

На правах рукописи

Козина Ольга Владимировна

РОЛЬ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА,
И МИКСТ-ИНФЕКЦИЙ ПРИ АТОПИИ

14.00.16 - патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск-2002

Работа выполнена в Сибирском государственном медицинском университете

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор

Огородова Л.М.

Официальные оппоненты:

Член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук,
профессор

Дыгай А.М.

к.м.н.

Уразова О.И.

Ведущая организация:

Новосибирская государственная медицинская академия МЗ РФ

Защита состоится «___» сентября 2002г. в ___ ч. на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 Сибирского государственного медицинского университета по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107)

Автореферат разослан «___» июля 2002г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,

Бражникова Н.А.

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Проблема атопических заболеваний (АЗ) остается важнейшей в патологии. Значительная распространенность, частота осложнений, ранняя инвалидизация определяют социальную значимость изучаемой патологии [Адо Д.А. 1990, Балаболкин и соавт., 1996; Schultz Larsen F., 1996; Schafer T. e.a., 1997; Woolcock A.J. e.a., 1997; Михеева Г.Н. и соавт., 1998; Студеникина М.Я. и соавт., 1998; Нечаева Н.И., 1999; Деев И.А. и соавт., 2000; Пыцкий В.И., 2000].

В настоящее время ведутся разносторонние фундаментальные исследования патогенеза АЗ. Заболевание рассматривается как результат сложной сочетанной патологии иммунной системы, органов пищеварения, эндокринных желез, нервной системы, метаболических нарушений в организме человека [Blumental M. e.a., 1990; Адо В.А. и соавт., 1992; Mrazek D.A., 1992; Lehrer P.M. e.a., 1993; Волгин В.Н., 1995; Кобринский Б.А. и соавт., 1995; Leung D.Y. e.a., 1995; Гасич Н.А., 1996; Адо В.А. и соавт., 1997]. Ключевая роль в развитии АЗ принадлежит генетически-детерминированному дисбалансу Т-лимфоцитов с повышением функциональной активности CD4⁺-клеток с фенотипом Th2 и реактивным механизмом иммунных реакций [Romagnani S., 1992; Romagnani S., 1994; Mosman T.R. e.a., 1996; Kay A.B., 1997; Levy F. e.a., 1997; Bodner C., 1999; Yang X. et al., 1999; Главинская Т.А. и соавт., 2000]. Согласно современным представлениям, различные факторы окружающей среды определяют фенотипическую характеристику генетически обусловленной предрасположенности к формированию атопии, и поэтому АЗ относят к мультифакторным, подчеркивая тем самым, комплексное значение наследственных и внешнесредовых факторов в формировании этих болезней [Holt P. e.a., 1995; Newman-Taylor A., 1995; Cookson W.O.S.M., e.a. 1997, 1999; Bjorksten B., 1999; Градинаров А.М. и соавт., 2000; Naspitz C.K. e.a., 2001].

С развитием медицинской науки в изучении вопросов патогенеза АЗ появляются все новые аспекты. В последние годы многие исследователи уделяют внимание изучению внешнесредовых факторов, усиливающих реализацию наследственной детерминанты АЗ. В связи с этим растет научный и практический интерес к изучению влияния на организм человека как изолированных, так и различных микст-инфекций [Martinez F.D., 1994; Shaheen S.O. e.a., 1996; Holt P.G. e.a., 1997; Martinati L.C. e.a., 1997; Boner A.L. e.a., 1997; Matricardi P.M. e.a., 1997; Shearer G.M. e.a., 1997; Martinez F.D. e.a., 1999; Yang X. e.a., 1999; Bodher C. e.a., 2000; Patrick G., 2000; von Hertzen L.C. e.a., 2000].

Исследованиями последних лет установлено, что некоторые инфекции достаточно широко распространены в популяции. Так вирус простого герпеса встречается в 82% случаев (M. Hashido et al., 1988), токсоплазмой инфицировано от 4 до 68% населения (Чебуркин А.В. и соавт. 2000), хламидии обнаружены более чем у 60% взрослого населения (Von L. Hertzen et al., 1999; Mills G.D. et al., 2000), серопозитивность к цитомегаловирусу (ЦМВ) у подростков составляет 10-15% и повышается примерно до 40-50% к 35-летнему возрасту, превышая 60% у лиц старше 65 лет (A.T. Borchers et al., 1999). Данные результаты определяют необходимость учета роли условно-патогенных инфекций в течении хронических соматических болезней человека.

Принимая во внимание снижение эффективности противоинфекционной защиты у больных-атопиков, связанную прежде всего с дефицитом клеточных факторов иммунитета, можно ожидать усиление актуальности этих инфекций при атопии.

Несмотря на активное изучение механизмов атопии в целом и взаимосвязи ее с различными инфекциями, до настоящего времени данная проблема остается недостаточно исследованной. В частности, в литературе нет данных об особенностях течения реактивных реакций у больных атопическими заболеваниями, инфицированных вирусом простого герпеса и микст-инфицированных. До конца не понятно, какое влияние оказывает инфицирование на течение атопических болезней у человека.

Таким образом, оценка вклада инфекций как факторов риска при атопических заболеваниях является актуальной. Изучение роли инфицирования пациентов-атопиков вирусом простого герпеса и другими инфекциями в механизмах реактивного ответа имеет несомненное научное и практическое значение.

Цель исследования. Установить особенности реактивного ответа у больных атопическими заболеваниями в связи с инфицированием вирусом простого герпеса и микст-инфекциями, а также определить вклад инфекционных патогенов в клинические проявления атопии.

Задачи исследования

1. Дать клинико-эпидемиологическую характеристику больных, страдающих атопическими заболеваниями, в зависимости от фактора инфицирования вирусом простого герпеса, цитомегаловирусом, кандидами, стафилококком, токсоплазмой, листериями, хламидиями и гельминтами.

2. Оценить состояние клеточного и гуморального иммунитета у больных atopическими заболеваниями, серонегативных и сероположительных к вирусу простого герпеса, цитомегаловирусу, кандидам, стафилококку, токсоплазме, листериям, хламидиям и гельминтам.

3. Определить уровень реагиновых антител у обследованных пациентов в зависимости от структуры atopических заболеваний, факторов риска и инфицирования вирусом простого герпеса и микст-инфицирования.

4. Установить роль вируса простого герпеса, цитомегаловируса, кандид, стафилококка, токсоплазмы, листерий, хламидий и гельминтов в развитии atopии.

