

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues. Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party

websites are prohibited. In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



www.elsevier.com/locate/intimp



Hiệu quả của dung dịch bổ sung thảo dược tăng cường miễn dịch Tebexerol (IMMUNOXEL) hay còn gọi là Dzherelo dạng uống trong điều trị bệnh nhân đồng nhiễm lao/HIV đang sử dụng thuốc kháng lao (ATT) theo phác đồ DOTS

Lyudmila G. Nikolaeva ^{a,□}, Tatyana V. Maystat ^a, Volodymyr S. Pylypchuk ^b, Yuri L. Volyanskii ^c, Lilia A. Masyuk ^d, Galyna A. Kutsyna ^e

^a Kharkov Regional AIDS Prophylaxis and Prevention Center, Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, 6 Bor'by street, Kharkov 61044, Ukraine

^b Ekomed LLC., Prospect Pravdy 80-A, Kiev 04208, Ukraine

^c I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology, Kharkov 61057, Ukraine

^d Jovtnevsky Correctional Colony No.17, State Department of the Penitentiary of Ukraine in Kharkov Region, Kharkov, Ukraine

^e Luhansk Regional AIDS Center and Luhansk State Medical University, Luhansk 91045, Ukraine

Được nhận vào ngày 12/12/2007, nhận bản chỉnh sửa ngày 31/01/2008, được chấp nhận ngày 31/01/2008

KEYWORDS: Mycobacterium tuberculosis; HIV; Herbal; Phytotherapy; immunotherapy, immunomodulator;

TÓM TẮT

Mở đầu, thử nghiệm lâm sàng giai đoạn 2 đã được thực hiện trên 40 bệnh nhân đồng nhiễm lao/HIV để đánh giá hiệu quả của dung dịch bổ sung thảo dược dạng uống Dzherelo trên thông số miễn dịch và virus. Các bệnh nhân có cơ chế kháng thuốc được lựa chọn ngẫu nhiên và chia thành 2 nhóm bằng nhau để sử dụng thuốc kháng lao (ATT) theo phác đồ DOTS. Nhóm A – hay còn gọi là nhóm chứng, được sử dụng Isoniazid(H); Rifampicin(R); Pyrazinamide(Z); Streptomycin(S); và Ethambutol (E), và nhóm B được nhận 50 giọt Dzherelo hai lần mỗi ngày thêm vào cùng với liều lượng hàng ngày của HRZSE. Sau 2 tháng, tổng số tế bào lympho CD3+ tăng từ 728 lên 921 tế bào/ μ l ($P=0.025$), trong khi nhóm chứng giảm từ 651 xuống 585 tế bào ($P=0.25$). Số lượng tế bào T CD4 tăng ở nhóm sử dụng Dzherelo (từ 174 lên 283; $P=0.00003$) nhưng nhóm sử dụng ATT giảm (182 xuống 174; $P=0.34$). Các tế bào CD8 dao động nhẹ ở cả 2 nhóm : 159>180 ($P=0.17$) và 159>183 ($P=0.13$). Tỷ lệ các tế bào CD4/CD8 xấu đi ở nhóm A (1.213>0.943; $P=0.02$) nhưng tăng ở nhóm B (1.244>1.536; $P=0.007$). Số % của CD3+HLA-DR+ các tế bào lympho đã hoạt động giảm ở nhóm ATT (22.6>20.5; $P=0.004$); nhưng tăng ở nhóm sử dụng Dzherelo (21.5>30.5; $P=0.0001$). Các thay

đổi của tế bào B CD20+ là không đáng kể ở cả 2 nhóm (28.4%>28.6%; P=0.4) và (27.2%>26.7%; P=0.38). Không phát hiện các khác biệt trong số lượng của CD3-CD16+CD56+ tế bào NK trong nhóm A (21.3%>22.6%; P=0.1), trong khi ở nhóm Dzherelo đã có thay đổi tăng lên đáng chú ý (19.9%>14.5%; P=0.026). Số vi khuẩn trong máu, được đo bằng test khuếch đại gen plasma RNA-PCR, giảm ở nhóm sử dụng Dzherelo (2174>1558; P=0.002) nhưng lại tăng ở nhóm ATT (1907>2076 copies/ml; P=0.03). Dzherelo có hiệu quả cải thiện lên hệ miễn dịch và tiêu diệt virus trên bệnh nhân nhiễm lao/HIV khi được sử dụng như thảo dược tăng cường miễn dịch bổ sung cho liệu pháp ATT.

1. Giới thiệu

- Tại các quốc gia bị hạn chế về mặt tài nguyên, bao gồm Ukraine, vi khuẩn lao (TB) là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu đối với các bệnh nhân nhiễm HIV [1,2]. Tiên lượng của bệnh nhân đồng nhiễm lao/HIV là không thuận lợi, đặc biệt là nhiễm HIV mức độ nặng. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) ước tính rằng với một người nhiễm đồng thời bệnh lao và HIV thì có nguy cơ bị bệnh nặng gấp 30 lần hơn người bệnh chỉ nhiễm lao thông thường [3]. Tại các nước phát triển có khoảng 1/3 các trường hợp tử vong liên quan đến AIDS là do mắc lao. Ucraina có tỷ lệ đồng nhiễm lao/HIV cao nhất trong khu vực Đông Âu [1,2]. Tỷ lệ tái phát và tử vong luôn cao hơn kể cả khi bệnh nhân đồng nhiễm lao/HIV được điều trị theo chế độ điều trị quan sát trực tiếp (DOTS) [3]. Kháng thuốc kèm theo sự suy giảm miễn dịch do HIV là nguyên nhân chính gây ra sự thất bại trong điều trị. Số nhiễm lao kháng thuốc trong các cá nhân nhiễm HIV tại các quốc gia thuộc Liên Xô cũ trước đây là khoảng 10-43% [5]. Cuộc khảo sát được công bố gần đây của Nikolayevsky cho thấy rằng tỷ lệ nhiễm lao đa kháng (MDR) tại Ucraina cao hơn đáng kể giữa các tù nhân so với những bệnh nhân khác (54.8 với 27.3 %) [6]. Manas chỉ ra rằng khuẩn lao Mycobacterium và nhiễm HIV có liên quan rõ rệt tới sự suy giảm của hệ thống miễn dịch với bằng chứng là sự suy giảm cao hơn của tỷ lệ tế bào lympho T CD4+ trợ giúp [7]. Tương tự như vậy, nhiễm HIV nặng cũng được đặc trưng bởi số lượng thấp của tế bào lympho trợ giúp. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng kiểm soát miễn dịch của vi khuẩn lao, tương tự với HIV, được trung gian qua tế bào hơn là phản ứng miễn dịch dịch thể [8,9]. Do đó, các phương pháp miễn dịch đối với bệnh nhân lao bắt đầu nhận được nhiều sự chú ý hơn gần đây [10,11]. Có rất nhiều cách thức điều biến miễn dịch đã được sử dụng lâm sàng cho các bệnh nhiễm trùng do virus [12], nhưng đối với bệnh lao thì lựa chọn can thiệp miễn dịch bị giới hạn [10,11]. Các phản ứng của tế bào T trong lao có thể giúp bao vây trực khuẩn lao M. tuberculosis nhưng cũng có thể gây tổn thương viêm cho vật chủ [8-10]. Sản phẩm tăng cường miễn dịch dạng uống Dzherelo (Immunoxel) được sử dụng tại Ucraina để quản lý các trường hợp nhiễm bệnh HIV, bao gồm các bệnh nhân đồng nhiễm

