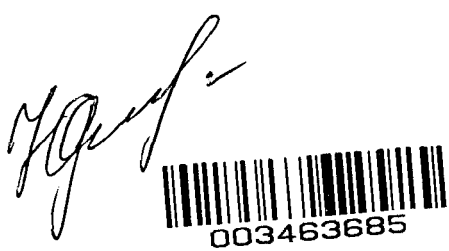
На правах рукописи

Юдинцева Елена Вячеславовна

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ИММУНОАКТИВНАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

14.00.10 – инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук



Санкт-Петербург – 2009

Работа выполнена в ГОУ ВПО Ульяновский государственный университет

Научный руководитель:
доктор медицинских наук Киселева Любовь Михайловна

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук профессор Исаков Валерий Александрович
доктор медицинских наук профессор Белозеров Евгений Степанович

Ведущая организация: ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

Защита диссертации состоится « 17 » марта 2009 года в 13 часов 15 мин. на заседании диссертационного совета Д 208.090.02 при ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» в НИИ пульмонологии (197089, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д.12).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова по адресу: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8

Автореферат разослан «14» февраля 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор Альберт Леонидович Александров

Актуальность проблемы. В настоящее время вирусные болезни остаются одной из самых актуальных медицинских и социально-экономических проблем (Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В., 2006; Лобзин Ю.В., 2006; Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И., 2007; Ющук Н.Д., Вегеперов Ю.Я., 2009). Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) представляет серьезную проблему в связи с широким распространением природных очагов, тяжестью развивающихся в ходе инфекционного процесса осложнений, продолжительными сроками временной нетрудоспособности и длительно сохраняющимися полиорганными расстройствами у реконвалесцентов, отсутствием эффективных средств этиотропной терапии и специфической профилактики (Онищенко Г.Г., 2000; Сиротин Б.З.,2005). В настоящее время ГЛПС стоит в ряду наиболее распространенных природноочаговых инфекций в мире. Российская Федерация занимает второе место после Китая по количеству регистрируемых случаев ГЛПС (Сиротин Б.З., Жарский С.Л., Ткаченко Е.А., 2002). На Европейскую территорию приходится 97 % всех заболевших ГЛПС в РФ (Морозов В.Г., 2001), наиболее активные очаги инфекции находятся в Приволжском федеральном округе, в том числе и в Ульяновской области, где заболеваемость всегда держится на высоком уровне, а в отдельные годы превышает показатели по Российской Федерации (Рощупкин В.И., Суздальцев А.Ю, 1990; Алексеев А.И. и др., 1998; Ткаченко Е.А., Дроздов С.Г., 2002; Мурзабаева Р.Т., 2003; Нафеев А.А., Меркулов А.В., Куранов Г.Д., 2005; Golubovic S., Glidic A., Surtan S.et al. 2004; Khaiboullina S., 2004).

Несмотря на многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов (Мавзютова Г.А., Фазлыева Р.М., Габдрафикова Р.Д., 2002; Малеев В.В., 2002; Морозов В.Г., 2003; Мурзабаева Р.Т., 2003; Lee H.W., 2003; Kukkonen S. et al., 2004), посвященные вопросам патогенеза, разработке методов диагностики, лечения и профилактике хантавирусной инфекции, крайне мало проведено исследований по комплексному изучению иммунологического реагирования при различных клинических формах болезни. В динамике инфекционного процесса имеет место развитие в той или иной степени выраженности дисбаланса системы цитокинов, регулирующих каскад воспалительных, иммунных, метаболических процессов, в свою очередь, определяющих форму, степень тяжести и исход заболевания (Иванис В.А., 2005; Перевертень Л.Ю., 2005; Avsic-ZupancT., Wraber B., Petrovec M. Et al., 2001; Klindström J. Plyusnin A., VaheryA.et al., 2002).

Лечение больных ГЛПС является крайне сложной задачей, что связано с разнообразием патофизиологических синдромов, развитие которых зависит от иммунного повреждения, вовлечения в инфекционный процесс сосудистого эндотелия, повышения сосудистой проницаемости и плазмореи, что в конечном итоге ведет к полиорганной недостаточности (Морозов В.Г., 2003; Мурзабаева Р.Т., 2003; Сиротин Б.З., 2005; Lee H.W., 2003). На сегодняшний день иммунотерапия рекомбинантными цитокинами является одним из наиболее перспективных и постоянно расширяющихся направлений иммунофармакологии (Козлов В.К., 2002; Степанов А.В., Добрынин В.М., Цикаришвили Г.В. и др., 2005). Иммуноопосредованность хантавирусной инфекции предполагает включение в комплекс лечения иммуноориентированных препаратов – рекомбинантного интерлейкина-2, который широко используется в лечении различных инфекций (Попович М.А., 2004; Сима-

кова А.И., Мавдракова Н.В., Маркелова Е.В., 2004; Егорова В.Н., Бабаченко И.В., Дегтярева М.В. и др., 2008). Нерешенными также до сих пор остаются весьма важные для клиницистов вопросы о целесообразности назначения глюкокортикостероидов при неосложненных формах ГЛПС (Рощупкин В.И., Суздальцев А.А., Беспалов Е.П., 1990; Иванис В.А., 2004; Сиротин Б.З., 2005; Образцов Ю.Г., 2005).

Ограниченные финансовые ресурсы системы здравоохранения, большое количество новых дорогостоящих медицинских технологий, лекарственных препаратов диктуют необходимость строго обоснованного подхода к объему проводимых обследований и выбору медикаментозной терапии, что определило актуальность данного исследования.

Цель работы: Оценить значимость иммунологических нарушений в патогенезе и оптимизация терапии больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом.

