

Земляная Наталия Александровна

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ**

14.00.43 – пульмонология
14.00.26 – фтизиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Научные руководители:

д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАМН,
Заслуженный деятель науки РФ

Стрелис Айвар Карлович

д-р мед. наук

Уразова Ольга Ивановна

Официальные оппоненты:

д-р мед. наук, профессор,

заведующий кафедрой клинической практики сестринского дела ГОУ ВПО СибГМУ
Росздрава

Волков Вениамин Тимофеевич

канд. мед. наук, врач-фтизиатр ОГУЗ «Томская областная туберкулезная клиническая
больница»

Петрова Лидия Егоровна

Ведущая организация:

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Барнаул

Защита диссертации состоится «23» октября 2007 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.02 при ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «__» _____ 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Тюкалова Л.И.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Туберкулез продолжает оставаться одной из наиболее распространенных инфекций в мире и представляет огромную опасность для здоровья населения. Болезнь по-прежнему является сложной социально-экономической и медико-биологической проблемой. В последние годы туберкулез стал характеризоваться высокой тенденцией к прогрессированию, быстрым развитием каверн, полирезистентностью микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам. Возникновение лекарственной устойчивости МБТ является одной из основных причин неудач химиотерапии, которая приводит к хронизации процесса и увеличению смертности (Стрелис А.К., 1999). Нарастание лекарственной устойчивости МБТ в последние годы является неблагоприятным прогностическим признаком эпидемиологического неблагополучия. Кроме того, резистентность МБТ к противотуберкулезным химиопрепаратам, выявленная у впервые заболевших туберкулезом, указывает на то, что в настоящее время все большее значение в возникновении заболевания приобретает экзогенная инфекция. Угрожающей проблемой фтизиатрии становится множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) МБТ. По данным ВОЗ, заболеваемость МЛУ более 3% на конкретной территории позволяет оценивать ее как «горячую точку». Между тем, в России первичная МЛУ в разных регионах колеблется от 8,3% до 34,6% среди впервые выявленных больных бактериовыделителей (Шилова М.В., 2005; Баранов А.А. и соавт., 2006).

До настоящего времени факторы и причины, способствующие увеличению лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза, особенности клинико-рентгенологической и микробиологической характеристики больных МЛУ туберкулезом легких остаются малоизученными (Соколова Г.Б. и соавт., 2006). Установлено, что лекарственная устойчивость возбудителя развивается в результате одной или нескольких спонтанных мутаций в независимых генах микобактерий, которые, как правило, формируются под воздействием неадекватной лекарственной терапии (Rattan A. et al., 1998; Тунгусова О.С., Марьяндышев А.О., 2001; Краснов В.А., Урсов И.Г., 2004). Несмотря на ключевую роль микобактерий и их биологических свойств в определении характера течения туберкулеза, немаловажное значение в развитии заболевания отводится также механизмам иммунной дисрегуляции (Маянский А.Н., 2002; Мишин В.Ю. и соавт., 2002). Доказанным на сегодняшний день является тот факт, что степень нарушений иммунологической реактивности тесно коррелирует с клинико-рентгенологическими проявлениями туберкулезной инфекции, отражает тяжесть течения болезни. Более того, изменения в иммунном статусе больных туберкулезом легких ассоциированы со снижением эффективности терапевтических мероприятий (Гергерт В.Я. и соавт., 1995; Мишин В.Ю. и соавт., 2002). Не исключено, что появление, а точнее размножение лекарственно-устойчивых форм МБТ в процессе стандартной химиотерапии, является следствием ослабления иммунного надзора организма.

Согласно современным представлениям, ключевую роль в элиминации возбудителя и формировании противотуберкулезного иммунитета играет кооперация мононуклеарных фагоцитов и полиморфно-ядерных лейкоцитов, обеспечивающих функционирование единого фагоцитарного клеточного домена и различных субпопуляций Т-клеток (Маянский Д.Н., 1991; Фрейдлин И.С., 1995). При этом исход взаимодействия макрофагов и микобактерий зависит от баланса антимикробной активности фагоцитирующих клеток и резистентности микобактерий к их бактерицидному влиянию (Хонина Н.А. и соавт., 2000).

Несмотря на то, что в настоящее время сложилось уже обобщенное представление об иммунофагоцитарной системе периферической крови, процесс неспецифической резистентности при туберкулезе, учитывая его сложность, остается до конца неизученным. Между тем, комплексное исследование функциональных и метаболических свойств

фагоцитирующих клеток крови при лекарственно-устойчивом туберкулезе легких может быть использовано в оценке нарушений реакций иммунитета, их клинической значимости, прогнозировании течения и исходов заболевания, а также послужить основой для создания эффективных методов иммунокоррекции заболевания.

Цель исследования: выявить особенности клинических проявлений и дисрегуляции клеточного звена неспецифической резистентности у больных с множественно лекарственно-устойчивым туберкулезом легких до и в процессе противотуберкулезной терапии.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать клинические особенности впервые выявленного распространенного деструктивного инфильтративного, диссеминированного и фиброзно-кавернозного туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью и определить его специфические медико-социальные характеристики в сравнении с лекарственно-чувствительным туберкулезом легких.

2. Оценить метаболический и функциональный статус фагоцитов периферической крови у больных с различными формами (инфильтративный, диссеминированный, фиброзно-кавернозный) лекарственно-чувствительного и множественно лекарственно-устойчивого туберкулеза легких до и на этапах завершения интенсивной и поддерживающей фаз противотуберкулезной терапии; определить иммунологические показатели прогноза туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью.

3. Провести сравнительную оценку параметров клеточного звена неспецифической резистентности у больных туберкулезом легких и у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в стадии обострения.

4. Оценить иммуновосстанавливающий и иммунодестабилизирующий эффекты противотуберкулезной терапии.

Научная новизна

На основании углубленного изучения показано, что распространенный деструктивный специфический процесс в легочной ткани у каждого второго больного МЛУ туберкулезом развивается в течение 1 года. Установлено, что резистентный к терапии туберкулез легких характеризуется более обильным бактериовыделением и медленным абациллированием мокроты, большей частотой осложнений, сопутствующей патологии, инвалидизации пациентов, чем лекарственно-чувствительный вариант инфекции. Проведено комплексное изучение клеточного звена неспецифической резистентности при отдельных клинических формах (инфильтративная, диссеминированная, фиброзно-кавернозная) МЛУ и лекарственно-чувствительного распространенного деструктивного туберкулеза легких до лечения и на фоне противотуберкулезной химиотерапии. Установлено, что изменения метаболического статуса и функциональной активности фагоцитирующих клеток периферической крови при МЛУ и лекарственно-чувствительном туберкулезе легких являются однонаправленными, но в разной степени выраженными. Впервые показано, что формирование дисбаланса неспецифического звена иммунитета у больных МЛУ туберкулезом легких обуславливается депрессией рецептор-экспрессирующей функции моноцитов и нейтрофилов, противомикробного потенциала нейтрофилов, метаболическим истощением фагоцитов на фоне повышения их поглотительной способности, активности сывороточного лизоцима, лизосомальных ферментов (миелопероксидазы, кислой фосфатазы, неспецифической эстеразы) и содержания НКБ в нейтрофилах. Установлено, что клиническая картина с выраженным нарушением функции внешнего дыхания у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких сопровождается не только более длительными сроками негативации и абациллирования мокроты, но и наиболее значительным угнетением рецепторпрезентирующей функции фагоцитов, активности лизосом в нейтрофилах, существенным повышением базальной продукции

оксида азота, нежели у больных с инфильтративной и диссеминированной формами инфекции. Показано, что активность щелочной фосфатазы и базальная продукция оксида азота претерпевают противоположные изменения при туберкулезе легких (снижаются) и хронической обструктивной болезни легких (повышаются). Кроме того, установлен различающийся характер секреции оксида азота мононуклеарными клетками крови у больных лекарственно-резистентным и лекарственно-чувствительным туберкулезом легких с разной степенью выраженности при отдельных нозологических формах. Получены новые данные, свидетельствующие о том, что угнетение экспрессии рецепторов для опсонинов на поверхности нейтрофилов и моноцитов и резервной реактивности нейтрофилов, дисбаланс продукции оксида азота мононуклеарными лейкоцитами крови, повышение поглотительной способности моноцитов и активности лизосомальных ферментов фагоцитов при МЛУ туберкулезе легких имеют место в период разгара клинической картины болезни, и не только сохраняются, но и усиливаются после завершения интенсивной и поддерживающей фаз противотуберкулезной химиотерапии.

Практическая значимость. На основании проведенных исследований дана медико-социальная характеристика, выделены ведущие клинические синдромы впервые выявленного распространенного деструктивного МЛУ туберкулеза легких, определяющие особенности заболевания и облегчающие своевременную его диагностику. Полученные новые данные фундаментального характера о механизмах метаболического дисбаланса и дисфункции фагоцитирующих клеток крови у больных МЛУ и лекарственно-чувствительным туберкулезом легких, регистрируемые как до, так и на фоне специфической терапии, расширяют существующие представления об иммунопатогенезе туберкулезной инфекции. Они могут служить основой для дальнейшего изучения механизмов изменений параметров иммунного статуса при туберкулезе легких, а также влияния противотуберкулезной терапии на состояние иммунологической реактивности. Результаты исследования теоретически обосновывают необходимость включения в стандартную программу лечения больных туберкулезом легких иммуномодулирующих средств для профилактики и коррекции иммунодефицитных состояний, обусловленных влиянием не только возбудителя, но и противотуберкулезных препаратов. Определены иммунологические параметры, позволяющие с высокой точностью прогнозировать лекарственную устойчивость возбудителя (продукция оксида азота мононуклеарами периферической крови) и благоприятный исход заболевания (величина спонтанного и стимулированного НСТ-теста) у больных туберкулезом легких с множественной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам.

