

На правах рукописи

АЗОВЦЕВА Ольга Владимировна

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ
ЗНАЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУННОГО СТАТУСА И
АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ГЕРПЕС И ВИЧ-
ИНФЕКЦИЕЙ**

14.00.10 - инфекционные болезни

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Санкт-Петербург
2005**

Работа выполнена в Новгородском Государственном университете имени Ярослава
Мудрого институте медицинского образования

Научный руководитель -

кандидат медицинских наук доцент

АРХИПОВА Екатерина Ивановна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук профессор

ИВАНОВ Константин Сергеевич

доктор медицинских наук доцент

КУЗНЕЦОВ Николай Ильич

**Ведущее учреждение – ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова»**

Защита состоится 19 сентября 2005 года в 10 часов на заседании
диссертационного совета Д 215.002.01 в Военно-медицинской академии имени
С.М.Кирова (194044, Санкт-Петербург, ул. Лебедева, д.6).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Военно-
медицинской академии имени С.М.Кирова.

Автореферат разослан 24 июня 2005 года.

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

доктор медицинских наук профессор

ЛЯШЕНКО Юрий Иванович

2006-4
10373

2159193

ВЕДЕНИЕ

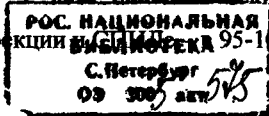
Актуальность темы исследования.

В настоящее время известно 8 антигенных серотипов вирусов герпеса. Герпесвирусы широко распространены в человеческой популяции, они способны поражать практически все органы и системы организма – хозяина, вызывая латентную, острую и хроническую формы инфекции (Лобзин Ю.В., 2003; Баринский И.Ф. и соавт. 1986; Рахманова А.Г., 1995). Особенно своё цитопатогенное действие они вызывают на фоне иммунодефицитных состояний.

Особая актуальность проблемы герпесвирусных инфекций связана с появлением больных СПИДом. Установлено, что вирусы герпеса могут активировать ВИЧ, находящийся в стадии провируса, и являются кофактором прогрессирования ВИЧ – инфекции и СПИДа (Баринский И. Ф., Шубладзе А. К. и соавт., 1986, Jacobson M. A., et al., 1990). В этой связи герпетическая инфекция является одним из важных СПИД индикаторных заболеваний.

Активация герпесвирусной инфекции у ВИЧ–инфицированных больных, помимо общего усиления репликации ВИЧ, происходит с повышенным выделением вирионов ВИЧ в местах герпетических кожных высыпаний, которые не всегда имеют характерный для герпеса вид (Schacker T., Ryncarz A.J, 1998; Mostad S.B., Kreiss J.K., 2000). Наиболее важно то, что при этом могут образовываться частицы смешанного фенотипа – вирионы ВИЧ, “одетые” в оболочку герпеса. Такие “закамуфлированные” частицы в отличие от обычных вирионов ВИЧ способны инфицировать различные типы клеток, включая эпителиальные клетки и фибробласты, давая при этом продуктивную ВИЧ-инфекцию, то есть, иначе говоря, становится возможным заражение ВИЧ через контакты с кожей и слизистой оболочкой (Calistri A. et al., 1999).

Доказано, что вирусами простого герпеса инфицировано 65-90% взрослого и детского населения планеты. Генитальный герпес также относится к наиболее часто встречающимся формам герпетической инфекции. В подавляющем большинстве случаев при генитальном герпесе инфекционным агентом является ВПГ-2, однако в 10-26% случаев генитальный герпес вызван ВПГ-1, что объясняют бытовым и оральногенитальным путем заражения. В 50% онкологических больных отмечена герпетическая инфекция, при ВИЧ – инфекции инфицированность 95-100% случаев. При



герпесе развиваются иммунодефицитные состояния, обусловленные недостаточностью различных звеньев иммунной системы и ее неспособностью элиминировать вирус из организма. Сохраняющиеся в течение всей жизни, иногда в довольно высоких титрах, вируснейтрализующие антитела хотя и препятствуют распространению, но не предупреждают возникновения рецидивов (Исаков В.А. и соавт., 2004).

Спектр клинических проявлений герпесвирусных инфекций отличается значительным разнообразием. Он зависит от локализации патологического процесса и его распространенности, состояний иммунной системы больного и антигенного типа вируса. Более тяжелое течение заболевания отмечается после первичного инфицирования, когда отсутствуют специфические антитела к вирусу герпеса, у детей раннего возраста с незрелой иммунной системой, при иммунодефицитных состояниях различного генеза, в том числе при СПИДе (Исаков В.А., Сельков С.А. и др., 2004; Пауашвили М.Н., Щелканов М.Ю., 2004; Рахманова А.Г., 2000). Так, клинические проявления инфекции, протекавшие ранее латентно, могут быть тяжелыми на фоне иммунодефицитных состояний, с тенденцией к генерализации и развитию осложнений, которые подчас определяют течение и исход основного заболевания, создавая угрозу для здоровья и жизни пациента.

Цель исследования.

Выявить клинко-патогенетическую и прогностическую значимость показателей иммунного статуса и содержания металлопротеидов у больных герпес и ВИЧ-инфекциями.

Задачи исследования.

1. Охарактеризовать клинические проявления у больных герпетической и ВИЧ-инфекциями и определить их частоту выявления;
2. Провести оценку иммунного статуса и содержания металлопротеидов как одного из показателей антиоксидантной системы у герпесвирусных больных и иммунного статуса у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ/СПИД-больных с герпетической инфекцией;

3. Определить патогенетическую и прогностическую значимость выявленных изменений в иммунологическом статусе у больных с герпетической и ВИЧ-инфекциями;
4. Определить патогенетическую и прогностическую значимость выявленных изменений металлопротеидов у больных герпетической инфекцией;
5. Оценить терапевтическую эффективность препарата “аллокин-альфа” при лечении больных герпетической инфекцией.

