

УДК: 616.24-002.5-085.37:612.423

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РОНКОЛЕЙКИНА® У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ НЕПРЯМЫМ ЛИМФОТРОПНЫМ СПОСОБОМ

Е.Н. Кроткова; Г.М. Сухоцкая, к.м.н.; И.С. Гельберг, профессор, д.м.н.; В.Л. Мороз; В.М. Шейбак, д.м.н.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

ГОУЗ «Фтизиатрия»

*Показана эффективность непрямого лимфотропного введения Ронколейкина® больным туберкулезом легких. Выявлено его стимулирующее действие на клеточное звено иммунитета. Доказано быстрое проникновение родственных Ронколейкину® соединений в ткань легких в случае введения в загрудинную или подмышечную области.*

**Ключевые слова:** туберкулез легких, Ронколейкин®, иммунитет, люминисцирующая сыворотка, лимфатическая система.

*We shows the efficacy of indirect lymphotropic introduction of Ronkoleikin to the patients with pulmonary tuberculosis. Reveals its stimulating effect on the cellular component of immune system. It also proves fast penetration to the lung tissue of compounds similar to Ronkoleikin when introduced to retrosternal and axillary regions.*

**Key words:** tuberculosis, Ronkoleikin, immune system, luminescent serum, lymphatic system.

При активном туберкулезе у большинства заболевших, особенно при распространенных его формах, развивается иммунный дефицит и дисбаланс, в первую очередь, клеточного звена. Так, по полученным нами данным, в периферической крови и бронхоальвеолярном смыве (БАС) значительно снижается уровень общих Т-лимфоцитов (CD3), Т-лимфоцитов-хелперов (CD4) при относительном увеличении уровня Т-киллеров/супрессоров (CD8), что приводит к снижению иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8). В меньшей степени снижается уровень других субпопуляций Т-лимфоцитов (CD16, CD25) и В-лимфоцитов (CD19) [2].

При проведении полихимиотерапии по современным методикам, 3-мя-5-ю противотуберкулезными препаратами одновременно, показатели иммунитета не нормализуются, а иногда его нарушения еще усугубляются, несмотря на клиническое улучшение. Антибактериальные препараты (АБП) могут обладать иммунодепрессивным действием, особенно четко это выявляется в отношении рифампицина [6]. Поэтому, иммуномодулирующая терапия должна являться важным звеном в комплексном лечении больных туберкулезом.

С появлением нового класса иммуномодуляторов - рекомбинантных цитокинов открылись новые возможности иммуномодулирующей терапии заболеваний, в том числе туберкулеза [1, 3].

Ронколейкин® - полный структурный и функциональный аналог человеческого эндогенного IL-2, является полипептидом, состоящим из 133 аминокислот, с молекулярной массой 15,4 кДа. Зарегистрирован Фармакологическим комитетом МЗ РБ (рег. уд. 2776/97/03) и разрешен к применению для лечения иммуносупрессии, сопровождающей септические состояния различной этиологии.

Накоплен положительный опыт использования Ронколейкина® при многих заболеваниях [1, 3, 10]. Имеются работы о применении Ронколейкина® при туберкулезе легких внутривенным способом с положительным эффектом в виде улучшения показателей клеточного иммунитета периферической крови и определенного повышения клинической результативности лечения. Недостатками данного способа являются довольно частые побочные реакции в виде повышения температуры тела, а также длительность введения - 6-8 часов с целью удлинения периода полувыведения [1]. Имеются данные об эндолимфатическом введении препарата через грудной лимфатический проток. Однако, данный способ технически сложен, травматичен, требует овладения микрохирургической техникой, не исключаются осложнения [3]. В эксперименте доказано, что препарат Ронколейкин® при подкожном введении не обладает местно-раздражающим действием в эквиваленте дозы однократного введения человеку [7]. Достигнуты положительные результаты при подкожном применении Ронколейкина® у хирургических больных с гнойно-септическими осложнениями [10]. Иммуномодулятор тактивин, а также противотуберкулезных препаратов в подкожно-жировую клетчатку передней стенки грудной клетки. Данный способ трактуется рядом авторов как не прямой регионарный эндолимфатический (лимфотропный) [4, 5, 9]. В то же время, при туберкулезе подобная методика введения Ронколейкина® не применялась, в доступной литературе не описана.