Положения, выносимые на защиту:

1. Течение множественно лекарственно-устойчивого и лекарственно-чувствительного туберкулеза легких характеризуется сходными изменениями общего статуса болезни, однонаправленными нарушениями клинико-иммунологических показателей, степень значимости которых определяется вариантом течения и клинической формой заболевания. При этом тяжесть течения патологического процесса, клинические проявления заболевания и дисфункция неспецифического звена иммунитета более выражены при фиброзно-кавернозном множественно лекарственно-резистентном туберкулезе легких, чем при инфильтративной и диссеминированной его формах.

2. Лекарственно-устойчивый туберкулез легких характеризуется быстрым (у каждого второго больного в течение 1 года) развитием распространенного специфического процесса в легких, широким спектром осложнений и сопутствующей патологии, что в 57,5% случаев приводит к инвалидности II группы. При одинаковой распространенности патологического процесса в легочной ткани множественно лекарственно-устойчивый туберкулез легких сопровождается более выраженными нарушениями функции внешнего

дыхания, медленной нормализацией показателей объективного статуса пациентов, массивным бактериовыделением и более длительными сроками негативации и абациллирования мокроты в процессе терапии, чем лекарственно-чувствительный туберкулез легких.

3. Дисфункция неспецифического звена иммунитета при туберкулезе легких с множественной лекарственной устойчивостью обуславливается угнетением противoinфекционного потенциала нейтрофилов, рецептор-экспрессирующей функции и метаболическим истощением фагоцитов на фоне повышения их поглотительной, ферментативной активности и содержания неферментных катионных белков в нейтрофилах. При этом уровень продукции оксида азота мононуклеарами периферической крови у больных множественно лекарственно-устойчивым туберкулезом легких сохраняется в пределах нормы при инфильтративной, снижается при диссеминированной и, напротив, повышается при фиброзно-кавернозной формах инфекции.

4. Дифференциальным показателем дизрегуляции клеточного звена неспецифической резистентности при туберкулезной инфекции и хронической обструктивной болезни легких в стадии обострения является активность щелочной фосфатазы в нейтрофилах и базальной продукции оксида азота мононуклеарными лейкоцитами крови. При этом уровень стимулированной продукции оксида азота позволяет прогнозировать лекарственную устойчивость микобактерий к противотуберкулезным препаратам, а величина НСТ-теста – положительную динамику рентгенологической картины в процессе противотуберкулезной терапии у больных множественно лекарственно-резистентным туберкулезом легких.

5. Стандартная противотуберкулезная химиотерапия сопровождается тенденцией к нормализации общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы крови, содержания гликогена в моноцитах и нейтрофилах, лизосом в нейтрофилах, что доказывает определяющую роль возбудителя в формировании иммунных нарушений при туберкулезе легких. Об иммунотоксическом действии противотуберкулезных препаратов свидетельствует угнетение на фоне лечения числа СЗb- и Fcy-презентирующих нейтрофилов и моноцитов, секреции оксида азота (более выраженной при лекарственно-устойчивом туберкулезе легких) и резервной реактивности нейтрофилов.

Реализация и апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на VII Российском съезде фтизиатров (Москва, 2003), Международной конференции «Развитие международного сотрудничества в области изучения инфекционных заболеваний» (Новосибирск, 2004), Международной научно-практической конференции «Проблемы туберкулеза и современные пути их решения» (Томск, 2004), Международной конференции «Медико-биологические и экологические проблемы здоровья человека на Севере» (Сургут, 2004), Третьем Российском конгрессе по патофизиологии «Дизрегуляторная патология органов и систем» (Москва, 2004), VI конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2005), 15-м Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2005), Международном конгрессе «Иммунитет и болезни: от теории к терапии» (Москва, 2005), VII конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2006), X Всероссийском форуме с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2006), Первой летней школе Форума Коха-Мечникова «Инфекционные болезни – влияние цивилизованных обществ» (Берлин, 2006), 37th World Conference on Lung Health of the international Union Against Tuberculosis and Lung Diseases (Paris, 2006), VIII Российском съезде фтизиатров (Москва, 2007), II Российско-германской конференции Форума Коха-Мечникова (Томск, 2007), научных семинарах кафедр патологической физиологии, фтизиатрии и пульмонологии ГОУ ВПО «СибГМУ Росздрава» (Томск, 2004–2007).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, из них 6 в центральных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 244 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 18 рисунками и 50 таблицами. Библиографический указатель включает 276 источников, из них 196 отечественных и 80 зарубежных.

Материал и методы исследования

В работу включены результаты клинико-эпидемиологического анализа и исследования состояния фагоцитарного звена периферической крови у 148 впервые выявленных больных с распространенным деструктивным туберкулезом легких (ТБЛ). Обследованные пациенты находились на лечении в ОГУЗ «Томская областная туберкулезная клиническая больница» (гл. врач – кандидат медицинских наук Г.В. Янова). Амбулаторное наблюдение больных на завершающем этапе лечения осуществлялось на базе ОГУЗ «Томский областной противотуберкулезный диспансер» (главный специалист-фтизиатр С.П. Мишустин). Пациенты поступали в Томскую областную туберкулезную клиническую больницу из учреждений поликлинической сети (МЛПМУ) г. Томска и Томской области.

В программу исследования были включены больные в возрасте от 18 до 60 лет. Мужчин в группах обследованных лиц было втрое больше, чем женщин (74,3% и 25,7% соответственно). Бактериовыделение регистрировалось у всех обследованных пациентов.

В зависимости от чувствительности МБТ к основным противотуберкулезным препаратам все больные были распределены на две группы. Первая группа была сформирована из 80 больных, выделяющих МБТ, устойчивые минимум к трем препаратам – изониазиду, рифампицину, стрептомицину (множественная лекарственная устойчивость - МЛУ). Лекарственную чувствительность МБТ определяли методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна-Йенсена. Во вторую группу были включены 68 больных, у которых сохранялась чувствительность МБТ к противотуберкулезным препаратам. Эта группа пациентов была обследована с целью выявления специфических признаков МЛУ ТБЛ по сравнению с лекарственно-чувствительной формой заболевания.

У всех обследованных лиц был диагностирован распространенный деструктивный специфический процесс в легких. В группе больных с лекарственно-чувствительным ТБЛ (ЛЧ ТБЛ) у 30 человек была диагностирована инфильтративная форма заболевания в фазе распада одной или нескольких долей легкого, у 20 – распространенный диссеминированный ТБЛ в фазе распада, у 18 – впервые выявленный фиброзно-кавернозный ТБЛ. Группа пациентов с МЛУ ТБЛ включала следующие нозологические формы: инфильтративную – у 35, диссеминированную – у 25, фиброзно-кавернозную – у 20 больных.

Длительность интенсивной фазы лечения как при чувствительном, так и при лекарственно-устойчивом варианте инфекции устанавливалась индивидуально, с учетом данных микроскопического и бактериологического анализа мокроты (наступление стойкого абацилирования) и положительной клинико-рентгенологической динамики (нормализация общего состояния и инволюция специфического процесса в легких).

Длительность интенсивной фазы химиотерапии у больных ЛЧ ТБЛ составила $3,1 \pm 0,2$ месяца, поддерживающей фазы – $4,9 \pm 0,2$ месяца. При диагностике МЛУ ТБЛ назначалась индивидуальная схема лечения (четвертый режим, согласно Приказу №109 Минздрава РФ от 21 марта 2003г.) с учетом чувствительности МБТ к противотуберкулезным препаратам. До получения результатов чувствительности МБТ к химиопрепаратам эта группа пациентов получала лечение по первому стандартному режиму. Длительность интенсивной фазы лечения у больных МЛУ ТБЛ составила $9,7 \pm 0,6$ месяцев. Фаза поддерживающей терапии

соответствовала $9,5 \pm 0,7$ месяцев. Таким образом, общий курс химиотерапии составлял $19,2 \pm 0,6$ месяцев.

Исследование в обеих группах больных проводили в три этапа: до начала специфической противотуберкулезной химиотерапии, в конце интенсивной фазы и после завершения поддерживающей фазы противотуберкулезной терапии.

Группы сравнения составили 25 здоровых мужчин и женщин в возрасте от 20 до 65 лет и 20 человек с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) (для определения специфичности нарушений фагоцитарного звена иммунитета при ТБЛ). Исследование иммунологических показателей в группах сравнения проводили однократно (у больных ХОБЛ в стадии обострения до лечения).

Материалом исследования являлась периферическая кровь. Забор крови производили из локтевой вены утром натощак.

Медико-социальный анализ больных с ТБЛ включал следующие показатели: возраст, социальную категорию, семейное положение, пребывание в местах заключения, жилищные условия, вредные привычки (курение, употребление алкоголя, наркотиков), сопутствующую патологию, а так же наличие контакта с туберкулезным больным, последнее рентгенологическое исследование легких, способ выявления заболевания, продолжительность болезни до момента обращения к врачу. Изучению подвергались также выраженность клинических проявлений заболевания, объективный статус больного и данные лабораторного исследования, включающие микроскопию, бактериологический посев мокроты на МБТ с определением чувствительности к противотуберкулезным препаратам, рентгенологическое исследование легких, фибробронхоскопию.

Исследование количественных показателей периферической крови проводили общепринятыми методами (Меньшиков В.В., 1987).

Цитохимические методы исследования нейтрофилов и моноцитов. Определение содержания гликогена проводили по методу McManus (ШИК-реакция); содержание липидов в клетках определяли - по методу Sheehan, Storey; активность щелочной фосфатазы - по методу А.Г. Михеева; содержание неферментного катионного белка - по методу М.Г. Шубича; оценку активности неспецифической эстеразы - по методу Nayhoe, Quaglino; активность кислой фосфатазы - по методу Goldberg, Varca; активность миелопероксидазы - по методу Graham-Knoll.