Научная новизна работы.

Комплексная оценка клинико-эпидемиологических и иммунологических параметров позволяет оценить активность инфекционного процесса и ведущую роль вирусов герпеса либо ВИЧ в прогрессировании основного заболевания.

При сочетанном течении герпетического заболевания на фоне ВИЧ-инфекции отмечаются более выраженные иммунологические изменения по большинству показателей иммунного статуса: снижение содержания CD3-клеток в 1,3 раза, CD4-клеток в 1,3 раза, IgA в 1,3 раза и фагоцитоза в 1,8 раза по сравнению с аналогичными показателями при отдельном течении данных инфекций.

Впервые изучены иммунологические показатели высокотехнологичным методом проточной цитометрии у больных герпесвирусной инфекцией и выявлены более значимые нарушения в иммунном статусе при исследовании данным методом. В частности, установлено достоверное снижение в 1,3 раза содержания не только CD3-, CD4-клеток, выявляемых общепринятыми методами, но и существенное снижение содержания апоптотических клеток, несущих CD95 в 3 раза; количества B1 и B2-лимфоцитов, несущих CD20+CD5+ и CD20+CD5- в 2 раза по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых лиц. Выявлено увеличение количества CD3+CD16&56-клеток, отвечающих за антителозависимую цитотоксичность в 2,1 раза; HLA-DR в 1,8 раза и CD25-клеток (несущих ИЛ-2), отвечающих за активацию и пролиферацию цитотоксических клеток в 2,9 раза по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых лиц.

Выявлена связь между тяжестью заболевания и количеством сопутствующей герпесвирусу бактериальной флоры. Чем тяжелее протекает герпесвирусная инфекция, тем в большем количестве выявляются различные виды бактерий в урогенитальной системе.

Выявленные повышения содержания церулоплазмينا (ЦП) и снижение уровней лактоферрина (ЛФ), трансферрина (ТФ) в сыворотке крови больных при обострении ГВИ указывают на тяжесть и остроту процесса, что предполагает их прогностическую значимость у больных герпесвирусной инфекцией.

Впервые проведена оценка терапевтической эффективности препарата аллокин-альфа у больных рецидивирующей герпетической инфекцией с учетом показателей иммунного статуса.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. При сочетанном течении герпесвирусной инфекции и ВИЧ/СПИД заболевании отмечаются более выраженные клинические проявления и изменения в показателях клеточного и гуморального иммунитета.
2. Использование высокотехнологичного метода проточной цитометрии для оценки иммунного статуса позволяет выявить больший спектр значимых изменений иммунологических показателей у больных герпесвирусной инфекцией.
3. Определение металлопротеидов как одного из показателей антиоксидантной системы при герпетической инфекции позволяет оценить тяжесть заболевания и активность инфекционного процесса. В период обострения при тяжелых формах ГВИ отмечаются более выраженные изменения в содержании металлопротеидов: снижение содержание ЛФ в 3,3 раза и повышение содержания ЦП в 1,4 раза по сравнению со значениями этих показателей в период ремиссии.
4. В оценке тяжести заболевания имеет также определенное значение наличие сопутствующей герпесвирусу бактериальной микрофлоры в урогенитальной системе.
5. Выявленное положительное влияние препарата аллокин-альфа на клиническую картину и на некоторые показатели иммунной системы, в частности CD 16 у

больных герпесвирусной инфекцией, что позволяет рекомендовать этот препарат в комплексной терапии этого заболевания.

Практическая ценность.

Выявленные разнонаправленные изменения показателей иммунной системы и содержания металлопротеидов, как одного из показателей антиоксидантной системы у больных ГВИ в период обострения и ремиссии позволяют оценить активность инфекционного процесса и прогнозировать тяжесть заболевания.

Выявленная положительная динамика изменений клинической симптоматики и иммунологических показателей при использовании аллокин-альфа в комплексном лечении ГВИ указывают на его терапевтическую эффективность.

Внедрение в практику.

Результаты диссертационных исследований внедрены в практику работы Городской инфекционной больницы и центра по борьбе и профилактики со СПИДом "Хелпер" Великого Новгорода. Материалы работы используются в учебном процессе на кафедре микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней (МИИБ) ИМО НовГУ.

Апробация диссертационного материала.

Материалы доложены на научно-практической конференции "Актуальные вопросы инфекционной патологии" на IX, X, XI и XII научно-практических конференциях сотрудников и студентов ИМО НовГУ им. Ярослава Мудрого (Великий Новгород 2002, 2003, 2004, 2005), на научно-практической конференции – Актуальные вопросы инфекционной патологии, посвященной 10-летию кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней ИМО НовГУ им. Ярослава Мудрого В.Новгород 2004г.

Публикации.

По теме диссертации опубликовано десять работ.

Объем работы.

Диссертация включает следующие разделы и главы: введения, обзора литературы, материалы и методы, три главы, посвященные результатам собственных клинических наблюдений и исследований, заключение, выводы и практические рекомендации, список литературы. Материал диссертации изложен на 156 страницах компьютерного набора, с учетом 40 таблиц и 32 рисунков, в том числе 6 гистограмм; список литературы включает 169 названий работ отечественных и зарубежных исследователей.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническое исследование и динамическое наблюдение проводили в условиях Новгородской городской инфекционной больницы. Лабораторную диагностику осуществляли в лабораториях Новгородской городской инфекционной больницы; Новгородского городского центра по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями “ХЕЛПЕР”; Новгородского областного центра онкологических заболеваний.