Положения, выносимые на защиту

1. Инфицирование вирусом простого герпеса пациентов-atопиков ассоциировано с достоверно высоким уровнем IgE в сыворотке крови, с расширением спектра atopических заболеваний и увеличением числа больных atopическими заболеваниями. Инфицирование вирусом простого герпеса является значимым фактором риска неблагоприятного течения atopических заболеваний.

2. Различные инфекции вносят неравнозначный вклад в реагиновый ответ у пациентов-atопиков. Инфицирование цитомегаловирусом, кандидами и хламидиями способствует неблагоприятному течению atopических заболеваний.

Научная новизна. Получены новые данные о роли вируса простого герпеса в развитии реагинового иммунопатологического ответа в зависимости от напряженности противоинфекционного иммунитета по этой инфекции. Установлено, что инфицирование вирусом простого герпеса пациентов-atопиков ассоциировано с достоверно высоким уровнем IgE в сыворотке крови, расширением спектра АЗ и увеличением числа больных АЗ в сравнении с неинфицированными atopиками. Таким образом, доказано, что инфицирование вирусом простого герпеса является значимым фактором риска неблагоприятного течения atopических заболеваний.

Приоритетными являются результаты, характеризующие влияние микст-инфицирования на реагиновый ответ у пациентов-atопиков. Показано, что вклад различных инфекций ассоциирован с тканевой принадлежностью IgE-зависимого воспаления, т.е. различные инфекции предрасполагают к поражению разных органов и тканей в процессе формирования АЗ. Кроме того, установлены дифференцированные механизмы влияния на IgE-ответ у больных atopическими заболеваниями, инфицированных разными инфекциями. Так, стимулируют IgE-ответ

у пациентов атопиков цитомегаловирус, вирус простого герпеса, кандиды и хламидии. Напротив, подавление продукции IgE-ответа у пациентов-атопиков ассоциировано с гельминтозом.

Теоретическая и практическая значимость работы. Получены новые эпидемиологические данные, касающиеся распространенности инфицирования микробно-вирусными ассоциациями, а также гельминтами и патогенными грибами у пациентов, страдающих атопическими заболеваниями. Результаты исследования обосновывают новые знания о роли инфекций, как факторов риска формирования и течения атопических заболеваний, что может быть использовано в разработке концепций первичной и вторичной профилактики аллергии и атопических заболеваний.

Внедрение результатов работы. Предложенная диагностика по полной клинико-anamnestической и серологической программе больных атопическими заболеваниями внедрена в Центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями г. П-Камчатского, включена в состав комплексного обследования в детской клинике СГМУ и областной детской больнице г. Томска. Полученные новые знания о роли инфекций, как факторов риска формирования и течения атопических заболеваний, внедрены в учебный процесс на педиатрическом, лечебном и медико-биологическом факультетах СГМУ.

Апробация работы. Основные положения и выводы диссертации докладывались и обсуждались на совместном теоретическом семинаре кафедры патологической физиологии и педиатрии, на третьем конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2002), четвертом Сибирском Физиологическом Съезде (Новосибирск, 2002), конференции молодых ученых СО РАМН по проблемам фундаментальной и прикладной медицины (Новосибирск, 2002), VI Всероссийской научной конференции «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2002), проблемной комиссии по патологической физиологии СГМУ.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 статей.

Работа выполнена на кафедрах патологической физиологии и факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета СГМУ. Набор материала осуществлен в Центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями г. П-Камчатского за период с 1997 по 1999 год.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 191 странице машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 16 рисунками и 50 таблицами. Библиографический указатель включает 266 источников, из них 102 отечественных и 164 зарубежных.

Материалы и методы исследования. Проведено наблюдательное изучение факторов риска в дизайне популяционного исследования «случай-контроль» в базисной группе из 3813 человек, которые прошли лабораторное обследование в Центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями г. П-Камчатского (главный врач Э.А. Ломан) за период с 1997 по 1999 год. На базе этой группы рандомизированным способом (электронная таблица случайных чисел) была сформирована репрезентативная выборка из 293 пациентов-атопиков, в возрасте от 3 до 60 лет, обследованных по полной клинико-anamnestической и серологической программам, из них детей - 63 чел. Для исключения систематической ошибки из представителей базисной популяции была сформирована также контрольная группа - 207 чел., в возрасте от 3 до 60 лет., из них детей - 47 чел. Критериями включения в группу контроля были отсутствие АЗ и семейного atopического анамнеза. Для обеспечения надежного сравнения проведена последующая стратификация данных популяционной выборки (идентичность по возрасту, полу, диагнозу и в соответствии с результатами диагностики инфекций).

Иммунологическое обследование проводили у пациентов в период ремиссии (межприступный период) и интерпретировали с учетом возрастных особенностей. Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая в утреннее время натощак. Определение комплекса показателей периферической крови (иммунограммы) включало в себя оценку гуморального, клеточного, фагоцитарного иммунитета и системы комплемента.

Изучение состояния клеточного звена иммунитета, (Т-лф, Т-хелперов, Т-супрессоров (цитотоксических лимфоцитов), В-лф, с постановкой серии нагрузочных тестов для оценки физиологической активности клеток) осуществлялось микрометодом розеткообразования, основанном на взаимодействии мембранных рецепторов лимфоцитов с эритроцитами мыши и барана, в модификации К.А. Лебедева и И.Д. Понякиной (1988). Для оценки неспецифических факторов иммунитета изучались показатели фагоцитоза: адгезия и фагоцитарная активность нейтрофилов – методом розеткообразования в модификации К.А. Лебедева и И.Д. Понякиной (1988), и метаболическая активность - НСТ-тестом в спонтанном и

стимулированном варианте с использованием зимозана. Система комплемента по параметрам СН-50 (определение титра, выраженное в гемолитических единицах, соответствующее 50% гемолизу эритроцитов барана) и компонентов комплемента (в реакции гемагглютинации, обусловленной избирательной инактивацией индивидуальных компонентов в сыворотке, восполняемой белками компонентов комплемента исследуемой системы) анализировалась унифицированными методами. Исследование гуморального звена иммунитета заключалось в определении концентрации IgA, IgM, IgG методом радиальной иммунодиффузии в геле по Manchini (1970), IgE общего - методом иммуноферментного анализа (ИФТС, НПО «Аллерген», г. Ставрополь), титра гетерофильных антител – ТГА - по реакции гемагглютинации Пауля-Буннеля в модификации С.С. Гинда. Концентрация ЦИК в сыворотке крови определялась в реакции с ПЭГ-6000 экспресс-турбидиметрическим методом, основанном на селективной преципитации комплексов антиген-антитело в 3,75% растворе ПЭГ с последующим фотометрическим определением плотности преципитата. Определение специфических антител к инфекциям – герпесу, токсоплазме, цитомегаловирусу, гельминтам, хламидиям, кандидам проводилось твердофазным иммуноферментным анализом тест-системами ЗАО «Вектор-Бест». Количество антител устанавливали оптическим сканированием интенсивности окраски конечного продукта. Напряженность инфекционного иммунитета к стафилококку и листериям оценивалась по титру антител в реакции прямой гемагглютинации. Итогом обследования был анализ положительных и отрицательных тестов к различным видам инфекций, позволяющий уточнить диагностическое значение уровней антител классов IgG и IgM при различных вариантах инфицирования, сочетанных заболеваниях и у практически здоровых детей и взрослых. Напряженность инфекционного иммунитета расценивалась по следующим критериям: отрицательный результат (0) – серонегативный пациент; от 0 до 4 – небольшой уровень АТ, свидетельствующий лишь об иммунных антителах (памяти) у больного; от 4 до 6 - низкотитражные результаты, которые свидетельствовали об умеренном напряжении инфекционного иммунитета, и значения выше 6 расценивались как высокотитражные.