Иммунологические методы исследования нейтрофилов и моноцитов. С целью оценки функциональной активности и рецепторного аппарата фагоцитирующих клеток периферической крови определяли фагоцитарную активность нейтрофилов (процент активных нейтрофилов, поглотительную способность и показатель завершенности фагоцитоза), поглотительную активность моноцитов, количество $C3b+$ и $Fc\gamma+$ моноцитов и нейтрофилов, суммарный показатель люминесценции (СПЛ) лизосом в нейтрофилах и моноцитах, активность лизоцима в сыворотке крови; кислородзависимые механизмы бактерицидности в нейтрофилах оценивали на основании теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест). Уровень продукции оксида азота устанавливали по концентрации нитритов в культуральных супернатантах мононуклеаров периферической крови с помощью реактива Грисса. Для получения супернатантов выделенные на градиенте плотности ($1,077 \text{ г/см}^3$) мононуклеарные лейкоциты ресуспендировали в полной питательной среде. Для стимуляции секреторных способностей мононуклеаров использовали липополисахарид *Escherichia coli* (ЛПС, 10 мкг/мл), очищенный туберкулин (ППД, 500 ЕД), фитогемагглютинин (ФГА, 30 мкг/мл).

Статистическая обработка результатов исследования. Полученные данные подвергались статистической обработке при помощи программы STATISTICA 6.0 for

Windows. Количественные показатели представлялись в виде $\bar{X} \pm m$, где \bar{X} – среднее значение, а m – стандартная ошибка среднего. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывалось абсолютное число и относительная величина в процентах (%). Малый и неравный объем исследуемых выборок данных послужил основанием выбора непараметрических критериев для проверки достоверностей межгрупповых различий показателей при помощи U-критерия Манна – Уитни, W критерия Вилкоксона, точного теста Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Для определения корреляций между параметрами вычисляли коэффициент корреляции R Спирмана, который считали достоверным при $p < 0,05$. Для определения вероятности МЛУ ТБЛ в зависимости от ЛПС- и ППД-стимулированной продукции оксида азота мононуклеарами крови, а также прогноза положительной динамики рентгенологической картины в связи с показателями НСТ-теста использовали модель логит-регрессии. Построение модели выполнено в модуле «Нелинейное оценивание» программы «STATISTICA 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Медико-социальная характеристика МЛУ ТБЛ. На современном этапе фактором риска, влияющим на характер патологии в легких и его распространенность, является срок последнего контрольного лучевого исследования грудной клетки. Действительно, по полученным данным, все случаи впервые выявленного фиброзно-кавернозного МЛУ ТБЛ были отмечены у больных, не обследовавшихся более 2 лет до выявления заболевания. Однако большинство пациентов с другими клиническими формами (инфильтративный, диссеминированный) распространенного деструктивного МЛУ ТБЛ (66,3%) до выявления болезни регулярно проходили профилактические флюорографические обследования (1 раз в 2 года). При этом более половины (56,3%) больных проходили последнее рентгенологическое обследование в течение предыдущего года. В связи с этим можно полагать, что распространенный деструктивный МЛУ ТБЛ не всегда отражает признак позднего выявления заболевания.

Среди многочисленных факторов, способствующих заболеванию МЛУ ТБЛ, судя по полученным данным, существенное место занимают синдром алкогольной зависимости (36,3%), заболевания желудочно-кишечного тракта (35%) и хронические неспецифические заболевания легких (21,3%). При этом сопутствующая патология у больных МЛУ ТБЛ выявлялась достоверно чаще (на 19,7%, $p < 0,01$), чем у пациентов с ЛЧ ТБЛ. Не исключено, что обремененность сопутствующей патологией содействует формированию лекарственной устойчивости МБТ. Важно отметить, что течение МЛУ ТБЛ значимо чаще осложнялось развитием дыхательной недостаточности (86,3%) и кровохарканьем (21,3%) по сравнению с аналогичными осложнениями при ЛЧ ТБЛ (60,3% и 16,2%, $p < 0,05$ и $p < 0,05$ соответственно).

Следует также подчеркнуть, что лекарственно-резистентный ТБЛ в 2,5 раза чаще приводил к инвалидности, чем лекарственно-чувствительный ТБЛ. При этом МЛУ ТБЛ сопровождался потерей трудоспособности более высокой степени – у 57,5% пациентов устанавливалась вторая группа инвалидности.

Результаты настоящего обследования позволяют создать медико-социальный «портрет» большей части больных с распространенным деструктивным МЛУ ТБЛ, проживающих в регионе Западной Сибири, и отнести их к группе риска, которая может служить определенным ориентиром для проведения дифференциально-диагностических мероприятий, направленных на своевременное выявление лиц данной категории в общей лечебной сети. Согласно «портрету», это мужчина молодого возраста (20-35 лет), длительно курящий, злоупотребляющий алкоголем, с наличием хронического бронхита, заболеваний

желудочно-кишечного тракта (гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки), безработный или работающий на неквалифицированных работах, проживающий в городе, с элементами социальной дезадаптации, как правило, пребывавший в местах лишения свободы. Необходимо отметить, что данный «портрет» во многом совпадает с характеристикой больного ЛЧ ТБЛ.

При изучении клинической картины инфильтративного МЛУ ТБЛ было установлено, что у больных данной группы ведущими оказались бронхитический синдром и синдром дыхательной недостаточности, в то время как синдром общей интоксикации, хотя и наблюдался у большинства пациентов (82,9%), был неярко выраженным. Дыхательная недостаточность на 38,1% чаще встречалась у больных инфильтративным МЛУ ТБЛ ($p < 0,001$), несмотря на одинаковый объем поражения легочной ткани в обеих группах больных. По всей видимости, в развитии дыхательной недостаточности у больных МЛУ ТБЛ важную роль играют сопутствующие неспецифические хронические заболевания легких, которые достоверно чаще регистрировались у пациентов с резистентным ТБЛ ($p < 0,05$) и утяжеляли течение специфического процесса.

По данным рентгенологического обследования органов грудной полости, распространенный инфильтративный МЛУ ТБЛ характеризовался высокой частотой деструкции (до 97,2%) со склонностью к формированию полостей средних и крупных размеров у каждого второго пациента (в 60%). В рентгенологической картине ЛЧ ТБЛ (по сравнению с таковой при МЛУ ТБЛ) значимых различий не выявлялось.

Диссеминированный МЛУ ТБЛ до начала лечения характеризовался синдромом общей интоксикации со слабостью, потливостью, повышением температуры тела до фебрильных значений, бледностью кожных покровов, дефицитом массы тела. Бронхитический синдром и синдром дыхательной недостаточности не уступали по частоте встречаемости и значимости. Диссеминированный МЛУ ТБЛ (в сравнении с ЛЧ ТБЛ) характеризовался более длительным лихорадочным периодом (более одного месяца) ($p = 0,016$) и потерей аппетита ($p = 0,006$). У пациентов с диссеминированным ЛЧ ТБЛ кашель сопровождался выделением слизистой мокроты в скудном (45%) и умеренном (55%) количестве, в то время как у больных диссеминированным МЛУ ТБЛ мокрота в основном была слизисто-гнойного характера ($p = 0,017$) и выделялась в большем количестве, что может свидетельствовать о присоединении неспецифической флоры.

Рентгенологическая картина у лиц с диссеминированным МЛУ ТБЛ была представлена средне-крупноочаговой бронхолюбулярной диссеминацией обоих легких с тенденцией к слиянию и образованию единичных (32%) и множественных (68%) полостей мелких (24%), средних (44%) и крупных (16%) размеров. Диссеминированный ЛЧ ТБЛ отличался меньшим объемом распада с более редким образованием множественных полостей ($p = 0,016$).

Фиброзно-кавернозный МЛУ ТБЛ характеризовался преимущественно среднетяжелым состоянием больных и протекал с более яркой и выраженной симптоматикой, чем инфильтративная и диссеминированная его формы. Анализ данных клинического исследования больных с фиброзно-кавернозным МЛУ ТБЛ показал, что лидирующую позицию среди проявлений болезни занимал синдром дыхательной недостаточности (II степени – в 80%, III степени – в 20% случаев). Не менее значимыми оказались синдром интоксикации (длительная лихорадка, выраженная слабость, снижение массы тела, ночные проливные поты наблюдались у подавляющего большинства пациентов) и бронхитический синдром (кашель в основном со слизисто-гнойной и гнойной мокротой у 90% больных). В 40% случаев течение специфического процесса в легких осложнялось кровохарканьем. Важно подчеркнуть, что до начала лечения клиническая картина фиброзно-кавернозного МЛУ ТБЛ не имела значимых отличий от лекарственно-чувствительной формы заболевания.

При рентгенологическом исследовании легких у всех наблюдаемых больных

устанавливались выраженные, преимущественно двусторонние (80%) изменения, характерные для фиброзно-кавернозного туберкулеза с площадью поражения не менее доли. Вместе с тем, фиброзно-кавернозный МЛУ ТБЛ характеризовался преобладанием обширных инфильтративных изменений по сравнению с ЛЧ ТБЛ ($p=0,025$).

С помощью люминесцентной микроскопии у 45,7% пациентов с инфильтративным, у 68% с диссеминированным и у 80% с фиброзно-кавернозным МЛУ ТБЛ выявлялось массивное бактериовыделение (более 10 МБТ в одном поле зрения). Больные диссеминированным ЛЧ ТБЛ по данным микроскопии были менее массивными бактериовыделителями: обильное бактериовыделение обнаруживалось только в 20% случаев ($p<0,01$). При бактериологическом анализе обильный рост колоний (более 100 колоний) был отмечен в 34,3% случаев при инфильтративном, в 68% - при диссеминированном и в 70% - при фиброзно-кавернозном МЛУ ТБЛ. Следует отметить, что при анализе бактериологических данных больных инфильтративным ЛЧ ТБЛ достоверно чаще определялся скудный рост МБТ – в 46,7% ($p<0,01$) случаев, в меньшем количестве посевов отмечался умеренный рост возбудителя (20-100 колоний), по сравнению с МЛУ ТБЛ. Данный факт дает основание полагать, что МБТ с резистентностью к химиопрепаратам обладают более высокой биологической активностью, что, соответственно, позволяет им более интенсивно расти на средах и возможно свидетельствует о повышенной контагиозности МЛУ ТБЛ.

