

БЫЧКОВА

Елена Юрьевна

**ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ
У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ
(ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)**

14.00.30 - эпидемиология

14.00.36 - аллергология и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Омской государственной медицинской академии

Научный руководитель:

доктор медицинских наук
доктор медицинских наук

Долгих Татьяна Ивановна
Далматов Виктор Васильевич

Официальные оппоненты:

заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

доктор медицинских наук

Теплова Светлана Николаевна
Рудаков Николай Викторович

Ведущая организация: ГУ «Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи
РАМН»

Защита состоится «_____» _____ 2003 г. в _____ часов на заседании
диссертационного совета Д 208.065.03. в Омской государственной
медицинской академии по адресу: 644099 г. Омск, ул. Ленина, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Омской государственной
медицинской академии.

Автореферат разослан «_____» _____ 2003г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Р.Н. Готвальд

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Оппортунистические инфекции являются маркерами иммунологического неблагополучия и развиваются у иммунокомпрометированных лиц, к которым отнесены и больные злокачественными новообразованиями (Кадагидзе З.Г., 1999; Gitelson E., 2002). Инфекции у таких пациентов протекают тяжело и могут послужить дополнительной причиной их гибели (Исаков В.А., 1999; Новиков В.И., 1999; Petridou E., 2001). Клиническая диагностика оппортунистических инфекций у онкологических больных затруднена, поскольку их основные проявления: астенический синдром, лихорадка, лимфаденопатия, гепатоспленомегалия - расцениваются либо как проявления злокачественного новообразования, либо как осложнения проводимой терапии (Wanke B., 2000), что выдвигает на первый план лабораторные методы обследования (Каражас Н.В., 1998; Долгих Т.И., 1999).

Среди оппортунистических инфекций лидирующую позицию занимает цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) в связи с широким распространением. От 40 до 100% населения имеют серологические признаки перенесенной в прошлом ЦМВИ (Каражас Н.В., 1997; Polz-Dacewicz M., 2002). Эпидемиологическими исследованиями, проведенными в Омской области в 1992-2001 гг., установлено, что инфицированность цитомегаловирусом (ЦМВ) взрослого населения составляет $76,1 \pm 1,02\%$ случаев, а онкологических больных - 100 % (Долгих Т.И., 2000). В связи с этим, определенный научный интерес представляет изучение особенностей течения ЦМВИ у больных на этапах противоопухолевой терапии.

Наряду с ЦМВИ, для установления возможного вклада в формирование патологии наше внимание привлекла инфекция, вызываемая парвовирусом *B19* (*PV B19*). У онкологических больных этот вирус может быть причиной развития анемии и тромбоцитопении (Ягужинская О.Е., 2001; Heegaard E.D., 2002). Серологические признаки перенесенной парвовирусной (*B19*) инфекции выявляются у 30-50% взрослого населения (Sodja I., 1996). *PV B19* демонстрирует большой спектр клинических проявлений разной степени тяжести, что зависит от иммунореактивности организма (Rooyogawan Y., 2000). До начала наших исследований мы не располагали данными о распространенности парвовирусной (*B19*) инфекции на территории Омской области и посчитали целесообразным провести эпидемиологическое исследование, прежде всего, среди больных с онкопатологией.

Поскольку у онкологических больных на фоне лечения нередко развиваются воспалительные заболевания органов дыхания, то следующее направление исследований было посвящено изучению их инфицированности *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) на этапах противоопухолевой терапии. Персистируя в фагоцитирующих клетках, возбудитель заносится в разные органы, что приводит к хронизации и медленному течению инфекционного процесса, при этом формируются нарушения в цитокиновой системе (Lieberman D., 1997; Hardy R.D., 2001; Yang J., 2002). У взрослых респираторный

микоплазмоз в ряде случаев развивается параллельно с ЦМВИ (Condorelli F., 1993).

Особое внимание мы уделили больным меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ), которые относятся к группе иммунозависимых, а также микст-инфекции как наименее изученному варианту инфекционного процесса. Кроме того, возникла необходимость разработки системы эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями в группе онкологических больных. Вышеизложенные проблемные вопросы во многом определили основную направленность наших исследований.

Цель работы - оптимизировать диагностику, лечение и профилактику оппортунистических инфекций у больных злокачественными новообразованиями на основе изучения эпидемиологических и иммунологических особенностей их течения.

Основные задачи:

1. Изучить распространенность ЦМВИ, парвовирусной (*B19*) инфекции вызванной *M. pneumoniae*, у онкологических больных в Омском регионе.
2. Изучить иммунологические особенности течения оппортунистических инфекций у онкологических больных в зависимости от распространенности злокачественного процесса и на этапах противоопухолевой терапии.
3. Охарактеризовать основные проявления эпидемического процесса на примере ЦМВИ, выявив факторы риска развития заболевания.
4. Разработать систему иммунологического и эпидемиологического мониторинга оппортунистических инфекций у онкологических больных.

Научная новизна. Впервые изучена распространенность среди больных меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями оппортунистических инфекций (активно протекающей ЦМВИ, парвовирусной (*B19*) инфекции и инфекции, вызванной *M. pneumoniae*) в зависимости от выраженности иммунодефицита, содержания цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-4) и острофазного белка лактоферрина на этапах противоопухолевой терапии. Установлено, что микст-инфекция ЦМВ, PV *B19* и *M. pneumoniae* приводит к формированию тяжелой сопутствующей патологии, при этом респираторный микоплазмоз присоединяется на последних этапах терапии. Доказано, что лактоферрин может выступать в качестве дополнительного маркера при дифференциальной диагностике моно- и микст-инфекции. Получены данные об изменении активности ЦМВИ на этапах противоопухолевой терапии больных ЛПЗ. Разработаны подходы к формированию системы эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями у онкологических больных.

Теоретическое значение работы состоит в обосновании роли изменений иммунного статуса и продукции цитокинов в патогенезе оппортунистических инфекций. Для каждой нозологии – меланомы и ЛПЗ – определен характер иммунных нарушений и установлены особенности иммунорективности при моно- и микст-инфекции.