Статистическая обработка полученных результатов проведена на компьютере с использованием пакета прикладных статистических программ Excel 7.0 и Statistica 5.5a. Проверку нормальности выборок проводили с помощью оценок коэффициентов асимметрии и эксцесса, а также критерия Колмогорова-Смирнова.

Достоверность различий для зависимых и независимых выборок между двумя средними оценивалась по критерию Стьюдента (t). Степень связи между изучаемыми признаками определялась с помощью коэффициента корреляции (r) по формуле Пирсона, для количественных данных. Различия сравниваемых показателей принимались за достоверные результаты при $p < 0,05$. В процессе анализа результатов были использованы методы вариационной статистики и многомерного аналитического исследования.

Результаты исследования и их обсуждение

Наибольшей по численности была группа больных atopическими заболеваниями - 293 чел. - в возрасте от 3 до 60 лет, из них детей было 63. Atopическая конституция пациентов была подтверждена в ходе изучения анамнеза, клинико-лабораторного обследования пациентов. Так, отягощенная наследственность по atopическим заболеваниям установлена у 87,7% обследованных. Были выявлены внешнесредовые факторы, способствующие реализации генетической предрасположенности в atopические заболевания: патология неонатального периода - у 43,7%, отсутствие грудного вскармливания - у 75%, указания на пищевой характер провоцирующих факторов манифестации atopических заболеваний - у 27,4%, на наличие аллергенов жилых помещений - у 15,7% обследованных пациентов. Частыми респираторными заболеваниями страдали 54,9% больных-atopиков. Atopический характер заболеваний в этой группе пациентов подтвержден характерными возрастными пиками манифестации основного заболевания у детей к 3 годам и в период 8-15 лет, у взрослых - в 16-25 лет. Важным является наличие специфических триггеров, приводящих к обострениям atopических заболеваний в характерные возрастные сроки: у детей - острые респираторные заболевания, бытовые, пищевые и аэроаллергены, у взрослых - пищевые, бытовые, профессиональные и лекарственные аллергены.

Структура АЗ основной выборки (293 чел.) была представлена широким спектром болезней (Рис. 1).

Выявлены следующие нозологии у обследованных лиц: поллиноз - у 10,9%, крапивница - у 34, atopический дерматит - у 32,4%, бронхиальная астма - у 13,0%, аллергический ринит - у 12,6%, сочетание пищевой и лекарственной аллергии - у 8,9%. У 31 человека была установлена сочетанная патология, комбинированные варианты atopических заболеваний респираторного тракта: сочетание бронхиальной астмы и аллергического ринита - у 8,2%, бронхиальной астмы и поллиноза - у 2,4% пациентов.

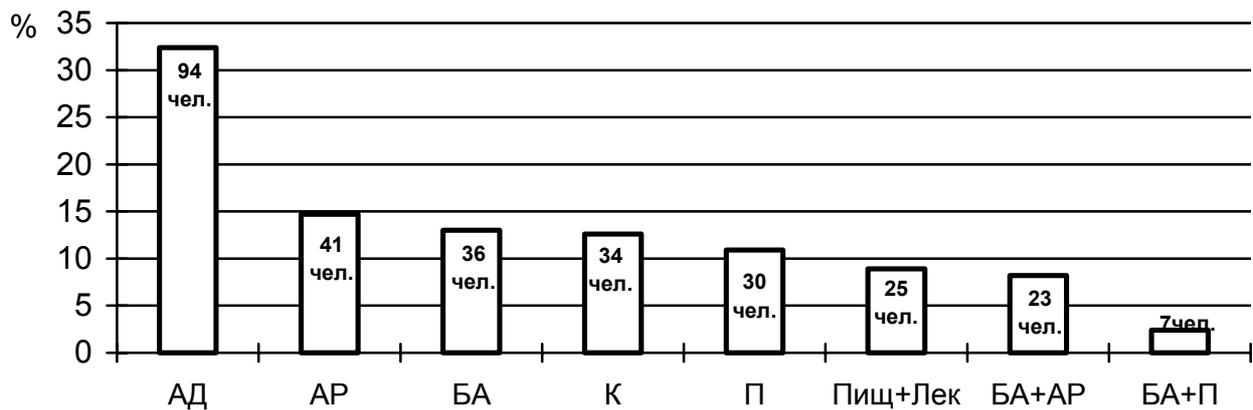


Рис. 1. Структура atopических заболеваний (293 чел.). АД - atopический дерматит, АР - аллергический ринит, БА - бронхиальная астма, БА+П - бронхиальная астма в сочетании с поллинозом, БА+АР - бронхиальная астма в сочетании с аллергическим ринитом, Пищ+Лек - пищевая аллергия в сочетании с лекарственной.

Известно, что развитие АЗ связано с IgE-опосредуемыми иммунопатологическими реакциями и наличием эозинофилии крови. В общих анализах крови обследованных пациентов-атопиков выявлено достоверное повышение количества эозинофилов ($658,87 \pm 32,68$), что является биологическим маркером atopического процесса. Результаты оценки гуморального иммунитета у детей и взрослых основной группы показали достоверно высокую концентрацию IgE ($445,06 \pm 48,57$ МЕ/мл) в сыворотке крови. Последнее обстоятельство также подтверждает atopический характер заболевания и согласуется с данными других авторов.

Таким образом, анамнестические, клинические и лабораторные данные подтверждают atopическую конституцию заболеваний у пациентов основной группы.

