

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ТЯЖЕСТИ

Анисимова Т. А., Карзакова Л. М.

ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова», Чебоксары, Россия (428000, Чебоксары, пр. Московский, д.15), e-mail: www.chuvsu.ru

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – острая хантавирусная инфекция, широко распространенная на территории РФ. Целью настоящего исследования явилось изучение изменения иммунологических и лабораторно-инструментальных показателей у больных ГЛПС при различных формах тяжести болезни. Для изучения параметров клеточного и гуморального иммунитета у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) при различных степенях тяжести заболевания проведено иммунологическое обследование 30 пациентов, находившихся на стационарном лечении в БУ «ГБСМП» г. Чебоксары в 2011–2012 гг. Выяснено, что у больных ГЛПС с тяжелым течением инфекции больше в процесс вовлекается Т-клеточное звено иммунитета (снижение содержания CD4+, повышение количества CD8+), выявляется значительное снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, наблюдается высокая готовность клеток к активационному апоптозу.

Ключевые слова: хантавирус, олигоурический период, иммунопатогенез, Т-лимфоциты.

DYNAMICS OF IMMUNOLOGIC AND LABORATORY INDICATORS IN PATIENTS WITH HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN VARIOUS FORMS OF SEVERITY

Anisimova T. A., Karzakova L. M.

FGBOU VPO "Chuvash State University named after I.Ulyanov", Cheboksary, Russia (428000, Cheboksary, Moscow, etc., 15), e-mail: www.chuvsu.ru

Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) – acute hantavirus infection, widespread in Russia. The purpose of this study was to examine changes in immunological and laboratory – instrumental parameters in patients with various forms of HFRS severity of the disease. In order to study the parameters of cellular and humoral immunity in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) for different degrees of disease stationary checkup of 30 patients on the basis of The City Hospital ambulance Cheboksary was conducted in 2011-2012. It was found that in patients with severe HFRS infection more involved in the process of T-cellular immunity (reduction of CD4 +, increasing the number of CD8 +), revealed a significant reduction in phagocytic activity of neutrophils, there is a high commitment of cells to apoptosis activation.

Keywords: hantavirus, oligourichesky period, immunopathogenesis, T-lymphocytes.

Введение.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – тяжелое природно-очаговое вирусное заболевание, широко распространенное в различных регионах Российской Федерации (РФ). Несмотря на несомненные успехи в области лабораторных и клинических исследований ГЛПС, данная проблема остается актуальной для практического здравоохранения во многих странах мира [3, 5, 6]. ГЛПС занимает первое место среди зоонозных природно-очаговых заболеваний в РФ, причем эпидемическая ситуация в настоящее время оценивается как крайне неблагоприятная. Наиболее активные очаги заболевания расположены между Волгой и Уралом в республиках Башкортостан, Удмуртия, Татарстан, Марий Эл, Мордовия, Чувашия, а также в Самарской, Пензенской, Оренбургской, Ульяновской областях [3, 5, 7].

На территории РФ заболевания ГЛПС регистрируются с 1935 г., ежегодно выявляется от 6 до 20 тыс. случаев болезни, возбудителями которой являются хантавирусы – Пуумала, Хантаан, Добрава, Сеул, Амур [5, 6]. Всего за 2010 г. на территории РФ зарегистрировано 4572 случая ГЛПС (показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составил 3,22), из них на территории Приволжского Федерального Округа выявлено 3 564 случая, что составляет 77,9 % всей [2].

ГЛПС характеризуется многообразием клинических проявлений с возможностью атипичного течения, не позволяющих своевременно поставить диагноз на ранних стадиях заболевания [1, 4]. Хантавирус, являясь инициатором инфекционного процесса, активирует каскад клеточно-опосредованных иммунных реакций [1, 9, 10]. Однако вопросы иммунопатогенеза освещены в литературе недостаточно. Не разработаны информативные иммунологические лабораторные показатели для оценки степени тяжести заболевания. Недостаточность исследования иммунологических механизмов при ГЛПС диктует необходимость проведения дополнительных исследований в этом направлении.

Целью настоящего исследования явилось изучение изменения иммунологических и лабораторно-инструментальных показателей у больных ГЛПС при различной степени тяжести болезни.