Исследования проводили в период с сентября 2003 года по май 2005 года. Под наблюдением находилось 187 больных, из них 52 больных с герпесвирусной инфекцией, 17 больных с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией получавших лечение препаратом аллокин-альфа, 68 ВИЧ-инфицированных, 50 больных с герпесвирусными инфекциями на фоне ВИЧ-инфицирования, а также контрольная группа из 24 практически здоровых людей, в возрасте 20-29 лет(табл. 1).

Таблица 1

Характеристика обследованного контингента

Группа обследованных больных	Число
Больные герпетической инфекцией	69
ВИЧ-инфицированные	68
Больные герпесвирусной инфекцией на фоне ВИЧ-инфицирования	50
Практически здоровые	24
Всего	211

У ВИЧ-инфицированных и больных герпесвирусными заболеваниями на фоне ВИЧ-инфицирования наряду с общепринятым набором общеклинических методов исследования проводили обследование на ИППП для определения частоты смешанных инфекций, с целью прогнозирования тяжести заболевания.

В группе больных с выявленной герпетической инфекцией, ГВИ на фоне ВИЧ-инфекции, в группе ВИЧ-инфицированных больных и в контрольной группе практически здоровых людей проводилось изучение показателей иммунного статуса с помощью набора стандартных методик. Расширенный спектр иммунологических показателей у больных герпесвирусной инфекцией оценивали методом проточной цитометрии.

В дополнение к клинико-иммунологическим исследованиям производили определение концентрации металлопротеидов сыворотки крови: ТФ, ЛФ, ЦП.

У 17 больных с часто рецидивирующей герпетической инфекцией, в комплекс лечебных мероприятий входило подкожное использование нового отечественного препарата "аллокин-альфа", представляющего собой синтетический линейный олигополипептид. Аллокин-альфа относится к индукторам синтеза интерферона, активирует систему естественных киллеров и обладает выраженной противовирусной активностью.

Перед назначением препарата (0 день) и после окончания лечения (7-8 день) больные проходили клиническое обследование, включающее медицинское освидетельствование с описанием дерматологического статуса, клинического анализа крови и мочи, биохимию крови. Антитела к ВПГ 1,2, ЦМВ, хламидиям, микоплазмам определяли иммуноферментным анализом (ИФА). Для определения антигенов ВПГ 1,2

и ЦМВ использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Определяли показатели иммунного статуса (методами проточной цитометрии, реакциями иммунофлюоресценции, определение иммуноглобулинов по Манчини).

Результаты оценивали по изменению длительности и тяжести рецидива герпесвирусной инфекции, а также по показателям иммунного статуса.

Отдаленные результаты лечения (3 месяца амбулаторного наблюдения) оценивали по изменению количества и тяжести рецидивов, длительности ремиссий.

Оценку итоговой эффективности препарата проводили по следующим критериям: “хороший эффект” – значительное улучшение клинических симптомов заболевания; “удовлетворительный эффект” – некоторое улучшение клинических симптомов заболевания; “негативный эффект” – отрицательная динамика клинических симптомов заболевания.

Для выявления герпетической инфекции были использованы методы иммуноферментного анализа с целью выявления специфических антигерпетических антител, ПЦР для обнаружения ДНК герпесвируса и метод определения avidности антител, как одного из методов подтверждения активности цитомегаловирусной инфекции.

Для этиологической диагностики ВИЧ инфекции использовали ИФА с целью выявления специфических антител к ВИЧ с последующим подтверждением их специфичности в реакции иммунного блоттинга (ИБ) – выявление антител к определенным белкам вируса.

Для этиологической диагностики прочих инфекционных патогенов (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum*, *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma parvum*) использовали ИФА.

Определение концентрации основных металлопротеидов: ЛФ, ЦП и ТФ проводилось с помощью иммуноферментного анализа.

Статистические методы исследования.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием персонального компьютера Pentium IV – 2,66 ГГц с операционной системой Windows 98 Home Editor SP2 в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики с использованием параметрических и непараметрических критериев (Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., 2000; Юнкеров В.И., 2000). Использовали определение числовых характеристик переменных - средней арифметической (M), средней ошибки выборки (m_x), определяли также достоверность различия (p), проверяемую по t критерию Стьюдента в репрезентативных выборках с использованием модуля непараметрической статистики (Киреев О.В., Кобзев А.С. и соавт., 1997; Боровиков В.П., 1998; Гланц С., 1999). Математическое обеспечение решения задач исследования проводили с использованием пакета прикладных программ "StatSoft Statistica", версия 6,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Наши исследования показали, что на территории Новгородской области за последние 5 лет сложилась неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по герпесвирусной инфекции, это проявляется ростом заболеваемости ветряной оспы, инфекционного мононуклеоза и опоясывающего лишая среди взрослых пациентов по сравнению с 2000 годом. Отмечается увеличение госпитализированных детей с заболеваниями, вызванными ВПГ и ВГЧ-4, в том числе, среди детей до года и значительное уменьшение частоты госпитализированных детей с ветряной оспой. Это указывает на перераспределение циркуляции герпес-вирусов среди взрослого и детского населения.