В соответствии с дизайном данного исследования «случай-контроль» была сформирована контрольная группа пациентов, не имеющих atopических заболеваний, в которую вошли 207 чел., в возрасте от 3 до 60 лет, из них детей - 45 чел. В семейном анамнезе atopических заболеваний не зарегистрировано ни у одного из обследованных пациентов. Анализируя анамнестические данные взрослых и детей контрольной группы, можно отметить, что не установлено патологии неонатального периода у 72,3% пациентов, почти 1/2 детей получала грудное вскармливание, и только 19,0% страдали частыми респираторными

заболеваниями. Наряду с этим по результатам исследования периферической крови (абсолютное количество эозинофилов = $218,21 \pm 43,34$) и гуморального иммунитета (IgE = $35,09 \pm 2,63$ МЕ/мл) обследуемые лица контрольной группы не имели патологических изменений.

Таким образом, анамнестические, клинические и лабораторные данные подтверждают патогенетическую однородность, и отсутствие атопии и atopического анамнеза у пациентов контрольной группы.

В связи с тем, что в задачи исследования входило изучение особенностей реактивного иммунопатологического ответа у больных atopическими заболеваниями с сопутствующей герпес-вирусной инфекцией и оценка роли микст-инфекций в клинических проявлениях атопии, пациенты были разделены на соответствующие подгруппы. Одну подгруппу составили пациенты-атопики, имеющие антитела только к вирусу простого герпеса («А3+ВПГ+» - 66 чел.), во вторую вошли больные atopическими заболеваниями, серонегативные в отношении вируса простого герпеса («А3+ВПГ-» - 43 чел.), больные с микст-инфекциями определили третью подгруппу («А3+ микст» - 184 чел.). Контрольная группа также была разделена аналогичным образом на подгруппы с наличием антител к вирусу простого герпеса («А3-ВПГ+» - 134 чел.) и с отрицательным результатом выявления антител к этому вирусу («А3-ВПГ-» - 73 чел.).

Пациенты вышеназванных групп были обследованы в соответствии с программой данной работы, полученные результаты были обобщены, проанализированы и сформулированы в виде двух основных положений.

Положение 1. Инфицирование вирусом простого герпеса пациентов-атопиков ассоциировано с достоверно более высоким уровнем IgE в сыворотке крови, расширением спектра atopических заболеваний и увеличением числа больных-атопиков. Инфицирование вирусом простого герпеса является значимым фактором риска неблагоприятного течения atopических заболеваний.

В подтверждение данного положения первоначально была проведена сравнительная оценка данных анамнеза в подгруппах больных atopическими заболеваниями с положительными «А3+ВПГ+» и отрицательными «А3+ВПГ-» результатами обследования на вирус простого герпеса.

Известно, что в развитии atopических заболеваний важное значение отводится наследственной предрасположенности и внешнесредовым факторам. Воздействие факторов риска «достаточной силы» (значимости) может привести к манифестации atopических заболеваний при отсутствии генетических предикторов. Так, в рамках выполненной работы число больных с неотягощенной наследственностью было выше в группах с инфекциями «АЗ+ВПГ+» (18,6%) и «АЗ+микст» (12,0%), чем у пациентов, не имеющих диагностически значимых иммунных антител (4,6%).

Что касается других внешнесредовых факторов, таких как патология неонатального периода, характер вскармливания до года, участие пищевых и бытовых аллергенов в инициации первых проявлений болезни, то по этим характеристикам группы «АЗ+ВПГ+» и «АЗ+ВПГ-» были сопоставимы.

При сравнительном анализе atopических заболеваний в изучаемых подгруппах было установлено, что у пациентов, страдающих atopическими заболеваниями и серонегативных в отношении вируса простого герпеса, были отмечены всего 5 нозологий с преобладанием atopического дерматита (54,5%) и отсутствием комбинированных форм атопии (Рис.2). У atopиков, имеющих антитела к вирусу простого герпеса, добавились комбинированные варианты atopических заболеваний, и увеличилось число больных. Число atopиков еще более увеличилось при наличии микст-инфицирования.

При анализе сопутствующих заболеваний у пациентов-atопиков было установлено, что частота их диагностики выше в группе больных «АЗ+ВПГ+» в сравнении с серонегативными в отношении ВПГ пациентами-atопиками (табл. 1). Это характеризует ВПГ-инфекцию как фактор риска неблагоприятного течения атопии.

Для выявления закономерностей, которые трудно поддаются количественному описанию и которые сложно обнаружить с помощью одномерных вычислительных процедур, мы использовали многомерные аналитические исследования по следующим переменным: триггеры, уровень IgE, структура АЗ. Изучая показанные (Рис. 3*, 4*) ниже категоризованные графики в зависимости от результатов регистрации антител к инфекциям, мы получили неоднородные поверхности, свидетельствующие о влиянии инфекционной нагрузки в рамках изучаемой многомерной системы. В случае если больные были серонегативны по ВПГ, то, как показано на рис. 3* достоверно выделяется группа больных крапивницей, триггером