Практическое значение работы состоит в обосновании необходимости углубленного обследования пациентов с иммунозависимыми

злокачественными новообразованиями (меланомой и ЛПЗ) на оппортунистические инфекции как до начала противоопухолевой терапии, так и на этапах лечения с использованием современных лабораторных технологий. Разработан оптимальный алгоритм обследования онкологических больных, что дает возможность сократить материальные затраты на диагностику оппортунистических инфекций и иммунологические исследования. Результаты исследования применяются в учебном процессе кафедр онкологии и эпидемиологии Омской государственной медицинской академии (ОмГМА), в лечебно-диагностической работе Омского областного онкологического диспансера и Академического центра лабораторной диагностики, а также в научно-исследовательской работе, проводимой на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ОмГМА.

Положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Ведущим проявлением иммунной дисфункции у онкологических больных является инфекционный синдром. Имеет место 100% инфицированность онкологических больных ЦМВ, при этом реактивация ЦМВИ наблюдается у 30,8% больных меланомой и 63,9% больных ЛПЗ. Антитела к РV В19 выявляются в 23,53% и 58,06%, антитела к М. рneumoniae в 30,77% и 29,27% случаях при меланоме и ЛПЗ соответственно.

2. У больных меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями на фоне выраженной иммунной дисфункции и изменений цитокинового статуса оппортунистические инфекции протекают преимущественно в виде микст-инфекций.

3. Факторами риска развития ЦМВИ являются: степень выраженности иммунодефицита, микст-инфекция, распространенность опухолевого процесса, этап противоопухолевой терапии.

4. Эпидемиологический и иммунологический мониторинг оппортунистических инфекций у онкологических больных должен проводиться на этапах противоопухолевой терапии. Основными уровнями профилактики оппортунистических инфекций у онкологических больных являются вторичный и третичный, позволяющие влиять на развитие осложнений злокачественного процесса и противоопухолевой терапии.

Апробация работы и публикации. Результаты исследований доложены: на IV конференции молодых ученых «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной онкологии» (г. Москва, 2003); на IV межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения» (г. Омск, 2003); на объединенном заседании Проблемной комиссии и Ученого Совета Омской государственной медицинской академии (г. Омск, 2003).

По материалам диссертации опубликовано 8 работ на русском языке.

Объем и структура диссертации. Материал изложен на 159 страницах машинописного текста, иллюстрирован 15 таблицами и 9 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, приложения и списка литературы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика больных и методы исследования. В работе представлены результаты обследования 360 больных злокачественными новообразованиями, проходивших лечение и диспансерное наблюдение в областном онкологическом диспансере г. Омска в 1996 - 2003 гг. Группу больных иммунозависимыми новообразованиями (Трапезников Н.Н., 1996; Фрадкин С.З., 2000) составили больные меланомой – 67 человек и ЛПЗ: 30 больных лимфогрануломатозом и 19 больных различными вариантами неходжкинских лимфом. В группу больных иммунонезависимыми злокачественными новообразованиями вошли 244 пациента. У всех больных диагноз злокачественного новообразования был верифицирован гистологически и сформулирован в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), принятой 43-й Всемирной Ассамблеей Здравоохранения (1996). Среди них были 166 мужчин и 194 женщины в возрасте от 16 до 74 лет; средний возраст пациентов - $44,57 \pm 13,85$ года. Контрольную группу составили 852 донора.

Оценку иммунного статуса у онкологических больных с целью выявления характера иммунной дисфункции проводили при помощи стандартизированных методик (Петрова И.В., 1984). Изучались количественные и функциональные показатели клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев, уровни ключевых провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и острофазного белка - лактоферрина. Анализ кислородного метаболизма нейтрофилов проводили с помощью НСТ-теста (Нагоев Б.С., 1981). Гуморальное звено иммунитета оценивали по содержанию IgG, IgM, IgA (Mancini G., 1985) и циркулирующих иммунных комплексов - ЦИК (Гриневич Ю.А., 1981). Чувствительность иммунокомпетентных клеток к антигенам (ФГА) оценивали в реакции торможения миграции лейкоцитов - РТМЛ (Лебедев К.А., 1990). «Натуральные» клетки-киллеры или большие гранулярные лимфоциты (БГЛ) определяли морфологически (Шпарик Я.В., 1988). Фенотипический состав лимфоцитов периферической крови оценивали по наличию мембранных дифференцировочных и активационных антигенов в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РИФ) с использованием моноклональных антител (НПО «Препарат», г. Нижний Новгород) к следующим детерминантам: CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95, HLA DR (Афримзон Е.А., 1996). Концентрацию цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4 и ФНО- α) в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на тест-системах ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург), а содержание лактоферрина – на тест-системах ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Диагностика цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) проводилась на основе выявления в сыворотке крови антител классов IgM и IgG с определением авидности IgG методом ИФА (тест-системы ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск; ЗАО «Лабдиагностика», г. Москва). Активность ЦМВИ определялась на основании детекции в лейкоцитарной взвеси «ранних белков» ЦМВ в РИФ по методике Н.В. Каражас (2000 г.) и ДНК ЦМВ методом

полимеразной цепной реакции – ПЦР (реагенты и оборудование НПФ «Литех», г. Москва). Для диагностики PV B19 инфекции выявляли антитела классов IgG и IgM методом ИФА на тест-системах «HBL Hamburg» (Германия). Для выявления антител к *M. Pneumoniae* использовали реакцию агглютинации на желатиновых частицах (тест-системы «Serodia-Мусо II», Япония) и ИФА для определения IgM к *M. pneumoniae* (тест-системы «Mycorpneumoscreen G+M» фирмы «Ниармедик Плюс», г. Москва).

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0 для Windows с использованием непараметрических методов сравнения (U-критерий Манна-Уитни, точный метод Фишера, критерий- χ^2 , критерий ANOVA Краскела-Уоллиса). Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25% и 75% квартили) и средней арифметической с ее стандартной ошибкой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунная дисфункция у онкологических больных

Поскольку состояние иммунореактивности определяет особенности проявления эпидемического процесса, а оппортунистические заболевания развиваются в организме онкологического больного на фоне иммунной дисфункции, то на первом этапе исследований мы провели оценку иммунного статуса у больных иммунозависимыми злокачественными новообразованиями (меланомы и ЛПЗ). На следующем этапе работы был оценен риск развития ЦМВИ, парвовирусной инфекции и респираторного микоплазмоза в зависимости от выраженности иммунной дисфункции. Получение такой информации позволило создать информационную базу для изучения эпидемиологических особенностей течения оппортунистических инфекций у онкологических больных.