lao [13-15]. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng Dzherelo có thể rút ngắn đáng kể thời gian điều trị và giúp đạt được tỷ lệ đáp ứng cao hơn kể cả với các trường hợp lao đa kháng và siêu kháng [14]. Dzherelo cũng giúp làm giảm nhiễm độc quan liên quan đến việc sử dụng thuốc lao [16]. Dzherelo bao gồm dung dịch cồn-nước chiết xuất từ các loại cây thảo dược như Cây lô hội, Lá cây bạch dương, Cây Oregano, Cây nọc sởi, Dâu tây dại, Cây rế, Cây xa, Hoa cúc vạn thọ, Cây tầm ma, Cây đoan, Cây bách xù, Cây hắc mai biển, Cây mùi tây, Cây mã đề, Cây cam thảo, Cây mộc tặc, Nấm Chaga, Cây xô thơm, Quả tầm xuân, Nhân sâm Siberia, Cây hoa nón, Cỏ long nha Trung Quốc, Trà xanh, Kim tiền thảo, Cây nam việt quất, Cây ngải tây, Cây húng tây dại.

Tebexerol (Dzherelo) đã được Bộ Y Tế Ucraina phê duyệt vào năm 1997 là chất bổ sung tăng cường hệ miễn dịch, cho đến nay đã được sử dụng bởi hơn 150.000 cá nhân trong các chỉ định khác nhau bao gồm nhiễm trùng mãn tính do vi khuẩn và virus như bệnh lao và HIV, các bệnh tự miễn và ác tính [13-15]. Nghiên cứu của chúng tôi tập trung đánh giá hiệu quả của Dzherelo trên tập hợp lympho và số vi khuẩn trong máu của bệnh nhân HIV/lao so với nhóm chứng đã được sử dụng DOTS một mình.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1 Bệnh nhân

Các bệnh nhân có độ tuổi từ 20-49 được lựa chọn và phân chia ngẫu nhiên vào hai nhóm A và B, mỗi nhóm có 20 người. Việc lựa chọn được thực hiện thông qua các bảng phân phát chuỗi số ngẫu nhiên. Sự không đồng nhất của bệnh nhân được giảm thiểu bằng các tiêu chuẩn loại trừ/bao gồm chẳng hạn như độ tuổi, giới tính, đồng nhiễm lao, sử dụng rượu/ma túy, đã điều trị trước đó và giai đoạn bệnh. Một tiêu chí lựa chọn khác là bệnh nhân chưa dùng bất kỳ hình thức điều trị kháng virus trước đó và trong suốt quá trình. Phần lớn bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi được chuyển đổi trong giai đoạn III của nhiễm HIV với số tế bào T CD4+ trung bình được 200 tế bào/ μ l. Việc chẩn đoán nhiễm HIV được thực hiện theo kỹ thuật tiêu chuẩn ELISA và kiểm chứng bởi phân tích Western blot. Bệnh lao phổi đang hoạt động được xác thực bởi tiền sử bệnh và kết quả lâm sàng tương ứng, chụp Xquang cho thấy sự tổn thương phổi và xét nghiệm đờm dương tính với trực khuẩn kháng toan hoặc xét nghiệm nuôi cấy có trực khuẩn lao. Các bệnh nhân đều tự nguyện tham gia và ký vào văn bản thỏa thuận có thể tự do rút khỏi cuộc nghiên cứu bất cứ khi nào họ muốn. Tiến hành thử nghiệm được sự chấp thuận của Bộ quản lý cải tạo thành phố Kharov, Ukraine.

2.2 Phác đồ điều trị

Không có bệnh nhân nào được điều trị kháng virus trong suốt 2 tháng theo dõi. Tất cả bệnh nhân được điều trị bằng thuốc kháng lao tiêu chuẩn (ATT) quản lý theo lịch trình DOTS, trong đó bao gồm liều lượng hàng ngày của Isoniazid (H) 300mg; Rifampicin (R) 600mg; Pyrazinamide (Z) 2000mg; Streptomycin (S) 1000mg; và Ethambutol (E) 1200mg. Tất cả các thuốc kháng lao đều được lấy từ hệ

thống cung cấp dịch vụ y tế quốc gia của Ucraina. Nhóm B, ngoài việc được nhận HRZSE còn có thêm Dzherelo mỗi ngày 2 lần tương ứng với 50 giọt pha trong 100ml nước. Thuốc thảo dược Dzherelo được cung cấp bởi công ty Ekomed. Dzherelo bao gồm dung dịch cồn-nước chiết xuất từ các loại cây thảo dược như Cây lô hội (*Aloe arborescens*), Lá cây bạch dương (*Folia Betulae*), Cây Oregano (*Herba Origanum vulgare*), Cây nọc sởi (*Herba Hyperici*), Dâu tây dại (*Herba Fragariae vescae*), Cây rễ vàng (*Rhizomata et radices Rhodiola roseae*), Cây xa cúc (*Herba Centauri*), Hoa cúc vạn thọ (*Flores Calendulae*), Cây tầm ma (*Folia Urticae dioicae*), Cây đoan (*Tilia cordata*), Cây bách xù (*Fructus Juniperi*), Cây hắc mai biển (*Fructus Hippophae*), Cây mùi tây (*Radix Petroselinum*), Cây mã đề (*Folia Plantaginis majoris*), Cây cam thảo (*Rhizomata et radices Glycyrrhizae*), Cây mộc tặc (*Equisetum arvense*), Nấm Chaga (*Inonotus obliquus*), Cây xô thơm (*Salvia officinalis*), Quả tầm xuân (*Fructus Rosa*), Nhân sâm Siberia (*Radices Eleutherococci*), Cây hoa nón (*Herba Echinacea purpureae*), Cỏ long nha Trung Quốc (*Agrimonia pilosa*), Trà xanh (*Thea sinensis (camellina)*), Kim tiền thảo (*Herba Glechoma hederacea*), Cây nam việt quất (*Fructus Viburni*), Cây ngải tây (*Herba Artemisiae absinthiae*), Cây húng tây dại (*Herba Serpylli*).