Задачи исследования

1. Изучить особенности современных клинико-эпидемиологических данных геморрагической лихорадки с почечным синдромом в эндемичном регионе.
2. Исследовать состояние показателей иммунитета (клеточного, гуморального, цитокинового статуса) у больных с различными клиническими формами геморрагической лихорадкой с почечным синдромом.
3. Оценить эффективность иммуномодулирующей терапии у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Использование карт с компьютерным интенрфейсом позволяет установить зоны различной степени риска заражения хантавирусной инфекцией, степень иммунной прослойки населения и ожидаемую заболеваемость. Клиническая картина ГЛПС у наблюдаемых больных представляет типичный симптомокомплекс инфекции, частота, продолжительность, интенсивность симптомов были отчетливо связаны с формой тяжести. Преобладали легкие и среднетяжелые формы болезни, с отсутствием цикличности у одной трети больных, с редким развитием осложнений и благоприятными исходами.
2. Результаты исследования позволяют заключить, что степень функциональной активности иммунитета при различных вариантах течения ГЛПС определяется не абсолютными значениями отдельных показателей, а динамическим равновесием всех регуляторных систем, участвующих в этом процессе (клеточное, гуморальное звенья иммунитета, цитокины).
3. Нарушение цитокиновой регуляции и дезорганизации иммунной системы у больных ГЛПС определяют показания для включения в комплекс терапии иммунотропных средств. Рекомбинантный интерлейкин-2 (Ронколейкин®) в комплексной терапии ГЛПС способствует стабилизации клинических проявлений заболевания, регрессии лабораторных показателей ОПН, что влияет на исходы болезни.

Научная новизна работы

Впервые на репрезентативном, лабораторно подтвержденном материале изучены закономерности распространения хантавирусной инфекции, выявлена прямая корреляционная связь между уровнем естественного иммунитета и заболеваемостью ГЛПС в конкретном регионе, показаны особенности клинического течения и исходы болезни.

Иммунитет, цитокиновые реакции, включая систему интерферона, составляют единую клеточно-гуморальную защиту от хантавирусной инфекции, выявленные изменения иммунологического статуса, раскрывающие патогенетические механизмы болезни, показали возможности и перспективы положительного использования рекомбинантного интерлейкина-2, влияющего на клинико-лабораторные проявления ОПН в течении ГЛПС.

Практическая значимость работы

Определение цитокинового спектра при ГЛПС имеет важное прогностическое значение, поскольку позволяет судить об интенсивности воспалительных, иммунных, метаболических процессов, активности заболевания, его прогрессировании, прогнозе, а также эффективности проводимой терапии.

Показано, что включение в патогенетическую терапию ГЛПС рекомбинантного интерлейкина-2 – Ронколейкина® позволяет уменьшить выраженность клинических и лабораторных проявлений ОПН у больных ГЛПС. При легких, среднетяжелых и неосложненных формах ГЛПС следует минимизировать активную лекарственную терапию, особенно глюкокортикостероиды.

Внедрение

Результаты исследования внедрены в практику работы инфекционных отделений Центральной городской клинической больницы и детской инфекционной больницы г.Ульяновска. Материалы работы используются в учебном процессе на кафедрах терапевтического профиля, кафедре инфекционных и кожно-венерических болезней и в системе последипломного образования врачей Института медицины, экологии и физической культуры Ульяновского государственного университета. Результаты работы изложены в методических рекомендациях «Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: основные вопросы патогенеза и терапии» (Ульяновск, 2009).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе, 1 в рецензируемых журналах ВАК.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены на заседаниях Ульяновского областного научного медицинского общества инфекционистов, проводимых ежегодно (2001-2003); на ежегодной научно-практической конференции врачей Ульяновской области 2001; на V Всероссийской конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии и современные методы лечения», г.Пенза,

2001; на V International Conference of HFRS, HPS and Hantaviruses, France, 2001; на международной конференции «Цитокины, воспаление, иммунитет» (Санкт-Петербург, 2002); на VI Российском съезде врачей инфекционистов (Санкт-Петербург, 2003); на XXXXIII межрегиональной научно-практической конференции врачей Ульяновской области «Год семьи. Механизмы развития приоритетного национального проекта и демографической политики системы здравоохранения» (Ульяновск,2008).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 152 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, библиографического списка используемой литературы, включающего 214 источников. Работа иллюстрирована 20 рисунками и 27 таблицами.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на кафедре инфекционных и кожно-венерических болезней Ульяновского государственного университета на базе инфекционных отделений центральной городской клинической больницы г. Ульяновска, являющихся клинической базой кафедры. Для изучения эпидемиологической ситуации по заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом были проанализированы материалы Федерального Государственного учреждения Здравоохранения Центра гигиены и эпидемиологии по Ульяновской области за 12 лет (1995-2007 г.г.).

Верификация диагноза ГЛПС основывалась на клинико-эпидемиологических данных, а также определении антител к хантавирусам ГЛПС в соответствии с МУ МЗ СССР от 1982 г. «Эпидемиология и профилактика ГЛПС» и СП 3.1.099-96 «Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом». При анализе использованы материалы Федерального государственного учреждения «Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора в Ульяновской области», сотрудниками которого с целью выявления у переболевших специфических антител к хантавирусам ГЛПС были исследованы сыворотки крови больных (n=4741) с клиническими диагнозами, не исключающими ГЛПС, используя «культуральный поливалентный диагностикум ГЛПС для НМФА» производства ГУП Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН (г. Москва).

Для установления напряжённости и структуры естественного иммунитета у лиц с повышенным риском заражения («группа риска») на присутствие в крови специфических антител к хантавирусам ГЛПС использовали данные, полученные сотрудниками Федерального государственного учреждения «Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора в Ульяновской области», которые этим же методом исследовали 2739 сывороток крови здорового населения 21 района области и г. Ульяновска.

При выполнении работы использовали картографический метод обработки информации, так как он при организации мониторинга способствует установлению причинно-следственных связей. Были оформлены контурные карты с территори-

альным делением Ульяновской области. Материал для картографирования подготовлен на основе официальных отчётных данных, представленных из районов области, а также проведенных нами эпидемиологических и эпизоотологических исследований. Изучены годовые отчётные данные по инфекционным заболеваниям по Ульяновской области, имеющиеся в ФГУ «ЦГСЭН в Ульяновской области». Для группировки территорий по величине уровней заболеваемости применялась качественная градация показателей заболеваемости, а именно уровни: низкий, ниже среднего, средний, выше среднего, высокий, которые рассчитывались с помощью методики сигмальной оценки.