Целью исследования явилась клиническая апробация использования Ронколейкина® при его введении непрямым лимфотропным способом в комплексной терапии больных распространенны-

ми формами туберкулеза легких и экспериментальное подтверждение возможности ретроградного распространения по лимфатическим сосудам в легочную ткань пептидсодержащих лекарственных препаратов в случае их введения в подкожную клетчатку грудной и подмышечной области.

### Материалы и методы

Клинические исследования выполнены у 80 больных туберкулезом органов дыхания, находившихся на лечении в клинике Гродненского областного противотуберкулезного диспансера. Среди обследованных преобладали мужчины – 61 человек (76,3±4,7%), женщины - 19 человек (23,7±4,7%). Средний возраст больных составил 37,8±1,2 лет (мужчин-39,5±1,3 лет, женщин-32,2±2,1 лет). В 90±3,3% случаев клинической формой являлся инфильтративный туберкулез, 7,5±2,9%-диссеминированный, 2,5±1,6%-кавернозный. Полости респираторно-рентгенологически определялись в 85±4,0% случаев. Бактериовыделение имелось в 87,5±3,7%. У всех больных отмечались симптомы интоксикации.

На 1-ой неделе после установления диагноза больным туберкулезом легких вводился Ронколейкин® непрямым лимфотропным способом в дозе 500 000 МЕ (из расчета 0,01 мг/кг массы), растворенный в 10 мл 0,9% раствора хлорида натрия при введении в подкожную клетчатку грудной, или в 2 мл 0,9% раствора хлорида при введении в подкожную клетчатку подмышечной области. Препарат вводили трехкратно, 1 раз в сутки через 48 часов. Введение больными Ронколейкина® переносилось хорошо, осложнений и побочных явлений не наблюдалось. После введения накладывают повязку с гепариновой мазью или спиртовым раствором. На месте введения образовывался участок уплотнения подкожной клетчатки, который рассасывался обычно через 2-3 часа.

Иммунологическое тестирование включало оценку экспрессии поверхностных антигенов лимфоцитов в крови и БАС. Последние получали при бронхоскопии больных туберкулезом. Обогащенная лимфоцитами суспензия в концентрации 2-4 млн/мл вносилась в круглодонные лунки иммунологических планшетов с добавлением CD – антигена антител к CD3, CD4, CD8, CD 16, CD25, CD19-АГ. Осуществляется учет АГ- положительных лимфоцитов.

Эксперимент был проведен на 15 беспородных белых крысах массой тела 200-250 мг (2 опытные и 1 контрольная группы). Крысам первой опытной группы вводили 0,5 мл люминесцирующей сыворотки подкожно в область претрахеального клеточного пространства, крысам второй опытной группы - 0,5 мл люминесцирующей сыворотки подкожно в подмышечную область. Используемая сыворотка представляла собой глобулиновые фракции, выделенные из антисывороток к IgG, IgA, IgM, IgD

или IgE человека, полученные при иммунизации кроликов, баранов или других животных соответствующими антигенами. К антителам химическим путем присоединен флюорохроми. Крысам контрольной группы вводилась эквивалентная доза физиологического раствора в вышеуказанные места. Через сутки производился забой животных методом декапитации и их вскрытие. Изготавливались мазки-отпечатки легких и селезенки, которые затем просматривались на лазерном сканирующем микроскопе LSM.

### Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены результаты при использовании Ронколейкина® непрямым лимфотропным способом в комплексной терапии у больных распространенными формами туберкулеза легких.

