

Е.В. Орлова¹, В.С. Орлова², В.Я. Гергерт³

Применение нуклеотидного биокорректора из дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae* в комбинированной терапии туберкулеза

1 – ГУ ГНЦ РАМН, г. Москва

2 – Российский университет дружбы народов, г. Москва

3 – ЦНИИТ РАМН, г. Москва

E.V. Orlova, V.S. Orlova, V.Ya. Gergert

Efficacy of nucleotide biocorrector derived from baking yeast of the *Saccharomyces cerevisiae* genus in patients with lung tuberculosis

Summary

There is information on efficacy of immunostimulating agents as a part of therapy of lung tuberculosis. Nucleotide biocorrector is a mixture of nucleotides and nucleosides derived from baking yeast of the *Saccharomyces cerevisiae* genus and presenting wide immunomodulating properties. The aim of this study was to investigate efficacy of this agent along with combined chemotherapy in 52 patients with destructive lung tuberculosis. Of them, 27 patients were treated with nucleotide biocorrector (3 g per day orally during 1 month) and conventional chemotherapeutic medication (the study group) and 25 patients (the control group) received equal chemotherapy alone. All the patients were MBT-positive. Immunological examination (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, and CD20+ lymphocytes and their functional activity, anti-MBT-antibodies) was done before and 1 month after starting the treatment; clinical, radiological and laboratory investigations were performed at the same time and additionally in 3 month. Addition of biocorrector to the standard chemotherapy of lung tuberculosis allowed faster normalization of CD3+, CD4+ and CD8+ lymphocytes, enhanced functional activity of T-cell immunity and increased number of CD20+ B-lymphocytes. Moreover, this therapy has facilitated resolution of lung infiltration, eradication of MBT and recovery of tuberculous cavities by the 3rd month of the treatment. Tolerability of biocorrector was good.

Резюме

Имеются данные о целесообразности включения в комплексную терапию туберкулеза иммуностимулирующих препаратов. Нуклеотидный биокорректор является смесью нуклеотидов и нуклеозидов, выделенных из хлебопекарных дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae*, и обладает широким спектром иммуномодулирующей активности. Целью исследования явилось изучение его эффективности в комбинированной химиотерапии 52 больных деструктивным туберкулезом легких, из которых 27 больных получали нуклеотидный биокорректор наряду с химиотерапией (основная группа), а 25 больных, получавших только химиотерапию, составили контрольную группу. Все больные выделяли микобактерии туберкулеза с мокротой. Иммунологическое обследование больных (лимфоциты CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ и CD20+, их функциональная активность, уровень противотуберкулезных антител) проводилось до и через 1 мес. после начала лечения, клинико-рентгенологические и лабораторные показатели определялись в те же сроки и еще через 3 мес. Все больные получали одинаковую стандартную химиотерапию, кроме того, больные основной группы в течение 1-го месяца получали биокорректор 3 г/сут. перорально. На фоне лечения биокорректором быстрее нормализовалось содержание лимфоцитов CD3+, CD4+ и CD8+, повысились функциональная активность Т-клеточного звена иммунитета и содержание В-лимфоцитов CD20+. Назначение биокорректора способствовало разрешению инфильтрации, прекращению бактериовыделения и закрытию полостей распада к 3-му месяцу лечения. Переносимость биокорректора была хорошей.

По данным ВОЗ (<http://www.int>) *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), которая, как известно, способна проникать внутрь макрофагальной клетки [1–3] и вызывать в последующем различные формы туберкулеза [4, 5], входит в десятку наиболее опасных бактериальных инфекций [6].

Имеются данные о целесообразности включения в комплексную терапию туберкулеза иммуностимулирующих препаратов и антиоксидантов [7] на фоне применения стандартной схемы противотуберкулезной терапии.