В диссертационной работе, проводившейся с 1999 по 2005 гг. анализу подверглись 148 больных ГЛПС, находившихся на стационарном лечении в инфекционном отделении ЦГКБ. Оценка степени тяжести проводилась с учетом клинико-лабораторных критериев. Больные тяжелой формой составили 55 человек (37,41 %), средне-тяжелой – 71 (47,62 %), легкой - 22 (14,97 %). По возрастному составу лица наиболее трудоспособного возраста от 20 до 49 лет, которые составили 81,08 %. Среди обследованных пациентов мужчин было 87,84 % (130 человек), женщин -12,16 % (18 человек).

Эффективность лечения оценивали у 37 пациентов, получавших традиционную базисную терапию без преднизолона, группу сравнения составили 45 человек на базе терапии в сочетании с преднизолоном (внутривенно в дозах от 30 до 120 мг/сут). 18 больных получали Ронколейкин® (внутривенно капельно по 250 тыс. МЕ в течение 5 дней). Результаты лечения сравнивали с 16 пациентами, не получавшими препарат (использовался двойной слепой метод). Больные в сравниваемых группах были сопоставимы по полу, возрасту и степени тяжести болезни. Критериями оценки эффективности терапии были выбраны длительность стационарного лечения больных, продолжительность отдельных периодов болезни, степень выраженности и быстрота регрессии основных клинических симптомов, уровень и длительность азотемии, минимальный уровень диуреза в олигурию и максимальный в полиурический период болезни.

Комплексное обследование включало клинический осмотр больного, ультразвуковое исследование почек, клинические анализы крови и мочи. Серологическая верификация диагноза составляла 100%. Биохимические исследования (определение уровней креатинина, мочевины, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, билирубина в сыворотке крови) проводили на биохимическом анализаторе Hitachi 911 (Япония) по стандартным методикам. Комплексная оценка иммунного статуса проводилась с помощью стандартных общепризнанных методов с учетом рекомендаций по иммунологическому обследованию населения. Исследование системы иммунитета у больных ГЛПС включало в себя изучение показателей неспецифической резистентности, клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Определение уровня интерлейкинов (IL-1α, IL-4, INFγ) проводили дважды в динамике заболевания (на 1-2 сутки с момента поступления и повторно через 5-7 дней госпитализации). При оценке иммунологических показателей в качестве контроля использовали иммунограммы 33-х клинически здоровых лиц (средний возраст 38,32±2,01 лет), проживающих в городе Ульяновске и области.

Для статистической обработки использована компьютерная программа Statistica for Windows 6.0. Параметрические показатели представлены как M± m. Для определения различий между группами использовали t критерий Стьюдента и U критерий Манна-Уитни (различия считали статистически значимыми при P<0,05).

Использовался однофакторный корреляционный анализ количественных и качественных признаков.

Результаты исследования и их обсуждение

Заболеваемость ГЛПС в Ульяновской области варьирует с 1995 по 2007гг., составляя от 9,6 до 34,1, что в отдельные годы более чем в 4,3, раза превышает аналогичные показатели по РФ (рис.1).

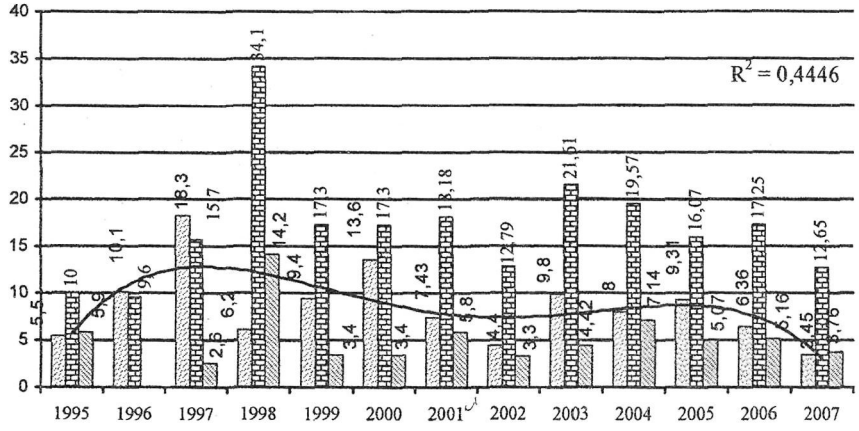


Рис.1. Сравнительная заболеваемость ГЛПС в РФ и Ульяновском регионе 1995-2007гг. (на 100 тыс. населения).

Заболевание регистрируется на всех административных территориях Ульяновской области, но наиболее пораженными являются Мелекесский и Новомалыклинский районы, расположенные в левобережном районе области (Нафеев А.А., Нафеева Е.Н., Киселева Л.М., 2003) (рис.2). Нами обнаружена тенденция к изменению многолетней заболеваемости ГЛПС в регионе, по сравнению с исследованиями А.А. Нафеева (2007), проявляющаяся в появлении и в правобережной части области районов с высоким уровнем заболеваемости (Барышский район) на фоне общей тенденции к снижению заболеваемости в указанный временной интервал (рис.3). В регионе имеются районы с высоким, средним и низким уровнями заболеваемости. Стабильно высокие уровни заболеваемости отмечаются в левобережной части области, что связано с благоприятными природными условиями для жизнедеятельности грызунов, богатой кормовой базой (рис.2, 3).

Рис. 2. Заболеваемость ГЛПС в Ульяновской области в 2002-2006гг..

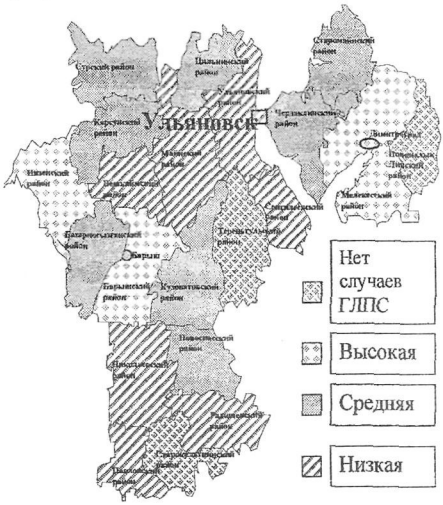


Рис.3. Заболеваемость ГЛПС в Ульяновской области в 2007г.