* См. цветную вкладку

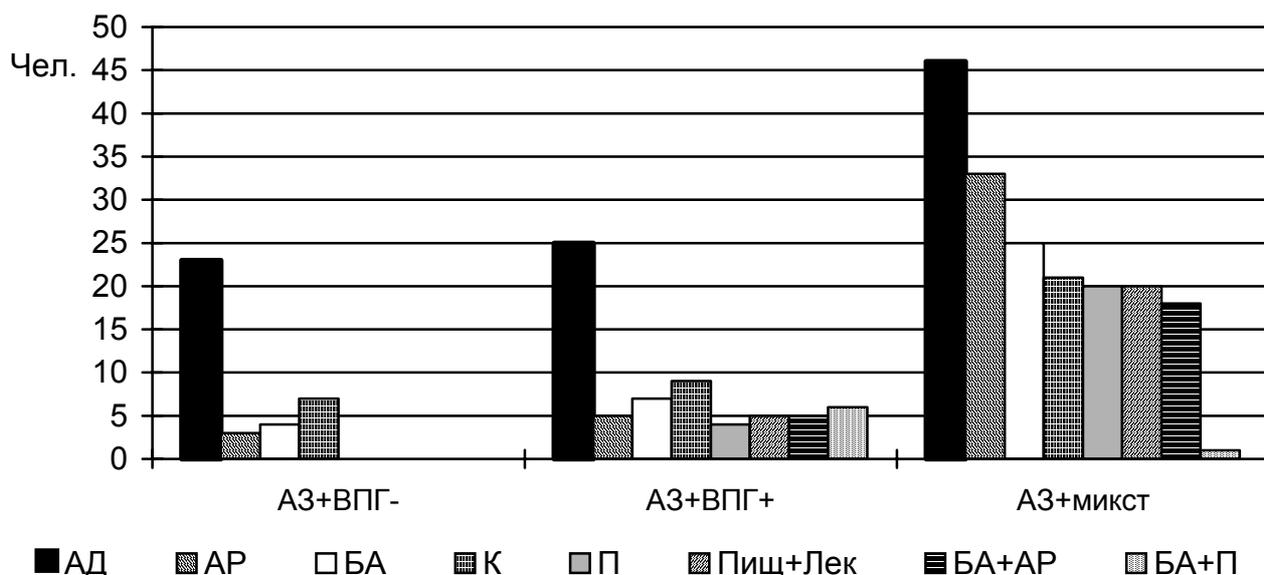


Рис. 2. Структура atopических заболеваний в зависимости от инфекционного фактора. АД - atopический дерматит, АР - аллергический ринит, БА - бронхиальная астма, БА+П - бронхиальная астма в сочетании с поллинозом, БА+АР - бронхиальная астма в сочетании с аллергическим ринитом, Пищ+Лек - пищевая аллергия в сочетании с лекарственной.

которой являются инсектные, профессиональные и бытовые аллергены с высокими уровнями IgE. Как видно на рис. 4*, у пациентов «A3+ВПГ+» достоверно выделяется область пространства, характеризующая больных БА гиперпродукцией IgE, триггером которой были аэроаллергены. В сравнении с данными рис. 3* видно, что при БА без ВПГ титры IgE в 8 раз ниже, чем при БА с ВПГ. Таким образом, данный статистический анализ подтверждает важную роль ВПГ в механизмах реактивного ответа у больных A3.

При оценке продукции реактивных антител у пациентов с atopическими заболеваниями (табл. 2) установлен достоверно более высокий уровень IgE в случаях сопутствующего инфицирования вирусом простого герпеса ($487,58 \pm 57,82$ МЕ/мл) и при микст-инфекциях ($547,82 \pm 101,97$ МЕ/мл) в сопоставлении с больными, показавшими отрицательные результаты диагностики к этому вирусу ($305,58 \pm 57,65$ МЕ/мл). Практически при всех нозологиях (за исключением крапивницы) у пациентов, страдающих atopическими заболеваниями и имеющих антитела к инфекциям, было выявлено достоверное повышение содержания IgE в сравнении с другими группами. Наибольший уровень реактивных антител был отмечен у больных

* См. цветную вкладку

Таблица 1

Характеристика сопутствующих заболеваний у пациентов, в зависимости от результатов диагностики герпес вирусной инфекции

Сопутствующие заболевания и патологические состояния	ВПГ «+», n=384 (76,8%)						ВПГ «-», n=116 (23,2%)					
	Всего		Атопики n=250, (65,9%)		Без атопии n=134, (34,1%)		Всего		Атопики n=43, (37,1%)		Без атопии n=73, (62,9%)	
	абс.	%	n	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Бесплодие	48	12,5	32	12,8	16	11,9	8	6,9	3	7,0	5	6,8
Хронические заболевания половых органов	53	13,8	35	14,0	18	13,4	18	15,5	7	16,3	11	15,1
Субфебрилитет н/э	53	13,8	24	9,6	29	21,6	8	6,9	3	7,0	5	6,8
Гепатит С	10	2,6	6	2,4	4	3,0	4	3,4	-	-	4	5,5
Гепатит В	43	11,2	21	8,4	16	11,9	10	8,6	2	4,6	8	10,9
Синдром хронической усталости	27	7,0	16	6,4	11	8,2	4	3,4	3	7,0	1	1,4
Эндокринная патология	19	4,9	10	4,0	9	6,7	4	3,4	1	2,3	3	4,1
Болезни ЖКТ	201	52,3	182	72,8	19	14,2	57	49,1	30	69,8	23	31,5
Болезни почек	43	11,2	29	11,6	14	10,4	15	12,9	7	16,3	8	10,9
Неврологические заболевания	91	23,7	31	12,4	60	44,8	15	12,9	3	7,0	12	16,4
Лимфоаденопатия	67	17,4	42	16,8	25	18,7	12	10,3	5	11,6	7	9,6
Бронхолегочная патология	234	60,9	152	60,8	82	61,2	29	25,0	19	44,2	10	13,7

Многочисленными исследованиями установлено, что ключевая роль в развитии атопических заболеваний принадлежит генетически детерминированному дисбалансу Т-лф с повышением функциональной активности CD4⁺ - клеток. В результате лимфоидные клетки, принадлежащие к Th2-клону, посредством выделяемого ими ИЛ-4 вызывают повышенное образование IgE В-лф. В связи с этим следующим этапом работы была оценка состояния клеточного и гуморального

Таблица 2

Уровень IgE в сыворотке крови у больных атопическими заболеваниями

Нозологии	IgE, МЕ/мл		
	«А3+ВПГ+»	«А3+ВПГ-»	«А3+микст»
БА	666,62±315,10**	421,08±172,21 ^{°##}	687,45±163,75**
АД	354,13±95,27	337,05±85,56 [°]	584,80±41,71**
АР	470,33±33,80 [°]	252,73±91,63 [#]	330,07±85,82 [#]
ПИЩ+ЛЕК	315,93±109,26 [°]	-	611,94±223,74 [#]
БА+АР	330,80±227,81 [°]	-	797,83±447,30 [#]
БА+Поллиноз	382,55±184,94	-	520,00±56,89
Поллиноз	400,00±64,33**	136,50±46,87 ^{°##}	324,27±86,91**
Крапивница	275,93±73,89**	626,59±260,46 ^{°##}	515,50±220,67 ^{°##}
Все	487,58±57,82 ^{°°}	305,58±57,65 ^{°##}	547,82±101,97 ^{°##}
Все	445,06±48,57		

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с «А3+ВПГ-», ** - $p < 0,01$ в сравнении с «А3+ВПГ-»; # - $p < 0,05$ в сравнении с «А3+ВПГ+», ## - $p < 0,01$ в сравнении с «А3+ВПГ+»; ° - $p < 0,05$ в сравнении с «А3+микст», $p < 0,05$, °° - $p < 0,01$ в сравнении с «А3+микст».