Dzherelo đã được phê duyệt vào năm 1997 bởi Bộ Y Tế Ukraine dưới dạng chất bổ sung tăng cường hệ miễn dịch. Năm 1999, Dzherelo được Bộ Y tế khuyến nghị sử dụng dưới dạng bổ sung tăng cường miễn dịch đối với các phương pháp trị bệnh lao [15]. Vào năm 2006 nó được đưa vào danh mục thực phẩm chức năng và mang lại thêm nhiều chứng minh lâm sàng.

2.3 Kiểu hình miễn dịch của tiểu quần thể tế bào lympho

Các mẫu máu ngoại vi của bệnh nhân nhiễm lao/HIV đã được phân tích, sử dụng bộ xét nghiệm Clonospectr bao gồm các kháng thể đơn dòng chống lại kháng nguyên bề mặt của tế bào lympho (MedBioS-pectr, Moscow, Nga). Các xét nghiệm được thực hiện từ lúc bắt đầu nghiên cứu, sau 1 và 2 tháng của liệu trình điều trị. Các giá trị tuyệt đối và phần trăm của các tiểu quần thể sau đây được đánh giá bởi kính hiển vi huỳnh quang: Tổng số tế bào lympho T (CD3+); Tế bào lympho T trợ giúp (CD3+CD4+); Tế bào lympho T gây độc (CD3+CD4+); Tế bào lympho B (CD20+); Tế bào tiêu diệt tự nhiên- NK cells (CD3-CD16+CD56+); và tế bào lympho T hoạt hóa (CD3+HLA-DR+). Ngoài ra, những thay đổi trong tỷ lệ giữa các tế bào CD4 và CD8 đã được đánh giá như một phần của việc xác định tình trạng miễn dịch của bệnh nhân. Các mẫu máu của 19 người hiến máu khỏe mạnh được phân tích như một tài liệu tham khảo cho các giá trị bình thường.

2.4 Phân tích PCR

Các mẫu huyết tương lưu trữ đông lạnh đã được xử lý chủ yếu bằng việc sử dụng PCR (AmpliSense HIV-1; Trung tâm nghiên cứu Dịch tễ học, Moscow, Russia) được thiết kế cho

phân tích định lượng các bản sao của HIV-RNA. Các thử nghiệm được tiến hành trên các mẫu huyết tương thu thập lúc ban đầu và sau 2 tháng điều trị.

2.5 Phân tích thống kê

Các kết quả thu được đã được phân tích với sự trợ giúp của phần mềm thống kê STATMOST (Datamost, South Sandy, UT). Số lượng tế bào ban đầu liên quan tới sự theo dõi trong tháng đầu và tháng thứ 2 đã được đánh giá bằng các trắc nghiệm

T-test ghép cặp. Các giá trị không có tham biến của số vi khuẩn trong máu được phân tích bởi trắc nghiệm thứ hạng phi tham số của Wilcoxon. Các kết quả xác suất của giá trị được coi là có ý nghĩa ở mức độ giới hạn $P \leq 0.05$

3. Các kết quả

Sau 1 tháng điều trị đã có sự khác biệt rõ rệt giữa nhóm sử dụng thuốc lao thông thường và nhóm sử dụng thuốc kết hợp với Dzherelo. Sự chênh lệch này còn trở nên rõ ràng hơn ở cuối tháng thứ 2 của liệu pháp. Một số nhưng không phải tất cả các dấu hiệu miễn dịch của các tế bào lympho đã bị ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê. Sự thay đổi của số lượng vi khuẩn trong máu trong số các bệnh nhân nhiễm HIV/lao của cả 2 nhóm đều đạt được ý nghĩa thống kê mặc dù không bệnh nhân nào từng được nhận phương pháp điều trị kháng virus. Những phát hiện này được tóm tắt dưới đây.