Кроме того, выявлено, что в районах с высокой заболеваемостью уровень естественного иммунитета к ГЛПС самый высокий в области, и, наоборот, в районах с низкой заболеваемостью – низкий (таблица 1).

Таблица 1

Заболеваемость ГЛПС и частота иммунной прослойки населения в группах административных районов области

Группы	Уровень заболеваемости ГЛПС	Наличие антител, к хантавирусам среди населения, %
I группа	высокий	11,5±2,72
II группа	средний	5,62±1,43
III группа	низкий	1,06±0,37

Исходя из этого, можно предположить, что реальный уровень заболеваемости ГЛПС значительно выше официально регистрируемого. Разницу между ними составляют больные с субклиническими и легкими формами болезни, которые либо вообще не обращаются за медицинской помощью, либо заболевание не диагностируется как ГЛПС. Аналогичные закономерности прослеживаются и в других областях Приволжского Федерального округа

Таким образом, по показателям заболеваемости ГЛПС Ульяновская область занимает одно из первых мест среди всех природно-очаговых инфекций, за счет расширения ареалов природных очагов. Заболеваемость характеризуется волнооб-

разным течением с подъемами через 3-4 года, что обусловлено периодичностью массовых размножений доминирующих видов грызунов и развитием среди них эпизоотий.

Клинико-лабораторная характеристика ГЛПС

Клинический раздел работы обобщает опыт обследования и лечения 148 пациентов. Для оценки степени тяжести состояния использовали клинические и биохимические критерии В.И. Рощупкина (1969) и Г.С.Ковальского (1970). Предварительная оценка тяжести состояния проводилась при поступлении больных с учетом выраженности общетоксического синдрома, в дальнейшем на основе комплексной оценки олигурического и полиурического периодов болезни вносились коррективы.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом отличается полиморфизмом и разнообразием клинических вариантов течения, различными исходами болезни. Из распределения наблюдаемых нами больных по степени тяжести среднетяжелые формы ГЛПС составили 48,0±4,1 %; тяжелое течение - в 37,2±2,9 % и легкое – 14,9±2,9 % случаев, что свидетельствует о преобладании легких и среднетяжелых форм болезни –62,9 % всех случаев заболевания. Сходную тенденцию отмечали и другие исследователи (Закиров И.Г., Баширова Д.К.,. Сорокин А.А и др., 1999; Иванис В.А., Бегун Л.А., Компанец Г.Г. и др., 2002; Морозов В.Г., 2002; Сиротин Б.З., 2005). Летальность при ГЛПС составляет в Ульяновской области в отдельные годы от 0,4 % (1999, 2000 гг.) до 2,2 % (1982 г.) и не превышает среднефедеральных показателей (1-2%) для Европейского региона.

Оценивая выявленные нами особенности, цикличость течения заболевания, наблюдаемая в 64,87±6,4 % случаев, следует рассматривать как проявление хантавирусной инфекции, обусловленной серотипом Puumala, что свойственно и другим областям Приволжского Федерального округа. Нарушение зрения выявлено у 29,9±3,7 % больных, катаральный синдром встречался в 10,1±2,5 % случаев ГЛПС, что практически сопоставимо с наблюдениями В.Г. Морозова (2003), согласно которым нарушения зрения встречаются у больных ГЛПС - в 32,7 %, а катаральный синдром -15,5 %. По данным А.Л. Бондаренко с соавт. (2003) катаральный синдром встречается чаще - в 25 % случаев, а расстройства зрения, наоборот, реже - у 19 % больных. Сравнительный анализ частоты и тяжести клинических симптомов показал, что боли в поясничной области наблюдались у больных в 66,9±3,8 %, выраженные боли в области живота в 23,7±2,7 % , против 63,5 % и 78,1 %, соответственно, по данным В.Г. Морозова (2003).

Геморрагический синдром имел место в 12,9±2,8% случаев, при этом среди тяжелых больных он развивался в 27,3% случаев, у больных со средней степенью тяжести – в 5,6 % случаев. У наблюдаемых нами больных, при тяжелом течении болезни нет осложнений в виде ИТШ, а кровотечения встречались у 2,7 % больных, были непродолжительными и необильными, что не согласуется с результатами других исследователей, отмечающими развитие осложнений в виде кровотечений в 15 %, ИТШ – 11,1 % (Морозов В.Г, 2003; Хасбиев С.А., 2005). Развитие олигурии с суточным диурезом менее 500 миллилитров у больных наблюдали в 36,7±3,9 %, что значительно реже, чем в других регионах, у 23,2±3,9% больных

снижения диуреза не отмечалось (Ива- нис В.А., 2003; Морозов В. Г., 2003; Сиротин Б.З., 2005; Хасбиев С.А., 2005).

Таким образом, проведенный сравнительный анализ клинических симптомов при ГЛПС свидетельствует, что геморрагический синдром, олигурия, выраженные боли в поясничной области и животе, нарушения зрения, развитие осложнений встречаются у больных в наших наблюдениях значительно реже, чем при «дальневосточном» варианте болезни, вызванной вирусом Haantan (Сиротин Б.З., 2005). Вместе с тем, клиническая картина ГЛПС сопоставима с клиникой болезни, вызванной хантавирусом Seoul, при котором тоже преобладают легкие варианты болезни с редким развитием осложнений и геморрагического синдрома (Иванис В.А., Бегун Л.А., Компанец Г.Г и др., 2002). По нашему мнению, имеющиеся клинические особенности ГЛПС можно объяснить тем, что хантавирус, вызывающий заболевание в Ульяновской области, относится к отдельному геноварианту «Ульяновск» (Нафеев А.А., 2007).

Иммунологическая характеристика ГЛПС

Многочисленные исследования свидетельствуют об участии иммунных механизмов в патогенезе ГЛПС (Алексеев О.А., Суздальцев А.А., Ефратова Е.С.,1998; Иванис В.А., 2003; Мурзабаева Р.Т., 2003; Перевертень Л.Ю., 2005; Zeuzem S., Herrmann E, Lee J.H., et al., 2001; Vaheri A., Li X.D., Kukkonen S. et al., 2004). На современном этапе известно, что цитолиза эндотелиальных клеток при инфицировании хантавирусами не происходит, что подтверждает важность иммунных механизмов в патогенезе ГЛПС, иммунологическое воздействие на клетку-мишень приводит к повышению сосудистой проницаемости, развитию плазмореи, и, как следствие, к основным клиническим проявлениям болезни (Pensiero M.N., Sharefkin J.B., Dieffenbach C.W. et al., 1992). До настоящего времени не существует единого подхода к оценке иммунологических механизмов повреждения при ГЛПС, но, тем не менее, полученные результаты указывают на потенциальную важность иммунологических механизмов в развитии основных патофизиологических проявлений болезни и открывают новые возможности для фармакотерапевтических направлений в отношении ГЛПС.