Нуклеотидный биокорректор, имеющий европейский патент W096/38353, российский патент № 2128218 и зарегистрированный как лекарствен-

ная форма согласно закону РФ "О лекарственных препаратах" в качестве иммуностимулирующего средства (код АТС-[L03AX]), является смесью нуклеотидов и нуклеозидов, выделенных из хлебопекарных дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae*. Проведенные доклинические испытания показали, что нуклеотидный биокорректор обладает широким спектром иммуномодулирующего воздействия на гуморальный и клеточный иммунитет. В комплексном лечении больных туберкулезом легких биокорректор ранее не применялся.

Целью исследования явилось изучение эффективности нуклеотидного биокорректора в процессе комбинированной химиотерапии укороченной дли-

тельности больных деструктивным туберкулезом легких как патогенетического средства иммуномодулирующего характера.

Материалы и методы

В исследование были включены больные деструктивным туберкулезом легких в возрасте от 20 до 50 лет. Всего было обследовано 52 больных, из которых 27 больных составили основную группу, получавшую с комплексной химиотерапией нуклеотидный биокорректор. 25 больных, получавших только химиотерапию, были отнесены к контрольной группе. Основная и контрольная группы формировались слепым методом, что позволило сформировать сопоставимые группы и объективно оценить полученные результаты. Иммунологические показатели больных сравнивали с таковыми группы здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Среди 27 больных основной группы, получавших нуклеотидный биокорректор в сочетании с комбинированной противотуберкулезной химиотерапией, были 18 мужчин и 9 женщин. В возрасте до 30 лет было 8, а в возрасте от 30 до 50 лет — 19 больных. Диссеминированный туберкулез был у 5, инфильтративный — у 11, казеозная пневмония — у 5, кавернозный туберкулез — у 4 и фиброзно-кавернозный — у 2 больных. У всех 27 больных было установлено выделение МБТ в мокроте как методом микроскопии мазка, так и при посеве на питательные среды. При поступлении в стационар у всех 27 больных основной группы выявлялся синдром интоксикации, характеризующийся повышением температуры тела до фебрильных цифр, слабостью, потливостью. Выявлялись воспалительные изменения в периферической крови; лейкоцитоз в пределах 8–10 тыс., сдвиг формулы влево, ускоренное СОЭ до 30–50 мм в час, у 14 больных была лимфопения менее 15 %. У всех больных выявлялись бронхо-легочные симптомы заболевания: кашель с выделением слизисто-гнойной мокроты, одышка при физической нагрузке, у 7 больных было кровохарканье. При рентгено-томографическом исследовании у 5 больных инфильтративные изменения в легких ограничивались 1-2 сегментами, у 15 — 1-2 долями и у 7 — инфильтративные изменения локализовались в 3 и более долях легких. У 10 больных было двустороннее поражение легких. У всех 27 больных имелись деструктивные изменения в легких по типу формирующихся и сформированных каверн.

Среди 25 больных контрольной группы сравнения, лечившихся только противотуберкулезными препаратами, мужчин было 19, женщин — 6. В возрасте от 20 до 30 лет было 7 пациентов; а в возрасте 30–50 — 18. Диссеминированный туберкулез был у 4 больных, инфильтративный — у 11, казеозная пневмония — у 4, кавернозный туберкулез — у 3 и фиброзно-кавернозный туберкулез — у 3 больных.

По всем клинико-рентгенологическим и лабораторным параметрам контрольная группа практически не отличалась от основной. Все 25 больных выделяли МБТ. У всех больных были деструктивные изменения в легких с кавернами, также в основном формирующегося и сформированного характера.

Согласно утвержденной программе кроме клинико-рентгенологических и лабораторных обследований больных основной и контрольной групп также проводилось иммунологическое исследование, включающее определение количества CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ и CD20+ лимфоцитов, их функциональной активности в РБТ с ФГА и туберкулином и уровень противотуберкулезных антител методом ИФА.

Иммунологическое обследование больных основной и контрольной групп проводилось до лечения и через 1 мес. лечения. Оценка клинико-рентгенологических и лабораторных параметров изучалась в те же сроки и еще через 3 мес. в конце стационарного этапа лечения.