иммунитета у больных АЗ в зависимости от инфекционной нагрузки. При исследовании иммунного статуса детей-атопиков выявлено состояние значительного напряжения клеточного звена у всех больных (Рис. 5). Установлено ($p < 0,05$) повышение ИРИ (иммунорегуляторный индекс) и снижение ИН (индекс нагрузки) у больных в группе «А3+ВПГ+» (ИРИ = $12,52 \pm 5,65$, ИН = $0,81 \pm 0,04$) и микст-инфицированных пациентов (ИРИ = $10,52 \pm 3,13$, ИН = $0,96 \pm 0,05$) по сравнению с серонегативными к вирусу простого герпеса детьми-атопиками (ИН = $0,99 \pm 0,11$, ИРИ = $8,83 \pm 2,93$). Кроме того, у всех детей, страдающих атопическими заболеваниями, зарегистрировано достоверное снижение относительного содержания Т-лф, ЦТЛФ и повышение доли О-лф в сравнении с пациентами контрольной группы и в сравнении с установленными нормативными значениями (Рис. 6*). Установленное снижение у детей-атопиков с микст-инфекциями функционального резерва Т-лф $48,04 \pm 2,89\%$ ($p < 0,01$) различалось с аналогичным показателем у детей, имеющих антитела только к вирусу простого герпеса ($69,82 \pm 2,86\%$) и серонегативных в отношении данного вируса пациентов ($64,27 \pm 2,57\%$). У детей группы «А3+ВПГ-» доля ЦТЛФ составила $6,33 \pm 1,41\%$ ($p < 0,05$)

* См. цветную вкладку.

соответственно при $9,80 \pm 3,67\%$ группы «А3+ВПГ+» и $9,45 \pm 2,21\%$ группы «А3+микст». Корреляционный анализ в группе детей «А3+ВПГ+» выявил отрицательную сопряженность между IgG к ВПГ и Е-РОН-теоф ($r = -0,62$, $p < 0,05$), положительную - между IgM к ВПГ и ИН ($r = 0,50$, $p < 0,05$) (Рис.8).

Характеризуя клеточный иммунитет популяции взрослых с atopическими заболеваниями у всех обследованных обнаружили снижение доли ЦТЛФ и Е-РОЛ-теоф, коэффициента ИН и повышение ИРИ в сравнении с пациентами контрольной группы и с установленными нормативными значениями (Рис. 5, 7*, 8). У взрослых с микст-инфекциями, страдающих АЗ, также как и у детей, на фоне максимальной антигенной нагрузки, отмечено снижение функционального резерва Т-лф - $42,62 \pm 2,38$ ($p < 0,01$) в сравнении с пациентами групп «А3+ВПГ-» - ($66,62 \pm 2,30$) и «А3+ВПГ+» ($67,43 \pm 1,89$). Зарегистрированы ($p < 0,05$) высокий ИРИ и низкий ИН у взрослых в группе «А3+ВПГ+» (ИРИ = $6,20 \pm 2,02$, ИН = $0,83 \pm 0,04$) и у микст-инфицированных пациентов (ИРИ = $5,58 \pm 1,36$, ИН = $0,73 \pm 0,04$) по сравнению с серонегативными к вирусу простого герпеса взрослыми-атопиками (ИН = $0,93 \pm 0,05$, ИРИ = $4,77 \pm 1,23$).

При рассмотрении неспецифических факторов защиты у atopиков, можно отметить нарушение функциональной активности фагоцитирующих клеток, характеризующееся истощением фагоцитарного резерва и угнетением фагоцитоза (Рис. 9). Так, у всех детей были снижены ($p < 0,05$) показатели адгезии, ФАН (фагоцитарная активность нейтрофилов), КФМА (коэффициент ферментативной метаболической активности) и повышены ИФ (индекс фагоцитоза) в выборках «А3+ВПГ+» (адгезия = $41,50 \pm 3,03\%$, ФАН = $45,36 \pm 2,24\%$, КФМА = $0,25 \pm 0,09$, ИФ = $437,60 \pm 87,06$) и «А3+ микст» (адгезия = $43,68 \pm 1,55\%$, ФАН = $44,65 \pm 1,53\%$, КФМА = $0,19 \pm 0,04$, ИФ = $546,29 \pm 32,58$) в сравнении с пациентами-атопиками, не имеющими инфекционной нагрузки. У взрослых, страдающих atopическими заболеваниями, также выявлено статистически достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей адгезии, ФАН, КФМА; и повышение ИФ в группах «А3+ВПГ+» (адгезия = $42,47 \pm 1,85\%$, ФАН = $45,30 \pm 1,80\%$, КФМА = $0,21 \pm 0,03$, ИФ = $620,94 \pm 31,25$) и «А3+ микст» (адгезия = $43,65 \pm 1,37$, ФАН = $44,75 \pm 1,51$, КФМА = $0,12 \pm 0,04$, ИФ = $789,92 \pm 50,26$) при сопоставлении с больными-атопиками, серонегативными в отношении вируса простого герпеса. Корреляционный анализ в группе «А3+ВПГ+» продемонстрировал отрицательную сопряженность между IgG к ВПГ и НСТ-ИФ ($r = -0,51$, $p < 0,05$).

* См. цветную вкладку.

При сравнении показателей комплементарного звена, содержания антител классов А, М, G, уровня циркулирующих иммунных комплексов, титра гетерофильных антител у детей и взрослых, страдающих АЗ, не выявили статистически значимых изменений в изучаемых подгруппах.

Установленные изменения в иммунологическом статусе у больных в группах сравнения, а также выявленные связи между показателями гуморального и клеточного звеньев иммунитета и уровнями диагностически значимых противоифекционных антител в сыворотке крови у обследованных больных отражают патогенетическую роль изучаемых инфекций в развитии иммунологической недостаточности и механизмах влияния на реактивный иммунопатологический ответ у больных atopическими заболеваниями.

Положение 2. Различные инфекции вносят неравнозначный вклад в реактивный ответ у пациентов-атопиков. Инфицирование цитомегаловирусом, кандидами и хламидиями способствует неблагоприятному течению atopических заболеваний.

Для подтверждения этого положения первоначально была проведена сравнительная оценка напряженности инфекционного иммунитета всей выборки. Была выявлена высокая инфицированность популяции вирусом простого герпеса (76,8%) с преобладанием лиц, имеющих высокотитражные сыворотки, среди которых доля пациентов, страдающих atopическими заболеваниями и имеющих антитела к этому вирусу, составила 65,9% (250 чел.). При сравнении пациентов-атопиков, имеющих антитела к вирусу простого герпеса и серонегативных в отношении этого вируса, была установлена сопоставимая частота выявления антител к хламидиям и гельминтам. Число atopиков, серопозитивных к вирусу простого герпеса и одновременно имевших антитела к токсоплазме, стафилококку, кандидам, было в два раза больше, чем больных с отрицательным анализом к вирусу простого герпеса. Что касается инфицированности листериями, был получен противоположный результат - снижение этого показателя у серопозитивных к вирусу простого герпеса atopиков в 1,5 раза. При обследовании нами была выделена группа из 263 микст-инфицированных пациентов (73,8%), имеющих положительные результаты тестирования в отношении двух и более инфекций, включая ВПГ, из которых atopиков было 184 человека (70,0%). Было установлено, что в случае микст-инфицирования детей и взрослых, страдающих АЗ, как правило,

определялись высокие уровни антител (более 6,0) к вирусным инфекциям (ВПГ и ЦМВ). Умеренное напряжение инфекционного иммунитета, с уровнем АТ от 4,0 до 6,0 имели дети к токсоплазме, гельминтам и кандидам, а взрослые к стафилококку. Низкие уровни АТ (от 0 до 4,0) определялись у пациентов, имеющих сочетанное инфицирование к соответствующим инфекциям, причем у детей - к хламидиям, листериям и стафилококку, а у взрослых - к токсоплазме, хламидиям, листериям, гельминтам и кандидам.