При оценке клинического статуса больных ТБЛ после интенсивной фазы терапии, обращало на себя внимание то, что у пациентов с МЛУ ТБЛ сохранялось больше жалоб и патологических изменений объективного состояния, несмотря на то, что интенсивная фаза в группе ЛЧ ТБЛ была в среднем в 3 раза короче. Так, при инфильтративном МЛУ ТБЛ медленнее нормализовалась аускультативная картина ($p=0,013$). Каждый второй пациент с диссеминированным МЛУ ТБЛ продолжал выделять слизистую и слизисто-гноюю мокроту, в то время как у больных ЛЧ ТБЛ кашель становился сухим ($p=0,017$). Кроме того, при всех клинических формах МЛУ ТБЛ имело место более выраженное (по сравнению с ЛЧ ТБЛ) нарушение функции внешнего дыхания в виде одышки.

После завершения полного курса противотуберкулезной терапии обращал на себя внимание высокий процент больных МЛУ ТБЛ, имеющих одышку: 57,1% больных с инфильтративным, 84% - с диссеминированным и 100% - с фиброзно-кавернозным ТБЛ жаловались на одышку разной степени выраженности. В то же время у пациентов с ЛЧ ТБЛ при всех трех клинических формах одышка регистрировалась достоверно реже (у 23,3% - при инфильтративном, у 20% - при диссеминированном и у 50% - при фиброзно-кавернозном ЛЧ ТБЛ, $p=0,006$, $p=0,009$ и $p=0,036$ соответственно). Кроме того, у пациентов с инфильтративным и фиброзно-кавернозным МЛУ ТБЛ степень нарушения функции внешнего дыхания была достоверно выше, чем у больных ЛЧ ТБЛ. Аускультативно у больных МЛУ ТБЛ после завершения терапии чаще выслушивалось жесткое и бронхиальное дыхание, которое, как известно, обуславливается нарушением бронхиальной проходимости и наличием фиброза и полостей в легких (Тетнев Ф.Ф., 1995).

Срок негитивации мокроты, согласно результатам люминесцентной микроскопии, у больных диссеминированным ($4,30\pm 0,73$ мес.) и фиброзно-кавернозным ($5,43\pm 0,75$ мес.) МЛУ ТБЛ превышал аналогичный показатель у больных ЛЧ ТБЛ в среднем в 2 раза ($2,17\pm 0,31$ мес. и $2,67\pm 0,33$ мес., $p=0,045$, $p=0,030$ соответственно). Между тем, при инфильтративном МЛУ ТБЛ негитивация мокроты происходила быстрее (на $2,7\pm 0,35$ мес.), чем при других распространенных формах МЛУ ТБЛ и значимо не отличалась от таковой при ЛЧ ТБЛ. Абациллирование мокроты (оцениваемое бактериологическим методом) также быстрее достигалось у пациентов с ЛЧ ТБЛ при всех наблюдаемых клинических формах (при диссеминированном ТБЛ разница была недостоверной), чем у больных с МЛУ ТБЛ.

Наиболее длительным срок абациллирования устанавливался при фиброзно-кавернозном МЛУ ТБЛ – $4,86 \pm 0,61$ мес., при инфильтративном МЛУ ТБЛ он равнялся $3,37 \pm 0,33$ мес., а при диссеминированном – $4,10 \pm 0,60$ мес.

Характеристика фагоцитирующих клеток крови при МЛУ ТБЛ

До начала лечения у больных ЛЧ и МЛУ ТБЛ изменения показателей гемограммы в основном были однонаправленными, выражались увеличением ОКЛ, содержания палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов. Обращало на себя внимание явление лимфопении при всех формах ЛЧ ТБЛ и при инфильтративном МЛУ ТБЛ. В то же время у больных диссеминированным и фиброзно-кавернозным МЛУ ТБЛ абсолютное содержание лимфоцитов превышало нормальные значения. Течение фиброзно-кавернозного МЛУ ТБЛ сопровождалось более выраженным нейтрофильным лейкоцитозом и моноцитозом по сравнению с соответствующими параметрами у больных инфильтративным и диссеминированным МЛУ ТБЛ, что согласуется с данными В.Ю. Мишина и соавт. (2000), показавшими, что в случае преобладания нейтрофильного лейкоцитоза при туберкулезной инфекции иммунный ответ не носит специфического характера, заболевание характеризуется неблагоприятным прогнозом в связи с расплавлением легочной ткани нейтрофильной эластазой. В динамике терапии отмечалась нормализация ОКЛ и лейкоцитарной формулы при всех клинических формах ТБЛ.

Проведенное нами исследование функциональной активности фагоцитирующих клеток периферической крови у больных МЛУ ТБЛ до лечения позволило выявить резкое снижение числа $C3b^+$ моноцитов и $Fc\gamma$ -презентирующих моноцитов и нейтрофилов относительно аналогичных показателей у здоровых лиц (рис. 1, 2). При этом фиброзно-кавернозный МЛУ ТБЛ характеризовался наиболее низким относительным содержанием как $C3b^+$ моноцитов (по сравнению с показателем при диссеминированном МЛУ ТБЛ, $p < 0,05$), так и $Fc\gamma^+$ моноцитов и нейтрофилов (по сравнению с величиной таковых у больных инфильтративным и диссеминированным МЛУ ТБЛ, $p < 0,05$, $p < 0,05$ и $p < 0,01$, $p < 0,05$). ЛЧ ТБЛ характеризовался идентичными изменениями рецепторпрезентирующей функции моноцитов и нормальной экспрессией рецепторов на нейтрофилах (рис. 1, 2). В динамике лечения у больных МЛУ ТБЛ отмечалась тенденция к еще более выраженному угнетению экспрессии $Fc\gamma$ - и $C3b$ -рецепторов на моноцитах и нейтрофилах по сравнению с нормой.

Низкая функциональная активность моноцитов и нейтрофилов при МЛУ ТБЛ, проявляющаяся угнетением экспрессии $C3b$ - и $Fc\gamma$ -мембранных рецепторов, по всей видимости, обуславливалась, во-первых, компенсаторным поступлением в периферический кровоток незрелых клеточных элементов, несущих малое количество соответствующих рецепторов, и параллельной миграцией в ткани зрелых клеток, обладающих наибольшей их мембранной плотностью; во-вторых, способностью инфекционных возбудителей, в частности МБТ, ингибировать экспрессию или (равно как и продуктов тканевого распада, избытка иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов, образующихся при инфекции) блокировать рецепторы иммунокомпетентных клеток. Перечисленные факторы могут служить причиной нарушения процессов клеточной активации и неэффективного фагоцитоза.

Поглотительная способность моноцитов и полиморфно-ядерных фагоцитов при МЛУ ТБЛ (как и при ЛЧ ТБЛ) устанавливалась выше нормальных значений на всех этапах исследования. Однако количество активно фагоцитирующих нейтрофилов и показатель завершенности фагоцитоза у больных МЛУ ТБЛ оказались сниженными (в среднем в 2 раза) на протяжении всего периода наблюдения (рис. 1). Снижение переваривающей активности и численности активно фагоцитирующих клеток является отражением истощения противoinфекционного потенциала нейтрофилов, что может быть результатом их

длительного инфекционного раздражения. Обнаруженный нами факт повышения поглотительной активности моноцитов и нейтрофилов может быть результатом защитной реакции, направленной на компенсацию дефицита фагоцитоз-опосредующих структур клеток, либо (что более вероятно) следствием инфекционного влияния, поскольку, с одной стороны, это позволяет МБТ занять заведомо недоступную для защитных факторов макроорганизма “внутрииммунную” локализацию, с другой - способствует диссеминации возбудителя в организме.

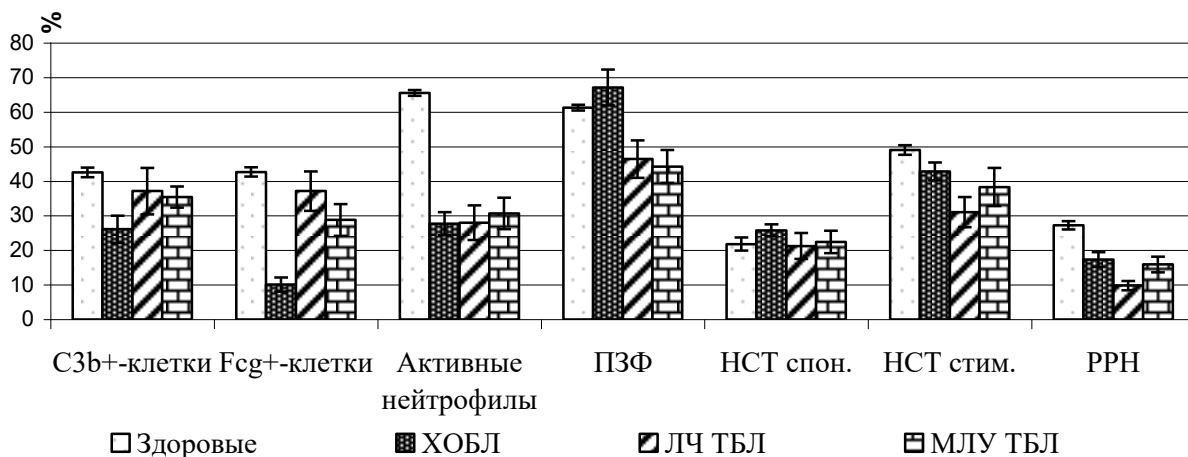


Рис. 1. Показатели фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных туберкулезом легких и ХОБЛ до начала лечения и у здоровых добровольцев

Примечание. Здесь и на рис. 2,4: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ЛЧ ТБЛ – лекарственно-чувствительный туберкулез легких; МЛУ ТБЛ – множественно лекарственно-устойчивый туберкулез легких, РРН – резервная реактивность нейтрофилов, ПЗФ - показатель завершенности фагоцитоза, спон. – спонтанный, стим. - стимулированный.