Таблица 1. Содержание иммунофенотипов лимфоцитов в периферической крови больных распространенными формами туберкулеза легких при лечении Ронколейкином® непрямым лимфотропным способом

Наименование фенотипа	Группа, n=80		
	до лечения	после лечения	через 1 месяц
CD3, %	35,9±1,4	47,1±1,9*	49,6±3,4*
CD4, %	21,9±1,1	32,9±1,4*	38,1±3,4*
CD8, %	19,6±0,9	20,7±0,8	21,7±2,4
CD25, %	14,1±0,5	16,7±0,5*	21,5±1,8*
CD16, %	14,5±0,7	17,6±0,8*	14,2±1,3
CD19, %	16,4±1,7	18,6±1,3	13,7±1,0*
CD4/CD8	1,1±0,01	1,6±0,01*	1,86±0,01*

Примечание: \* - достоверно (p<0,05) по отношению к 1-ому исследованию

У больных исследуемых групп не выявлено различий по исходному количеству лейкоцитов и процентному содержанию лимфоцитов у больных исследуемых групп. Под влиянием Ронколейкина® в сочетании с основной терапией ПТП (табл. 1) происходит довольно значительное и достоверное увеличение уровня популяции CD3 в 1,7 раза, CD4 – в 1,5 раза, CD25 - в 1,5 раза. Нормализовался исходно сниженный иммунорегуляторный индекс. Отмечается повышение уровня естественных киллеров и В-лимфоцитов, однако, уровень последних, через месяц снизился.

В табл. 2 приводятся данные о показателях местного иммунитета при исследовании БАС в динамике на фоне проведения терапии Ронколейкином® у больных туберкулезом легких.

Таблица 2. Содержание иммунофенотипов лимфоцитов в БАС больных распространенными формами туберкулеза легких при лечении Ронколейкином® непрямым лимфотропным способом

Наименование фенотипа	Группа, n=35		
	до лечения	после курса	через 1 месяц
CD3, %	29,6±3,9	43,1±2,4*	47,0±5,3*
CD4, %	29,4±3,0	32,8±1,9	38,7±2,1*
CD8, %	23,1±1,6	24,9±1,2	27,7±0,75
CD25, %	25,7±3,2	26,6±1,1	25,2±1,7
CD16, %	27,8±2,2	26,3±1,1	30,3±2,9
CD19, %	29,8±1,03	30,5±2,09	32,5±1,9
CD4/CD8	1,27±0,01	1,3±0,01	1,4±0,01

Примечание: \*p<0,05 в сравнении с 1-ым исследованием в группе

В БАС отмечается достоверное увеличение содержания популяции CD3 ( $p < 0,05$ ) после курса иммуномодулирующей терапии и через месяц, а также CD4- через месяц (табл. 2).

В результате проведенных исследований у крыс обеих подопытных групп было обнаружено наличие специфического свечения в легких и селезенке, причем интенсивность свечения в селезенке была несколько выше, чем в легких (рис. 1, 2).

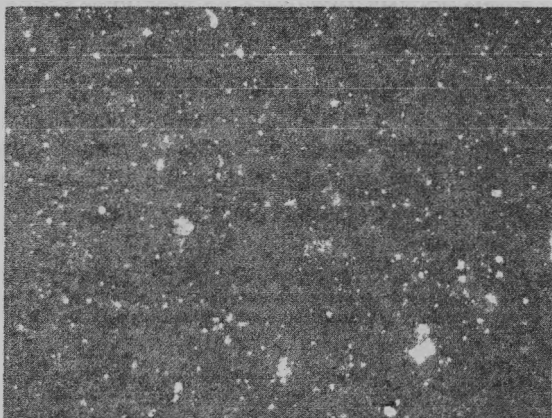


Рис. 1. Диффузное свечение в легких крыс при введении флюоресцирующей сыворотки подкожно в область претрахеального клеточного пространства. Объектив х 20.