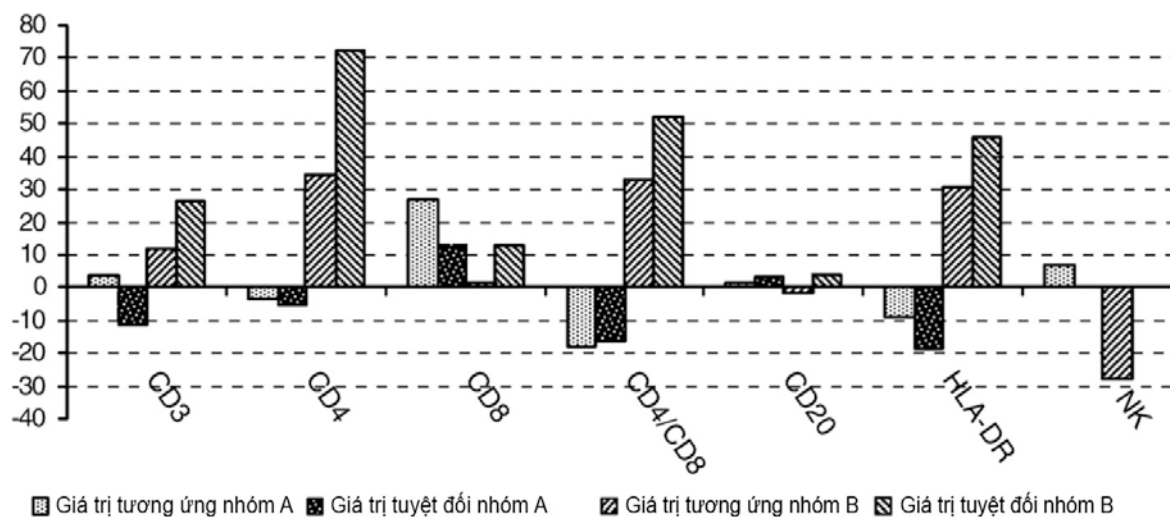
3.1 Tổng số tế bào lympho T CD3+

Sau 1 tháng, nhóm sử dụng thuốc lao có các giá trị tuyệt đối và tỷ lệ tổng số tế bào lympho CD3+ trong máu không thay đổi nhiều, ví dụ như 650(36.8%) với 634(37.2%); $P=0.38$ ($P=0.23$), như đã phân tích sau đây bởi các thử nghiệm T-test. Tuy nhiên, trong nhóm sử dụng HRZSE kết hợp Dzherelo đã có những khác biệt đáng kể trong tổng số giá trị CD3+ xuất hiện sớm, ngay sau 1 tháng điều trị: 728 (37.5%) với 902 (40.4%); $P=0.015$ ($P=0.04$). Sau hai tháng tổng số tế bào lympho CD3+ tăng hơn tới 921 trong nhóm B ($P=0.025$) khi mà nhóm chứng bị giảm xuống 585 tế bào ($P=0.25$). Sự khác biệt trong kết quả điều trị, tức là 921 với 585 có ý nghĩa lớn ($P=0.0036$), trong khi giá trị ban đầu giữa hai nhóm là không khác biệt về mặt thống kê ($P=0.15$)

3.2 Tế bào lympho T CD4+

Những xu hướng rất giống với toàn bộ tế bào lympho CD3+ đã được quan sát thấy khi tiểu quần thể các tế bào lympho CD3+CD4+ được phân tích. Không có thay đổi đáng kể trong nhóm chỉ sử dụng thuốc lao, tức là 182 (24.2%) lên 203 (24.4%); $P=0.063$ ($P=0.28$), trong khi ở nhóm Dzherelo số lượng tế bào trợ giúp đã tăng đáng kể từ 174 (23.3%) lên 257 (27.3%) tế bào ; $P=0.00003$ ($P=0.0004$). Vào cuối tháng thứ 2, số tế bào của quần thể lympho

bào đã tăng tới 174 (25.3%) và 283 (31%) với giá trị xác suất $P=0.13$ và $P=0.0000004$ tương ứng cho nhóm A và B. Khi kết quả nghiên cứu Dzherelo hoàn thành, sự gia tăng số lượng tế bào lympho CD4+ so với giá trị đầu vào đã được tính toán, theo đó có sự gia tăng 38.5% và 24.8% về giá trị tuyệt đối và tương đối (Hình 1)



Hình 1 : Thay đổi số lượng tương đối và tuyệt đối tế bào máu ngoại biên sau 2 tháng và so sánh với mức độ ban đầu cho nhóm A và B

Bảng 1 Tỷ lệ CD4/CD8 thông thường và của bệnh nhân HIV/TB trong điều trị

Normal blood donors (N=19)	Nhóm A (N=20) HRZSE			Nhóm A (N=20) HRZSE + Dzherelo		
	Ban đầu	Tháng thứ 1	Tháng thứ 2	Ban đầu	Tháng thứ 1	Tháng thứ 2
1.7±0.04	1.21±0.12	1.06±0.08	0.94±0.06	1.24±0.13	1.42±0.08	1.54±0.08
Giá trị P tương ứng lúc ban đầu được phân tích bởi thử nghiệm t-test		P=0.009	P=0.002		P=0.06	P=0.007

3.3 Tế bào lympho T CD8+

Những thay đổi số lượng tế bào T gây độc tế bào CD3+CD8+ là đối lập với sự thay đổi của tế bào trợ giúp. Trong nhóm chỉ sử dụng thuốc lao, các tế bào CD8+ tăng lên đáng kể từ 159 (21.7%) lên 190.2 (19.8%) $P=0.21$ ($P=0.045$). Vào cuối tháng thứ 2, số lượng CTL tại nhóm chỉ sử dụng thuốc lao vẫn trên mức cơ sở tức là 180 tế bào (27.7%) có ý nghĩa thống kê về mặt phần trăm ($P=0.000009$) nhưng không đáng kể ($P=0.17$) khi tính theo giá trị tuyệt đối (Hình 1). Ngược lại, số lượng tế bào CD8 tại tháng thứ 2 của nhóm sử dụng Dzherelo đã không hề tăng đáng kể, từ mức ban đầu 159 (20.8%) tới 183 (20.7%), với giá trị P là 0.13 và 0.47 cho số liệu tuyệt đối và phần trăm tương ứng.

3.4 Tỷ lệ CD4/CD8

Những thay đổi khác nhau về số lượng tế bào lympho CD4 và CD8 đã ảnh hưởng đến tỷ lệ CD4/CD8 trên những bệnh nhân chỉ sử dụng HRZSE, xuất hiện sớm sau 1 tháng điều trị (Bảng 1). Tỷ lệ của chúng đã giảm từ giá trị cơ bản 1.213 xuống 1.06 (P=0.009). Ngược lại tỷ lệ CD4/CD8 trong nhóm dùng Dzherelo đã tăng lên từ 1.244 tới 1.416, cao hơn so với giá trị giới hạn (P=0.06). Sự chênh lệch giữa CD4 và tế bào CD8 đã có tiến triển hơn nữa tại tháng thứ 2. Nhóm chỉ sử dụng HRZSE có tỷ lệ giảm tới 0.943 (P=0.002), trong khi nhóm Dzherelo có tỷ lệ tăng trở lại mức được coi là bình thường, tức là 1.536 (P=0.007).

3.5 Tế bào lympho hoạt động CD3+HLA-DR+

Tỷ lệ tế bào hoạt động CD3+HLA-DR+ tế bào T đã giảm ở nhóm sử dụng thuốc lao (từ 22.6% xuống 21.8% và sau đó là 20.5%; P=0.004) vào cuối cuộc nghiên cứu, trong khi ở nhóm Dzherelo các thành phần này tăng 29.5% (21.2% đến 27.6% tới 30.5%; P=0.001). Sự gia tăng 45.5% về giá trị tuyệt đối là rất quan trọng, từ giá trị ban đầu là 164 tế bào/ μ l lên tới 275 và sau đó là 301, với giá trị P là 0.00005 và 0.0003 tại cuối tháng thứ 1 và thứ 2 tương ứng. Ngược lại, bệnh nhân chỉ được nhận HRZSE có giá trị tuyệt đối giảm xuống 18% trong cuối tháng thứ 2 (Từ 159 xuống 131; P=0.03) nhưng nó không có khác biệt đáng kể ở giai đoạn trung gian trong 1 tháng (159 tới 169; P=0.13).