Исследованиями проводились выявления сопутствующих вирусу герпеса возбудителей, таких как *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealiticum*, *Candida albicans*. Установлено, что у больных с более тяжелым течением генитального герпеса чаще обнаруживались сопутствующие герпесвирусу возбудители. Так, при тяжелой форме заболевания

сопутствующие возбудители обнаруживались в 71,42% случаев, при среднетяжелом и латентном течении ГТ сопутствующие возбудители регистрировалась соответственно в 50% и 33,3% случаев. Выделение от больных меньшего количества сопутствующих возбудителей соответствовало менее тяжелому заболеванию. Три и более патогенов удавалось выделить только при тяжелом течении ГИ. Таким образом, определение частоты сопутствующих герпесу возбудителей имеет не только диагностическое, но и прогностическое значение в определении тяжести течения основного заболевания.

Так как в целом задачами исследования явилось изучение клинико-иммунологических показателей при ГВИ, в том числе на фоне ВИЧ/СПИД заболеваний, поэтому нами проанализирована эпидемиологическая ситуация и по ВИЧ-инфекции. На территории Новгородской области сложилась неблагоприятная эпидемиологическая ситуация, связанная с ростом кумулятивного числа ВИЧ-инфицированных, увеличением числа инфицированности женщин, молодой возрастной группы, нарастанием частоты полового пути передачи и появлением вертикального пути инфицирования.

В представленной работе проведен сравнительный анализ клинической симптоматики и частоты сопутствующих заболеваний у больных в различных наблюдаемых группах, в том числе при герпесвирусной инфекции (ГВИ) в сочетании с ВИЧ/СПИД инфекцией и отдельно при ВИЧ/СПИД. При этом установлено, что при наличии клинических проявлений герпетической инфекции у ВИЧ-инфицированных и СПИД-больных отмечаются более выраженная симптоматика, как герпесвирусной инфекции, так и ВИЧ/СПИД заболевания. В обеих группах с одинаковой частотой (примерно 25-30%) выявляются гемоконтактные гепатиты, но у ВИЧ-инфицированных с проявлениями герпесвирусной инфекции чаще выявлялись урогенитальные инфекции в 74,96% случаев, когда как в группе ВИЧ-инфицированных сопутствующая урогенитальная патология отмечалась только в 5,9% случаев.

В работе были изучены показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных ГВИ, её сочетанного течения с ВИЧ/СПИД, а также отдельно при ВИЧ/СПИД.

При анализе показателей иммунограммы у больных герпетической инфекцией установлено, что содержание большинства клеток достоверно снижено: лейкоцитов на 21%, лимфоцитов на 32,6%, CD3-клеток на 37,1%, CD4-клеток на 40,5%, CD8-клеток на 28,6% по сравнению с их содержанием у практически здоровых лиц. Количество других лимфоцитов, например, CD16 клеток, выполняющих преимущественно киллерную функцию, достоверно не отличается от аналогичных показателей здоровых лиц ($287 \pm 20,2$, а в норме $355,9 \pm 46,2$). Известно, что натуральным киллерам в основном отводится роль в противоопухолевой защите, а при вирусных инфекциях, в частности, при ГВИ данная субпопуляция клеток имеет определенное значение лишь на начальном этапе развития заболевания (Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. и др., 1995). В динамике развития инфекционного процесса при ГВИ, вероятно, более значительную роль играют другие клетки иммунной системы. Нашими исследованиями установлено достоверное снижение иммунорегуляторного индекса на 22,7% и снижение показателей фагоцитоза с латексом на 26,2% по сравнению с их содержанием у практически здоровых лиц.

Показатели гуморального иммунитета изменяются в меньшей степени. У больных ГВИ отмечено лишь увеличение содержания IgA в 1,5 раза по сравнению с его содержанием у практически здоровых лиц, который является секреторным и в определенной степени обеспечивает местный, на уровне слизистых оболочек, иммунитет. Полученные нами данные по изучению IgA при ГВИ не противоречат данным других авторов (Исаков В.А. и др., 1999).

В присутствии вируса герпеса в организме замедляется элиминация ЦИК. Объяснение этого факта многие ученые связывают с недостаточной функцией иммунокомпетентных клеток, комплемента и цитокинов (Исаков В.А., Архипов Г.С. и др., 1999, Пригожина В. К. и соавт., 1990). Действительно, нашими исследованиями установлено понижение элиминации ЦИК на 31,5% по сравнению с аналогичным показателем у практически здоровых лиц, что может явиться одним из факторов накопления иммунных комплексов в организме.

В методе проточной цитометрии у больных ГВИ дополнительно выявлено: снижение содержания Т-лимфоцитов, несущих иммунофенотип CD5 в 1,25 раза и

снижение содержания В1- и В2-лимфоцитов, несущих соответственно иммунофенотипы CD20+CD5+ и CD20+CD5- в 2,2 раза, отвечающих за синтез антител, что может способствовать низкому накоплению противогерпетических антител. Возможно, персистенция вирусных антигенов является следствием выше указанных факторов. Содержание натуральных киллеров (НК-клетки) с высоким цитотоксическим потенциалом, несущих только CD8, при отсутствии CD3, достоверно не отличается от нормальных показателей, хотя имеет тенденцию к снижению ($288,8 \pm 43,5$, а у здоровых лиц $344 \pm 84,6$). Количество Т-клеток антителозависимой цитотоксичности, несущих иммунофенотип CD3+ CD16+ CD56+, при ГВИ выше по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых лиц в 1,1 раза. Наряду с понижением содержания многих CD-клеток, исследованиями выявлено еще снижение числа активизированных Т-лимфоцитов в 3 раза, несущих апоптотический маркер CD95 среди CD3 по сравнению с нормой. Это свидетельствует о преждевременной гибели иммунокомпетентных клеток и, прежде всего, Т-лимфоцитов, участвующих в противовирусной защите. Возможно, вирус герпеса обладает способностью индуцировать гены апоптоза Т-лимфоцитов, тем самым, обеспечивая самосохранность в организме.