Оценка вклада инфекций в реактивный ответ у пациентов была проведена в группе больных с atopическими заболеваниями, имеющих антитела к микст-инфекциям (184 чел.). Многомерное аналитическое исследование по переменным: триггеры, уровень IgE, структура АЗ у больных-атопиков с сопутствующим микст-инфицированием (рис. 10*) продемонстрировало, что максимальные титры IgE определяются при БА, независимо от провоцирующих факторов. При анализе пациентов с положительными результатами в отношении вируса простого герпеса (рис. 11) зарегистрирована зависимость структуры atopических заболеваний от напряженности инфекционного иммунитета к этому вирусу. Отмечена положительная корреляционная взаимосвязь между IgE и IgG к вирусу простого герпеса ($r=0,61$, $p<0,05$) у детей и ($r=0,62$, $p<0,05$) у взрослых.

Нами было установлено, что у серопозитивных по ЦМВ пациентов частота и спектр atopических заболеваний увеличивались с ростом титра IgG к ЦМВ (рис. 12). У серонегативных по ЦМВ-инфекции пациентов (всего 9 чел. - 6,6%) были зарегистрированы только поллиноз и аллергический ринит, у серопозитивных лиц с уровнем антител выше 4,0 (114 чел. - 83,2%) были представлены все нозологические формы atopии. Корреляционный анализ антител класса G к ЦМВ, при коэффициенте позитивности, превышающем 4, выявил сопряженность с IgE у детей ($r=0,57$, $p<0,05$) и у взрослых ($r=0,66$, $p<0,05$).

Наличие диагностических (более 4,0) уровней антител к гельминтным инвазиям у пациентов с микст-инфекциями было ассоциировано с сужением спектра нозологий atopических заболеваний (рис. 13). Значения коэффициента корреляции (r) между IgE и антителами к гельминтам у детей и взрослых продемонстрировали отрицательную сопряженность этих показателей, но были статистически достоверными лишь при коэффициенте позитивности, превышающем значения 4,1, составили -0,57 и -0,68 соответственно.

* См. цветную вкладку.

Структура atopических заболеваний зависела от напряженности инфекционного иммунитета к кандидам (рис. 14). Так при отсутствии антител к кандидам (9 чел. - 8,6%) были отмечены только две нозологии: поллиноз и atopический дерматит. Значения Ig E в пределах нормы не были выявлены у пациентов, инфицированных кандидами. Анализ корреляционных взаимосвязей продемонстрировал положительную связь средней тесноты между IgE и IgG к кандидам у детей ($r=0,59$, $p<0,05$), у взрослых-atопиков коэффициент корреляции также был статистически значим и составил 0,7.

У больных с микст-инфекциями выявлено, что с увеличением титра антител к листериям значительно уменьшалось число atopических заболеваний и менее разнообразной становилась их структура (рис. 15). Весь спектр нозологических форм atopии присутствовал у серонегативных к листериям пациентов (18 чел. - 36,7%). При небольшом уровне антител к листериям (30 чел. - 61,2%) были выявлены только три нозологии - atopический дерматит, бронхиальная астма и бронхиальная астма в сочетании с аллергическим ринитом. Диагностически значимый уровень антител был зарегистрирован только у одного пациента с крапивницей. Коэффициенты корреляции между уровнем АТ к листериям и уровнем IgE демонстрировали отрицательную сопряженность, но не были статистически значимы и составили у взрослых - 0,35, у детей - -0,44.

Характеризуя выборку больных с микст инфекциями, в зависимости от наличия антител к стафилококку (рис. 16), можно отметить небольшую тенденцию к снижению числа atopических заболеваний при повышении титра антител к данной инфекции. Но при сужении спектра нозологий было отмечено повышение числа больных с повышением уровня антител к стафилококку. Так, иммунные антитела памяти были выявлены у 21 пациента (16,5%), а диагностически значимые - у 78 больных atopическими заболеваниями (61,4%). Все нозологические формы atopий были представлены у серонегативных пациентов и у лиц с небольшим титром антител. Анализ корреляционных взаимосвязей уровня реактивных антител и антител к стафилококку не выявил значимой сопряженности у детей ($r=-0,28$, $p<0,05$) и взрослых($r=0,02$, $p<0,05$).

При анализе структуры atopических заболеваний в зависимости от наличия антител к токсоплазме установлено снижение числа больных-atопиков и сужение спектра atopических заболеваний при возрастании уровня антител к токсоплазме более 6,0 (рис. 17). Коэффициенты корреляции между IgE и IgG к токсоплазме не были статистически значимы и составили 0,06 у детей, и 0,07 у взрослых.

Наличие антител к хламидиям было ассоциировано со снижением числа нозологических форм и изменением структуры atopических заболеваний (рис. 18). У лиц с отрицательным анализом на хламидии (42,4% - 78 чел.) был представлен весь спектр atopических заболеваний. При выявлении небольшого уровня антител отметили лишь четыре нозологии: поллиноз, крапивница, atopический дерматит и комбинированный вариант пищевой аллергии в сочетании лекарственной. Диагностически значимый уровень антител к хламидиям был у 59 больных (32,1%). Положительная сопряженность средней тесноты выявлена у детей-атопиков между уровнем реагиновых антител и уровнем IgG к хламидиям ($r=0,50$, $p<0,05$), у взрослых значимой связи не выявлено ($r=-0,20$, $p<0,05$).

Итак, установлена высокая напряженность инфекционного иммунитета к условно-патогенной микрофлоре у больных-атопиков с системными формами atopии, протекающими с поражением нескольких органов одновременно, а также у пациентов-атопиков с высоким коэффициентом позитивности к вирусу простого герпеса.