Bảng 2 Hiệu quả của thuốc lao trong 2 tháng khi sử dụng riêng hoặc kết hợp với Dzherelo trong mức độ huyết tương HIV-RNA

Bệnh nhân số.	Nhóm A			Arm B		
	Bệnh nhân HIV/TB chỉ sử dụng HRZSE (N=20)			Bệnh nhân HIV/TB sử dụng HRZSE + Dzherelo (N=20)		
	HIV-RNA copies/ml Ban đầu	HIV-RNA copies/ml Trong 2 tháng	Khác biệt so với ban đầu	HIV-RNA copies/ml Ban đầu	HIV-RNA copies/ml Trong 2 tháng	Khác biệt so với ban đầu
1	227.0	324.4	+97.4	1911.2	715.0	-1196.2
2	1611.8	1754.0	+142.2	489.0	286.9	-202.1
3	571.4	511.5	-59.9	1057.9	728.5	-329.4
4	504.0	623.2	+119.2	736.0	436.6	-299.4
5	249.5	376.7	+127.2	953.1	713.6	-239.5
6	24,388.0	25,331.8	+943.8	1866.3	1042.9	-823.4
7	212.1	743.5	+531.4	848.3	339.3	-509
8	354.3	301.9	-52.4	698.6	758.5	+59.9
9	99.8	309.4	+209.6	593.8	264.5	-329.3
10	114.8	586.3	+471.5	339.3	511.5	+172.2
11	391.7	691.1	+299.4	29,096.0	21,611.8	-7484.2
12	249.5	77.3	-172.2	429.1	451.6	+22.5
13	369.3	429.1	+59.8	189.6	69.9	-119.7
14	204.6	279.4	+74.8	810.9	504.0	-306.9
15	331.8	189.9	-141.9	953.1	376.7	-576.4
16	264.5	257.0	-7.5	563.9	623.8	+59.9
17	4141.7	4912.7	+771	257.0	354.3	+97.3
18	219.6	264.5	+44.9	324.4	459.1	+134.7
19	391.7	301.9	-89.8	698.6	421.7	-276.9
20	3236.0	3258.5	+22.5	661.2	481.5	-179.7
	Trung bình \pm SD = 1907 \pm 5400 Trung vị = 343	Trung bình \pm SD = 2076 \pm 5602 Trung vị = 403	Trung bình \pm SD = +170 \pm 298 Trung vị = +86 Kiểm nghiệm Wilcoxon; P=0.03	Trung bình \pm SD = 2174 \pm 6353 Trung vị = 699	Trung bình \pm SD = 1558 \pm 4725 Trung vị = 470	Trung bình \pm SD = -616 \pm 1651 Trung vị = -258 Kiểm nghiệm Wilcoxon; P=0.002

3.6 Tế bào lympho B CD20+

Các thay đổi này không rõ ràng trong suốt quá trình nghiên cứu cả ở giá trị tuyệt đối lẫn tỷ lệ của tế bào lympho CD20+B. Những bệnh nhân sử dụng Dzherelo có số tế bào B dao động nhẹ nhưng không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê trong tháng đầu hoặc tháng 2 của liệu trình. Vào cuối của tháng thứ 1, chúng tăng nhẹ từ 526 (27.2%) lên 612 (28.4%) tế bào $P=0.093$ ($P=0.12$) và trong kết luận của cuộc nghiên cứu chúng đã giảm xuống mức gần như mức độ ban đầu mà không có ý nghĩa thống kê 552 (26.7%); $P=0.38$. Các bệnh nhân chỉ sử dụng HRZSE cũng đã thể hiện sự thay đổi không đáng kể trong số lượng tế bào lympho CD20+. Giá trị ban đầu là 613 (28.4%) đã thay đổi nhẹ tới 592 (28.9%) vào tháng thứ 1 và duy trì ở 633 (28.6%) vào cuối của nghiên cứu. Không gì trong các thay đổi này có ý nghĩa thống kê ở bất kỳ thời gian nào cho cả 2 nhóm.

3.7 Tế bào CD3-CD16++CD56+NK

Các con số tương đối của tế bào NK được xác định là CD3- âm tính nhưng số lượng CD16+CD56+không bị ảnh hưởng nhiều bởi sử dụng HRZSE: từ mức độ cơ bản đạt 21.3% họ đã tăng lên 21.9% ($P=0.22$), và sau đó đến 22.6% tại kết luận tương ứng ($P=0.1$). Việc bổ sung liều lượng Dzherelo hàng ngày đã có một tác động mạnh đến giảm các tế bào NK. Các bệnh nhân bắt đầu với mức trung bình là 20% tế bào NK đã có sự giảm xuống 18% ($P=0.029$) trong đó tiếp tục giảm tới 14.5% ($P=0.0026$). Thậm chí sự khác biệt giữa tháng 1 và tháng 2 là có ý nghĩa thống kê ($P=0.016$) cho thấy sự thay đổi rất nhanh về số lượng. Như vậy, vào cuối tháng điều trị thứ 2, nhóm sử dụng Dzherelo đã có số tế bào NK giảm xuống 27.5% so với mức ban đầu.

3.8 Số lượng virus trong máu

Được đo bằng huyết tương RNA-PCR lúc ban đầu và cuối tháng thứ 2, đã tăng trong nhóm chỉ sử dụng thuốc lao (1907 tới 2076 copies/ml; $P=0.025$, bởi kiểm nghiệm Wilcoxon) nhưng giảm ở nhóm sử dụng Dzherelo (2174 xuống 1558 copies; $P=0.002$). Khoảng hai phần ba trong số bệnh nhân (14/20) chỉ sử dụng HRZSE đã cho thấy sự gia tăng virus trong máu khi mà nhóm sử dụng thêm Dzherelo đã làm giảm số lượng virus nhân thêm (Bảng 2)

4. Bàn luận

Điều trị bệnh lao ở người nhiễm HIV là một vấn đề khó khăn khi so sánh với điều trị lao thông thường [1-3.5]. Nhiệm vụ này còn khó hơn khi điều trị với những trường hợp nhiễm lao kháng thuốc hoặc trong giai đoạn nặng của HIV [6]. Do tỷ lệ thất bại và tái phát cao trong điều trị lao, các biện pháp can thiệp miễn dịch đang được thực hiện để tìm cách khắc phục thiếu sót này [10,11].