При изучении содержания Т-лимфоцитов, несущих ИЛ-2 рецепторы, иммунофенотипа CD25+, у больных с ГВИ достоверно выявлено увеличение числа этих клеток в 3,2 раза при сравнении с нормой. Эти клетки отвечают за активацию и пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов и их количественное изменение может оказывать влияние на цитотоксичность. Действительно, в наших исследованиях содержание CD8-клеток, отвечающих за цитотоксичность, имеют тенденцию к увеличению. Несмотря на увеличение содержания указанных фенотипов, функционально они не обеспечивают цитотоксичность, что, вероятно, связано с более быстрой их гибелью. Исследованиями установлено снижение апоптотических иммунофенотипов CD95 среди Т-лимфоцитов, что косвенно свидетельствует о гибели CD8-клеток, так как они являются одной из субпопуляций общих Т-лимфоцитов.

Исследованиями выявлено достоверное снижение CD20-клеток, отвечающих за гуморальное звено иммунитета, что также может влиять на нейтрализацию вируса меньшим количеством антител, что, в определенной степени, создает условия для накопления и персистенции вируса в организме.

Указанным методом проточной цитометрии и с помощью моноклональных антител выявлено достоверное снижение иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 в 2,4 раза по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых людей, что подтверждает наличие иммунодепрессии в организме при ГВИ. Известно, что при большинстве высококонтагиозных вирусных инфекциях, включая ВИЧ/СПИД, отмечается снижение иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, поэтому косвенно можно предполагать о высокой контагиозности герпесвирусов.

Следовательно, результаты, полученные методом проточной цитометрии, расширяют спектр оценки иммунного статуса и позволяют на более глубоком уровне выявлять функционирование иммунной системы, в частности при ГВИ дополнительно установлено снижение в 3 раза содержания клеток, несущих апоптотический маркер CD95 и увеличение содержания CD25-клеток в 3,2 раза, отвечающих за пролиферацию клеток.

Совокупность вызванных нарушений в иммунном статусе может приводить к персистенции вирусов герпеса в организме и рецидивирующему течению. Учитывая все вышесказанное, в комплексную терапию герпесвирусной инфекции необходимо включать не только иммуномодуляторы клеточного звена иммунитета, но и препараты, влияющие на активацию гуморального звена иммунитета.

Таким образом, проведенные клинические исследования по изучению иммунного статуса у больных герпетической инфекцией, ВИЧ/СПИД инфекцией и при их сочетанном течении выявили достоверные изменения основных показателей клеточного иммунитета, особенно CD4 фенотипа лимфоцитов при ГВИ и, в большей степени, при сочетанном течении этих двух заболеваний. Отмечается увеличение содержания ЦИК как при ГВИ, так и при ВИЧ инфекции и, особенно, при их сочетанном течении. Выявленные изменения в иммунном статусе разной степени выраженности у больных в различных группах наблюдений могут служить

дополнительным критерием оценки тяжести, течения и прогноза заболеваний. Так, при сочетанном течении герпесвирусной инфекции и ВИЧ/СПИД заболевании отмечаются более выраженные клинические проявления и изменения в показателях клеточного и гуморального иммунитета: снижение содержания CD3-клеток в 1,2 раза, CD4-клеток в 1,3 раза, снижение уровня IgA в 1,3 раза в сравнении с аналогичными показателями при раздельном течении данных инфекций.

При изучении содержания металлопротеидов, как одного из показателей антиоксидантной системы у больных ГВИ установлено, что в период обострения заболевания происходит повышение концентрации ЦП на 36,9% и снижение содержания ТФ на 10,5%, ЛФ на 67,96% в сыворотке крови больного. Основные металлопротеиды обладают не только антиоксидантными свойствами, но являются важными компонентами системы неспецифической резистентности, обеспечивая устойчивость организма к вирусным инфекциям.

Следовательно, определение концентрации металлопротеидов в сыворотке крови больных с ГВИ имеет не только диагностическое, но, что очень важно, и прогностическое значение в определении активности инфекционного процесса основного заболевания.

В период рецидива отмечено повышение антиоксидантного потенциала сыворотки крови (повышение содержания ЦП в 2,4 раза и снижение уровней ЛФ в 3,1 раза, ТФ в 1,1 раз). Повышение концентрации ЦП происходит вследствие активного выделения биологически активных веществ в ответ на повреждающее действие ГВ, что усиливает синтез печенью “белков острой фазы” воспаления. Увеличение концентрации ЦП обусловлено способностью медьоксидазы инактивировать свободные радикалы, в избытке имеющиеся в очаге воспаления. Кроме того, большее количество ЦП способствует усилению продукции антител, улучшает выработку ИЛ-1 активированными макрофагами, повышает пролиферацию цитотоксических Т-клеток в том числе цитотоксических лимфоцитов. Тогда как повышение уровня ЛФ в сыворотке крови больных можно рассматривать как АОЗ и благоприятный прогностический признак.

Напряжение в функционировании АОС защиты организма сохраняется и в периоде ремиссии, что обусловлено необходимостью инактивации повышенных концентраций активных форм кислорода.