Материалы и методы исследования. Проведено иммунологическое обследование 30 больных (средний возраст 36, $85 \pm 2,89$ лет), находившихся на стационарном лечении в инфекционном отделении БУ «Городская больница скорой медицинской помощи» (г. Чебоксары) в 2011–2012 гг. с диагнозом «ГЛПС». Исследование проводилось дважды – при поступлении в олигурическом периоде и в период полиурии через 10–14 дней с момента госпитализации. Среди обследованных – 24 мужчины (80 %) и 6 женщин (20 %). Заболевание протекало в легкой форме у 5 больных (16,7 %), в средне-тяжелой – у 19 (63,3 %), в тяжелой – у 6 (20,0 %). В контрольную группу вошли 30 практически здоровых человека (добровольные доноры), в анамнезе у которых не было указаний на перенесенный ГЛПС, средний возраст составил 34, $25 \pm 1,8$ лет, мужчин 23 (76,7 %), женщин 7 (23,3 %).

Объектом исследования служила периферическая кровь (ПК). Проводили иммунофенотипирование мононуклеарных клеток (МНК) ПК методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD95 («Сорбент», Москва), определение концентрации сывороточных IgM, IgG, IgA по Манчини, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000), изучение фагоцитарной активности нейтрофилов в латекс-тесте согласно стандартным методикам [8].

Для анализа использованы традиционные показатели описательной статистики: средняя арифметическая М и стандартное отклонение (SD). При сравнении двух выборок для оценки достоверности различий применяли t-критерий Стьюдента (р), для сопряженных групп – парный тест Стьюдента. Различия между выборками считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Большой практический интерес представляет сравнение иммунологических показателей в двух группах больных – в группе с тяжелым течением заболевания и в группе с легким и средне-тяжелым течением (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительное изучение показателей иммунного ответа у больных с различной степенью тяжести ГЛПС

Показатели	Легкое и среднетяжелое течение ГЛПС (n=24)		Тяжелое течение ГЛПС (n=6)		p	
	M±SD		M±SD			
	I	II	I	II	I	II
Лейкоциты, абс	8,5±3,4	7,2±2,3	11,7±2,7	9,0±2,6	0,0324	0,1525
Нейтрофилы, %	67,3±8,4	58,1±10,5**	72,0±10,5	66,6±15,5	0,2964	0,1812
Лимфоциты, %	21,8±8,6	36,9±9,9***	22,0±4,3	27,6±12,9	0,9689	0,1065
CD3 ⁺ -лимфоциты, %	53,6±8,1	54,6±6,3	53,4±11,7	52,8±12,7	0,9727	0,6743
CD4 ⁺ -лимфоциты, %	31,9±6,7	27,9±7,8	31,2±10,0	46,0±26,6	0,8569	0,0249
CD8 ⁺ -лимфоциты, %	24,7±5,2	28,1±5,8*	26,6±2,1	23,6±5,0	0,4275	0,1397
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,3±0,4	1,1±0,2*	1,2±0,3	1,4±0,1	0,3600	0,0103
IgA, г/л	3,7±2,7	2,4±1,0*	3,2±0,8	2,4±0,9	0,7390	0,9710
Фагоцитарное число	3,5±0,5	3,5±0,6	3,0±0,3	3,0±1,0	0,0082	0,1475
CD25 ⁺ -лимфоциты, %	5,8±1,6	11,8±3,6***	4,6±0,9	13,6±4,4**	0,1204	0,3744
CD95 ⁺ -лимфоциты, %	20,1±6,4	20,3±5,1	24,4±4,8	28,6±8,4	0,1753	0,0477
CD95 ⁺ -лимфоциты, абс.	0,4±0,2	0,5±0,2	0,5±0,06	0,4±0,03**	0,0436	0,0394

Примечания: I – значение показателя в олигоурическом периоде, II – значение показателя полиурическом периоде, p – достоверность различия между показателями групп больных с различной степенью тяжести ГЛПС, * – достоверность различия показателей олигоурического и полиурического периодов ($p < 0,05$), ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Большинство исходных значений изучаемых параметров, определенных в олигоурической стадии, не различались, за исключением содержания в крови лейкоцитов, абсолютного числа нейтрофилов, фагоцитарного числа и абсолютного числа клеток с готовностью к активационному апоптозу (несущих Fas-рецептор апоптоза). При тяжелом течении инфекции содержание лейкоцитов, нейтрофилов, абсолютного числа клеток с рецептором апоптоза было существенно больше, а фагоцитарное число меньше, по сравнению с группой больных с нетяжелым течением. В процессе развития и смены периодов заболевания в обеих группах происходило увеличение относительного и