Проведенные исследования показали (табл. 1), что у больных меланомой и ЛПЗ отмечались комбинированные иммунные нарушения, затрагивающие преимущественно клеточное звено и фагоцитоз. У больных меланомой отмечено снижение содержания лейкоцитов, лимфоцитов за счет клеток с фенотипом CD3⁺ и CD8⁺. При этом выявлено повышение CD95⁺-лимфоцитов, что сопровождалось снижением индекса CD25⁺/CD95⁺. О выраженном дефиците лимфокинпродуцирующей активности лейкоцитов свидетельствовало высокое значение РТМЛ, стимулированной ФГА. При оценке фагоцитарного звена установлено повышение антигенного раздражения фагоцитов в НСТ-тесте, что сопровождалось дефицитом метаболического резерва.

У больных ЛПЗ выявлено снижение количества лимфоцитов и повышение БГЛ. Уровень НСТ-спонтанного (вследствие чего отмечено снижение индекса стимуляции), фагоцитарное число и содержание сывороточного IgA были повышены. Выявлен дисбаланс в субпопуляционном составе лимфоцитов: снижен уровень CD3⁺, CD8⁺-лимфоцитов и повышен уровень CD16⁺, CD25⁺ и CD95⁺-лимфоцитов. Повышенная экспрессия Fas-рецептора - CD95 на фоне увеличения уровня клеток с фенотипом CD25⁺ объясняется тем, что активированные клетки более чувствительны к процессам программированной клеточной гибели. Вследствие снижения уровня CD8⁺-

Показатели иммунного статуса больных меланомой и ЛПЗ

Показатель	Больные меланомой	Больные ЛПЗ	Контроль (n=35)
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,1* (3,3-5,5)	4,28 (3,55-5,75)	5,0 (4,25-5,5)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,10* (0,90-1,71)	1,05 ** (0,68-1,52)	1,56 (1,26-2,07)
БГЛ, %	15,0 (5,0-24,0)	20,5** (10,0-30,0)	9,0 (4,0-16,0)
БГЛ, $\times 10^9/\text{л}$	0,16 (0,07-0,24)	0,21** (0,12-0,29)	0,15 (0,07-0,27)
НСТ-спонтанный(%)	15,5** (10,0-28,5)	16,5* (11,5-26,0)	12,0 (6,0-15,0)
Индекс стимуляции (ед.)	1,38** (1,0-2,0)	1,5* (1,0-2,0)	1,9 (1,5-2,80)
Фагоцитарное число (ед.)	3,4 (2,0-6,0)	5,5*** ^ (4,0-6,79)	3,6 (2,0-4,15)
IgA (г/л)	1,61 (1,27-2,1)	1,85* (1,35-2,48)	1,4 (1,1-1,9)
ЦИК(ед.опт.плотн.)	18,0 (9,0-36,0)	39,0^^ (18,0-48,0)	21,0 (15,0-30,0)
РТМЛ стимулированная ФГА (ед.)	1,06*** (0,81-1,3)	0,94*** (0,47-1,41)	0,3 (0,17-0,53)
CD 3 ⁺ , %	57,0*** (54,0-60,0)	54,0*** (44,0-62,0)	69,5 (64,0-72,0)
CD 4 ⁺ , %	38,0 (31,0-40,0)	38,0 (31,0-43,0)	38,0 (34,0-40,0)
CD 8 ⁺ , %	20,0* (14,0-27,0)	19,0* (16,0-25,0)	28,0 (24,0-30,0)
CD 16 ⁺ , %	14,0 (8,0-16,0)	16,0** (10,0-18,0)	10,0 (7,0-12,0)
CD 20 ⁺ , %	12,0 (7,0-16,0)	9,0 (7,0-12,0)	10,0 (8,0-12,0)
CD 25 ⁺ , %	8,0 (4,0-12,0)	11,0*** (8,0-13,0)	6,0 (4,0-8,0)
CD 95 ⁺ , %	11,0*** (6,0-15,0)	10,0*** (6,0-13,0)	5,5 (3,0-6,0)
CD4/CD8	1,75 (1,3-2,4)	1,81*** (1,52-2,32)	1,32 (1,21-1,58)
CD25/CD95	0,77* (0,4-1,14)	1,09 (0,79-1,57)	1,5 (1,0-2,0)

Примечание: *, **, *** - достоверные различия с контролем ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$); ^, ^^, ^^ - достоверные различия между группами ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$)

лимфоцитов, индекс CD4/CD8 был повышен. Значение РТМЛ, стимулированной ФГА, превысило показатель в группе контроля в 3,1 раза.

При исследовании показателей цитокиновой сети нами было замечено, что среди обследованных больных меланомой и ЛПЗ преобладали лица с содержанием ФНО- α и ИЛ-1 β ниже порогового значения нормы – 5 пг/мл, что достоверно отличало эту выборку от группы контроля ($p < 0,05$). Изучение содержания лактоферрина показало, что у $50,0 \pm 11,18\%$ больных меланомой и у $62,5 \pm 7,65\%$ больных ЛПЗ этот показатель был повышен. Подъем его концентрации, вероятно, носит компенсаторный характер, нивелирующий дефект выработки провоспалительных цитокинов. Лица с повышенным содержанием лактоферрина были представлены преимущественно больными генерализованной меланомой и ЛПЗ с В-симптомами интоксикации.

Таким образом, иммунный статус больных меланомой и ЛПЗ характеризуется комбинированной иммунной дисфункцией с нарушением формирования полноценного иммунного ответа по Th1 ввиду сниженной продукции ключевых цитокинов: ИЛ-1 β и ФНО- α , тогда как нормальное содержание ИЛ-4 свидетельствует о преобладании ответа по Th2 типу, который

недостаточно эффективен в противоинфекционной защите. Это создает благоприятную ситуацию для развития оппортунистических инфекций.

Иммунологические аспекты оппортунистических инфекций у онкологических больных

Течение инфекционного процесса у онкологических больных носит сложный характер и может определяться целым рядом факторов – каскадом биологических защитных и патологических реакций, индуцируемых возбудителем. Следствием вмешательства инфекционных агентов может быть формирование дефектов специфического иммунного ответа (Вона С., 1996), что является одной из главных причин развития вторичных иммунодефицитов (Михайленко А.А., 1998; Хаитов Р. М., 1999).