Характер иммунного ответа зависит от доминирующего участка клонов $CD4^+$ лимфоцитов хелперов (Th1, Th2), отличающихся по продуцируемым цитокинам. В связи с чем, важно оценить динамическое равновесие всех регуляторных систем, участвующих в иммунном ответе. Сравнительный анализ показателей иммунитета у больных ГЛПС показал, что у 76,2 % выявлялось высокое содержание $CD3^+$ лимфоцитов (2498,2±870,2 в 1 мкл, ($p<0,05$)) (рис.4), и разнонаправленные изменения Т-хелперов: у 47,6±4,9% больных наблюдалось достоверное снижение количества Т-хелперов (488±95,3 в 1 мкл ($p<0,05$)), а у 52,4±4,9 % больных уровень этих клеток - был выше контрольных показателей (1105±134 в 1 мкл ($p>0,05$)) (рис.5).

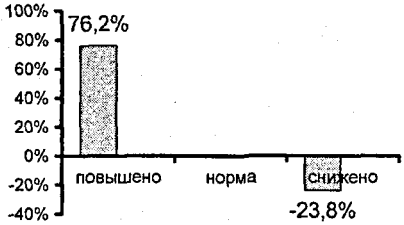


Рис.4. Изменение уровня абсолютного содержания $CD3^+$ клеток у больных ГЛПС в олигоанурию.

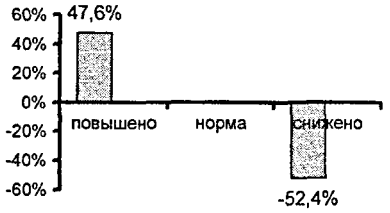


Рис.5. Изменение уровня абсолютного содержания $CD4^+$ клеток у больных ГЛПС в олигоанурию.

У большинства пациентов (90,5±2,9 %) отмечено уменьшение уровня $CD8^+$ лимфоцитов (123,3±69,6 в 1 мкл ($p<0,001$), в зависимости от дифференцировки выполняющих либо эффекторную функцию, либо функцию ограничения и подавления иммунного ответа (рис.6). Аналогичная закономерность прослеживается в работах Е.С. Ефратовой (1998) и Р.Т. Мурзабаевой (2003) и противоречит данным Л.Ю. Перевертень (2005), Ю.Г. Образцова (2005), В.А. Иванис (2004), M. Linderholm (1992).

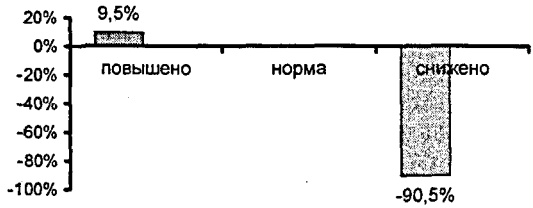


Рис. 6. Изменение уровня абсолютного содержания $CD8^+$ клеток у больных ГЛПС в олигурическом периоде болезни.

Проведенные клинико-иммунологические исследования свидетельствуют о повышении количества $CD3^+$, а также значительном уменьшении уровня $CD8^+$ отмеченого у большинства наблюдаемых пациентов. Помимо количественных нарушений, исследование клеточного состава Т-лимфоцитов выявило разнонаправленные изменения содержания $CD4^+$ лимфоцитов, отражая дисбаланс этого компонента системы иммунитета, что свидетельствует о важной роли клеточного иммунитета в развитии ГЛПС. Однако в литературе имеются сведения о разнонаправленных изменениях субпопуляций Т-лимфоцитов при ГЛПС. Снижение субпопуляций лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), наиболее выраженое в разгар заболевания отмечают Е.С. Ефратова (1998) Р.Т. Мурзабаева (2003), С.А. Хасбиев (2005). Исследования Ю.Г. Образцова (2005), В.А. Иванис (2004), M. Linderholm (1992), A. Makrotic, Rabatic S., Gargo A. et al. (1999) показывают снижение общего количе-

ства лимфоцитов ($CD3^+$) и Т-хелперов ($CD4^+$) при повышении $CD8^+$ и NK-клеток, а также снижение индекса $CD4^+/CD8^+$.

У обследованных больных ГЛПС в олигурический период болезни наиболее часто определялся высокий иммунорегуляторный индекс в 85,7±12,2% (7,69±4,2 ($p<0,01$)). Эти данные не согласуются с мнением Р.Т. Мурзабаевой (2003), которая выявила высокий иммунорегуляторный индекс у больных ГЛПС в период реконвалесценции, а в олигурический период, особенно у тяжелых больных, отмечает его снижение. Фагоцитарная активность у больных ГЛПС, равная 69,5±14,9 % достоверно превышала контрольные показатели ($p<0,05$), что характеризует развитие адекватного иммунного ответа у больных, направленного на элиминацию хантавируса.

Показателем функционального состояния В-лимфоцитов, напряжённости гуморального иммунитета в определенной мере служит уровень сывороточных иммуноглобулинов. Анализ полученных результатов показал, что содержание IgA, IgM и IgG были в пределах нормы. Представленные результаты позволяют сделать вывод о малой напряженности гуморального иммунитета при ГЛПС.

Фагоцитарная активность нейтрофилов у больных ГЛПС, равная 69,5±14,9% достоверно превышала контрольные показатели ($p<0,05$), аналогичные данные получены Г.А. Мавзютовой с соавт. (2002).

Проведенное нами исследование иммунологических изменений у больных ГЛПС, подтверждает важную роль иммунных механизмов в развитии болезни и указывает, с одной стороны, на активизацию клеточного звена иммунитета у больных в олигурический период болезни, с другой стороны, отмечена депрессия $CD8^+$- клеток, что, по-видимому, связано с их перераспределением в организме, либо блокадой их рецепторов или изменением рецепторных свойств.