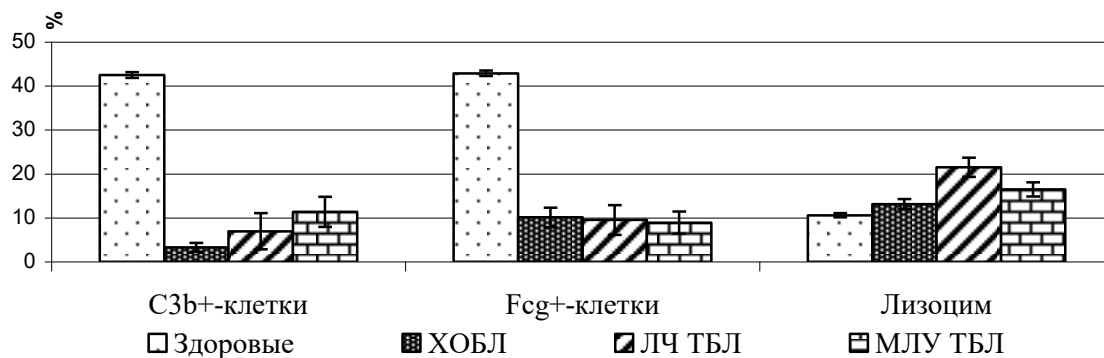


Рис. 2. Рецепторэкспрессирующая и секреторная активность моноцитов у больных туберкулезом легких и ХОБЛ до начала лечения и у здоровых добровольцев

Суммарный показатель люминесценции (СПЛ) лизосом в нейтрофилах при МЛУ ТБЛ до лечения претерпевал разнонаправленные изменения: при инфильтративной форме СПЛ лизосом регистрировался в пределах нормы, при диссеминированной – превышал показатель у здоровых лиц, а при фиброзно-кавернозной, напротив, оказался ниже значений нормы и больных ЛЧ ТБЛ ($p=0,033$). Вероятно, клинически тяжелый МЛУ фиброзно-кавернозный ТБЛ сопровождается истощением и/или незрелостью микрофагов. Тем не менее, в динамике терапии СПЛ лизосом восстанавливался до нормальных значений в обеих группах больных ТБЛ. В моноцитах устанавливалось повышение СПЛ лизосом вне зависимости от

чувствительности возбудителя к химиопрепаратам, величина которого на фоне противотуберкулезной терапии оставалась выше, чем у здоровых лиц, что свидетельствует об увеличении переваривающего потенциала моноцитов периферической крови.

Активность сыровоточного лизоцима до лечения значительно превышала нормальные показатели у больных МЛУ ТБЛ, однако была достоверно ниже, чем у больных ЛЧ ТБЛ (рис. 2), что удостоверяет о большей секреторной активности мононуклеаров при ЛЧ ТБЛ. К концу терапии активность лизоцима у больных ЛЧ ТБЛ нормализовалась, в то время как при МЛУ ТБЛ она по-прежнему сохранялась выше показателей у здоровых лиц.

Мощной биоагрессивной системой нейтрофилов является респираторный взрыв. Его продукты – активные формы кислорода (АФК) – образуются в нейтрофилах при стимуляции *de novo* и являются чувствительным индикатором функциональной активности клеток. У больных как МЛУ ТБЛ, так и ЛЧ ТБЛ базальный уровень НСТ-теста в нейтрофилах не изменялся, в то время как показатели стимулированного НСТ-теста и резервной реактивности нейтрофилов оказались существенно ниже, чем у здоровых доноров как до начала (рис. 1), так и в процессе противотуберкулезной химиотерапии, что может быть признаком формирующегося истощения механизмов АФК-зависимого киллинга на фоне гиперактивации клеток. Однако у больных ЛЧ ТБЛ резервная реактивность нейтрофилов была достоверно ниже таковой у больных МЛУ ТБЛ до и после интенсивной фазы лечения (рис. 1). Это свидетельствует о том, что резерв микробицидной активности нейтрофилов при МЛУ ТБЛ выше, чем у больных ЛЧ ТБЛ.

С целью прогнозирования развития положительной рентгенологической динамики через 3 месяца от начала противотуберкулезной терапии нами были проанализированы зависимости последней от значений спонтанного и стимулированного НСТ-теста в нейтрофилах у впервые выявленных больных распространенным деструктивным ТБЛ до начала специфической химиотерапии. Зависимости носили нелинейный характер и выражались приведенными ниже моделями логит-регрессии (рис. 3).

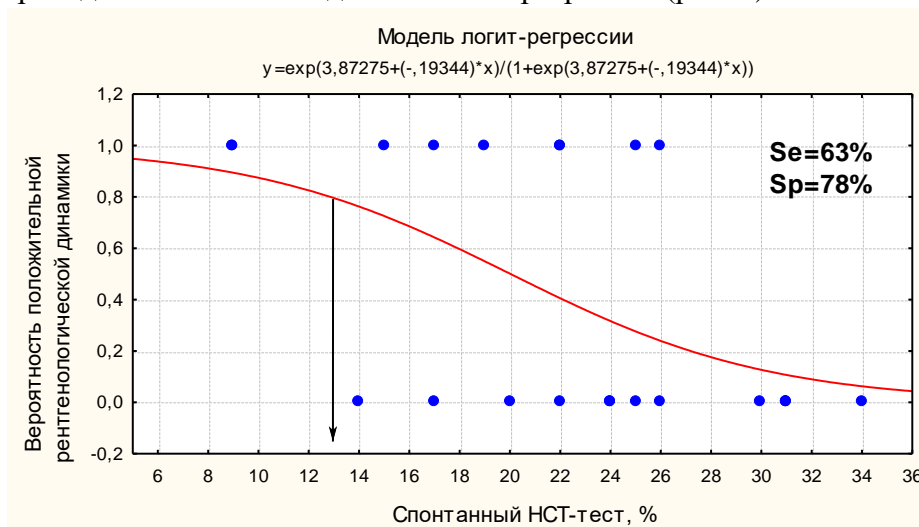


Рис. 3. Вероятность положительной рентгенологической динамики при множественно лекарственно-устойчивом туберкулезе легких в зависимости от показателя спонтанного НСТ-теста.

Примечание: Se – чувствительность модели; Sp – специфичность модели.

Поскольку у больных МЛУ ТБЛ, имевших положительные изменения на контрольных рентгенограммах через 3 месяца от начала терапии, величина (%) спонтанного НСТ-теста была ниже нормы, по-видимому, это имеет предиктивное значение. Данное предположение подтверждается высоким уровнем значимости построенной модели вероятности ($p=0,011$ при полученном значении критерия χ^2 , равном 6,396). Подсчитанное значение отношения

шансов (ОШ) свидетельствует о том, что положительная рентгенологическая динамика действительно ассоциирована со сниженным уровнем спонтанного НСТ-теста: ОШ=1,24, а доверительный интервал, принятый при 95% уровне значимости лежит в пределах от 1 до 1,41. Как следует из иллюстрации (рис. 3), вероятность развития положительной рентгенологической динамики, равная 80%, отмечается при значении спонтанного НСТ-теста ≤ 13 %. При этом Se – чувствительность данной модели – равна 63%, Sp – специфичность модели – 78%. Иными словами, среднее значение чувствительности и высокая специфичность предложенной модели отражают прогностическую способность спонтанного НСТ-теста в отношении динамики рентгенологической картины.

Показатель стимулированного НСТ-теста также оказался предсказательной величиной для заключения о вероятности положительной рентгенологической динамики у больных ТБЛ. Модель логит-регрессии, построенная на основании динамики изменения индуцированного НСТ-теста в нейтрофилах, имела уровень значимости $p < 0,030$ при величине $\chi^2 = 4,702$. Чувствительность этой модели Se оказалась равной 67%, специфичность модели Sp – 100%. Наряду с этим, полученная модель с 80% долей вероятности свидетельствует о возможной положительной рентгенологической динамике у больных ТБЛ через 3 месяца от начала противотуберкулезной терапии, если уровень стимулированного НСТ-теста ≤ 20 %.

С целью установления специфики выявленных изменений иммунологических параметров при туберкулезе мы провели их сравнение с соответствующими показателями у больных ХОБЛ в стадии обострения. При ХОБЛ регистрировались похожие (как и при туберкулезе) изменения, проявляющиеся угнетением (более выраженным, чем при ТБЛ) экспрессии С3b- и Fc γ - рецепторов на моноцитах и нейтрофилах, на фоне повышения поглотительной способности и суммарной люминесценции лизосом в моноцитах (рис. 1, 2). Однако поглотительная способность нейтрофилов оказалась сниженной (относительно нормы и больных МЛУ ТБЛ) на фоне нормальной завершенности фагоцитоза, которая превышала таковую у больных МЛУ ТБЛ (рис. 1).

Цитохимическое исследование содержания гликогена и липидов в фагоцитах позволяет определить пластический и энергетический потенциал клетки. По результатам проведенного исследования, у больных МЛУ ТБЛ и ЛЧ ТБЛ уровень гликогена в моноцитах и нейтрофилах и липидов в моноцитах был сниженным (относительно нормы) до, на фоне и после окончания курса терапии. Вместе с тем, у больных МЛУ ТБЛ средний цитохимический коэффициент (СЦК) гликогена в фагоцитах достоверно возрастал к концу терапии, но оставался ниже значений у здоровых лиц. Таким образом, туберкулезный процесс характеризуется истощением энергетического резерва фагоцитирующих клеток периферической крови с тенденцией к его восстановлению в динамике терапии.