Распространенность активной ЦМВИ у онкологических больных.

Нами была изучена иммунореактивность больных с иммунозависимыми (меланома, ЛПЗ) и иммунонезависимыми злокачественными новообразованиями для установления возможных особенностей инфекционного процесса. Результаты исследований показали (табл. 2), что в группе больных меланомой ЦМВ-IgM выявлялись в 5,6 раза ($\chi^2=18,5$; $p<0,001$), а в группе

Таблица 2

Частота выявления IgM к ЦМВ в группах онкологических больных

№ группы	Группа	Всего обследовано (n)	Количество серопозитивных лиц		p
			абс.	% (M±m)	
1	Больные меланомой	30	11	36,7±9,33%*	$\chi^2=7,6$; $p=0,006$
2	Больные ЛПЗ	49	23	43,2±7,47% ***	$\chi^2=26,8$; $p<0,001$
3	Прочие онкологические больные	244	16	6,56±1,58%	$p>0,05$
4	Доноры	580	79	13,6±1,42%	

Примечание: *, **, *** - достоверные различия с контролем ($p<0,05$; 0,01; 0,001).

ЛПЗ - в 6,6 раза ($\chi^2=42,1$; $p<0,001$) чаще, чем у больных иммунонезависимыми злокачественными новообразованиями, при этом изучение иммуноструктуры IgG показало, что среди больных меланомой преобладали пациенты со среднетитражными ($\chi^2=167,4$; $p<0,001$), а в группе больных ЛПЗ – с высокотитражными сыворотками ($\chi^2=756,8$; $p<0,001$), что свидетельствовало о более активной циркуляции ЦМВ в последней группе и подтверждалось результатами исследования авидности IgG и детекцией ДНК вируса в лейкоцитарной взвеси. Среди больных меланомой лица с индексом авидности от 35% до 45% встречались в 1,5 раза чаще; чем в контроле ($p=0,04$). При ЛПЗ реактивация отмечалась в 51,1% случаев - в 3 раза чаще, чем при меланоме. При исследовании крови методом ПЦР ДНКемия была выявлена у 30,8% больных меланомой, при этом выявлена сильная положительная корреляция между ДНКемией ЦМВ и генерализацией меланомы - $r_s=0,84$ ($p<0,001$). У больных ЛПЗ ДНК детектирована в 63,9% случаев – в 2,1 раза чаще, чем в предыдущей группе, однако корреляции между ДНКемией, характером и распространенностью ЛПЗ не выявлено. У больных меланомой (табл. 3)

виремия сопровождалась значительным снижением содержания ИЛ-1 β и тенденцией к снижению ФНО- α и ИЛ-4 по сравнению с контролем. Такие изменения чаще наблюдались при генерализации опухолевого процесса, что объясняется либо нарушением их синтеза и секреции, либо повышенным потреблением данных цитокинов в зонах опухолевого роста. У больных ЛПЗ выявлено значительное снижение ИЛ-1 β на фоне нормальной концентрации ФНО- α и ИЛ-4 как среди лиц с ДНКемией ЦМВ, так и без нее, что подтверждало отсутствие адекватной реакции со стороны иммунной системы при антигенном раздражении опухолевого и инфекционного характера.

Таблица 3

Содержание цитокинов у онкологических больных при ЦМВИ

Показатель	n	Медиана (25%-75% квартиль)	n	Медиана (25%-75% квартиль)	p
	ДНК (+) ЦМВ		ДНК (-) ЦМВ		
ФНО- α , пг/мл	6	0,0 (0,0-0,0)	10	4,1(0,0-62,0)	0,27
Интерлейкин-1 β , пг/мл	6	0,0** (0,0-26,6)	10	0,8** (0,0-3,8)	0,0045
Интерлейкин-4, пг/мл	4	3,7 (0,35-7,45)	4	12,3 (2,55-28,5)	0,33
	больные ЛПЗ				
	ДНК (+) ЦМВ		ДНК (-) ЦМВ		
ФНО- α , пг/мл	25	10,4 (0,0-48,0)	12	9,4 (0,7-37,6)	0,28
Интерлейкин-1 β , пг/мл	25	4,7* (0,0-59,0)	11	4,7* (0,0-59,0)	(0,04)
Интерлейкин-4, пг/мл	10	23,15 (7,5-87,2)	3	16,1 (4,3-25,2)	0,67

Примечание: 1)*, **, *** - достоверные различия с контролем ($p < 0,05$; 0,01; 0,001) с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни; 2) для множественного сравнения использованы непараметрические методы сравнения независимых групп: р-значение при использовании критерия ANOVA Краскела-Уоллиса, (р)-значение при использовании медианного теста.

Таким образом, комбинированная иммунная дисфункция способствует активному течению ЦМВИ у больных меланомой и особенно ЛПЗ и развивается как реактивация хронической инфекции.

Распространенность парвовирусной инфекции у онкологических больных с иммунозависимыми заболеваниями.

При оценке специфического иммунного ответа к PV B19 установлено, что 51,06 \pm 7,29% пациентов имели IgG к данному вирусу – в 10,2 раза чаще, чем в контроле, где они были выявлены в 5,0 \pm 4,87% случаев (ТМФ; $p=0,006$). При этом у 34,04 \pm 6,91% больных (преимущественно с ЛПЗ) наблюдалось высокое содержание IgM к PV B19 (ТМФ; $p=0,01$), что указывало на активно протекающую инфекцию. Было установлено, что у больных, серопозитивных по отношению к PV B19, ДНКемия ЦМВ выявлена в 83,33 \pm 7,61% случаев – в 3,2 раза чаще, чем у серонегативных больных, где ДНК детектирована только у 26,09 \pm 9,16% больных (ТМФ; $p=0,03$). По содержанию цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-4) и лактоферрина между подгруппами серопозитивных и серонегативных по PV B19 пациентов статистически значимых различий выявлено не было. Вероятно, инфицирование PV B19 не сопровождается сдвигами концентрации изучаемых цитокинов в сыворотке крови, что не исключает возможности изменения их содержания в тканях организма.