Установленное нашими исследованиями изменения в иммунном статусе и содержании металлопротеидов, как одного из показателей АОС при ГВИ и наиболее выраженных изменений этих показателей при сочетании ГВИ с ВИЧ/СПИД-заболеванием позволило нам провести изучение нового иммунокорректора (препарата аллокин-альфа), одновременно обладающим противовирусной активностью. В настоящее время для лечения ГВИ разработано и применяется большое количество препаратов, общим недостатком которых является отсутствие клинической излеченности. Эффект противовирусной терапии носит, как правило, кратковременный характер. Основная масса противогерпетических средств наиболее активна при остром течении и мало влияет на продолжительность ремиссии. Часто при отмене препаратов рецидивы повторяются с прежней частотой. Еще одной важной проблемой является появление резистентных штаммов (в том числе исходно резистентных) к базисной противовирусной терапии, в частности к ацикловиру, что представляет серьезную проблему при лечении данной патологии и может непосредственно повлиять на течение и исход самого заболевания. Это обстоятельство заставляет активно разрабатывать новые подходы комплексной терапии рецидивирующей ГВИ.

Таким препаратом в настоящее время является аллокин-альфа.

В испытываемую группу были включены 17 пациентов, которые в течение 1 недели с интервалом в один день получали 3 подкожные инъекции аллокин-альфа в дозе 1 мг.

В группу клинического контроля было включено 15 пациентов, которые получали базовую терапию в течение недели (ежедневный прием ацикловира по 200 мг 5 раз в сутки).

Ближайшие результаты лечения оценивали по изменению длительности и тяжести рецидива герпетической инфекции. Для оценки длительности рецидива использовалось время достижения полной реэпителизации, измеряемое в днях. Дополнительно оценивали показатели иммунного статуса.

Отдаленные результаты лечения оценивали по течению заболевания в течение 3-х месяцев амбулаторного наблюдения, а именно: по количеству последующих рецидивов за наблюдаемый период, по тяжести течения последующих рецидивов (баллы), по длительности ремиссий (дни).

Проведенное исследование применения препарата аллокин-альфа для лечения больных с рецидивирующими ГВИ показало эффективность аллокин-альфа – 1,0 мг. Трехкратное введение аллокин-альфа приводило к статистически значимому снижению продолжительности рецидива, снижению его тяжести, статистически значимому снижению продолжительности и тяжести следующего рецидива, уменьшению частоты последующих рецидивов.

Терапия препаратом вызывала значимое повышение функциональной активности естественных киллеров.

Аллокин-альфа был удобен в применении и хорошо переносился больными, не оказывал гепато-нефротоксического действия и токсического действия на кроветворные органы.

Следовательно, препарат аллокин-альфа может быть рекомендован для широко практического применения как препарат выбора в комплексной терапии рецидивирующих ГВИ.

ВЫВОДЫ

1. Герпетическая инфекция до сих пор остается широко распространенным заболеванием, что подтверждается девятикратным увеличением числа госпитализаций среди взрослого населения, по сравнению с 2000 годом. Отмечается увеличение госпитализированных детей с заболеваниями, вызванными ВПГ и ВГЧ-4, в том числе, среди детей до года и значительное уменьшение частоты госпитализированных детей с ветряной оспой, что указывает на перераспределение циркуляции герпес-вирусов среди взрослого и детского населения.
2. У большинства больных ГВИ отмечаются существенные изменения, как в клеточном, так и в гуморальном звене иммунитета. Отмечается достоверное

снижение количественного содержания CD3-клеток в 1,6 раза, CD4-клеток в 1,7 раза по сравнению с показателями здоровых лиц. Увеличение содержания секреторного IgA в 1,5 раза, ациркулирующих иммунных комплексов в 1,3 раза. Наиболее выраженные нарушения в иммунном статусе выявлены у больных ГВИ на фоне ВИЧ/СПИД-заболевания, что может являться одним из критериев оценки активности инфекционного процесса и прогноза заболевания.

3. Изучение иммунологических показателей высокотехнологичным методом проточной цитометрии выявило более глубокие нарушения в иммунном статусе у большинства больных ГВИ. Установлено достоверное снижение содержания не только CD3-клеток на 37,4%, CD4-клеток на 40,7%, выявляемых общепринятыми методами, но и количества CD95-клеток в 3 раза, количества V1 и V2-лимфоцитов, несущих CD20+CD5+ и CD20+CD5-иммунофенотипы в 2 раза. Выявлено существенное увеличение содержания CD3+CD16&56-клеток в 2,1 раза, отвечающих за антителозависимую цитотоксичность; HLA-DR в 1,8 раз и CD25-клеток (несущих ИЛ-2), отвечающих за активацию и пролиферацию цитотоксических клеток в 3,2 раза по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц.
4. При герпетической инфекции выявлены изменения показателей металлопротеидов: повышение концентрации ЦП на 36,9% и снижение содержания ТФ на 10,5%, ЛФ на 67,96% в сыворотке крови больных.
5. Наличие сопутствующей бактериальной флоры у больных герпесвирусной инфекцией утяжеляет течение заболевания. При тяжелой форме ГВИ 2 и более возбудителей выявлялось у 42,8% больных, а при легкой форме ГВИ только у третьей части больных выявлялось не более 1 возбудителя.
6. Выявленное положительное влияние аллокин-альфа на клиническое течение и иммунологический статус у наблюдающихся больных позволяет рекомендовать этот препарат в комплексной терапии герпетической инфекции.