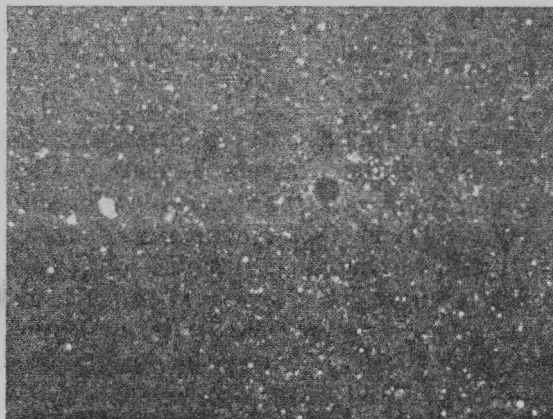


Рис. 2. Диффузное свечение в селезенке крыс при введении флюоресцирующей сыворотки подкожно в область претрахеального клеточного пространства. Объектив х 20.

Таким образом, можно сделать вывод, что не прямой лимфотропный способ введения люминесцирующей сыворотки ведет к ее связыванию с альбуминами плазмы крови, что обуславливает транспортировку и проникновение данного комплекса

в органы и ткани организма. Причем большее накопление люминесцирующих антител в селезенке связано с ее многообразными функциями, выполняемыми в ходе иммунного ответа. Учитывая, что Ронколейкин® является белковым препаратом, нами сделано предположение о возможном введении его непрямым лимфотропным способом.

### Выводы

1. Ронколейкин® при непрямом лимфотропном способе введения оказывает выраженное стимулирующее действие на показатели системного и местного иммунитета у больных туберкулезом легких.

2. В эксперименте доказано, что белковые препараты, к которым относится и Ронколейкин®, при введении в подкожную клетчатку грудной и подмышечной области (непрямым лимфотропным способом) хорошо проникают в легкие, а также, вероятно, в другие органы, на что указывает их наличие в селезенке.

### Литература

1. Арчакова Л. И. Комплексная терапия больных инфильтративным туберкулезом легких с применением рекомбинантных интерлейкинов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.26. - СПб., 2001. - 24 с.
2. Вольф С. Б., Гельберг И. С., Кроткова Е. Н., Мороз В. Л., Тис А. А. Показатели иммунорезистентности у больных туберкулезом с наличием факторов риска // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. - 2004. - №2. - С. 105-110.
3. Козлов В. К., Лебедев М. Ф., Егорова В. Н. Коррекция дисфункций иммунной системы Ронколейкином® // Terra Medica. - 2001. - № 2. - С. 12-14.
4. Лимфотропное введение препаратов (средства и методы практической лимфологии) / Инструктивное письмо МЗ СССР; Сост. Левин Ю. М. - М., 1987. - С. 10.
5. Мазовка Т. В., Абрамовская А. К., Руцкая И. М. Эффективность непрямого эндолимфатического введения изониазида больным туберкулезом легких с наличием различных отягощающих факторов // Актуальные вопросы фтизиатрии и пульмонологии: Сб. науч. работ. - Минск, 1990. - С. 147-153.
6. Матус В. К., Гуревич Г. Л., Шпаковская Н. С., Мельникова А. М., Суркова Л. К. Изучение иммуотропной активности липосомальной формы рифампицина // VIII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: Тез. докл. - М., 2001. - С. 429.
7. Отчет о результатах исследования местно-раздражающего действия препарата «Ронколейкин» при подкожном введении // НИИЦ (МБЦ) ГНИИИВМ МО РФ., 2004. - 5 с.
8. Фирсова В. А., Губкина М. Ф. Обоснование применения регионарной лимфотропной терапии при лечении туберкулеза у подростков // Пробл. туберкулеза. - 1996. - №3. - С. 47-49.
9. Эндолимфатические методы введения лекарственных препаратов в комплексном лечении больных туберкулезом // Метод. рекомендации. - Мн., 1992.
10. Kaplan G., Cohn Z. A., Smith K. A. Rational immunotherapy with interleukin-2 // Biotechnology / -1992. - V. 10, №2. - P. 157-162.