Распространенность инфекции, вызванной *M. pneumoniae*, у онкологических больных с иммунозависимыми заболеваниями.

Обследование больных показало, что IgG к *M. pneumoniae* выявлялись в 35,62±5,6% случаев – в 2,1 раза чаще по сравнению с контролем, где антитела были обнаружены у 16,9±3,23% обследованных лиц ($\chi^2=5,4$; $p=0,02$), специфические IgM при онкопатологии регистрировались в 45,0±11,12% случаев, а в группе контроля отсутствовали ($\chi^2=37,2$; $p<0,001$). При этом IgM к *M. pneumoniae* были выявлены только у больных ЛПЗ и отсутствовали при меланоме (ТМФ; $p=0,029$).

Результаты анализа особенностей течения ЦМВИ показали, что в группе серонегативных по отношению к *M. pneumoniae* больных ДНКемия ЦМВ встречалась в 48,94±7,29% случаях, а в группе серопозитивных – у 60,0±10,95% пациентов. В данном случае можно сделать два предположения: либо респираторный микоплазмоз развивается чаще у лиц, ослабленных в ходе течения ЦМВИ, либо его развитие способствует более медленному течению ЦМВИ. Возможно и одновременное действие этих двух факторов.

Полученные нами результаты содержания цитокинов соответствуют литературным данным о способности *M. pneumoniae* стимулировать выработку провоспалительных цитокинов (Lieberman D., 1997; Kazachkov M.Y., 2002) (рис. 1). У больных, серопозитивных по отношению к *M. pneumoniae*, выявлено повышение содержания ФНО- α (U; $p=0,94$), ИЛ-1 β (U; $p=0,02$) и ИЛ-4 (U; $p=0,38$), тогда как у серонегативных пациентов ФНО- α и ИЛ-1 β практически не

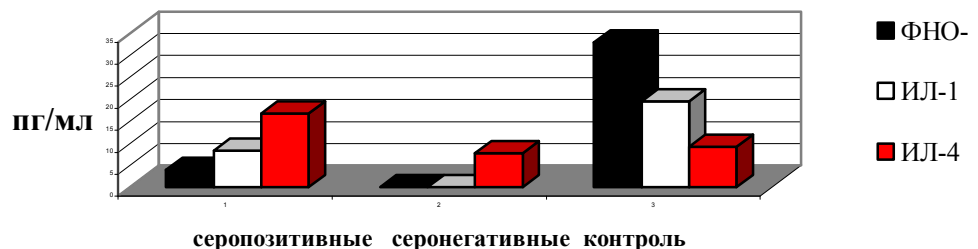


Рисунок 1. – Содержание ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-4 в сыворотке крови серопозитивных по отношению к *M. pneumoniae* онкологических больных.

определялись, а содержание ИЛ-4 было в пределах нормальных значений. Прослеживалась тенденция к снижению лактоферрина (рис. 2) от максимального значения в группе серонегативных к *M. pneumoniae* пациентов к

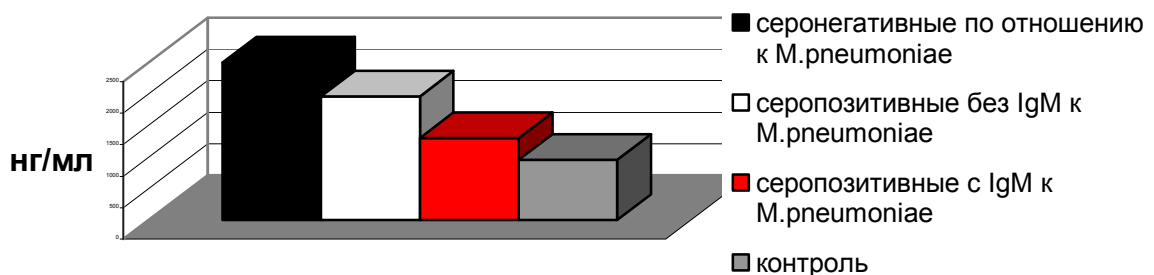


Рисунок 2. – Содержание лактоферрина в сыворотке крови онкологических больных при обследовании на серопозитивность по отношению к *M. pneumoniae*

минимальному в группе больных с IgM к *M. pneumoniae*. Вероятно, данная динамика еще раз подтверждает предположение о компенсаторной роли лактоферрина при недостаточной выработке провоспалительных цитокинов.

Роль микст-инфекции в формировании иммунной дисфункции у онкологических больных

Поскольку у больных меланомой и ЛПЗ нами были выявлены однонаправленные изменения со стороны ряда показателей иммунного статуса, то мы посчитали возможным объединить обе группы больных для дальнейшего анализа течения ЦМВИ при моно- и микст-инфекции. Среди обследованных пациентов (табл. 4) моно-инфекция отмечалась в 43,84±5,81%, а микст-инфекция - в 56,16±5,81% случаев. Варианты сочетания активной ЦМВИ с парвовирусной (*PV B19*) инфекцией и ЦМВИ с инфекцией, вызванной *M. pneumoniae*, встречались практически с одинаковой частотой и создавали благоприятный фон для затяжного течения инфекции.

Таблица 4

Инфицированность возбудителями оппортунистических инфекций онкологических больных

Наличие инфицирования	Количество серопозитивных лиц (абс)	% серопозитивных (M±m)
Моноинфицирование ЦМВ	32	43,84±5,81%
PV B19 + ЦМВ	15	20,54±4,73%
<i>M. pneumoniae</i> + ЦМВ	17	23,29±4,95%
PV B19 + <i>M. pneumoniae</i> + ЦМВ	9	12,33±3,85%

При анализе характера течения ЦМВИ в случае моно- и микст-инфекции выявлена тенденция к повышению числа больных с ЦМВ-IgM при микст-инфекции: они встречались в 46,15±7,98% случаев – в 1,4 раза чаще, чем при моно-инфекции, при которой антитела данного класса были определены у 32,26±8,4% больных. Среднее значение индекса авидности IgG при микст-инфекции было ниже - 45,98±1,88% (U; p=0,04), чем при моно-инфекции (53,47±2,66%), а ДНК выявлялась в 53,66±7,79% случаев – в 1,7 раза чаще ($\chi^2=1,47$; p=0,23), чем при моно-инфекции, при которой вирусная ДНК установлена у 31,25±8,19% больных. В случае микст-инфекции персистенция ЦМВ наблюдалась в 7,8 раз чаще, чем при моно-инфекции, и способствовала более тяжелому течению заболевания. При одновременном инфицировании PV B19 и ЦМВ ДНК детектировалась чаще (ТМФ; p=0,04), чем при других комбинациях.