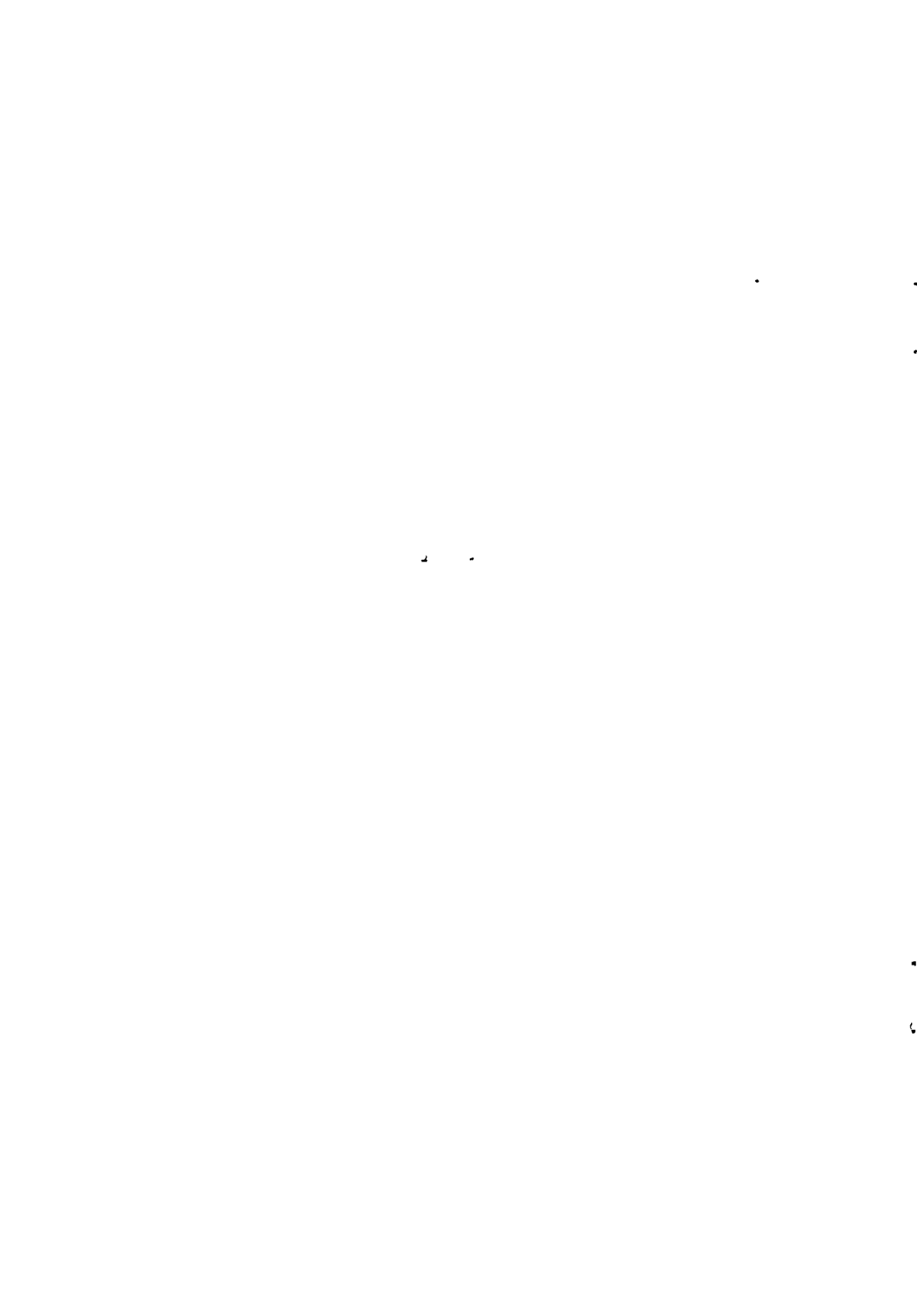
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