Важным аспектом настоящей работы можно считать оценку мониторинга цитокинового статуса у больных ГЛПС. Именно цитокиновым реакциям отводится главная роль в развитии повреждения эндотелия сосудов, с последующим развитием всей органопатологии при ГЛПС. Нами исследовались уровни интерлейкинов INF-γ, IL-4 и IL-1α в сыворотке крови у больных ГЛПС. Выявлено повышение уровня ИЛ-1α в олигурический период болезни, наиболее выраженное у больных с тяжелым течением болезни, с тенденцией к нормализации в полиурический период. Мы полагаем, с этим интерлейкином связаны патофизиологические эффекты, характерные для ранней фазы ГЛПС, кроме того, он является пусковым фактором дальнейшего развития цитокиновых реакций в организме.

Зарегистрированы высокие показатели ИЛ-4 у больных ГЛПС на всем протяжении болезни с нарастанием к периоду полиурии. В начальном периоде болезни уровень IL-4 был достоверно выше показателей контрольной группы (6,7±0,7 пг/мл ($p< 0,05$)), повышаясь к полиурической стадии болезни более чем в 2 раза. Наиболее высокие показатели IL-4 зафиксированы у больных ГЛПС в полиурическую стадию болезни (10,26±0,61 пг/мл ($p< 0,001$)), повышение в сравнении с группой контроля со ставило более чем в 3 раза (рис 7).

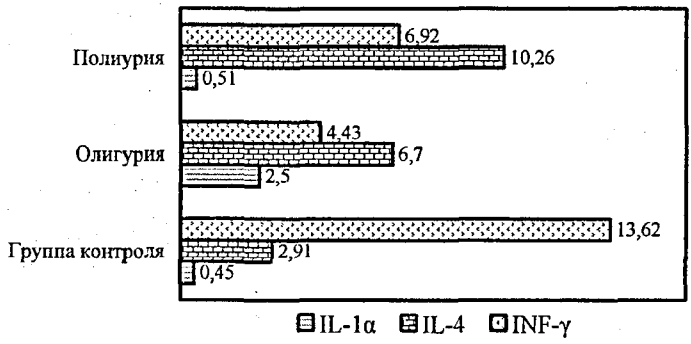


Рис.7 Уровни IL-1α, IL-4, INF-γ у больных ГЛПС в разные периоды болезни.

При этом, чем тяжелее протекало заболевание, тем выше были показатели IL-4. Однако другие исследователи придерживаются противоположной точки зрения. Иванис В.А. (2004) выявила при тяжелых формах у больных с Сеул, Хантан и Амур-инфекцией крайне низкое содержание в сыворотке крови ИЛ-4 (в 4 раза). В нашей работе исследование проводилось у больных с Puumala инфекцией, отличающейся более легким клиническим течением.

INF-γ в сыворотке крови больных ГЛПС имел низкие показатели на всем протяжении болезни, отмечалась тенденция к повышению его уровня к полиурической стадии ГЛПС. В полиурический период болезни уровень INF-γ составил 6,92±1,1пг/мл ($p< 0,01$) и был при этом практически в 2 раза меньше контрольных значений (рис.7).

Таким образом, доминирование нарушений в клеточном звене иммунитета (усиление эффекторных функций цитотоксических лимфоцитов $CD8^+$) позволили предположить их ведущую роль в развитии болезни, осуществляющих лизис клеток-мишеней и участвующих в иммунных реакциях по Th1 типу реагирования. Снижение защитных реакций Th1 усиливает гуморальный Th2 и нарастание иммуносупрессии. Высокий уровень IL-1α инициирует спектр синергичных патофизиологических эффектов – активизацию эндотелиоцитов, увеличение проницаемости клеточных мембран, капиллярную плазморею, тканевую имбибицию, цитолиз инфицированных клеток. Повышенная концентрация провоспалительного IL-4 индуцирует Th2-иммунный ответ, включая продукцию специфических антител. Низкие показатели INF-γ у больных ГЛПС в течение всего заболевания не обеспечили достаточной макрофагальной активности и способствовали усилению вирусной репликации. Дисбаланс продукции цитокинов подтверждает превалирующий Th2 тип дифференцировки, что способствует благоприятному разрешению заболевания у большинства больных легкими и среднетяжелыми формами и позволяет избежать последствий разрушительного Th1 клеточно-опосредованного ответа. Сбалансированность Т-клеточных эффектов способствует последующей самолимитации инфекции. Значение феномена иммуносупрессии можно рассматривать как с негативной, так и с позитивной стороны: возросший уровень IL-4

способствует усилению пролиферации Т-хелперов, что сопровождалось снижением концентрации INF-γ, однако, высокие значения IL-4 способны погасить бурю провоспалительных цитокинов и усилить синтез специфических антител. Иммунологические механизмы, развивающиеся в ответ на хантавирусную инфекцию – сложная система взаиморегулирующих реакций, оказывающих влияние на развитие основных патофизиологических изменений при данной болезни.

Иммунотропная терапия ГЛПС

В последнее время, в терапии ГЛПС идет поиск возможностей применения иммунотропных препаратов, оказывающих стимулирующее, либо заместительное действие на иммунную систему. Для нас представило интерес изучить эффективность рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкина®) при ГЛПС, его влияние на клинические проявления и лабораторные показатели у больных ГЛПС. Интерлейкин-2 (IL-2) является провоспалительным цитокином, однако он стимулирует образование интерферона-γ, который оказывает угнетающее действие на клеточную пролиферацию [Hir M.L., Ryffel B., Schatzmann U., 2001]. Лечение с включением в комплексную терапию Ронколейкина®(БИОТЕХ, Санкт-Петербург, Россия) проведено у 19 больных и 16 пациентов получали базисную терапию, подобранную с учетом возрастного, полового и клинического сходства с основной группой. Анализ клинической эффективности Ронколейкина®, включенного в комплекс лечебных мероприятий, позволяет выделить следующие ключевые факторы: благоприятное влияние препарата на проявления ОПН у больных ГЛПС.