Интересные данные получены при определении лактоферрина. У больных с микст-инфекцией его содержание составило 1897,5 нг/мл и было выше в 2,5 раза, чем у больных с моно-инфекцией (U; p=0,024). Вероятно, повышение его содержания носит компенсаторный характер и в некоторой мере нивелирует дефект выработки цитокинов.

Таким образом, полученные данные указывают на высокий уровень сочетания активно протекающей ЦМВИ и инфекций, вызываемых PV B19 и *M. pneumoniae* на фоне иммунодефицитного состояния. Не исключено, что у онкологических больных ЦМВ играет определенную роль в запуске иммунопатологических процессов.

Оппортунистические инфекции на этапах противоопухолевой терапии.

Результаты наших исследований указывают на высокий уровень инфицированности ЦМВ больных ЛПЗ уже на этапе постановки диагноза. Изучение иммуноструктуры показало значительное изменение (U ; $p < 0,001$) средней геометрической титра IgG к ЦМВ на этапах терапии: до начала лечения она составила 1/3005, была максимальной во время полихимиотерапии (ПХТ) - 1/3456, а на этапе дистанционной лучевой терапии (ДЛТ) имела тенденцию к снижению - 1/2691 (в контроле этот показатель составил 1/296), при этом в ходе болезни и ее лечения больные с данным заболеванием переносят реактивацию ЦМВИ, что подтверждено уровнем авидности ЦМВ-IgG (рис. 3), наличием специфических IgM и антиген/ДНКемией

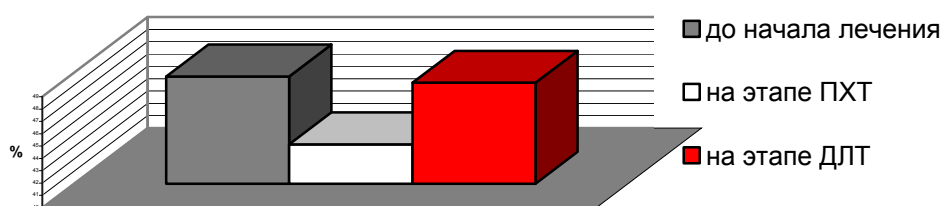


Рисунок 3. – Значение индекса авидности ЦМВ-IgG у больных ЛПЗ на этапах противоопухолевой терапии

Частота выявления IgM была максимальной до начала лечения и на этапе проведения ПХТ (χ^2 ; $p=0,02$). На этапе проведения ДЛТ она не отличалась от контроля. На этом фоне ДНК-ЦМВ до начала лечения детектирована в $68,18 \pm 9,93\%$ случаев и имела тенденцию к снижению в группах по мере выполнения программы лечения. Результаты исследований серопозитивности к RV B19 показали, что острая форма инфекции регистрировалась чаще до начала лечения (ТМФ; $p=0,003$), а на этапах лечения, как и в случае с ЦМВИ, прослеживалась тенденция к ее стиханию. В отличие от ЦМВИ и инфекции RV B19 инфицирование *M. pneumoniae* происходит на более поздних этапах лечения, во время ДЛТ (ТМФ; $p=0,03$), и может быть одним из факторов риска развития осложнений в ходе противоопухолевой терапии. Результаты исследований содержания цитокинов (табл. 5) свидетельствуют о том, что до начала лечения концентрация ФНО- α и ИЛ-4 была в пределах нормальных значений, а ИЛ-1 β , по сравнению с контролем, была ниже. Содержание лактоферрина в сыворотке крови больных ЛПЗ на этапах проведения противоопухолевой терапии до лечения и на этапе ДЛТ было резко повышено, а во время ПХТ принимало минимальное значение, что свидетельствует о срыве компенсаторных механизмов.

Таким образом, для больных ЛПЗ характерна реактивация ЦМВИ и развитие парвовирусной инфекции уже до начала лечения. На этапе ПХТ, отмечено нарастание дефицита цитокинов, что объясняло факт формирования неполноценного иммунного ответа против возбудителей оппортунистических инфекций. Во время ДЛТ установлен высокий риск развития респираторного

микоплазма. Полученные нами данные оправдывают необходимость проведения иммунореабилитационных мероприятий на всех этапах лечения

Таблица 5

Содержание цитокинов и лактоферрина в сыворотке крови больных ЛПЗ на этапах противоопухолевой терапии

Показатель	до начала лечения		на этапе ПХТ		на этапе ДЛТ		p
	n	Медиана (25%-75% квартиль)	n	Медиана (25%-75% квартиль)	n	Медиана (25%-75% квартиль)	
ФНО- α , пг/мл	17	6,7 (0- 48,0)	15	3,2 (1,1-32,3)*	12	16,0 (3,9-108,0)	0,13
Интерлейкин-1 β , пг/мл	17	4,65 (0- 16,6)*	15	3,3 (1,9-9,0)**	11	59,0 (21,5-127) ^^	0,001
Интерлейкин-4, пг/мл	5	16,1 (12,5-33,8)	5	0 (0-4,3)* ^	4	36,8 (31- 62,3)* ^	0,006
Лактоферрин, нг/мл	17	1855 (685-2500)	15	654 (518-1480) ^	8	1832 (880-2913)	0,13

Примечание: 1) *, **, *** - достоверные различия с контролем ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$) с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни; 2) ^, ^^, ^^ - достоверные различия между группами ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$); 3) для множественного сравнения использованы непараметрические методы сравнения независимых групп: p-значение при использовании критерия ANOVA Краскела-Уоллиса.

больных с иммунозависимыми онкологическими заболеваниями.

Эпидемиологические аспекты изучения оппортунистических инфекций у онкологических больных

До настоящего времени в отечественной и мировой практике для оппортунистических инфекций не разработаны модели эпидемиологического надзора и управления заболеваемостью. Создавая эти модели, мы опирались на опыт зарубежных и отечественных специалистов (Беляков В.Д., 1981; Биглхол Р., 1994; Далматов В.В., 1989) и учитывали результаты собственных проспективных исследований.