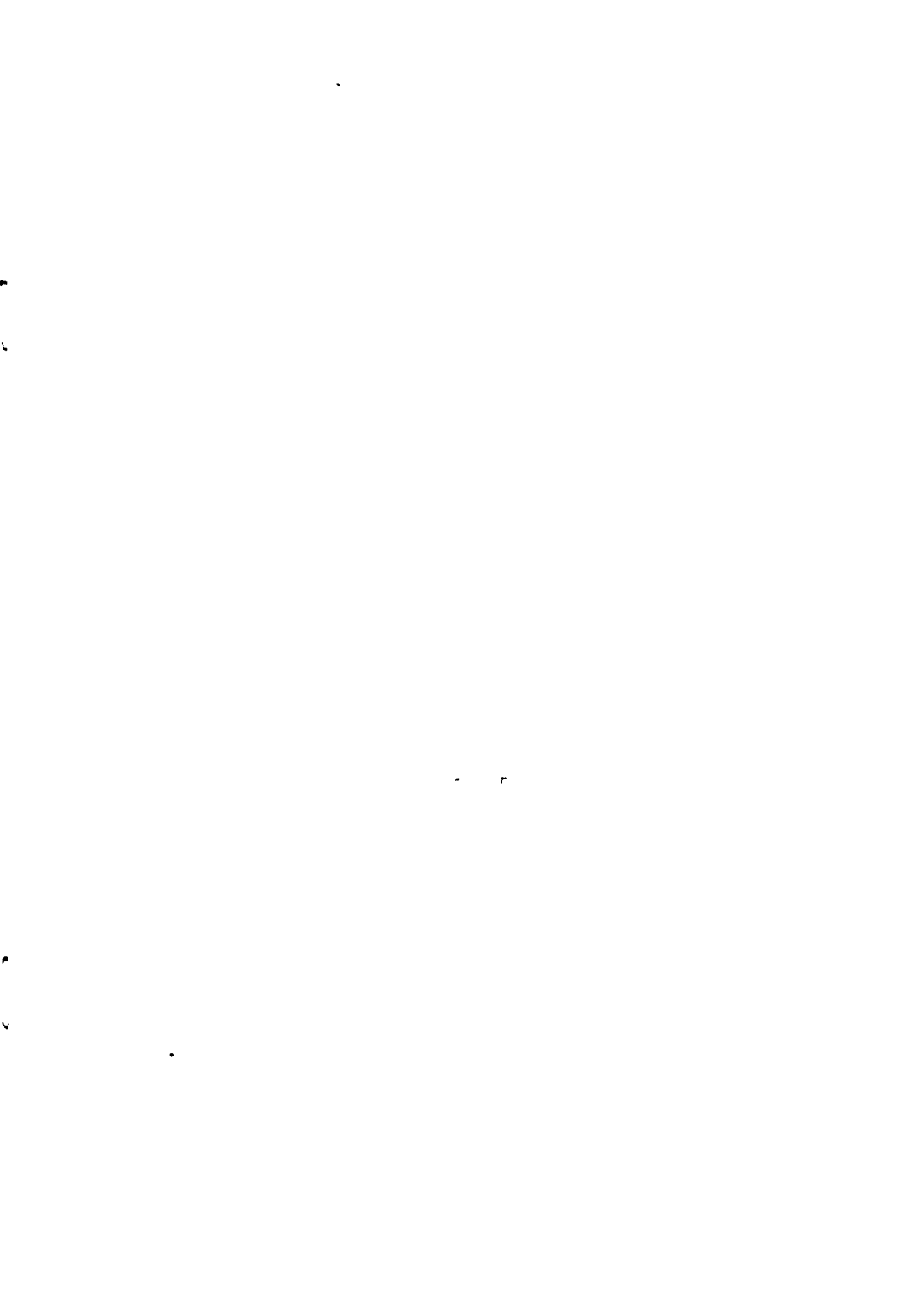
1. Выявленные разнонаправленные изменения в иммунном статусе в динамике ВИЧ/СПИД- и герпес-инфекции позволяют рекомендовать проведение оценки иммунного статуса в обследовании больных. Причем у больных ВИЧ/СПИД-инфекцией достаточно определения количественного содержания CD3-, CD4-клеток для оценки активности и тяжести заболевания. У больных ГВИ необходимо проводить дополнительные обследования методом проточной цитометрии. Данный метод позволяет за счет большого спектра иммунофенотипирования и более выраженных индивидуальных изменений в показателях иммунного статуса, оценить глубину изменений количественного содержания CD3-, CD4-, CD95-, CD25-, CD20-, CD5-клеток, а также их сочетания, что позволит оценить активность инфекционного процесса и послужит основанием для рекомендации выбора эффективной персонализированной противовирусной и иммунокорректирующей терапии.
2. Выявленное увеличение содержания ЦП и снижение уровней ЛФ, ТФ в сыворотке крови при обострении ГВИ позволяют дополнительно рекомендовать определение содержания металлопротеидов для оценки активности инфекционного процесса, тяжести и прогноза заболевания.
3. Выявленное положительное влияние аллокин-альфа на динамику клинической картины и иммунологические показатели позволяет рекомендовать данный препарат для комплексного лечения больных герпетической инфекцией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Азовцева О.В., Архипова Е.И. Эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции у населения Новгородской области // Актуальные проблемы современной медицины. В.Новгород, 2002г., Т.4, С.28-31.

2. Архипов Г.С., Пуговкин А.И., Архипова Е.И., Азовцева О.В., Стуколкин К.О., Егорова Т.Г. Клинико-эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции у населения Новгородской области // Русский журнал ВИЧ/СПИД и родственные проблемы, СПб, 2002г., Т.6, № 1, С.78.
3. Азовцева О.В., Ткаченко Т.Н., Архипова Е.И. Динамика заболеваний и клинико-эпидемиологическая характеристика ВИЧ/СПИД-инфекций в Новгородской области // Актуальные проблемы современной медицины. В.Новгород, 2003г., Т.5, Ч.1, С.91-94.
4. Ткаченко Т.Н., Азовцева О.В., Бриллиантова Н.А. Половозрастные характеристики ВИЧ-инфицированных // Актуальные проблемы современной медицины. В.Новгород, 2004г., Т.6, С.106-107.
5. Азовцева О.В., Исаков В.А., Архипова Е.И., Кокшарова Е.П. Клиническая характеристика герпеса у ВИЧ-инфицированных больных // Актуальные вопросы инфекционной патологии. Научно-практическая конференция, посвященная 10-летию кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней ИМО, НовГУ, 2004г. С.77-83.
6. Азовцева О.В., Исаков В.А., Архипова Е.И., Ермоленко Д.К. Случай течения псевдотуберкулеза в сочетании с герпесом // -там же. С.83-88.
7. Азовцева О.В., Исаков В.А., Каболова И.В., Ермоленко Д.К. Особенности герпетической инфекции у больных гриппом и ОРЗ // -там же. С.88-92.
8. Волков А.В., Азовцева О.В., Чеботкевич В.Н. Ассоциированные Герпесвирусные инфекции у иммунодепрессивных онкогематологических больных // -там же. С.96-100.
9. Пуговкин А.И., Ткаченко Т.Н., Бриллиантова Н.А., Азовцева О.В. Организация противоэпидемических мероприятий по профилактике ВИЧ/СПИД-инфекции // -там же. С.180-187.
10. Исаков В.А., Архипова Е.И., Азовцева О.В., Лейвак О.В., Шачнева М.П. Использование панавира в терапии вирусных инфекций // -там же. С.187-190.





№ 14370

РНБ Русский фонд

2006-4

10373