

ОМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

На правах рукописи

БЫЧКОВА Елена Юрьевна

ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ
(ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

14.00.30 - эпидемиология

14.00.36 - аллергология и иммунология

Диссертация на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: д.м.н. проф. ДАЛМАТОВ В.В.
д.м.н. проф. ДОЛГИХ Т.И.

ОМСК – 2003

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокаращений.....	
Введение.....	
ГЛАВА 1. Оппортунистические инфекции у онкологических больных (обзор литературы).....	
1.1. Оппортунистические инфекции (ЦМВИ, парвовирусная и микоплазменная инфекции) и иммунодефицитные состояния.....	
1.2. Иммунная дисфункция при онкологических заболеваниях.....	
1.3. Представление об эпидемиологическом надзоре как системе. Проблемы управления оппортунистической патологией.....	
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.....	
ГЛАВА 3. Иммунная дисфункция у онкологических больных	
3.1. Состояние иммунореактивности у больных меланомой.....	
3.2. Состояние иммунореактивности у больных лимфопролиферативными заболеваниями.....	
ГЛАВА 4. Иммунологические аспекты оппортунистических инфекций у онкологических больных.....	
4.1. Иммунологическая реактивность при ЦМВИ.....	
4.2. Роль микст-инфицирования возбудителями оппортунистических инфекций в формировании иммунной дисфункции у онкологических больных	
ГЛАВА 5. Эпидемиологические аспекты изучения оппортунистических инфекций у онкологических больных.....	
Обсуждение результатов и заключение	
Выводы.....	
Практические рекомендации.....	
Список литературы.....	
Приложения.....	

УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АФП	– абсолютный фагоцитарный показатель
БАСК	– бактерицидная активность сыворотки крови
БГЛ	– большие гранулярные лимфоциты
ВИЧ	– вирус иммунодефицита человека
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИА	– индекс avidности
ИЗФ	– индекс завершенности фагоцитоза
ИЛ	– интерлейкин
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИФ	– интерферон
КАФ	– количество активных фагоцитов
ЛГМ	– лимфогрануломатоз
ЛПЗ	– лимфопролиферативные заболевания
ЛФ	– лактоферрин
МЕ	– международные единицы
НСТ-тест	– тест с нитросиним тетразолием
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РИФ	– реакция иммунофлюоресценции
РТМЛ	– реакция торможения миграции лимфоцитов
ТМФ	– точный метод Фишера
ФГА	– фитогемагглютинин
ФНО- α	– фактор некроза опухоли α
ЦИК	– циркулирующие иммунные комплексы
ЦМВ	– цитомегаловирус
ЦМВИ	– цитомегаловирусная инфекция
CD	– кластеры дифференцировки
ЕIU	– иммуноферментные единицы
IgA	– иммуноглобулины класса А
IgG	– иммуноглобулины класса G

IgM	– иммуноглобулины класса М
MHC I, II	– молекулы главного комплекса гистосовместимости I и II класса
M. pneumoniae	– Mycoplasma pneumoniae
NK	– натуральные киллеры
RV B19	– парвовирус B19
Th1 и Th2	– Т-хелперы 1-го и 2-го типов
U	– U-критерий Манна - Уитни

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В настоящее время оппортунистические инфекции являются важной социально-медицинской проблемой в связи с ростом числа иммунокомпрометированных лиц в популяции [Выдумкина С.П.,1999, Долгих М. С.,2001, Долгих Т.И.,1999]. Под «оппортунистическими инфекциями» понимают инфекционный процесс, развивающийся на фоне иммунодефицитного состояния макроорганизма и вызываемый преимущественно апатогенными микроорганизмами или микроорганизмами со слабо выраженной патогенностью [Прозоровский С. В.,1998].

Среди оппортунистических инфекций цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) занимает лидирующую позицию в связи с широким распространением: в различных странах от 40 до 100% населения имеют серологические признаки перенесенной в прошлом ЦМВИ [Каражас Н. В.,1997, Polz-Dacewicz M.,2002, Gamadia L. E., 2001]. Серопозитивность по цитомегаловирусной инфекции жителей города Омска и Омской области составила $65,2 \pm 1,02\%$. [Долгих Т.И.,2000].

Серологические признаки перенесенной парвовирусной В19 инфекции присутствуют у 30-50% взрослого населения [Barin F., 1993, Sodja I., 1996]. Широко распространенный РV В19 демонстрирует большой спектр клинических проявлений разной степени тяжести, что зависит от состояния иммунной системы [Рооуогawan Y., 2000]. У иммунодефицитных пациентов РV В19 может быть причиной развития глубокой анемии и тромбоцитопении [Murer L., 2000, Heegaard E. D., 2002].