Все больные основной и контрольной групп получали одинаковую стандартную химиотерапию 4 противотуберкулезными препаратами (изониазид, рифампицин, пиразинамид, стрептомицин или этамбутол).

При получении данных о лекарственной устойчивости МБТ к основным препаратам схема лечения изменялась, и назначались резервные лекарства (канамицин, амикацин, протионамид, таривид). Соотношение больных, у которых была выявлена лекарственная устойчивость к основным препаратам и получавших в этом случае резервные препараты, было примерно одинаково. В основной группе на резервную схему перешло 8, а в контрольной — 7 больных.

В соответствии с программой исследования больные основной группы в процессе проведения комбинированной химиотерапии в течение 1-го мес. (30 дней) получали биокорректор в виде таблеток по 0,5 г. Суточная доза составляла 3 г. Препарат назначался по 2 таблетки / 1,0 г 3 раза в день после еды перорально.

Результаты иммунологического исследования

У большинства больных основной группы, получавших в комбинированной химиотерапии биокорректор, содержание CD3+ лимфоцитов или общих Т-лимфоцитов было заметно меньше, чем в группе здоровых лиц. После лечения в 31,8 % случаев (у 9 из 27 человек) произошло повышение исходно сниженных показателей количества CD3+ клеток с $56,7 \pm 1,4$ % до $69,5 \pm 2,1$ % ($p < 0,05$). В контрольной группе больных, лечившихся только химиопрепаратами, повышение количества CD3+ лимфоцитов отмечалось только в 12 % случаев (у 3 из 25 больных; $p \geq 0,05$).

До начала лечения у большинства больных основной и контрольной группы в среднем исходное количество Т-хелперов CD4+ находилось в пределах физиологической нормы, т. е. не наблюдалось активации этой важнейшей субпопуляции лимфоцитов. Через месяц от начала терапии в основной группе в 32 % случаев отмечалось заметное повышение количества хелперов CD4+ в среднем с $38,3 \pm 1,8$ % до $56,2 \pm 2,6$ % ($p < 0,05$). В контрольной группе эти изменения были выявлены только в 12 % случаев (у 3 из 25 больных; $p \geq 0,05$).

У большинства больных туберкулезом в активной фазе основной и контрольной групп существенных изменений в количественном составе цитотоксических лимфоцитов / Т-супрессоров CD8+ не было. В основной и в контрольной группах в среднем через 1 мес. от начала лечения отрицательной динамики в содержании цитотоксических лимфоцитов / Т-супрессоров CD8 также не выявлено. Следует отметить только некоторое снижение процентного числа CD8+ клеток с 31,3 % до 22,1 % у трети больных основной группы, по-видимому, на фоне выраженной стимуляции и увеличения содержания Т-хелперов CD4+, чего не наблюдалось у пациентов контрольной группы, лечившихся только противотуберкулезными препаратами.

Индекс соотношения CD4+ / CD8+ лимфоцитов или иммунорегуляторный индекс в среднем у больных обеих групп достоверно не отличался от такового группы здоровых лиц. Через 1 мес. лечения у больных основной группы в 23 % случаев установлено достоверное ($p < 0,05$) заметное повышение индекса до 2,7 (преимущественно за счет увеличения содержания Т-хелперов CD4+). В 45 % случаев отмечалась тенденция к более низким, но в пределах нормы, значениям иммуно-регуляторного индекса. У больных контрольной группы через месяц с начала лечения в среднем по группе достоверных изменений соотношения Т-хелперов и Т-супрессоров не выявлено.

Таким образом, при изучении количественных показателей Т-клеточного звена иммунитета установлено, что у больных основной группы, получавших комбинированную химиотерапию в сочетании с биоиндуктором, отмечается более быстрая достоверная нормализация процентного содержания CD3+, CD4+ и CD8+ лимфоцитов через 1 мес. лечения, по сравнению с показателями больных контрольной группы. Указанные изменения более четко были выражены у больных при исходно низких показателях иммунограммы.