Количество пациентов, у которых зарегистрированы положительные результаты обследования в отношении инфекций составило: к герпесу - 76,8%, токсоплазме - 9,2%, ЦМВ - 35,6%, кандидам - 8,9%, хламидиям - 21,2%, стафилококку - 25%, листериям - 12%, гельминтам - 16,2%. В результате сравнения инфицированности пациентов с atopическими заболеваниями, имеющих антитела к вирусу простого герпеса (253 чел, 65,9%) и серонегативных по этому вирусу (40 чел, 34,5%), было установлено наличие специфических антител к токсоплазме - у 9,1% против 5,0%, к ЦМВ - 40,7% против 27,5%, к кандидам - 27,3% против 12,5%, к хламидиям - 19,8% против 22,5% к стафилококку - 28,5% против 15,0%, к листериям - 9,9% против 15,0%, к гельминтам - 19,4% против 20,0%. Таким образом, в группе atopиков, серопозитивных к вирусу простого герпеса, количество пациентов, инфицированных ЦМВ, было в два раза больше, чем в группе серонегативных. Что касается инфицированности листериями, получен противоположный результат - снижение этого показателя в группе серонегативных atopиков в 1,5 раза. Данные результаты свидетельствуют, что на фоне персистенции вируса простого герпеса изменяется резистентность организма к другим возбудителям инфекций. Проведенное исследование показало, что оппортунистические инфекции вносят вклад в иммунопатологический реагиновый ответ и, возможно, влияют на течение atopии. Так, у обследованных пациентов инфицированность листериями (в титре, превышающем диагностический уровень), хламидиями (при коэффициенте

серопозитивности $> 4,0$) и гельминтами (при коэффициенте серопозитивности $> 4,0$) ассоциирована с достоверно более низким числом atopических заболеваний, в сравнении с группами больных, серонегативных к этим инфекциям. Пациенты с atopическими заболеваниями демонстрируют более высокий уровень инфицированности вирусом простого герпеса. Данные особенности определяют частоту развития патологических изменений и сопутствующих заболеваний у пациентов-atопиков, инфицированных вирусом простого герпеса или вирусно-микробной ассоциацией. Коэффициент позитивности к вирусу простого герпеса ассоциирован с гиперпродукцией IgE, данная закономерность начинает работать при коэффициенте серопозитивности, равном 4,0. Положительная корреляция между ними ($r=0,5$, $p<0,05$) свидетельствует о вкладе в возникновение или усиление имеющегося реактивного ответа у пациентов с atopией.

Результаты исследования дают новые знания о роли инфекций, как факторов риска формирования и течения atopических заболеваний, что может быть использовано в разработке концепции первичной и вторичной профилактики аллергии и atopических заболеваний.

Выводы

1. Течение atopических заболеваний сопровождается напряжением противоинфекционного иммунитета, что характеризуется повышением уровня специфических антител к вирусу простого герпеса, цитомегаловирусу, кандидам, стафилококку, токсоплазме и хламидиям.

2. У больных с atopическими заболеваниями (бронхиальная астма в сочетании с atopический дерматитом, аллергическим ринитом, поллинозом), инфицированных вирусом простого герпеса, а также микст-инфицированных, нарушается кооперация лимфоидных клеток в процессе иммунного ответа, что определяется снижением индекса напряженности и повышением иммунорегуляторного индекса в сравнении с неинфицированными пациентами-atопиками.

3. У пациентов, страдающих atopическими заболеваниями, протекающими на фоне инфицирования вирусом простого герпеса и микст-инфекций, нарушена функциональная активность фагоцитирующих клеток, что характеризуется истощением фагоцитарного резерва и угнетением фагоцитоза.

4. Инфицирование вирусом простого герпеса пациентов, страдающих atopическими заболеваниями, ассоциируется с гиперпродукцией IgE, расширением спектра atopической патологии и увеличением частоты регистрации atopических заболеваний.

5. У больных-atопиков при инфицировании ЦМВ, кандидами, хламидиями (у детей), активируется реагиновый иммунопатологический ответ, а при инфицировании гельминтам (*Opisthorhis felineus*, *Toxocara canis*) - угнетается.

6. У пациентов с atopическими заболеваниями, серопозитивных к вирусу простого герпеса, повышается частота сопутствующих соматических заболеваний.

Перечень работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Взаимосвязь герпесвирусной инфекции и реагинового ответа у пациентов с atopическими заболеваниями // Актуальные проблемы медицинской биологии / Сборник научных работ, посвященный 65-летию открытия кафедры биологии в Сибирском (Томском) медицинском университете. -Томск, 2002. -С. 131-135.

2. Характеристика инфекционной нагрузки при atopии // Науки о человеке / Сборник статей молодых ученых и специалистов. Томск, 2002. - С. 12.

3. Инфекционные факторы и atopия // Медицинская иммунология. - СПб, 2002. -№2. Т. 4. - С.176 / Дни иммунологии в Санкт-Петербурге 2002: Материалы 6-ой Всероссийской научной конференции с международным участием, СПб, 20-23 мая 2002 г. (совместно с Н.А. Федоренко)

4. Роль инфекций в иммунопатологическом реагиновом ответе // Проблемы фундаментальной и прикладной медицины / Сборник молодых ученых. Новосибирск, 2002. -С. (в печати)

5. Роль инфекций при atopии // Материалы IV Сибирского физиологического съезда, Новосибирск 26-28 июня 2002 г. (в печати)

6. Роль инфекции, вызванной вирусом простого герпеса, и микст-инфекций при atopии // «Бюллетень сибирской медицины». - Томск, 2002 (в печати), (совместно с Л.М. Огородовой)

Список сокращений

АД – атопический дерматит

АЗ – атопические заболевания

АР – аллергический ринит

БА – бронхиальная астма

БА+АР - бронхиальная астма в сочетании с аллергическим ринитом

БА+П - бронхиальная астма в сочетании с поллинозом

ВПГ - вирус простого герпеса

К - крапивница

П - поллиноз

Пищ+Лек – пищевая аллергия в сочетании с лекарственной

ЦТЛФ - цитотоксические лимфоциты

ЦМВ - цитомегаловирус

IgE - иммуноглобулин E

Th - Т - хелперы

Автор выражает глубокую признательность и искреннюю благодарность за поддержку, ценные теоретические и методические рекомендации, и неоценимую помощь в работе над диссертацией научному руководителю - д.м.н., профессору, зав. каф. факультетской педиатрии с курсом детских болезней л/ф, проректору по НИР Л.М.Огородовой и д.м.н., чл.-корр. РАМН, профессору, зав. каф. патофизиологии, ректору СГМУ В.В.Новицкому.

Отпечатано в лаборатории

оперативной полиграфии СГМУ

г. Томск, Московский тракт 2

Заказ № _____

Тираж _____ экз.