Цитохимический статус моноцитов характеризовался «всплеском» активности лизосомальных ферментов, определяющих бактерицидный потенциал фагоцита. Так, в моноцитах у больных ТБЛ обеих групп на всех этапах наблюдения устанавливалось повышение активности неспецифической эстеразы и кислой фосфатазы (рис. 4). При этом СЦК неспецифической эстеразы у больных инфильтративным и фиброзно-кавернозным МЛУ ТБЛ превышал таковой у пациентов с ЛЧ ТБЛ. Интересно отметить, что уровень активности неспецифической эстеразы положительно коррелировал с уровнем поглотительной способности моноцитов при МЛУ ТБЛ ($r=0,9$, $p=0,019$). По всей видимости, процесс фагоцитоза (поглощения) запускает активацию фермента.

Продукция АФК в фагоцитах тесно сопряжена с деятельностью миелопероксидазы (МПО) – маркерного фермента азурофильных гранул нейтрофилов. Изучение активности МПО в нейтрофилах показало ее увеличение у больных ТБЛ обеих групп на всех этапах наблюдения с максимальной выраженностью в конце лечения (рис. 4). Интересно, что

активность МПО положительно коррелировала с поглотительной способностью нейтрофилов ($r=0,9$, $p<0,001$), но ожидаемой связи с завершенностью фагоцитоза выявлено не было, что подтверждает факт нарушения при ТБЛ процесса переваривания МБТ фагоцитами.

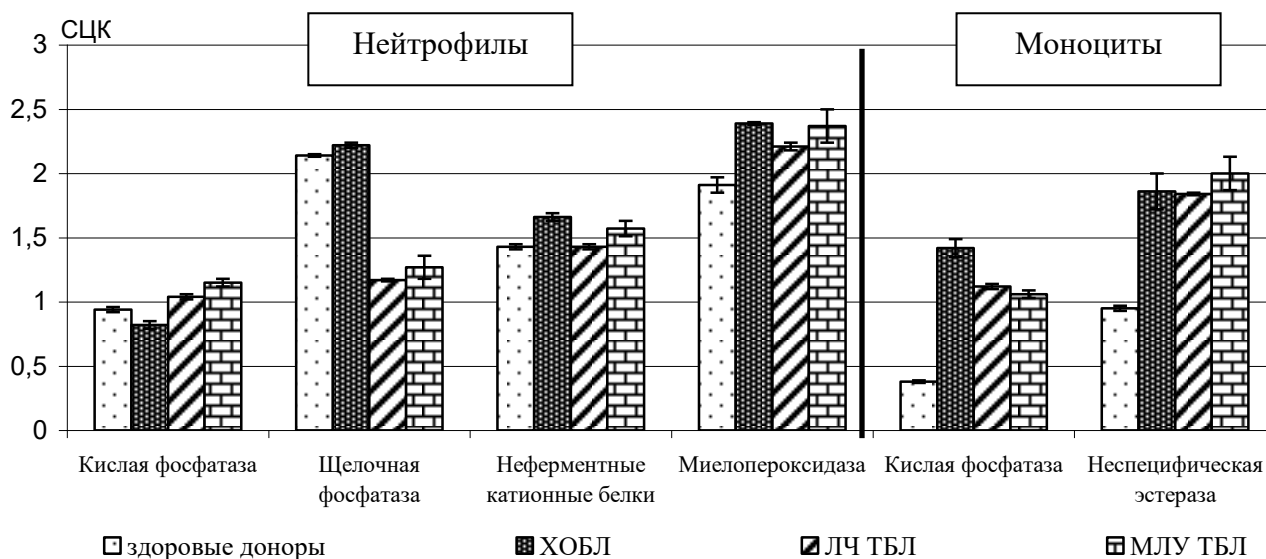


Рис. 4. Цитохимические показатели у больных туберкулезом легких до начала лечения, у больных ХОБЛ и здоровых доноров

Примечание: СЦК – средний цитохимический коэффициент

В синергистическом взаимодействии с системой «миелопероксидаза- H_2O_2 » находятся неферментные катионные белки (НКБ), локализующиеся в азурофильных и специфических гранулах нейтрофилов. Уровень НКБ в нейтрофилах у больных МЛУ ТБЛ до и после интенсивной фазы терапии (кроме диссеминированного МЛУ ТБЛ) превышал нормальные значения (рис. 4). У пациентов с ЛЧ ТБЛ достоверных различий с аналогичными показателями у больных МЛУ ТБЛ выявлено не было.

Особое внимание привлекает отрицательная взаимосвязь между уровнем НКБ в нейтрофилах и показателем завершенности фагоцитоза ($r=-0,97$, $p=0,001$) при ТБЛ. У обследованных больных МЛУ ТБЛ содержание НКБ в нейтрофилах превышало норму, а показатель завершенности фагоцитоза был ниже, чем у здоровых лиц. Это позволяет думать, что причина увеличения количества НКБ в гранулоцитах кроется в нарушении процессов дегрануляции и высвобождения НКБ. При этом отмечалась положительная корреляция между содержанием НКБ и активностью МПО в нейтрофильных гранулоцитах ($r=0,52$, $p=0,002$), подтверждающая синергичное взаимодействие этих двух биоцидных систем.

Кислая фосфатаза подвергает кислотному гидролизу бактерии, умерщвленные воздействием МПО, НКБ, лизоцима, лактоферрина. У больных МЛУ ТБЛ (как и при ЛЧ ТБЛ) фиксировалось увеличение активности кислой фосфатазы в нейтрофилах до и после интенсивной фазы терапии (рис. 4). В период реконвалесценции СЦК изучаемого фермента значительно снижался до нормы (при инфильтративном МЛУ ТБЛ) и ниже показателей у здоровых лиц (при диссеминированном и фиброзно-кавернозном МЛУ ТБЛ). Активность кислой фосфатазы при МЛУ ТБЛ отрицательно коррелировала с показателем завершенности фагоцитоза ($r=-0,89$, $p=0,016$). Механизм лежащий в основе этой взаимосвязи, вероятно, идентичен с таковым в случае с НКБ.

Щелочная фосфатаза содержится в основном в зрелых нейтрофилах и воздействует на микроорганизмы посредством гидролиза нуклеиновых кислот и фосфопротеинов. По данным

литературы, при бактериальных инфекциях активность щелочной фосфатазы значительно возрастает (Меньшиков В.В., 1987; Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 1999). Результаты настоящего исследования показали, что туберкулезная инфекция, напротив, сопровождалась пониженной активностью щелочной фосфатазы (относительно нормальных показателей) на всех этапах исследования (рис. 4). Снижение активности данного фермента, также как и численности рецепторэкспрессирующих нейтрофилов, может быть связано с «омоложением» циркулирующего пула клеток.

Очевидно, что в основном изменения метаболических параметров моноцитов и нейтрофилов при туберкулезной инфекции являются неспецифичными, но проявляются в большей степени, чем при ХОБЛ. Это может служить показателем напряжения (а по ряду показателей и истощения) фагоцитирующих клеток. Обращали на себя внимание разнонаправленные изменения активности кислой и щелочной фосфатазы в нейтрофилах. Так, при ХОБЛ отмечалось снижение СЦК кислой фосфатазы (при повышенной ее активности при МЛУ ТБЛ), наряду с повышением активности щелочной фосфатазы (которая при МЛУ ТБЛ, наоборот, была ниже нормы) (рис. 4).

Характеристика секреции оксида азота мононуклеарами периферической крови

Одним из мощных бактерицидных факторов фагоцитирующих клеток, направленных на уничтожение микробов, вирусов, злокачественных клеток, является оксид азота (NO[•]). Дефицит NO[•] способствует размножению возбудителей как в тканях, так и внутриклеточно, что сопровождается утяжелением инфекционного процесса и может способствовать его хронизации (Бондаренко В.М. и соавт., 1999). Вместе с тем, гипергенерация NO[•] в макро- и микрофагах может обуславливать апоптоз и некроз как самих клеток-продуцентов NO[•], так и окружающих клеток (Каминская Г.О., 2004). При стимуляции и гиперпродукции NO[•] реализуется его провоспалительное действие и повышается сосудистая проницаемость.

По результатам данного исследования, МЛУ ТБЛ сопровождался разнонаправленными нарушениями продукции NO[•] мононуклеарами периферической крови при различных клинических формах. Так, нормальный базальный уровень NO[•] регистрировался при инфильтративной форме МЛУ ТБЛ, характеризующейся наиболее удовлетворительной клинической картиной. Снижение спонтанной генерации NO[•] мононуклеарами при диссеминированной форме МЛУ ТБЛ (в 2,7 раза относительно нормы), на наш взгляд, возможно, могло способствовать незавершенному фагоцитозу и диссеминации возбудителя. Обращала на себя внимание гипергенерация NO[•] (выше показателей здоровых лиц почти в 2 раза) при фиброзно-кавернозной форме МЛУ ТБЛ, что могло повлечь за собой апоптоз и разрушение иммунокомпетентных клеток с повышением сосудистой проницаемости, способствовать увеличению инфильтративных изменений и деструкции в легочной ткани. При этом стимуляция клеток специфическим стимулятором – туберкулином (ППД) и ЛПС при фиброзно-кавернозном и инфильтративном МЛУ ТБЛ, а также стимуляция ППД при диссеминированном МЛУ ТБЛ не только не вызывала прироста продукции NO[•], но и напротив, регистрировалась ниже нормальных значений. Это свидетельствует об истощении функциональных резервов мононуклеаров в результате перманентного раздражения клеток. Кроме того, указанные изменения, видимо, могут быть связаны с нарушением рецепторопосредованной внутриклеточной передачи активирующих сигналов.

Лекарственно-чувствительный вариант инфекции до начала терапии протекал с меньшими изменениями в продукции NO[•]. Все показатели секреции NO[•] мононуклеарами не отличались от нормы, за исключением повышенной ЛПС-стимулированной секреции (при диссеминированном и фиброзно-кавернозном ЛЧ ТБЛ) и стимулированной ФГА продукции радикала (при фиброзно-кавернозном ЛЧ ТБЛ).