Изучение функциональной активности Т-лимфоцитов в РБТ с ФГА и туберкулином также выявили более существенные положительные изменения у больных основной группы.

В основной группе повышение процента исходно сниженных (менее 60 %) ФГА-индуцированных бластообразующих клеток установлено у 77,7 % больных (у 21 из 27). В то время как в контрольной

группе процент бластообразующих клеток повысился только у 56 % больных (14 из 25). Аналогичные изменения в функциональной активности Т-лимфоцитов получены и при изучении их туберкулин-индуцированной бласттрансформации. Повышение исходно сниженного процента бластообразующих клеток в основной группе выявлено у 63,5 % пациентов. У больных контрольной группы повышение процента бластообразующих клеток было отмечено всего в 40 % случаев.

Следовательно, применение биоиндуктора в процессе комбинированной химиотерапии оказывает выраженный иммуностимулирующий эффект и повышает функциональную активность Т-клеточного звена иммунитета.

Оценивали также содержание зрелых активированных естественных киллеров CD16+ (NK-клетки). У большинства больных основной и контрольной групп наблюдался низкий уровень содержания естественных киллеров CD16+, играющих важную роль в иммунитете против внутриклеточных инфекций. После месячного лечения (химиотерапия в сочетании с биоиндуктором) у большинства больных (у 58 %) в основной группе обнаружено достоверное повышение CD16+ клеток (с $9,3 \pm 1,5$ % до $18,1 \pm 2,0$ %, $p < 0,05$). В то время как только у 36 % больных контрольной группы наблюдалась нормализация уровня NK-клеток. Из этого следует, что биоиндуктор не снижает количество NK-клеток, а почти у 60 % пациентов повышает их количество от низких показателей до нормы.

По результатам исследования содержания В-лимфоцитов CD20+ выявлено уменьшение числа этих клеток у большинства больных туберкулезом обеих групп.

После месячной терапии (химиотерапия в сочетании с биоиндуктором) у 63 % больных основной группы установлено заметное, более чем в 2 раза, повышение исходно сниженного процентного содержания В-лимфоцитов CD20+ (у части больных они даже превысили верхний предел нормы). У больных контрольной группы повышение процентного содержания В-лимфоцитов было в меньшей степени (в 1,3-1,5 раза) и за этот период лечения оно наблюдалось только у 36 % пациентов.

Следовательно, биоиндуктор оказывает самое заметное влияние на повышение процента CD20+ клеток при исходно низком их содержании у больных деструктивным туберкулезом легких.

Существенных изменений в уровне противотуберкулезных антител в ИФА как у больных основной, так и контрольной группы выявлено не было.

Таким образом, изучение нуклеотидного биоиндуктора в комплексной противотуберкулезной терапии больных деструктивным туберкулезом легких убедительно показало, что его применение в течение 1 мес. вело к количественному, но, что особенно важно, качественному повышению функциональной активности лимфоидного звена иммунитета. Это

проявлялось в существенном повышении интенсивности ФГА- и туберкулин-индуцированной пролиферации лимфоцитов и существенном количественном повышении содержания В-лимфоцитов и НК-клеток, в значительной мере отвечающих за элиминацию и разрушения МБТ.

Результаты клинического наблюдения

Переносимость биокорректора в течение 1 мес. его применения у всех 27 больных основной группы была хорошая. Ни в одном случае не зарегистрировано никаких неустраиваемых побочных и нежелательных явлений при динамическом клиническом наблюдении и в динамике лабораторных показателей. Только двое больных на первой неделе лечения предъявляли жалобы на небольшую тошноту, которая быстро прошла при приеме препарата с минеральной водой, и в дальнейшем они лечение биокорректором переносили хорошо. Необходимо отметить, что на фоне приема биокорректора также отмечалась хорошая переносимость противотуберкулезных препаратов.