Уровень заболеваемости инфекцией, вызванной *M. pneumoniae*, очень колеблется в различных популяциях и зависит от метода диагностики. По литературным данным микоплазменная пневмония у взрослых наблюдается в

1,9 – 30% случаев [Hammerschlag M.R., 2001, Daxboeck F., 2002]. В связи с отсутствием исследований, мы не располагаем данными об инфицированности населения Омской области PV B19 и M. pneumoniae.

Оппортунистические инфекции являются маркерами иммунологического неблагополучия и развиваются у иммунокомпрометированных лиц, к которым с полным правом относятся больные злокачественными новообразованиями [Новиков В.И.,1999, Lauergova L.,2002, Кадагидзе З.Г.,1999, Gitelson E.,2002. Serebrianaia N.B.,1996]. Кроме того, все составляющие современного комплексного лечения злокачественных новообразований (хирургическое, химиотерапевтическое и радиологическое) оказываются факторами, индуцирующими иммуносупрессию по клеточному типу [Балдуева И. А.,2001, Гершанович М.Л., 1982, Головизнин М. В.,2001, Налескина Л.А.,1996, Dale M.,1994], что повышает вероятность развития других заболеваний, чаще всего инфекционной природы [Чеботкевич В. Н.,2001, Petridou E.,2001]. Инфекции у таких пациентов протекают более тяжело, чем обычно, и могут послужить дополнительной причиной гибели [Новиков В.И.,1999, Исаков В. А., 1999].

Анализ причин смерти онкологических больных [Дронова О.М., 1991 выявил, что инфекционные осложнения являлись причиной гибели примерно 1/3 онкологических больных (28,6-32,0%), причем число пациентов, у которых на аутопсии были обнаружены нераспознанные проявления инфекции, было еще большим и составило 39,3-42,8% (данные за 1990-1999 гг.) [Дмитриева Н.В., 2001]. Как показали исследования последних лет, велика роль оппортунистических вирусных инфекций у больных, получающих иммуносупрессивную терапию по поводу различных злокачественных новообразований [Александрова Ю. Н., 1996, Fassas A.B.,2001, Fujiwara H, 2000].

Клиническая диагностика оппортунистические инфекции у онкологических больных затруднена, так как их основные проявления: астенический синдром, лихорадка, лимфаденопатия, гепатоспленомегалия, цитопении зачастую расцениваются либо как проявления злокачественного

новообразования, либо как осложнения лечения [Wanke B.,2000]. Широкий диапазон клинических проявлений и преобладание инаппарантных форм болезни определяют специфику диагностики этой группы инфекций, выдвигая на первый план лабораторные методы и определение ведущих диагностических критериев [Долгих Т.И., 1999]. Это требует от врача умения проведения диагностического поиска с максимальной информативностью и минимальными затратами.

До начала наших исследований оппортунистическими инфекциями у онкологических больных на территории Омской области не занимались. Лишь в работе Долгих Т.И. (2000) результаты обследования группы гематологических и онкологических больных показали высокую частоту обострения ЦМВИ на этапе проведения противоопухолевой терапии. Вследствие этого к началу наших исследований мы не располагали информацией о распространенности оппортунистических инфекций среди больных злокачественными новообразованиями в Омском регионе. Из группы оппортунистических инфекций наше внимание привлекли: ЦМВИ, имеющая высокую распространенность (76%) среди населения Омской области; - парвовирусная, вызываемая PV B19, как малоизученная на территории России; и микоплазменная инфекция, вызываемая *M. pneumoniae*, распространение которой на территории Омской области за последние 25 лет не изучалась.

Необходимость настоящих исследований диктовалась запросами практического здравоохранения в целях оптимизации диагностики, лечения и профилактики оппортунистических заболеваний с учетом клинико-эпидемиологических особенностей их течения. При этом, особое внимание нами было уделено микст-инфицированию как наименее изученному варианту инфекционного процесса. Кроме того, отсутствие системы эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями в группе больных злокачественными новообразованиями послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Цель и задачи исследования. В связи с изложенной информацией,

целью работы явилась оценка иммунологических и эпидемиологических особенностей развития оппортунистических инфекций (ЦМВИ, парвовирусной В19 и микоплазменной инфекций) у больных злокачественными новообразованиями (меланома и ЛПЗ) для оптимизации клинической и эпидемиологической диагностики, лечения и профилактики. Поставленная цель достигалась решением следующих задач:

1. Изучить распространенность у онкологических больных в Омском регионе оппортунистических инфекций (цитомегаловирусной, парвовирусной, микоплазменной).
2. Изучить иммунологические особенности течения оппортунистических инфекций у больных злокачественными новообразованиями на различных этапах лечения.
2. Разработать приемы комплексной лабораторной диагностики оппортунистических инфекций у онкологических больных.
3. Представить характеристику основных проявлений эпидемических процессов изучаемых болезней. Выявить факторы риска инфицирования и заболевания.
4. Разработать аспекты адекватной системы иммунологического мониторинга за развитием и течением изучаемых инфекций.

Положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Ведущим проявлением иммунной дисфункции у онкологических больных является инфекционный синдром.
2. У больных со злокачественными новообразованиями оппортунистические инфекции развиваются на этапах опухолевого роста и противоопухолевой терапии.
3. У онкологических больных на фоне выраженной иммунной дисфункции и изменений цитокинового статуса оппортунистические инфекции протекают преимущественно в виде микст-инфекций.
4. Основными уровнями профилактики оппортунистических инфекций являются вторичный и третичный, позволяющие повлиять на развитие осложнений злокачественного процесса и противоопухолевого лечения.

Научная новизна исследования определяется поставленной целью и задачами, а также получаемыми результатами. Впервые статистически проанализирована инфицированность онкологических больных возбудителями оппортунистических инфекций (ЦМВ, РV В19 и M. pneumoniae). На основании статистических приемов выявлена диагностическая ценность каждого показателя. Впервые установлен факт микст-инфицирования цитомегаловирусом, парвовирусом В19 и M. pneumoniae. Впервые проведен математический анализ взаимосвязей между иммунологическими признаками.

Практическая ценность работы. Проведенное исследование акцентирует внимание врачей-онкологов на проблеме оппортунистических инфекций у онкологических больных на этапах проведения специальных методов лечения, демонстрируя тот факт, что оппортунистические инфекции поражают большинство больных злокачественными новообразованиями, ухудшая состояние больных и качество жизни.

Описаны основные изменения в иммунном статусе больных, определивших комплекс доступных параметров, имеющих наибольшую диагностическую значимость у больных злокачественными новообразованиями. Выявлен оптимальный комплекс исследований маркеров оппортунистических инфекций, что дает возможность сократить материальные и временные затраты пациента и лечебного учреждения на диагностику оппортунистических инфекций.

Апробация работы. Результаты исследований доложены и обсуждены на IV Конференции молодых ученых «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной онкологии» (г. Москва, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ на русском языке.

Структура и объем диссертации. Материал изложен на 120 страницах машинописного текста, иллюстрирован таблицами и рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

ГЛАВА 1

Оппортунистические инфекции у онкологических больных (обзор литературы)

В современном мире сопротивляемость человека инфекционным агентам, обусловленная состоянием его иммунной системы, подвергается сильнейшим депрессивным воздействиям экзо- и эндогенного порядка [Козинец Г. И., 2001]. Это приводит к формированию среди населения различных групп риска, что, прежде всего, обусловлено различного рода иммунодефицитами [Ермак Т. Н., 1998, Хаитов Р. М., 1999]. Поэтому в последние десятилетия сформировалась проблема так называемых «оппортунистических инфекций», развивающихся на фоне нарушений иммунной системы [Долгих Т.И., 1999].

Развитие и течение оппортунистических инфекций определяются тремя группами факторов: свойствами возбудителя, состоянием макроорганизма и внешней среды [ВИЧ, 1996]. Показано, что патогенный потенциал могут проявлять лишь возбудители со следующими свойствами: а) персистенция в организме человека с рождения или с раннего детства со способностью вызывать латентно протекающие эндогенные инфекции, которые реактивируются и генерализуются на фоне иммунодефицита; б) внутриклеточное паразитирование, особенно в макрофагах; в) элиминация в норме Т-клетками или макрофагами во взаимодействии с Т-клетками [Lookwood D. N. J., 1998]. Поэтому под термином «возбудители оппортунистических инфекций» объединен широкий спектр бактерий, вирусов, грибов и простейших, способных проявлять свои патогенные свойства только на фоне нарушения механизмов иммунореактивности, вызывая тяжелую, иногда со смертельным исходом инфекцию [Лимфомы кожи, 2000, Ройт А., 2000, Wanke B., 2000, Дмитриева Н.В., 2001]. Рассматриваемые нами в исследовании представители группы оппортунистических инфекций обладают именно такими свойствами.