Trong các nghiên cứu trước Dzherelo đã chứng minh có thể tăng gấp đôi tỷ lệ thành công của thuốc kháng lao và rút ngắn khoảng 2 tháng thời gian điều trị kể cả với bệnh nhân nhiễm lao đa kháng và siêu kháng [14-16]. Nó cũng giúp cải thiện đáng kể các tác dụng phụ độc hại do sử dụng thuốc lao nói chung, và các nhiễm độc gan nói riêng. Mức độ AST và ALT gan cao gây ra bởi thuốc lao đã được chứng minh là có thể đưa về mức bình thường [16]. Tuy nhiên, những nghiên cứu này chưa chỉ ra được hiệu quả rõ rệt của Dzherelo trong việc cải thiện hệ miễn dịch và số lượng virus trong máu của bệnh nhân HIV/lao. Nghiên cứu DOTS trong 2 tháng của chúng tôi chỉ ra rằng trên bệnh nhân nội trú, khi Dzherelo được sử dụng kết với với ATT đã mang lại những lợi ích đáng kể liên quan đến điều trị miễn dịch. Các kết quả chỉ ra rằng sử dụng Dzherelo trong ít nhất 1 tháng có thể mang lại sự gia tăng đáng kể trong tổng số tế bào lympho CD3+, tế bào giúp đỡ CD4+, tỷ lệ CD4/CD8 tốt hơn, tăng số lượng CD3+HLA-DR+ hoạt động, và giảm số lượng tế bào NK. Dzherelo dường như không ảnh hưởng đến CD8+ T lympho hoặc CD20+ B lympho. Hơn nữa, Dzherelo xuất hiện để hiển thị hiệu ứng ức chế sự sao chép của virus dẫn đến thống kê số lượng virus máu ít hơn. Chúng tôi đã chứng kiến sự gia tăng đáng kể tổng số tế bào lympho CD3+, CD4+ T lympho và tỷ lệ CD4/CD8 tốt hơn ở bệnh nhân HIV và đồng nhiễm lao/HIV đã được điều trị với Dzherelo (Hình 1). Dzherelo của chúng tôi chứng minh tương tự với các kết quả mà các nhà điều tra độc lập thu được [14-16]. Mức độ cải thiện trong số lượng tế bào T tuyệt đối và tương ứng dường như là giống nhau. Cũng rõ ràng rằng số lượng CD3, CD4 cao và tỷ lệ CD4/CD8 tăng có liên quan đến tiên lượng tốt hơn ở những bệnh nhân nhiễm HIV cũng như các bệnh lao [17,18]. Vì lý do này Dzherelo có thể ảnh hưởng tích cực đến kết quả điều trị và tiến triển của bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi. Số lượng virus trong máu là một yếu tố dự báo sự tiến triển của bệnh HIV, sự tăng cao liên tục của nó trong bệnh nhân đồng nhiễm lao. HIV là dấu hiệu của việc tiên lượng kém [19]. Trong khi có những dấu hiệu trước đó mà Dzherelo có thể cải thiện số lượng virus [13], nghiên cứu của chúng tôi là báo cáo đầu tiên có tính hệ thống về hiện tượng này. Mặc dù thực tế rằng mức độ HIV-RNA đã giảm ít hơn so với quá trình, sự khác biệt giữa kết quả ban đầu và thu được là rất quan trọng (Bảng 2). Việc quan sát này được khuyến khích từ sự thành công của việc sử dụng thuốc lao, trong đó hồi phục lại hệ miễn dịch của bệnh nhân lao/HIV, không ảnh hưởng đến lượng virus trong máu [19,20]. Những gì chúng ta chứng kiến là cực kỳ độc đáo. Chúng tôi không nhận biết về bất kỳ chuẩn bị hồi phục miễn dịch nào khác mà ảnh hưởng lên cả lao và HIV. Có vẻ như rằng kết quả được chứng kiến trong số lượng virus máu được gián tiếp bởi các tế bào miễn dịch từ khi Dzherelo không có ảnh hưởng trực tiếp lên sự sao chép của HIV [13]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy vào cuối của liệu trình, các bệnh nhân dùng Dzherelo có hơn 30% và 45.5% số lượng tuyệt đối của tế bào CD3+HLA-DR+, trong khi bệnh nhân chỉ sử dụng HRZSE đã giảm đến 18% so với mức ban đầu. Nó đã được chỉ ra rằng bệnh nhân lao đã giảm đáng kể tế bào HLA-DR, thứ có thể gây nên ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của tế bào T và do đó tạo sự thuận lợi cho bệnh phát triển

[21]. Vì lý do này Dzherelo dường như có tác động tích cực trên một tập hợp các tế bào lympho T hoạt hóa có thể mang lại kết quả tốt trong quá trình điều trị. Chúng tôi không biết quần thể các tế bào CD3+HLA-DR+ hoạt hóa thuộc về loại tế bào lympho T nào. Đánh giá từ thay đổi tương đối của CD4 và CD8 có khả năng là các điểm đánh dấu kích hoạt được thể hiện trên các tế bào CD4. Tuy nhiên, do hạn chế về bảng đánh giá và các kháng thể ngăn chặn, nhuộm, với đánh dấu huỳnh quang, chúng tôi đã không thể xác minh khả năng này. Điều này cần được xác định trong các nghiên cứu tương lai. Mặc dù rất nhiều thông tin về các vai trò của tế bào lympho T trong các đáp ứng miễn dịch chống lại bệnh lao, tương đối từ sự thấu hiểu liên quan đến việc tham gia của tế bào lympho B. Các nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rất ít sự khác biệt trong CD20+ tế bào B không cho thấy bất kỳ thông tin nào có thể giải thích theo cách này hoặc cách khác. Kết luận này có lẽ phản ánh sự đồng thuận chung rằng trong khi tế bào B đóng vai trò nhất định trong việc nhiễm lao, đóng góp tổng thể của chúng sẽ nhỏ hơn so với các tế bào lympho T [22]. So sánh với các mẫu máu bình thường có giá trị tuyệt đối và tương ứng của tế bào B thường gấp đôi so với 2 nhóm điều trị. Tuy nhiên, ý nghĩa cho hiện tượng này là không rõ ràng. Theo Simonney, không có sự tương quan nào được tìm thấy giữa tế bào miễn dịch B tương ứng và tiến triển thành bệnh ở những bệnh nhân HIV dương tính với bệnh lao [23].

