyte) regulation of cytokine synthesis by cells of the bronchi in patients with COPD, undergoing pulmonary tuberculosis). *Tavricheskiy mediko-biologicheskiiy vestnik*. 2013;No 16(61):218–224.
3. Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease: a growing but neglected epidemic. *PLoS Med*. 2007;4:112.
4. Inghammar M, et al. COPD and the risk of tuberculosis — a population-based cohort study. *PLoS One*. 2010;13(5):10138.
5. Fortes A, Pereira K, Antas PR, et al. Detection of in vitro interferon-gamma and serum tumour necrosis factor-alpha in multidrug-resistant tuberculosis patients. *Clin. Exp. Immunol*. 2005;141(3):541–548.
6. Ganiev KG, Vavilova TA, Salakhutdinova NA. Sanatorium treatment in patients with tuberculosis associated with nonspecific lung diseases. *Probl. Tuberk*. 2000;4:34–36.
7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Diseases (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report. Updated 2013. Available at: <http://www.goldcopd.com>
8. Lee JS, Song CH, Lim JH, et al. The production of tumour necrosis factor-alpha is decreased in peripheral blood mononuclear cells from multidrug-resistant tuberculosis patients following stimulation with the 30-kDa antigen of Mycobacterium tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol*. 2003;132(3):443–449.