Возбудители оппортунистических инфекций не имеют строго выраженного органного тропизма, вследствие чего один и тот же вид может вызвать различные нозологические формы (бронхит, менингит, пиелонефрит и др.). В свою очередь одна и та же нозологическая форма заболевания (пневмония, остеомиелит, сепсис и др.) может быть вызвана любым условно-патогенным микроорганизмом – бактериями, вирусами, грибами [Wanke В.,2000, Дмитриева Н.В., 2001]. Бактериальные инфекции лишь в исключительных случаях приводят к развитию иммунодефицитных состояний. Наиболее активное воздействие на иммунную систему оказывают вирусные инфекции [Козинец Г. И., 2001].

Развитие оппортунистических инфекций возможно лишь при наличии соответствующих условий [Лысенко А., Я.,1996]. Помимо нарушения иммунореактивности, их развитию способствует ряд других факторов: применение иммунодепрессантов [Schimpff S.C., 1995, Гершанович М.Л.,1982], структурные повреждения органов и систем макроорганизма [Михайленко А. А., 1998, Хаитов Р. М., 1999]. Таким образом, у онкологических больных имеются все необходимые условия для развития оппортунистических инфекций: дефицит иммунореактивности и воздействие иммунодепрессивных методов лечения [Гершанович М.Л.,1999].

1.1 Оппортунистические инфекции (ЦМВИ, парвовирусная и микоплазменная инфекции) и иммунодефицитные состояния

Возбудители оппортунистических инфекций таксономически неоднородны, к ним относятся: семейство Herpesviridae, аденовирусы, ВИЧ, хламидии, микоплазмы и ряд других инфекционных агентов [Лимфомы кожи, 2000].

Три основные характеристики представителей семейства Herpesviridae, к которому принадлежит род Cytomegalovirus, помогают определить их особое влияние на иммунодефицитных лиц: латентность, ассоциация с клеткой и онкогенность. Латентность заключается в том, что после первичного

инфицирования и репликации эти вирусы в течение долгого времени присутствуют в организме и при этом могут не проявлять себя. Такой латентный вирус может реактивироваться на фоне иммунной дисфункции [Долгих М. С., 2001]. Реплицирующийся вирус тесно связан с клеткой, что делает гуморальный иммунитет малоэффективным: ЦМВ переходит из клетки в клетку по цитоплазматическим мостикам, тем самым избегая действия циркулирующих антител [Имм инф проц., 1994]. Поражение ЦМВ иммунодефицитных лиц, к примеру, увеличивает риск лимфопролиферативных заболеваний в 7-10 раз [Tolkoff-Rubin N. E., 1996].

ЦМВ - убиквитарный возбудитель, распространенный во всех регионах мира, в настоящее время хорошо изучен и представлен в работах отечественных и зарубежных авторов [Долгих Т.И., 2000, Рахманова А. Г., 1990, Исаков В.А., 1999, Fujiwara Н., 2001, Huang G., 2002, Polz-Dacewicz M., 2002,]. Частота обнаружения противцитомегалических антител, по литературным данным, колеблется в различных странах от 40 до 100% [Лысенко А.Я., 1996, Рахманова А. Г., 1990, Beisser P.S, 2002, Moutaftsi M., 2002], уровень серопозитивности среди населения Омской области – 76,1% [Долгих Т.И., 1999]. Источником ЦМВИ является больной человек (острой или латентно протекающей формой), который может инфицироваться в различные сроки жизни. Возбудитель цитомегалии обнаруживается в слюне, крови, женском молоке, сперме, цервикальном секрете, в испражнениях и моче, что определяет механизмы и пути передачи: воздушно-капельный, контаминационный, половой, трансплацентарный и трансплантационный. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют об особой роли передачи вируса цитомегалии через донорскую кровь хирургическим больным, оперированным по поводу злокачественных новообразований [Armstrong J.A., 1976]. Механизм развития ЦМВИ зависит от многих факторов – в частности, имеют значение пути заражения, индивидуальные (генетические) особенности макроорганизма, состояние иммунной системы в момент инфицирования. ЦМВИ принадлежит к группе инфекций, являющихся индикаторами иммунологической

недостаточности [Ройт А., 2000]. Клинически выраженная ЦМВИ обычно является результатом реактивации латентной инфекции [Носик Н. Н., 2000 Soderberg-Naucleer С.,1997].