При проведении исследования нами обнаружена тенденция к более низкому уровню креатинина и мочевины сыворотки крови, на фоне более высокого уровня диуреза в олигурическую стадию болезни, у больных получавших ронколейкин, свидетельствует о благоприятном влиянии рекомбинантного интерлейкина-2 на проявления острой почечной недостаточности у больных ГЛПС (таб.2).

Таблица 2

Лабораторные показатели нарушения функции почек в зависимости от назначения Ронколейкина®

Лабораторные показатели	Основная группа, n=19			Контрольная, n=16		
	до лечения (1)	после лечения (2)	P_{1-2}	до лечения (3)	после лечения (4)	P_{3-4}
Креатинин	274,3±41,0	126,4±7,7	***	414,4±67,0 $P_{1-3}>0,05$	150,8±23,0 $P_{2-4}>0,05$	***
Мочевина	16,8±2,8	8,5±1,8	***	24,2±3,3 $P_{1-3}>0,05$	10,9±3,44 $P_{2-4}>0,5$	***

Примечание: показатели представлены как M±m,*** $p<0,001$; **$p<0,01$; $p<0,05$ – различия достоверны.

Статистически значимые отличия получены в длительности протеинурии, которая у больных основной группы длилась 1,7±0,9 дней, контрольной – 3,5±0,2 дней ($P<0,05$). Достоверно выше у больных, пролеченных с интерлейкином-2, был

уровень минимального диуреза 0,68±0,06 л/сут, против 0,49±0,06 л/сут (P<0,05). О положительном влиянии препарата на проявления ОПН свидетельствует выявленная прямая корреляционная связь между назначением Ронколейкина® и уровнем мочевины (r = 0,34, P<0,05) и креатинина в сыворотке крови (r = 0,44, P<0,01).

Таким образом, отмечается положительное влияние Ронколейкина® на клинико-лабораторные проявления болезни, что делает возможным его использование в комплексном лечении больных ГЛПС.

Как было ранее нами показано, авторы, рекомендующие назначение глюкокортикостероидов при ГЛПС, основываются, в первую очередь, на их выраженном десенсибилизирующем, противовоспалительном свойствах, уменьшении проницаемости биологических мембран, что приводит к задерживанию процессов экссудации в тканях. Поскольку во многих клиниках традиционно продолжают использовать преднизолон в лечении больных ГЛПС даже при среднетяжелом течении болезни, мы провели исследование необходимости его применения у больных ГЛПС, без наличия осложнений, являющихся безусловными показателями для применения ГКС (ИТШ, коллапс).

Проводилась клинико-лабораторная оценка показателей у 37 больных, пролеченных без преднизолона и 45 – с использованием преднизолона, до начала лечения и после его окончания. Средний срок госпитализации у больных, получавших преднизолон, составил 18,8±0,8 дней, а без преднизолона – 18,2±0,8 дней (P>0,05). Достоверных отличий в длительности основных периодов болезни в зависимости от использования преднизолона получено не было (таб.3).

Уровни креатинина и мочевины сыворотки крови, свидетельствующие о нарушении азотвыделительной функции почек и являющиеся одними из ключевых параметров, определяющих степень функционального поражения почек, были сопоставимы у больных обеих групп (таб.3).

Таблица 3

Лабораторные показатели нарушения функции почек при ГЛПС в зависимости от назначения преднизолона

Показатель	Группа больных					
	с преднизолоном (основная группа)			без преднизолона (контрольная группа)		
	До лечения (1)	Через 6-8 дней(2)	P_{1-2}	До лечения (3)	Через 6-8 дней (4)	P_{3-4}
Креатинин	262,6± 17,8	144,7±15,1	*** <0,001	231,9±21,8 P_{1-3}>0,05	130,8±22,1 P_{2-4}>0,05	*** <0,001
Мочевина	13,2±1,3	8,3±1,3	*** <0,001	13,4±1,2 P_{1-3}>0,05	7,8±1,4 P_{2-4}>0,05	*** <0,001

Примечание: *-p<0,05, **-p<0,01, ***-p<0,001

Из лабораторных показателей со стороны общего анализа крови и изменений осадка мочи достоверные отличия получены в количестве лейкоцитов крови: они были выше у больных основной группы, составив $10,4\pm0,6\times10^9$/л, против $8,1\pm0,6\times10^9$/л в контрольной ($P<0,001$). Количество эритроцитов в моче у больных ГЛПС составило 5,3±1,3 в группе без преднизолона, и 10,05±0,8 – с использованием преднизолона ($P<0,01$), что может свидетельствовать об усугубляющем влиянии преднизолона на геморрагический синдром, но не следует забывать о вариабельности мочевого осадка при ГЛПС.

Таким образом, положительного влияния ГКС на клинико-лабораторные проявления ГЛПС у больных обнаружено не было, что делает их назначение больным с легкими, средней степенью тяжести и тяжелыми формами болезни, без анурии и развития неотложных состояний, являющихся безусловными показаниями к назначению ГКС, неоправданным и с точки зрения экономических затрат на лечение и с точки зрения отсутствия их положительного терапевтического эффекта.

Иммуноопосредованность хантавирусной инфекции предполагает включение в комплексное лечение больных иммуноориентированных препаратов, необходимых для устранения проявлений иммунологической недостаточности, связанной с клеточным компонентом иммунной системы и ликвидацией дисбаланса цитокиновых реакций.