Сравнительный анализ динамики основных клинических параметров через 3 мес. комплексного лечения показал, что в основной группе исчезновение симптомов интоксикации и нормализация формулы крови и СОЭ или же их существенная положительная динамика отмечена в 85,2 % случаев (у 21 из 27 больных) уже на 2-м мес. лечения. В то время как в контрольной группе нормализация данных показателей затягивалась на более длительный срок до 2-3 мес.

Данные, полученные при контрольных рентгенологических и лабораторных исследованиях, показали, что темпы и сроки рассасывания воспалительных изменений в легких у больных основной группы шли опережающими темпами.

Через 3 мес. лечения больных основной группы, получавших химиотерапию в сочетании с биокорректором, частичное рассасывание воспалительных изменений в легких установлено у 19 из 27 (70,3 %) больных. В контрольной группе, где больные получали только противотуберкулезные химиопрепараты, начавшееся или частичное рассасывание воспалительных изменений было отмечено у 16 из 25 (64 %) больных.

Прекращение выделения МБТ через 3 мес. лечения у больных основной группы было установлено в 74,1 % случаев (у 20 из 27 больных). У больных контрольной группы этот показатель составил 68 % (у 17 из 27 больных). Закрытие полостей распада в легких за этот же период времени определялось у 29,6 % (у 8 из 27) больных основной группы и у 24 % (у 6 из 25) — контрольной группы.

Следовательно, дополнительное назначение биокорректора в процессе комбинированной химиотерапии способствовало формированию тенденции к

увеличению числа больных с признаками рассасывания инфильтрации, прекращения бактериовыделения и закрытия полостей распада к 3-му месяцу лечения по сравнению с больными, получавшими только противотуберкулезные препараты. Необходимо отметить, что положительное влияние биокорректора на течение деструктивного туберкулеза легких достигается только в том случае, если противотуберкулезная химиотерапия адекватна и нет лекарственной устойчивости микобактерий к основным противотуберкулезным препаратам. Однако если коррекция химиотерапии проведена своевременно, то последующее применение биокорректора оказывает положительное воздействие.

Таким образом, применение биокорректора у больных деструктивным туберкулезом легких в процессе комбинированной химиотерапии показало его положительное влияние на более быструю нормализацию функциональной активности Т- и В-лимфоцитов и НК-клеток, т. е. иммуномодулирующее действие. На этом фоне отмечалось более благоприятное течение специфического процесса в легких. Следует отметить, что положительное влияние биокорректора проявляется не только на начальном этапе лечения больных деструктивным туберкулезом легких, что ставит вопрос о возможных повторных курсах лечения биокорректором на 2-м этапе химиотерапии как средством, улучшающим репаративные процессы.

Литература

1. Cooper A.M., Segal B.H., Frank A.A. et al. Transient loss of resistance to pulmonary tuberculosis in p47^{phox}^{-/-} mice. *Infect. and Immun.* 2000; 68: 1231–1234.
2. Gordon A.H., Hart P.D. Stimulation or inhibition of the respiratory burst in cultured macrophages in a mycobacterium model: initial stimulation is followed by inhibition after phagocytosis. *Infect. and Immun.* 1994; 62: 4650–4651.
3. Walker L., Lowrie D.B. Killing of *Mycobacterium microti* by immunologically activated macrophages. *Nature* 1981; 293: 69–71.
4. Chan J., Xing Y., Magliozzo R.S., Bloom B.R. Killing of virulent *Mycobacterium tuberculosis* by reactive nitrogen intermediates produced by activated murine macrophages. *J. Exp. Med.* 1992; 175: 1111–1122.
5. Parrish N.M., Dick J.D., Bishai W.R. Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol.* 1998; 6:107–112.
6. Snider D.E.Jr., La Montagne J.R. The neglected global tuberculosis problem: a report of the 1992 World Congress on Tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 1994; 169: 1189–1196.
7. MacMicking J.D., North R.J., LaCourse R. et al. Identification of nitric oxide synthase as a protective locus against tuberculosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 5243–5248.

Поступила 18.12.06
© Коллектив авторов, 2007
УДК 616.24-002.5-085.32