К группе высокого риска в отношении ЦМВИ относятся реципиенты компонентов крови [Soderberg-Naucleer С.,1997, Nichols W. G.,2002] и органов [Tolkoff-Rubin N. E.,1996] Вирусная инфекция может быть следствием введения лимфоидных клеток, содержащих латентные вирусы. При трансфузиях крови человеку с полноценным иммунитетом активация латентных вирусов происходит в результате активной иммунной реакции больного на вирус, сопровождающейся лимфоцитозом, вирус элиминируется или персистирует в латентном состоянии. Иная картина наблюдается при трансплантации вирусосодержащих клеток больным с подавленной иммунной реактивностью. Острая инфекция, вызванная активацией вируса, является серьезным осложнением у больных после пересадки костного мозга [Шабалин В.Н., 1988, Nichols W. G.,2001, Goldberg S. L.,2002, Fassas A.B.,2001].

По данным специалистов НИИ детской гематологии Минздрава РФ (г. Москва), ЦМВ осложняет течение острого лейкоза у 6-12% больных и у иммунокомпромитированных лиц ЦМВИ протекает намного тяжелее [Урмаева М. М.,1999].

ЦМВИ относится к инфекциям, при которых доказана длительная персистенция в организме хозяина [Зуев В.А.,1988,КаражасН.В.,1998]. В настоящее время известно [Зуев В.А.,1994], что персистенция является наиболее распространенной формой взаимодействия ЦМВ с хозяином. Вирусная персистенция может проявляться в трех формах: латентной, хронической и медленной - в зависимости от сочетания особенностей течения и длительности пребывания вируса в организме. Активация персистирующего вируса способна привести к развитию острой или хронической инфекции. Персистенция вируса в организме может сопровождаться его выделением в окружающую среду (при скрытой форме персистенции такое выделение носит

неконтролируемый характер), что придает этой проблеме эпидемиологический аспект.

В ответ на внедрение ЦМВ развивается иммунная перестройка макроорганизма. В крови репродукция ЦМВ происходит в лейкоцитах и в клетках моноцитарно-макрофагальной системы, нарушая их созревание и функционирование [Moutaftsi M., 2002, Козинец Г. И., 2001] или персистирует в лимфоидных органах [Erlach K.C., 2002, Huang G., 2002].

В норме дендритные клетки играют главную роль в формировании вирусспецифического цитотоксического Т-клеточного ответа [Ройт, 2000]. В случае ЦМВИ создается парадоксальная ситуация, при которой дендритные клетки вместо индукции резистентности организма, обеспечивают идеальные условия для обитания нескольких вирусов, являясь местом персистенции ЦМВ [Soderberg-Naucleer C. et al., 1997; Le Roy E., 2002]. Макрофаги, хронически инфицированные внутриклеточными паразитами, теряют способность активироваться ИФ- γ и ФНО- α и могут быть убиты под действием ФНО- β в сочетании с ИФ- γ [Vona C., 1996]. Персистенция ЦМВ в дендритных клетках нарушает их созревание и экспрессию молекул I и II класса МНС, а также костимулирующих молекул, Тем самым ЦМВ уклоняется от действия иммунной системы макроорганизма на этапе выхода молекулы на поверхность клетки [Slobedman B., 2002].

В развитии противовирусного иммунитета участвуют гуморальные и клеточные факторы. Иммунитет направлен на нейтрализацию и удаление из организма вируса, его антигенов и зараженных вирусом клеток. Вируснейтрализующие антитела действуют непосредственно на возбудителя только тогда, когда вирус, разрушив клетку, некоторое время находится в межклеточном пространстве, пока не проникнет в следующую, и служат главным препятствием для распространения вируса в другие клетки и ткани [Ройт А., 2000, Benjamini E., 1996].]. Действие антител, помимо нейтрализации внеклеточных вирусов, состоит в том, что они вызывают разрушение инфицированных вирусами клеток, активируя систему комплемента [Ройт А.,

2000]. При этом, как и в случаях, когда вирусный геном интегрируется в ДНК чувствительных клеток, основную роль в становлении иммунитета играют клеточные механизмы, связанные прежде всего с действием специфических цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-эффекторов и макрофагов [Имм инф проц., 1994].