абсолютного числа CD25⁺-клеток. Кроме этого в группе с нетяжелым течением заболевания уменьшалось процентное и абсолютное число нейтрофилов, увеличивалось относительное содержание лимфоцитов и абсолютное число Т-лимфоцитов за счет цитотоксических Т-лимфоцитов, снижался уровень IgA. Особенностью группы с тяжелым течением явилась статистически значимая динамика абсолютного числа клеток с экспрессией Fas-рецептора в сторону уменьшения в полиурическом периоде.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в динамике в процессе смены фаз заболевания в группе с нетяжелым течением процесса происходило изменение показателей клеточного механизма адаптивного иммунитета в сторону восстановления исходно сниженных показателей, а также снижение активации гуморальной составляющей адаптивного иммунного ответа, в то время как в группе с тяжелым течением заболевания все эти показатели оставались на уровнях, характерных для олигоурической стадии. В результате различной динамики изучаемых показателей в группах появлялись новые различия в значениях показателей полиурической стадии. В частности, у больных с тяжелым течением заболевания превышали соответствующие показатели в сравниваемой группе относительное количество хелперных клеток с фенотипом CD4 и иммунорегуляторный индекс CD4⁺/CD8⁺. Напротив, абсолютное содержание CD 95⁺-лимфоцитов было меньше, чем в группе с нетяжелым течением.

Другие лабораторные показатели, имевшие статистически значимые различия в зависимости от тяжести течения заболевания, сведены в табл. 2, из которой видно, что больные с тяжелым течением заболевания имели исходно повышенные значения уровней сегментоядерных нейтрофилов, креатинина и мочевины в ПК. В группе с нетяжелым течением инфекции в процессе смены олигоурического периода полиурическим происходило уменьшение числа сегментоядерных нейтрофилов, снижение уровней белка в моче, а также креатинина и мочевины в сыворотке крови. У больных с тяжелым течением заболевания установлено динамическое изменение лишь в концентрации мочевины, снижавшейся в процессе смены фаз заболевания. В результате описанных сдвигов в значениях лабораторных показателей, в полиурической стадии становился шире круг различий в группах с различной степенью тяжести заболевания. Так, у больных с тяжелой степенью ГЛПС оказались выше значения содержания сегментоядерных нейтрофилов, креатинина и мочевины в крови, а также белка в моче.

Таблица 2

Статистически значимые различия в лабораторных показателях крови и мочи у больных с различной степенью тяжести ГЛПС

Показатели		Легкое и среднетяжелое течение ГЛПС(n=24)	Тяжелое течение ГЛПС(n=6)	p
		M ± SD	M ± SD	
Сегментоядерные нейтрофилы в крови, %	I	58,8 ± 6,0	62,2 ± 1,92	0,0324
	II	52,4 ± 8,5**	64,0 ± 5,1	0,0018
Белок в моче, г/л	I	0,3 ± 0,3	0,57 ± 1	0,3594
	II	0,0 ± 0,0**	0,2 ± 0,2	0,0061
Креатинин в крови, мкмоль/л	I	140,1 ± 56,8	372,6 ± 278,5	0,0017
	II	103,6 ± 28,1*	160,0 ± 108,5	0,0053
Мочевина в крови, ммоль/л	I	9,4 ± 3,6	20,9 ± 7,2	0,0000
	II	7,3 ± 2,2*	11,5 ± 5,1*	0,0110

Примечания: I – значение показателя в олигоурическом периоде, II – значение показателя в полиурическом периоде, * – достоверность различия показателей олигоурического и полиурического периодов (p) < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001.

Определенный интерес представляет изучение размеров почек, определенных при ультразвуковом исследовании (таб. 3). У больных с тяжелым течением заболевания были достоверно меньше показатели поперечного размера как правой, так и левой почки.

Таблица 3

Сравнительное изучение показателей ультразвукового исследования почек у больных с различной степенью тяжести ГЛПС в олигоурической стадии

Показатели		Легкое и среднетяжелое течение ГЛПС(n=24)	Тяжелое течение ГЛПС(n=6)	p
		M±SD	M±SD	
Толщина паренхимы, мм		21,3±4,6	24,4±3,8	0,1895
Длина правой почки, мм		115,9±35,5	89,8±61,4	0,2931
Поперечный размер правой почки, мм		61,6±3,9	56,0±1,0	0,0321
Длина левой почки, мм		129,7±7,7	123,3±12,2	0,2614
Поперечный размер левой почки, мм		63,1±2,6	48,7±23,6	0,0290

Обсуждение полученных результатов. Проведенные исследования функционального состояния иммунной системы позволяют сделать выводы о взаимосвязи между иммунологическими показателями и тяжестью инфекционного процесса. В ходе исследования выявлены иммунологические и лабораторные особенности тяжелого течения ГЛПС: значительное повышение, по сравнению с группой больных с нетяжелым течением ГЛПС, содержания лейкоцитов, нейтрофилов в крови, при одинаково сниженных показателях CD4⁺, CD3⁺ – повышение уровня CD8 в олигоурическом периоде, что

подтверждается многими исследованиями [1, 8]. В процессе смен периодов при развитии полиурии тяжелое течение инфекции сопровождалось достоверным повышением показателей хелперных клеток с фенотипом CD4⁺ и иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺, а абсолютное содержание CD 95⁺-лимфоцитов было меньше, чем в группе с нетяжелым течением.