После интенсивной фазы химиотерапии уровень базальной продукции NO[•] по-прежнему был различным при разных нозологических формах МЛУ ТБЛ: снижение

генерации радикала отмечалось при инфильтративном МЛУ ТБЛ (относительно нормы и этапа до терапии) и при диссеминированном МЛУ ТБЛ (по сравнению с показателями у здоровых лиц и больных ЛЧ ТБЛ), в то время как фиброзно-кавернозный МЛУ ТБЛ все еще характеризовался гиперпродукцией NO^{\bullet} . При всех формах МЛУ ТБЛ добавление в культуральную среду мононуклеарных клеток ЛПС и ППД сопровождалось низкой (относительно нормы) NO -продукцией. Таким образом, бактерицидная активность посредством выработки NO^{\bullet} в процессе терапии не только не восстанавливалась, но и еще более угнеталась. В своих исследованиях В.В. Новицкий и соавт. (2006) указывают, что у больных ТБЛ на фоне химиотерапии концентрация $\text{TNF-}\alpha$, способствующего наработке индуцибельной NO -синтазы, снижается, что могло повлечь установленное снижение продукции радикала. Кроме того, выявленное снижение выработки оксида азота культурой мононуклеаров свидетельствует скорее об активации Т-хелперов 2-го типа, при которой значительно ингибируется экспрессия индуцибельной NO -синтазы и возрастает активность аргиназы, катаболизирующей субстрат для синтеза NO^{\bullet} (Проскураков С.Я. и соавт., 2000).

Привлекал внимание также и тот факт, что ЛЧ ТБЛ характеризовался резким нарастанием уровня базальной и ФГА-стимулированной секреции NO^{\bullet} (по сравнению с нормой и этапом до лечения) при всех наблюдаемых формах на фоне низкой (как и при МЛУ ТБЛ) стимулированной ППД и ЛПС генерации NO^{\bullet} .

После проведения полного курса лечения устанавливалось угнетение выработки NO^{\bullet} мононуклеарами периферической крови при ТБЛ (в целом более выраженное у больных с лекарственной резистентностью возбудителя, нежели у больных ЛЧ ТБЛ), за исключением генерации NO^{\bullet} при действии туберкулина, которая резко повышалась (в среднем в 8 и более раз относительно значений у здоровых лиц и больных ЛЧ ТБЛ) у всех больных МЛУ ТБЛ, в то время как у больных ЛЧ ТБЛ стимуляция ППД не вызывала значимого (относительно спонтанной генерации) усиления NO -продукции. Снижение выработки радикала, очевидно, определяется уменьшением бактериальной нагрузки на организм, либо истощением резервных возможностей иммунокомпетентных лейкоцитов вследствие длительного бактериального воздействия. Кроме того, нельзя исключать фактор токсического влияния на клетки крови противотуберкулезных препаратов, что так же могло обуславливать падение их секреторной активности. Вместе с тем, установленное нами увеличение генерации NO^{\bullet} мононуклеарными лейкоцитами под действием специфического антигена у больных МЛУ ТБЛ, вероятно, определяется функциональной предуготовленностью мононуклеаров к повышенной секреции бактерицидных факторов в связи с возможным сохранением у данной категории пациентов к окончанию курса терапии части микобактериальной популяции.

В эксперименте R. Long показал, что микробицидное действие NO^{\bullet} одинаково проявляется в отношении как чувствительных, так и устойчивых к изониазиду и рифампицину МБТ (Краснов В.А., и соавт., 2005). Вместе с тем, есть предположение, основанное на данных экспериментальных исследований P. Farnia, о том, что МЛУ МБТ связана с резистентностью возбудителя к действию NO^{\bullet} (Каминская Г.О., 2004). В аспекте этого возникает вопрос: «Может быть, разнонаправленные изменения продукции NO^{\bullet} , выявленные у больных МЛУ ТЛ и ЛЧТЛ, обусловлены различным влиянием возбудителя на иммунные клетки?». Однако однозначно ответить на этот вопрос достаточно сложно.

В отличие от туберкулезного воспаления течение ХОБЛ характеризовалось высоким базальным уровнем секреции радикала (относительно нормальных значений и больных ТБЛ обеих групп) на фоне незначительного (относительно спонтанной генерации) усиления выработки NO^{\bullet} в ответ на стимуляцию клеток ЛПС, ППД и ФГА.

Интересно заметить, что туберкулин-стимулированная секреция NO^{\bullet} обнаруживала отрицательную взаимосвязь с длительностью лихорадки у больных МЛУ ТБЛ ($r=-0,55$, $p=0,043$), а индуцированная ЛПС выработка радикала положительно коррелировала с

индексом массы тела пациентов МЛУ ТБЛ ($r=0,57$, $p=0,032$), что подтверждает важность участия оксида азота в иммунном ответе при туберкулезной инфекции.

С целью прогнозирования ТБЛ с МЛУ нами была построена нелинейная модель зависимости наличия МЛУ МБТ от значений ЛПС-стимулированной продукции NO^{\bullet} у впервые выявленных больных распространенным деструктивным ТБЛ до начала специфической химиотерапии (рис. 5).

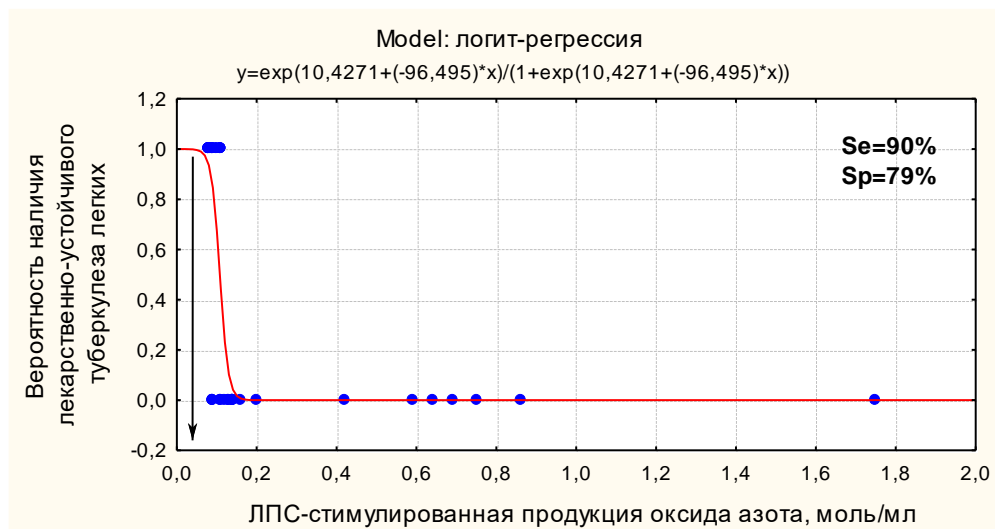


Рис. 5. Вероятность наличия туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью в зависимости от ЛПС-стимулированной продукции оксида азота.

Примечание: Se – чувствительность модели; Sp – специфичность модели.

У больных МЛУ ТБЛ уровень ЛПС-стимулированной секреции NO^{\bullet} оказался ниже нормы. Предиктивное значение данного показателя подтверждалось высоким уровнем значимости соответствующей модели ($p=0,005$ при полученном значении критерия χ^2 , равном 8,002). Как следует из иллюстрации (рис. 5), вероятность наличия ТБЛ с МЛУ, равная 80%, отмечается при ЛПС-стимулированной продукции NO^{\bullet} мононуклеарами крови $\leq 0,1$ моль/мл, равная 100% - при ЛПС-активированной выработке радикала $\leq 0,05$ моль/мл. При этом модель обладает высокой чувствительностью (90%) и специфичностью (79%).

Таким образом, настоящее исследование иллюстрирует необходимость изучения секреции мононуклеарами оксида азота для прогнозирования МЛУ у больных с распространенным деструктивным ТБЛ.

ВЫВОДЫ

1. Распространенный деструктивный множественно лекарственно-устойчивый туберкулез легких, в сопоставлении с лекарственно-чувствительным вариантом болезни, характеризуется более быстрым (у каждого второго больного в течение 1 года) развитием специфического процесса и более тяжелой клинической картиной, массивным бактериовыделением, медленными абациллированием мокроты и нормализацией показателей объективного статуса в процессе химиотерапии, большей частотой осложнений, сопутствующей патологии и степенью инвалидизации пациентов.

2. К ведущим синдромам, определяющим клинические проявления патологического процесса при множественно лекарственно-устойчивом туберкулезе легких, относятся синдром общей интоксикации, бронхитический синдром и синдром дыхательной недостаточности. При этом фиброзно-кавернозный туберкулез легких характеризуется более тяжелой клинической картиной с грубыми морфологическими изменениями в легочной

ткани, большей длительностью сроков негативации и абациллирования мокроты, выраженностью дисфункции внешнего дыхания в динамике и после окончания полного курса терапии, чем инфильтративная и диссеминированная формы заболевания.

3. Течение лекарственно–устойчивого и лекарственно–чувствительного туберкулеза легких сопровождается однонаправленными нарушениями метаболического и функционального состояния моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов периферической крови, степень выраженности которых определяется вариантом течения и клинической формой заболевания.

4. Дизрегуляция неспецифического звена иммунитета при множественно лекарственно-устойчивом туберкулезе легких обуславливается угнетением противомикробного потенциала нейтрофилов (уменьшением количества активных фагоцитов, завершенности фагоцитоза и резервной НСТ-реактивности), снижением рецептор-экспрессирующей функции моноцитов и нейтрофилов, их метаболическим истощением, выражающимся в уменьшении депо глюкозы и содержания липидов на фоне повышения поглотительной способности, активности сывороточного лизоцима, лизосомальных ферментов и содержания неферментных катионных белков в нейтрофилах. При этом низкая активность НСТ-теста позволяет прогнозировать положительную динамику рентгенологической картины легких через 3 месяца противотуберкулезной терапии.