Chúng tôi đã quan sát thấy một sự khác biệt rất lớn giữa hai nhóm liên quan đến tế bào NK sau 2 tháng điều trị. Khi so sánh với mức độ ban đầu của bệnh nhân sử dụng Dzherelo có ít hơn 27.5% tế bào NK trong khi số lượng này không thay đổi ở nhóm chỉ sử dụng thuốc HRZSE. Vai trò của tế bào NK trong bệnh lao vẫn chưa rõ ràng. Trong khi có một số chỉ ra rằng số lượng tế bào NK cao hơn là rất quan trọng trong việc kiểm soát bệnh lao, những người khác lại cho rằng nó không đóng vai trò gì trong việc chống lại căn bệnh này [24,25]. Sự nhầm lẫn này có thể bắt nguồn từ sự khác biệt trong quá trình nghiên cứu như giá trị ban đầu của việc tính toán các hoạt động chức năng nhưng dựa trên điều tra của các tế bào ở các giai đoạn khác nhau của bệnh. Như đã nói bởi Nirmala rằng hầu hết nguyên nhân rất có thể do sự thất bại trong việc nhận ra rằng hoạt động giảm tế bào NK trong thời gian nhiễm bệnh lao là “kết quả” chứ không phải “nguyên nhân” cho bệnh [26]. Từ đó chúng tôi không đo hoạt động chức năng của tế bào NK, chúng ta không biết ý nghĩa của hiện tượng này là những gì liên quan đến miễn dịch sinh bệnh học của bệnh lao. Dựa trên các bằng chứng cho thấy Dzherelo có hiệu quả cao như một chất bổ sung miễn dịch cho thuốc lao, chúng ta chỉ có thể suy đoán rằng trong tình hình này việc giảm tế bào NK là có lợi cho vật chủ. Lời giải thích này dường như được hỗ trợ bởi một báo cáo gần đây của Barcelos-người đã chỉ ra rằng những bệnh nhân có triệu chứng đã thất bại trong hóa trị liệu căn bệnh lao có mức độ tế bào NK cao hơn [27]. Tương tự, nếu chúng ta có thể giải thích từ quan điểm của mình, việc nghiên cứu của Deveci sau đó dữ liệu của họ cho thấy tế bào lympho CD4 thấp hơn và số lượng cao hơn của tế bào NK trong bệnh nhân có khuẩn lao hoạt động hơn bình thường là có lý, nhưng là trái với kết luận của tác giả [28].

Rất nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhằm xác định các kiểu hình của tế bào miễn dịch trong bệnh lao và đồng nhiễm lao/HIV. Trong khi có một sự đồng thuận rằng phản ứng miễn dịch tế bào đóng vai trò quan trọng trong việc xác định kết quả lâm sàng sau khi bị nhiễm lao phải được nghiên cứu nhiều hơn nữa để có cái nhìn toàn diện về các tiến trình của tế bào trong căn bệnh. Sự hiểu biết về cơ chế miễn dịch kiểm soát khuẩn lao có thể mang lại các kết quả tốt hơn trong việc chế tạo vắc xin và các phương pháp tăng cường miễn dịch [10,11]. Các căn bệnh nhiễm trùng như lao gây ra bệnh tật đáng kể và tỷ lệ tử vong cao ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch do AIDS. Bởi vậy, nên có những ưu tiên trong nỗ lực của công tác phòng chống và điều trị các biến chứng nhiễm trùng ở những bệnh nhân này. Hóa trị liệu hiện tại cho căn bệnh này vẫn là ý tưởng xa, đòi hỏi nhiều loại thuốc lao được thực hiện kết hợp trong một thời gian dài [1]. Thời gian điều trị tăng cùng với các tác dụng phụ thường dẫn đến việc không tuân thủ của bệnh nhân, do đó điều trị thất bại và sự xuất hiện của thuốc khác cùng với các tác động của kinh tế xã hội [3,5]. Sự phát triển của liệu pháp miễn dịch là một mục tiêu cấp bách trong điều trị lao. Chúng tôi tin rằng thuốc thảo dược tăng cường miễn dịch là một phần không thể thiếu trong chiến lược điều trị phòng chống bệnh lao [29,30]. Nhiều biện pháp can thiệp miễn dịch có sẵn chống lại vi khuẩn, nguyên sinh vật, nấm và virus. Trong khi cơ chế tăng cường miễn dịch thường chưa được hiểu rõ [12]. Nhược điểm này phải được cân đối dựa trên những lợi ích trong việc thử nghiệm lâm sàng. Nghiên cứu của chúng tôi cung cấp một cái nhìn thoáng qua ban đầu với việc tác động vào cơ chế miễn dịch của Dzherelo, sản phẩm đã thành công trong việc đóng vai trò là chất tăng cường miễn dịch cho phương pháp điều trị lao tại Ukraine [14-16]. Nghiên cứu bổ sung cần được tiến hành để hiểu rõ hơn về các tính năng đặc biệt của Dzherelo và tăng cường các loại thuốc điều trị lao và HIV.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các tình nguyện viên đã tham gia và nghiên cứu này. Sự hào phóng của công ty Ekomed trong việc cung cấp Dzherelo rất đáng trân trọng. Sự hỗ trợ không mệt mỏi của đội ngũ nhân viên và các cán bộ kỹ thuật đã đóng góp to lớn để đưa nghiên cứu này thành hiện thực. Các cuộc thảo luận với các nhà nghiên cứu khác của Dzherelo đã chia sẻ rất nhiều kiến thức cho chúng tôi và xin chân thành cảm ơn tới tất cả mọi người.

Tham khảo

[1] Karachunskii MA. Tuberculosis in HIV infection. Probl Tuberk2000;1:47—52.

[2] Pokrovskii VV. Treatment of HIV-infections: success or crisis? TerArk 2001;73:52—4.