В то же время ряд исследователей выявляет снижение всех исследуемых субпопуляций лимфоцитов (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD72⁺), причем наиболее выражены эти изменения в разгар заболевания и коррелируют с тяжестью течения, с тенденцией к восстановлению в период реконвалесценции [5]. Вероятно, отличия в результатах исследований могут быть связаны с особенностями течения ГЛПС, вызываемой различными серотипами вируса (Пуумала, Хантаан, Добрава, Сеул, Амур) [1, 3, 6].

Выводы

1. ГЛПС представляет собой иммуноопосредованную вирусную инфекцию.
2. Тяжелое течение инфекции в олигурическом периоде сопровождается повышением содержания в крови лейкоцитов, нейтрофилов, абсолютного числа CD95⁺ - клеток и снижением фагоцитарного числа; в полиурическом периоде наблюдаются более высокие показатели CD4⁺ и иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺, более выраженное снижение абсолютного содержания CD 95⁺-лимфоцитов по сравнению с группой с нетяжелым течением.
3. Перестройка иммунной системы у больных в олигоанурическом периоде ГЛПС включает количественно-функциональную депрессию клеточного механизма адаптивного иммунитета, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и активацию гуморального звена иммунного ответа.
4. Изменения в иммунном статусе, происходящие при смене олигурического периода полиурическим, касаются преимущественно адаптивного иммунного ответа: активации клеточного механизма на фоне снижения активности гуморального звена.
5. Особенности иммунного статуса больных с тяжелым течением ГЛПС являются снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и высокая готовность клеток к активационному апоптозу.

Список литературы

1. Иванис В. А. Клинико-иммунологические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом при тяжелом течении с благоприятным и летальным исходами в Приморском крае / В. А. Иванис, И. Г. Максема, В. И. Афанасьева, Р. А. Слонова //

Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – №3. – С. 46-50.

2. Информационный бюллетень об инфекционной заболеваемости в Чувашской Республике за 2000–2010 гг. / Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучию человека по Чувашской республике – Чувашии. – Чебоксары, 2011.
3. Киселева Л. М. Особенности клинического течения хантавирусной инфекции в некоторых регионах Приволжского федерального округа / Л. М. Киселева, Ю. П. Грузинцева // Инфекционные болезни. – 2010. – Т.8. – Прил. №1. – Материалы II Ежегодного Конгресса по инфекционным болезням. – С. 143-144.
4. Морозов В. Г. Сравнительная клиничко-лабораторная характеристика геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызываемой хантавирусными типами Пуумула и Добрава / В. Г. Морозов, В. И. Рошупкин, Г. П. Слюсарева [и др.] // Новые технологии в диагностике и лечении инфекционных болезней: Мат. VII Рос. съезда инфекц. – Н.Новгород, 2006. – С. 167.
5. Мурзабаева Р. Т. Система интерферона и иммунный статус у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Р. Т. Мурзабаева. – М., 2003. – 47 с.
6. Нафеев А. А. Эпидемическое проявление геморрагической лихорадки с почечным синдромом в регионе с активными природными очагами / А. А. Нафеев // Дезинфекционное дело. – 2008. – №1. – С. 43-45.
7. Фазлыева Р. М. Современные аспекты патогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Р. М. Фазлыева, Х. Х. Ганцева, Г. Х. Мирсаева, Г. К. Макеева // Успехи современного естествознания. – 2009. – №7. – С. 97-99.
8. Шакирова В. Г. Клинико-иммунологические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом: автореферат дисс... канд. мед. наук / В. Г. Шакирова. – СПб., 2010. – 24 с.
9. Rasmuson J., Pourazar J., Linderholm M., Sandström T., Blomberg A., Ahlm C. Presence of activated airway T lymphocytes in human puumala hantavirus disease // Chest. – 2011 Sep. – 140(3). – С. 715-722.
10. Terajima M., Ennis F. A. T-cells and pathogenesis of hantavirus cardiopulmonary syndrome and hemorrhagic fever with renal syndrome // Viruses. – 2011. – Jul,3(7). – 1059-73.

Рецензенты:

Марков Дмитрий Сергеевич, д.м.н., профессор, декан медицинского факультета, зав. кафедрой факультетской терапии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова», г. Чебоксары.

Хаертынова Ильсияр Мансуровна, д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней Казанской государственной медицинской академии, г. Казань.