Поскольку для осуществления эпидемиологического надзора за заболеваниями информационная подсистема является базисной, то, учитывая эпидемиологические и клинические особенности оппортунистических инфекций, на основе полученных данных мы основное внимание уделили выделению информационных потоков. В первую очередь для определения распространенности ЦМВИ, парвовирусной (PVB19) инфекции и респираторного микоплазма у онкологических больных и оценки иммунореактивности по отношению к возбудителям изучаемых инфекций в Омской области мы оценили как наиболее значимую информацию о распространенности оппортунистических инфекций среди пациентов с различными нозологическими формами (на примере ЛПЗ и меланомы). С использованием современных лабораторных технологий мы установили, что имеет место 100% инфицированность онкологических больных ЦМВ. У больных меланомой и ЛПЗ активная ЦМВИ встречается в $30,8 \pm 9,05\%$ и $63,9 \pm 7,01\%$ случаев, антитела к PV B19 выявляются в $23,53 \pm 10,29\%$ и $58,06 \pm 8,86\%$ антитела к M. pneumoniae в $30,77 \pm 9,05\%$ и $29,27 \pm 7,1\%$ случаях соответственно.

Серологический скрининг позволил выделить второй важный информационный поток, позволяющий проводить оценку показателей иммунного статуса и цитокиновой сети для установления характера иммунной дисфункции. Так, нами показано, что у онкологических больных имеет место реактивация ЦМВИ, а не первичное инфицирование, однако даже реактивация ЦМВИ на фоне сформированного иммунодефицита и дисбаланса в цитокиновой сети способна привести к ухудшению прогноза и способствовать генерализации злокачественного процесса.

О степени риска заболеваемости оппортунистическими инфекциями можно судить по результатам диагностических исследований (при ЦМВИ - определение авидности антител, детекция антигена или ДНК возбудителя), которые имеют достаточную информативность для установления активности и формы течения инфекционного процесса. Поэтому следующий информационный поток включает данные об уровне и качестве лабораторной диагностики и критериях диагностической надежности. Данные иммунологических и специальных лабораторных исследований, направленных на этиологическую расшифровку, наряду с оценкой иммунореактивности и состояния цитокиновой сети у больных иммунозависимыми онкозаболеваниями позволили подтвердить важную роль возбудителей изученных оппортунистических инфекций в формировании сопутствующей патологии.

Следующий информационный поток формируется за счет сбора данных о факторах риска, при этом нами использованы одномоментные исследования, позволившие выявить возможные причинно-следственные связи между факторами риска и заболеванием или прогностическими факторами и исходом. Как показали наши исследования и литературные данные (Дмитриева Н.В., 2001), развитию оппортунистических инфекций способствует также ряд других факторов: распространенность злокачественного новообразования, применение химио- и лучевой терапии, микст-инфекция. Так, наши данные свидетельствуют о том, что вирусная микст-инфекция формирует у пациентов более тяжелую патологию. Обозначенные нами факторы риска у больных ЛПЗ и меланомой (степень выраженности иммунодефицита, активная инфекция, длительная антиген/ДНК-емия ЦМВ и микст-инфекция) при их сочетании являются и прогностическими признаками, с помощью которых можно идентифицировать группы пациентов с одной болезнью, но с разным исходом.

Последний информационный поток, дающий сведения о популяции возбудителя, об изменении его вирулентности и патогенности формируется за счет результатов, которые предоставляют научно-исследовательские и специализированные учреждения, поскольку имеются определенные трудности в культивировании возбудителей оппортунистических инфекций.

Использование данных подходов к осуществлению мониторинга за онкологическими больными ЛПЗ и меланомой позволили создать функционирующую систему диагностических исследований, направленных на выявление активно протекающих оппортунистических инфекций с выделением группы высокого риска по развитию активной инфекции. Среди территорий

(объектов) риска следует назвать лечебно-профилактические учреждения, где концентрируются гематологические и онкологические больные. Время риска заболевания оппортунистическими инфекциями зависит от ряда факторов: проведения химио- или лучевой терапии, наличия гемотрансфузий (с учетом возможности переливания ЦМВ-инфицированной крови или крови, содержащей парвовирус В19), генерализации злокачественного процесса.

Таким образом, информационное обеспечение эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями с учетом специфики данной группы инфекций включает 5 информационных потоков, которые обеспечивают оценку проявлений эпидемических процессов оппортунистических инфекций и адекватное возможное управление ими.

С учетом важности проблемы мы сделали попытку найти формы и методы частичного управления заболеваемостью этими инфекциями, в соответствии с чем нами были разработаны предложения с учетом четырех уровней профилактики (Биглхол Р., 1994). *Преморбидный* и *первичный* уровни профилактики предусматривают воздействие на необходимые и достаточные причины, формирующие онкологическую и оппортунистическую патологии. Комплексы этих мероприятий, по-видимому, выходят за рамки медицинской деятельности и предусматривают активное участие государства в защите населения от их действия.

Мы полагаем, что возможность профилактики потерь здоровья от оппортунистической патологии может быть реализована лишь на этапе *вторичной и третичной* профилактики. *Вторичная профилактика* нацелена на снижение тяжелых последствий болезни. Она включает в себя мероприятия для раннего выявления и быстрого (эффективного) вмешательства как по отношению к популяции, так и к отдельным ее членам и направлена на снижение распространенности болезни и ее последствий. Для выбора тактики ведения пациента необходима консультация узких специалистов (иммунолога и инфекциониста). *Третичный уровень*, реализация которого должна замедлить развитие осложнений при уже возникшей болезни, представляет собой важный аспект терапевтической и реабилитационной медицины. Мы полагаем, что критерием его эффективности является снижение риска развития тяжелой сопутствующей патологии и продолжительности госпитализации.

Таким образом, использование различных уровней профилактики позволяет в определенной степени управлять заболеваемостью, в том числе, оппортунистическими инфекциями.

ВЫВОДЫ

1. Оппортунистические инфекции (ЦМВИ, парвовирусная В19 и респираторный микоплазмоз) играют важную роль в формировании сопутствующей патологии у больных меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями. На всех этапах противоопухолевой терапии ЦМВИ протекает в виде реактивации, усугубляя иммунодефицит.