Следствием вмешательства инфекционных агентов может быть формирование дефектов специфического клеточно-опосредованного иммунного ответа [Вона С., 1996]. Т-лимфоциты служат главным эффекторным механизмом сопротивления ЦМВИ [Ройт А., 2000]. Однако неэффективная презентация антигена ведет к низкой пролиферации цитотоксических Т-лимфоцитов [Moutaftsi M, 2002]. В иммунном ответе против инфицированных ЦМВ антиген-презентирующих клеток в первую очередь принимают участие специфические CD4⁺-клетки [Le Roy E., 2002]. Изучено, что у лиц с антигемией ЦМВ без клинической манифестации инфекции CD4⁺-клеточный ответ предшествует CD8⁺-клеточному специфическому ответу. У пациентов с клинической манифестацией ЦМВИ специфический CD4⁺-клеточный ответ отсрочен и появляется только после антивирусной терапии, а первоначальный CD8⁺-клеточный и гуморальный ответ недостаточен для полноценной элиминации инфекции [Gamadia L.E., 2002]. В литературе имеются противоречивые данные о содержании CD8⁺-клеток у иммунокомпрометированных пациентов при ЦМВИ: Gamadia L.E. (2001) отмечает повышение количества CD8⁺-клеток и содержание в них гранзима В и перфорины по сравнению со здоровыми индивидуумами [Gamadia L.E., 2001], Fujiwara H. (2001), на примере больных Т-клеточной лимфомой перед началом специального лечения, выявил низкий уровень CD8⁺ и CD56⁺ клеток в периферической крови [Fujiwara H, 2001]. Возникающая в результате инфекции дисфункция иммунокомпетентных клеток является одной из главных причин развития вторичных иммунодефицитов [Имм инф проц, 1994, Михайленко А.А., 1998, Хаитов Р.М., 1999].

В процессе длительной персистенции вируса снижается синтез цитокинов, например, ФНО- α [Moutaftsi M, 2002]. При изучении механизмов реактивации ЦМВИ установлена корреляция между повышением уровня цитокинов в плазме, таких как ФНО- α , ИФ- γ , ИЛ-6, и ИЛ-10, и развитием антигенемии. Указывается на возможность подавления цитокинами (ФНО- α , ИЛ-1 и ИФ- γ) экспрессии ЦМВ в культуре астроглиальных клеток человека [Носик Н.Н., 2000]. Идет накопление экспериментальных данных об участии различных цитокинов в патогенезе цитомегаловирусной инфекции.

Инфекционный процесс при цитомегалии реализуется в виде либо бессимптомной латентной инфекции, либо клинически манифестными локализованной или генерализованной формами [Peggs K., 2002]. Исследование специфических антител против ЦМВ у иммунокомпрометированных пациентов показало, что антитела против «ранних» белков ЦМВИ не обязательно сопровождалась клинической манифестацией заболевания, а создавали риск для его развития. IgM и IgA против «поздних» белков ЦМВ могли присутствовать и у здоровых серопозитивных лиц [Weber B., 1993].

Существенно, что эффективная терапия ЦМВИ возможна лишь на начальном периоде. Однако ранние стадии данного осложнения не имеют специфических клинических проявлений; их симптоматика ограничена длительной субфебрильной лихорадкой, нейтропенией и тромбоцитопенией. Таким образом, чисто клиническая ранняя диагностика ЦМВ-заболевания крайне затруднительна, что стимулирует поиски лабораторных методов, позволяющих своевременно идентифицировать присутствие ЦМВ у больного [Александрова Ю.Н., 1996].

У иммунокомпетентных пациентов ЦМВ является причиной изменения гемопоказателей: мононуклеоз – 64%, анемия – 20%, тромбоцитопения – 20% [Bonnet F, 2000], чаще же ЦМВИ у них асимптомная [Polz-Dacewicz M, 2002]. ЦМВ может играть также важную роль в развитии атеросклероза и сосудистых стенозов [Melnick J.L., 1994].

Ввиду большой опасности ЦМВ для иммунодефицитных лиц исследованию этого вируса в клиническом аспекте посвящено много работ [Войлокова Р. Я., 1999, Долгих М. С., 1997, Баринский И. Ф., 1995]. У иммунокомпрометированных пациентов ЦМВ может быть причиной тяжелых клинических проблем [Gamadia L.E., 2001], которые включают интерстициальную пневмонию, гепатиты, желудочно-кишечные болезни, ретиниты, панцитопению, лихорадку, повышение частоты отторжения трансплантата, замедленное приживание у реципиентов аутологичного костного мозга [Goldberg SL, 2002]. Гораздо реже возникают панкреатит, миокардит, интерстициальный нефрит и менингоэнцефалит, причем инфекция в первую очередь поражает трансплантат [Tolkoff-Rubin N. E., 1998]. Из особенностей ЦМВИ обращало на себя усугубление тромбоцитопении, которое могло быть объяснено поражением мегакариоцитов и их предшественников, чувствительных к ЦМВ [Crapnell K., 2000].