5. Дисфункция фагоцитов периферической крови наиболее выражена при фиброзно-кавернозном множественно лекарственно-устойчивом туберкулезе легких, при котором лейкоцитоз с гипорегенераторным ядерным сдвигом влево и моноцитоз существенно выше, а относительное количество С3b-презентирующих моноцитов и Fcγ-несущих моноцитов и нейтрофилов, поглотительная способность моноцитов и активность лизосом в нейтрофилах значительно ниже, чем при инфильтративной и диссеминированной формах заболевания.

6. Продукция оксида азота мононуклеарами периферической крови у больных множественно лекарственно-устойчивым туберкулезом легких сохраняется в пределах нормы при инфильтративной форме, снижается при диссеминированной и, напротив, повышается при фиброзно-кавернозной форме заболевания. При этом уровень стимулированной продукции NO[•] определяет вероятность лекарственной устойчивости микобактерий к противотуберкулезным препаратам.

7. Специфическим иммунопатологическим признаком туберкулезной инфекции является снижение активности щелочной фосфатазы в нейтрофилах, уменьшение базальной продукции оксида азота мононуклеарными лейкоцитами крови, которые повышаются при хронической обструктивной болезни легких в стадии обострения.

8. Прослеживаемая в процессе противотуберкулезной терапии направленность к нормализации иммунного гомеостаза связана с отчетливой тенденцией к восстановлению общей численности лейкоцитов и лейкоцитарной формулы крови, содержания гликогена в моноцитах и нейтрофилах, лизосом в нейтрофилах.

9. Иммунодестабилизирующее действие противотуберкулезной химиотерапии проявляется усугубляющейся на фоне лечения депрессией числа С3b- и Fcγ-презентирующих нейтрофилов и моноцитов, секреции оксида азота (более выраженной при лекарственно–устойчивом туберкулезе легких) и резервной реактивности нейтрофилов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Повышенная контагиозность МЛУ ТБЛ, связанная с более высокой биологической активностью резистентных к химиопрепаратам МБТ по сравнению с лекарственно-чувствительными микобактериями, определяет актуальность тщательного разделения потоков больных с ЛЧ ТБЛ и МЛУ ТБЛ и обязательного использования индивидуальной защиты медицинскому персоналу в противотуберкулезных стационарах.

2. Оценка стимулированной липополисахаридом секреции оксида азота мононуклеарами периферической крови позволяет уже на ранних этапах заболевания с высокой степенью достоверности прогнозировать наличие лекарственной устойчивости возбудителя, а анализ НСТ-теста – вероятность положительной динамики результатов рентгенологического обследования у больных МЛУ ТБЛ.

3. В рамках направленной иммуномодулирующей терапии при ТБЛ целесообразна коррекция метаболизма и функций фагоцитов крови, особенно при МЛУ ТБЛ, при котором резерв реактивности клеток (потенциальная способность адекватно отвечать на действие патогена), является достаточно выраженным, более высоким, чем при ЛЧ ТБЛ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Воронкова, О.В. Цитохимический статус и фагоцитарная активность моноцитов периферической крови у больных туберкулезом легких / О.В. Воронкова, О.В. Филинюк, Н.А. Земляная, В.А. Сеницына // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты. Материалы Всероссийской конференции: Сб. трудов: / Под ред. В.А. Шкурупия. – Новосибирск: Сибвузиздат, 2004. – С. 18-20.

2. Лукьянова, Т.А. Структурно-функциональные особенности моноцитов периферической крови у больных туберкулезом легких / Т.А. Лукьянова, О.И. Уразова, И.Е. Есимова и др. // Медико-биологические и экологические проблемы здоровья человека на Севере: Международная конференция. – Сургут, 2004. – С. 12.

3. Филинюк, О.В. Фагоцитарная активность лейкоцитов крови у больных туберкулезом легких / О.В. Филинюк, Н.А. Земляная, О.И. Уразова, В.А. Сеницына // Развитие международного сотрудничества в области изучения инфекционных заболеваний: Международная конференция. - Новосибирск, 2004. – С. 155.

4. Филинюк, О.В. Особенности нейтрофильного фагоцитоза у больных туберкулезом легких / О.В. Филинюк, В.В. Новицкий, А.К. Стрелис и др. // Проблемы туберкулеза и современные пути их решения: Международная научно-практическая конференция. – Томск, 2004. – С. 78-79.

5. Буйнова, Л.Н. Клинико-лабораторная характеристика туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью МБТ / Л.Н. Буйнова, А.К. Стрелис, Г.В. Янова и др. // Проблемы туберкулеза и современные пути их решения: Международная научно-практическая конференция. – Томск, 2004. – С. 81-82.

6. Буйнова, Л.Н. Клинико-рентгенологическая инволюция туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью МБТ в процессе лечения по программе DOTS-Plus / Л.Н. Буйнова, А.К. Стрелис, Г.В. Янова и др. // Проблемы туберкулеза и современные пути их решения: Международная научно-практическая конференция. – Томск, 2004. – С. 82-83.

7. Филинюк, О.В. Цитохимическая и функциональная характеристика моноцитов крови у больных туберкулезом легких / О.В. Филинюк, В.В. Новицкий, Н.А. Земляная и др. // Дизрегуляторная патология органов и систем: Третий Российский конгресс по патофизиологии. – Москва, 2004. – С. 55.

8. Воронкова, О.В. Функциональный статус моноцитов периферической крови при лекарственно-устойчивом туберкулезе легких / О.В. Воронкова, В.А. Сеницына, И.Е. Есимова и др. // Науки о человеке: Материалы VI конгресса молодых ученых и специалистов / Под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ, 2005. – С. 21-22.

9. Земляная, Н.А. Некоторые иммунологические и цитохимические особенности фагоцитов у больных туберкулезом легких / Н.А. Земляная, А.К. Стрелис, Уразова О.И. и др.

// Пульмонология: 15-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. - Москва, 2005. – С. 169.

10. Новицкий, В.В. Цитокинпродуцирующая активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких до и на фоне химиотерапии / В.В. Новицкий, В.А. Сеницына, О.В. Воронкова и др. // Проблемы туберкулеза и болезней легких. - 2005. - №6. – С. 39-42.

11. Филинюк, О.В. Функциональные и цитохимические особенности фагоцитов у больных туберкулезом легких / О.В. Филинюк, Н.А. Земляная, А.К. Стрелис и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. - №1. – С. 24-27.

12. Земляная, Н.А. Функциональный статус фагоцитирующих клеток крови при туберкулезе легких / Н.А. Земляная, О.И. Уразова, О.В. Филинюк // Иммунология и болезни: от теории к терапии: Международный конгресс, Москва, 3-8 октября 2005. – Аллергология и иммунология в педиатрии (журнал Ассоциации детских аллергологов и иммунологов в России). – Т. 6, №5. – Приложение 1. – С. 203.

13. Стрелис, А.К. Продукция оксида азота мононуклеарами крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких / А.К. Стрелис, В.В. Новицкий, О.И. Уразова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. - №4. – С. 57-61.

14. Земляная, Н.А. Особенности генерации оксида азота моноцитами крови при лекарственно-чувствительном и полирезистентном туберкулезе легких / Н.А. Земляная, О.И. Уразова, О.В. Воронкова и др. // Науки о человеке: Материалы VII конгресса молодых ученых и специалистов / Под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ, 2006. – С. 9-11.

15. Филинюк, О.В. Функциональная активность фагоцитирующих клеток крови при туберкулезе легких / О.В. Филинюк, О.И. Уразова, А.К. Стрелис, Н.А. Земляная // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. - №1. – С. 79-81.

16. Новицкий, В.В. Мононуклеарные клетки периферической крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких / В.В. Новицкий, О.В. Воронкова, Н.А. Земляная и др. // Вестник Российской АМН. – 2006. - №2. – С. 30-35.

17. Земляная, Н.А. Активность фагоцитирующих клеток периферической крови у больных туберкулезом легких до и в процессе противотуберкулезной химиотерапии / Н.А. Земляная, О.В. Филинюк, О.И. Уразова, О.В. Воронкова // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, №2-3. – С. 266.

18. Филинюк, О.В. Цитохимическая и микробицидная активность фагоцитов крови у больных туберкулезом легких / О.В. Филинюк, Н.А. Земляная, А.К. Стрелис и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. - № 1. – С. 62-66.

19. Земляная, Н.А. Микробицидная активность фагоцитирующих клеток крови при лекарственно-чувствительном и лекарственно-устойчивом туберкулезе легких / Н.А. Земляная, О.В. Филинюк, О.И. Уразова и др. // Туберкулез в России. Год 2007: Материалы VIII Российского съезда фтизиатров. – М., 2007. – С. 100-101.

20. Земляная, Н.А. Продукция оксида азота мононуклеарами крови у больных туберкулезом легких / Н.А. Земляная, О.В. Филинюк, О.И. Уразова и др. // Туберкулез, СПИД, вирусные гепатиты, проблемы безопасности крови и менеджмент в здравоохранении: Материалы II Российско-германской конференции Форума Коха-Мечникова. – Томск, 2007. – С. 72.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ЛПС – липополисахарид

ЛЧ ТБЛ – лекарственно-чувствительный туберкулез легких

МБТ – микобактерии туберкулеза

МЛУ – множественная лекарственная устойчивость

МЛУ ТБЛ – множественно лекарственно-устойчивый туберкулез легких

МПО – миелопероксидаза

НКБ – неферментные катионные белки

ОКЛ – общее количество лейкоцитов

ППД – PPD – purified protein derivative – вид туберкулина

СПЛ – суммарный показатель люминесценции

СЦК – средний цитохимический коэффициент

ТБЛ – туберкулез легких

ФГА – фитогемаглютинин

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

NO[•] - оксид азота

TNF- α – tumor necrosis factor- α – фактор некроза опухоли- α