Выводы

1. Ульяновская область относится к регионам с наличием активного природного очага ГЛПС, среднегодовые показатели заболеваемости составляют от 12,6 до 34,1 на 100тыс. населения. Наиболее высокие уровни заболеваемости отмечаются в левобережных районах области (Новомалыклинский, Мелекесский, Старомайнский районы), где среднемноголетняя заболеваемость выше 30,0 на 100, тыс. населения. Выявлена прямая корреляционная связь между уровнем естественного иммунитета к ГЛПС и заболеваемостью: в районах с низкой заболеваемостью - низкий уровень иммунитета (наличие антител к хантавирусам среди населения 1,06±0,37 % , а с высокой – соответственно высокий - 11,5±2,7 % ($r = 0,62$).
2. Клиническое течение ГЛПС характеризуется преимущественно легким и среднетяжелым течением болезни в 62,9±12,3 %, отсутствием четкой стадийности заболевания у 35,0±1,9 %, с ведущими клинико-патогенетическими синдромами: интоксикационным у 100 %, болевым у 94,6±1,9 % и диспепсическим у 64,8±3,9 % больных.
3. У больных ГЛПС наблюдаются изменения со стороны клеточных факторов защиты, свидетельствующие о включении иммунных механизмов в патогенез болезни, проявляющиеся иммуносупрессией Т-клеточного звена иммунитета: снижение количества $CD4^+$-лимфоцитов у 47,6±4,9 % и особенно выраженное снижение $CD8^+$-клеток у 90,5±2,9 %, высоким иммунорегуляторным индексом (8,37±4,2) у 87,5±12,2 % больных. Глубина и характер иммунологических нарушений у больных ГЛПС зависят от степени тяжести и периода болезни.
4. При ГЛПС отмечены изменения со стороны цитокиновых реакций, свидетельствующие об активации Th-2 иммунного ответа в ответ на внедрение

хантавирусной инфекции: повышение уровня IL-1α 2,5±0,12 пг/мл в периоде олигурии, с тенденцией к нормализации в полиурическую стадию -0,51±0,02 пг/мл; высокий уровень IL-4 на всем протяжении болезни от 6,7±0,7 до 10,26±0,61 пг/мл, стабильно низкий уровень INF-γ - 4,43±0,45 и 6,92±1,1 пг/мл. Цитокинопосредованный ответ при ГЛПС представляет сложную систему взаиморегулирующих реакций, оказывающих влияние на развитие основных патофизиологических изменений при данной болезни.

5. В лечении ГЛПС целесообразно сочетать базисную терапию с иммунотропной, что повышает её результативность. Назначение Ронколейкина® в терапию ГЛПС способствует уменьшению проявлений острой почечной недостаточности у больных, о чем свидетельствует прямая корреляционная связь между назначением препарата и уровнями мочевины (r = 0,34) и креатинина в сыворотке (r = 0,44).

Практические рекомендации

1. Разработана и внедрена в практику система мониторинга заболеваемости ГЛПС на основе картографического метода, с построением контурных карт области с компьютерным интерфейсом, позволяющие наглядно отражать динамику заболеваемости.

2. Лихорадящим больным в эндемичных регионах необходимо проводить серологическое исследование сыворотки крови, особенно в период подъема заболеваемости ГЛПС, с целью выявления специфических антител к хантавирусам. Своевременное выявление большинства заболевших, поможет сформировать более точную объективную эпидемиологическую ситуацию по ГЛПС, что позволит внедрить эффективную программу профилактики заболевания.

3. Для оптимизации тактики терапии ГЛПС рекомендуется использовать иммуномониторинг, применяя тесты, характеризующие Т-систему иммунитета и цитокиновый статус.

4. Использование рекомбинантного интерлейкина-2 в комплексной терапии ГЛПС позволило с принципиально новых позиций подойти к проблеме улучшения результатов лечения больных хантавирусной инфекцией.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Юдинцева Е.В., Шутов А.М., Киселева Л.М., Мерзлякова Е.А. Использование рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкина) в лечении больных ГЛПС// V Всероссийская конференция «Актуальные вопросы инфекционной патологии и современные методы лечения». - Пенза, -2001.- стр.62-63.
2. Шутов А.М., Киселёва Л.М., Савинова Г.А., Маркина В.Б., Юдинцева Е.В. Влияние рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкина) на течение острой почечной недостаточности при ГЛПС//Проблемы и перспективы здравоохранения, Мат. XXXVI научно-практической конференции врачей Ульяновской области.- Ульяновск,-2001.- с.311-313.

3. Шутов А.М., Савинова Г.А., Киселева Л.М., Смирнов М.Н., Юдинцева Е.В. Применение рекомбинантного интерлейкина-2 в геморрагической лихорадке с почечным синдромом// Клиническая медицина.-№4.- 2002.-стр.54-57.
4. A.M.Shutov, G.A.Savinova, L.M.Kiseleva, E.V.Yudinceva Recombinant interleukin-2 reduces renal damage due to hantavirus infection// V International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses. - France.-2001.-P.83.
5. Юдинцева Е.В. Возможность применения рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкина) в комплексной терапии больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом// Цитокины и воспаление.- Том 1, №2.- 2002.- стр. 136-137
6. Киселева Л.М., Шутов А.М., Юдинцева Е.В Ронколейкин в комплексной терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Материалы VI Российского съезда врачей инфекционистов.-2003.- стр. 170-171.
7. Савинова В.Н., Киселева Л.М., Савинова Г.А., Маркина В.Б., Юдинцева Е.В. Клинико-лабораторная характеристика ГЛПС в популяции населения Ульяновской области// Сб. научн. тр по мат VI Российского съезда врачей инфекционистов.- 2003.-стр. 332-333.
8. Киселева Л.М., Юдинцева Е.В. Проблемы терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом// Ученые записки УлГУ, серия «Клиническая медицина».- Ульяновск,2008.-№13.- стр.55-58.
9. Киселева Л.М., Юдинцева Е.В. Иммунотропная терапия ГЛПС// Сб. мат. 43 межрегиональной научно-практической конференции врачей Ульяновской области «Год семьи. Механизмы развития национального приоритетного проекта и демографической политики системы здравоохранения».- Ульяновск,2008.- с.495-498.

Список использованных сокращений

АД – артериальное давление

ГЛПС – геморрагическая лихорадка с почечным синдромом

ДАД – диастолическое артериальное давление

ИТШ – инфекционно-токсический шок

ЛИ – лейкоцитарный индекс

ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации

ОПН – острая почечная недостаточность

САД – систолическое артериальное давление

ХЛС – хантавирусный легочный синдром

IL – интерлейкин

INF – интерферон

TNF – фактор некроза опухолей

Подписано в печать 12.02.2009г.

Печать трафаретная
Усл.п.л. – 1,0
Заказ № 564
Тираж: 100 экз.

Типография «11-й ФОРМАТ»
ИНН 7726330900
115230, Москва, Варшавское ш., 36
(499) 788-78-56
www.autoreferat.ru