ЦМВИ у взрослых встречается преимущественно как позднее осложнение злокачественных опухолей, а также у больных после гемотрансфузий [Nichols W. G., 2002], трансплантаций органов [Yagi T., 2002], приема цитостатических и кортикостероидных препаратов [Morrison V. A., 2001]. Указанные факторы не только вызывают реактивацию латентной инфекции, но и повышают чувствительность тканей к экзогенному заражению ЦМВ. В этих условиях ЦМВИ может быть второй болезнью, обуславливающей летальный исход [Исаков В.А., 1999].

Cohen Y. (2002) описывает случай острого желудочно-кишечного кровотечения, вызванного ЦМВ, у больной В-клеточной лимфомой после пересадки аутологичного костного мозга [Cohen Y., 2002]. В случаях геморрагических энтеритов после пересадки аутологичной стволовой клетки, ЦМВИ может быть причиной этого осложнения [Kozuka T, 2001]. ЦМВИ диагностирована у 45 % больных после аллогенной трансплантации костного мозга и 21 % больных после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. ЦМВИ клинически проявлялась пульмонитом (27%),

гепатитом (32%), гастроэнтеритом (9%), геморрагическим циститом (55%), замедлением приживления костного мозга (59%), тромбоцитопенией (68%). Известно, что ЦМВ замедляет восстановление клеток крови после пересадки костного мозга. Таким образом, он способствует усугублению аплазии костного мозга и иммунной недостаточности, повышая риск рецидива [Erlach КС, 2002]. Профилактическое применение гипериммунного иммуноглобулина – цитотекта, снижает риск развития ЦМВИ после аллогенной трансплантации костного мозга с 62 до 36% [Моисеев С.И., 2002].

Симптомная ЦМВИ встречается с частотой 8, 29, 25 и 39% у реципиентов после пересадки почки, печени, сердца и комплекса сердце-легкие соответственно [Мойсюк Я.Г., 1996].

У иммунодепрессивных онкогематологических больных клинические проявления ЦМВИ очень разнообразны. Это объясняется политропизмом вируса ко многим органам и тканям. В зависимости от органа-мишени ЦМВИ у больных этой группы может развиваться пневмония, гепатиты, поражения ЖКТ и нервной системы (энцефалиты, менингоэнцефалиты, полинейропатии). В то же время часто ЦМВИ может проявляться только одной лихорадкой [Snoeck R., 1995].

Проблема патогенетического взаимодействия между ЦМВ и лимфомой пока недостаточно изучена. Отрицается роль ЦМВ как этиологического фактора в развитии ЛГМ [Schmidt СА, 2000], в эксперименте ЦМВ не инфицирует клетки лимфомы [Erlach КС, 2002]. По данным Fujiwara Н. (2001) все пациенты с Т-клеточной лимфомой, у которых перед началом лечения была выявлена ЦМВИ, имели низкую частоту выживаемости, чем те, у которых ЦМВИ развивалась уже в ходе лечения. Развитие ЦМВИ до начала лечения ЛПЗ сопровождалось более выраженным снижением CD8⁺- и CD56⁺- клеток [Fujiwara Н, 2001]. Было высказано предположение, что инфекция ЦМВ у больных Т-клеточной лимфомой имеет двойное значение: ЦМВИ в конце курса лечения улучшает прогноз для выживаемости, а ЦМВИ в первой половине

лечения снижает выживаемость, т.к. сочетается с более агрессивным течением ЛПЗ [Fujiwara H, 2000].

Также имеются единичные исследования по выявлению ДНК ЦМВ в опухолевых клетках: в 78% случаях белок ЦМВ pp65 выявлялся в клетках колоректальных полипов, в 92% - в клетках аденокарциномы, и ни в одном случае при исследовании клеток здоровой слизистой колоректальной области [Harkins L., 2002]. На данный момент не сформировалась четкого мнения о влиянии ЦМВ на рост и прогрессирование злокачественных новообразований.

ЦМВ вызывает общую иммуносупрессию, так как в условиях длительной антигенной стимуляции происходит более глубокое поражение иммунной системы, способствующее развитию оппортунистических суперинфекций [Schmidt CA, 2000]. Смешанные или микст-инфекции, возникают в результате одновременного, а чаще последовательного заражения человека несколькими видами возбудителей. Основой формирования хронического патологического процесса при микст-инфекциях является сочетание имеющейся иммунокомпрометации и вызванной острым инфекционным процессом иммунной недостаточности [Долгих Т.И.,2000].