- [3] Reid A, Scano F, Getahun H, Williams B, Dye C, Nunn P, et al. Towards universal access to HIV prevention, treatment, care, and support: the role of tuberculosis/HIV collaboration. *Lancet Infect Dis* 2006;6:483—95.
- [4] van der Werf MJ, Yegorova OB, Chentsova N, Chechulin Y, Hasker E, Petrenko VI, et al. Tuberculosis-HIV co-infection in Kiev City, Ukraine. *Emerg Infect Dis* 2006;12:766—8.
- [5] Khauadamova GT, Aruinova BK, Bidaibaev NSH, Azhmukhanbe-tov KA, Bairstanova KA, Bekembaeva GS. Special features of the course of tuberculosis in HIV-infected patients. *Probl Tuberk* 2001;5:34—6.
- [6] Nikolayevskyy VV, Brown TJ, Bazhora YI, Asmolov AA, Balabanova YM, Drobniwski FA. Molecular epidemiology and prevalence of mutations conferring rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains from the southern Ukraine. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:129—38.
- [7] Manas E, Pulido F, Pena JM, Rubio R, Gonzalez-Garcia J, Costa R, et al. Impact of tuberculosis on the course of HIV-infected patients with a high initial CD4 lymphocyte count. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8:451—7.
- [8] Boom WH, Canaday DH, Fulton SA, Gehring AJ, Rojas RE, Torres M. Human immunity to *M. tuberculosis*: T cell subsets and antigen processing. *Tuberculosis (Edinb)* 2003;83:98—106.
- [9] Serbina NV, Lazarevic V, Flynn JL. CD4(+) T cells are required for the development of cytotoxic CD8(+) T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol* 2001;167:6991—7000.
- [10] Roy E, Lowrie DB, Jolles SR. Current strategies in TB immunotherapy. *Curr Mol Med* 2007;7:373—86.
- [11] Kaufmann SH. Tuberculosis: back on the immunologists' agenda. *Immunity* 2006;24:351—7.
- [12] Ershov FI. Use of immunomodulators in viral infections. *Antibiot Khimioter* 2003;48:27—32.
- [13] Chkhetian R, Pylypchuk V, Argzanova O, Prihoda, Vichrova L, Zagaydanova E, et al. Comparative effect of an immunomodulator Immunoxel (Dzherelo) when used alone or in combination with antiretroviral therapy in drug-naïve HIV infected individuals. *Int J Biotechnol* 2007;9:267—76.
- [14] Prihoda ND, Arjanova OV, Yurchenko LV, Sokolenko NI, Vihrova LA, Pylypchuk VS, et al. Open label trial of adjuvant immunotherapy with Dzherelo, Svitanok and Lizorm, in MDR-TB, XDR-TB and TB/HIV co-infected patients receiving anti-tuberculosis therapy under DOT. *J Med Plant Res* 2007;1:117—22.
- [15] Melnik VP, Panasyuk OV, Pylypchuk VS, Moshich OP, Prochenko NM, Leonenko OM. Deployment of herbal preparations Dzherelo and Svitanok for combination therapy of pulmonary tuberculosis. *Medical Institute of Ukrainian Association of People's Medicine. Information Bulletin of the Ministry of Health.* UDK:616.24-002.5-085-038:615.017. 1999, Kiev, Ukraine.
- [16] Zaitzeva SI. Clinical efficacy of phytopreparation Dzherelo and its influence on the functional status of liver in patients with destructive forms of tuberculosis. *Probl Ecol Med Gen Clin Immunol* 2006;71—72:132—40.

- [17] Rodrigues DS, Medeiros EA, Weckx LY, Bonnez W, Salomao R, Kallas EG. Immunophenotypic characterization of peripheral T lymphocytes in Mycobacterium tuberculosis infection and disease. *Clin Exp Immunol* 2002;128:149—54.
- [18] Uppal SS, Tewari SC, Verma S, Dhot PS. Comparison of CD4 and CD8 lymphocyte counts in HIV-negative pulmonary TB patients with those in normal blood donors and the effect of anti-tubercular treatment: hospital-based flow cytometric study. *Cytometry B Clin Cytom* 2004;61:20—6.
- [19] Kalou M, Sassan-Morokro M, Abouya L, Bile C, Maurice C, Maran M, et al. Changes in HIV RNA viral load, CD4+ T-cell counts, and levels of immune activation markers associated with anti-tuberculosis therapy and cotrimoxazole prophylaxis among HIV infected tuberculosis patients in Abidjan, Cote d'Ivoire. *J Med Virol* 2005;75:202—8.
- [20] Kizza HM, Rodriguez B, Quinones-Mateu M, Mirza M, Aung H, Yen-Lieberman B, et al. Persistent replication of human immunodeficiency virus type 1 despite treatment of pulmonary tuberculosis in dually infected subjects. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:1298—304.
- [21] Flores-Batista VC, Boechat N, Lago PM, Lazzarini LC, Pessanha LR, Almeida AS, et al. Low expression of antigen-presenting and costimulatory molecules by lung cells from tuberculosis patients. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:1671—9.
- [22] Bosio CM, Gardner D, Elkins KL. Infection of B cell-deficient mice with CDC 1551, a clinical isolate of Mycobacterium tuberculosis: delay in dissemination and development of lung pathology. *J Immunol* 2000;164:6417—25.
- [23] Simonney N, Chavanet P, Perronne C, Lepotier M, Revol F, Herrmann JL, et al. B-cell immune responses in HIV positive and HIV negative patients with tuberculosis evaluated with an ELISA using a glycolipid antigen. *Tuberculosis (Edinb)* 2007;87:109—22.
- [24] Onwubalili JK, Scott GM. Natural killer cell activity in tuberculosis. *Br J Dis Chest* 1985;79:67—76.
- [25] Ratcliffe LT, Lukey PT, MacKenzie CR, Ress SR. Reduced NK activity correlates with active disease in HIV-patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 1994;97:373—9.
- [26] Nirmala R, Narayanan PR, Mathew R, Maran M, Deivanayagam CN. Reduced NK activity in pulmonary tuberculosis patients with/without HIV infection: identifying the defective stage and studying the effect of interleukins on NK activity. *Tuberculosis (Edinb)* 2001;81:343—52.
- [27] Barcelos W, Martins-Filho OA, Guimarães TM, Oliveira MH, Spíndola-de-Miranda S, Carvalho BN, et al. Peripheral blood mononuclear cells immunophenotyping in pulmonary tuberculosis patients before and after treatment. *Microbiol Immunol* 2006;50:597—605.
- [28] Deveci F, Akbulut HH, Celik I, Muz MH, Ilhan F. Lymphocyte subpopulations in pulmonary tuberculosis patients. *Mediat Inflamm* 2006;2006(2):89070.
- [29] Tsuyuguchi I. Immunotherapy for MDR-TB (multi-drug resistant tuberculosis)—its feasibility. *Kekkaku* 1999;74:479—91.

[30] Pylypchuk VS. Clinical and experimental aspects rationalizing the need for immunotherapy in the treatment of patients with tuberculosis. *Probl Ecol Med Gen Clin Immunol* 2003;70:75—84.