2. На фоне иммунной дисфункции и нарушений в цитокиновой системе отсутствует адекватный ответ организма на активный инфекционный

процесс, вызванный возбудителями оппортунистических инфекций, что усугубляет ситуацию и обосновывает включение иммуноориентированной терапии в комплексную программу ведения пациента.

3. В комплекс обследования больных с лимфопролиферативными заболеваниями на этапах обследования и лечения наряду с оценкой ряда показателей иммунного статуса и цитокиновой системы целесообразно включать определение: лактоферрина, специфических антител к парвовирусу *B19* и *M. pneumoniae*, IgM к ЦМВ и «ранних белков»/ДНК ЦМВ. Для установления активной ЦМВИ детекцию антигена/ДНК следует признать приоритетными. Высокое содержание острофазного белка лактоферрина свидетельствует в пользу микст-инфекции.

4. Больных лимфопролиферативными заболеваниями следует относить к группе высокого риска заболевания оппортунистическими инфекциями. Факторами риска у них являются: иммунодефицитное состояние, неадекватный иммунный ответ на инфекцию и сочетанное инфицирование, усугубляемые противоопухолевой терапией.

5. Микст-инфекция у больных лимфопролиферативными заболеваниями и меланомой формирует более тяжелую патологию и представляет наибольшую угрозу для здоровья, чем моно-инфекция.

6. Наибольшее значение в управлении оппортунистическими инфекциями у онкологических больных имеет вторичный и третичный уровни профилактики, направленные на раннее выявление активно протекающей инфекции и снижение неблагоприятных последствий болезни путем проведения адекватной иммуноориентированной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Комплексное обследование больных злокачественными новообразованиями должно включать иммунологическое обследование и обследование на оппортунистические инфекции до начала и на всех этапах противоопухолевой терапии.

2. Критерием диагностической надежности при подозрении на парвовирусную инфекцию и респираторный микоплазмоз служит наличие специфических антител IgM и IgG. Для установления активности инфекционного процесса при ЦМВИ приоритетными являются исследования, направленные на детекцию антигена («ранних белков») или ДНК вируса при исследовании лейкоцитарной взвеси. Оценка специфического иммунитета к ЦМВ дает дополнительную информацию о течении инфекционного процесса.

3. Алгоритм обследования онкологических больных на всех этапах терапии должен включать определение острофазного белка лактоферрина.

4. С целью оптимизации диагностики оппортунистических инфекций, лечения и профилактики осложнений у онкологических больных необходимо: а) выявить иммунную дисфункцию; б) установить форму инфекционного процесса и его активность; в) исключить микст-инфекцию.

5. При установлении активно протекающей ЦМВИ в виде моно- и особенно микст-инфекции целесообразно проведение иммуноориентированной

терапии, что позволит значительно снизить риск развития сопутствующей патологии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Изучение распространенности парвовирусной (В19) и цитомегаловирусной инфекций у больных лимфопролиферативными заболеваниями / Е. Ю. Бычкова, Т. И. Долгих, Д. И. Демин и др. // Тюменский медицинский журнал: Материалы ежегодной Тюменской областной онкологической конференции. – 2002. - № 3-4. – С. 29-31.

2. Парвовирусная и цитомегаловирусная инфекции и иммунная дисфункция у больных лимфогранулематозом / Е. Ю. Бычкова, Т. И. Долгих, Д. И. Демин и др. // Материалы межрегиональной научно-практической конференции: «Актуальные вопросы онкологии». - Иркутск. – 4-6 сентября 2002. – 25-27.

3. Бычкова Е. Ю. Показатели иммунореактивности у больных меланомой / Е. Ю. Бычкова, Т. М. Любошенко // Сборник трудов V конгресса: «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии». – Москва. - 12-14 ноября 2002. – Т. 2. – С. 504.

4. Бычкова Е. Ю. Оценка показателей иммунного статуса у больных меланомой кожи в разные сроки послеоперационного периода / Е. Ю. Бычкова, Т. И. Долгих, Т. М. Любошенко // Актуальные вопросы хирургии: межрегиональный сборник научных работ, посвященный 80-летию кафедры госпитальной хирургии Омской государственной медицинской академии / под ред. проф. А. И. Новикова, проф. С. И. Филиппова. – Омск: Омская государственная медицинская академия, 2003. – С. 34-37.

5. Бычкова Е. Ю. Распространенность отдельных оппортунистических инфекций у больных лимфопролиферативными заболеваниями на этапах проведения противоопухолевой терапии / Е. Ю. Бычкова, Т. И. Долгих, Т. М. Любошенко // Материалы IV Всероссийской конференции молодых ученых: «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной онкологии». – Москва. – 10-12 сентября 2003. – С. 29-30.

6. Долгих Т. И. Оппортунистические инфекции у онкологических больных / Т. И. Долгих, Е. Ю. Бычкова // Материалы ежегодной Тюменской областной онкологической конференции: «Проблемы инфекций и иммунитета в онкологии»: сборник научных работ / под ред. М. М. Наумова, Л. Ф. Чернецовой, П. Б. Зотова. – Тюмень: Издательство «Вектор-Бук». – 2003. - С. 13-19. - (Серия: «Б-ка Тюменского медицинского журнала»).

7. Долгих Т. И. Распространенность цитомегаловирусной инфекции у больных меланомой / Е. Ю. Бычкова, Т. И. Долгих // Материалы VI Российского съезда врачей-инфекционистов: «Человек и его здоровье». – Санкт-Петербург. – 29-31 октября 2003 года. – С. 113.

8. Долгих Т. И. Цитомегаловирусная инфекция у онкологических больных / Т. И. Долгих, Е. Ю. Бычкова // Актуальные проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения: Материалы IV межрегиональной научно-практической конференции с международным

участием, посвященной 60-летию кафедры эпидемиологии и 80-летию кафедры микробиологии Омской государственной медицинской академии: Сб. статей: В 2 Т. – Омск. – 13-14 ноября 2003. – Т. 1. – С. 354-357.

Подписано в печать 10.11.2003г. Тираж 100 экз.
Отпечатано в типографии ЦГСЭН Омской области