В доступной нам литературе мы нашли единичные исследования частоты микст-инфицирования населения возбудителями оппортунистических инфекций [Выдумкина С.П. и др.,1999,Condorelli F., 1993]. Скрининговое исследование 1462 сывороток, взятых от лиц, как клинически здоровых, так и имеющих ряд заболеваний показало, что острая ЦМВИ была зарегистрирована у 6% обследованных пациентов, 15% взрослых имели в сыворотке противовирусные IgM. Наряду с определением IgM-антител к ЦМВ в некоторых случаях по клиническим показаниям проводили лабораторную диагностику других инфекционных заболеваний (токсоплазмоза, хламидиоза, герпетической инфекции, гепатитов А и В и др.). У 25-42% лиц обнаружили признаки этих инфекций [Выдумкина С.П. и др.,1999]. Высокий уровень инфицированности населения вирусом простого герпеса, токсоплазмой, микоплазмой и другими патогенными агентами часто приводит к развитию

этих инфекций параллельно с ЦМВИ [Condorelli F., 1993]. Huang G. (2002) указывает на низкую частоту микст-инфицирования ЦМВ и вирусом Эпштейн-Барра. ДНК вируса Эпштейн-Барра выявлена у 21,4% больных ЛГМ и только у одного одновременно еще и присутствовала ДНК ЦМВ [Huang G., 2002].

Недостаточной настойчивостью при диагностическом поиске можно объяснить высокую частоту - 40% выявления ЦМВИ. Другой причиной высокой частоты ЦМВ является отсутствие в клинике протокола по ее профилактике: не тестируются доноры компонентов крови на наличие ЦМВ, у больных групп высокого риска не всегда проводится профилактика ЦМВИ, не определяются CD4⁺-клетки, уровень которых ниже 200 в 1 мм³ является показателем к началу первичной профилактики инфекции [Галстян Г.М., 2002].

Человеческий парвовирус В19 был открыт в 1975 году Cossart [Sodja I., 1996], но его этиологическая связь с инфекционной эритемой и водянкой плодов была доказана только в 1984-1985 годах. Наиболее патогенным для человека оказался вирус В19 семейства парвовирусов, рода Parvovirus – возбудитель инфекционной эритемы, поражающей суставы, и хронической гемолитической анемии [Hsu J. W., 2002]. Инфекция РV В19 широко распространена, поскольку антитела к вирусу обнаружены у 60% взрослого населения ряда европейских стран [Barin F., 1993, Sodja I., 1996]. Серопозитивность в детском возрасте составляет 11%, значит эта инфекция чаще встречается у взрослых, но не диагностируется [Sodja I., 1996].

Данные о распространенности данной инфекции на территории Омской области отсутствуют. Специфическая профилактика и лечение не разработаны [Борисов Л.Б., 2001].

Во всех случаях инфицирования РV В19 (воздушно-капельным путем, при переливании инфицированных компонентов и препаратов крови [Nino M., 2000; Hayakawa F., 2002, Борисов Л.Б., 2001], при трансплантации органов и тканей, а также через плаценту [Fean W.S., 2002]) развивается парциальная красноклеточная аплазия костного мозга [Кравченко С.К., 1996]. Это связано с

тропизмом PV B19 к гемопоэтическим клеткам эритроидной линии [Weigel-Kelley K.A., 2002].

Первичная репродукция вируса, по-видимому, происходит в клетках респираторного эпителия, после чего он попадает в кровь и может быть выделен из нее в течение 1 недели. Одновременно с вирусемией развиваются клинические симптомы заболевания. Вирус репродуцируется в ядрах клеток костного мозга, поражая эритробласты и особенно ретикулоциты. Установлен тропизм возбудителя к эндотелию сосудов [Борисов Л.Б., 2001]. При исследовании костного мозга выявляются гигантские пронормобласты и отсутствуют нормальные созревающие предшественники эритроцитов [McNall R.Y., 2001].

Клеточным рецептором для PV B19 служит Р-антиген клеточных мембран, который экспрессируется не только на мембранах эритроцитов и эритрокариоцитов, но и на мегакариоцитах, эндотелиальных клетках, клетках плаценты, печени и сердца плода. Частота встречаемости Р-антигена среди европеоидов 75-80%. Репликация PV B19 происходит в эритрокариоцитах костного мозга в течение 21 дня. В отсутствие Р-антигена инвазии и репликации не происходит [Кравченко С.К., 1996, Yoing N. S., 1995].

Широко распространенный PV B19 демонстрирует большой спектр клинических проявлений различной степени тяжести, что зависит от состояния иммунной системы [RooyogawanY., 2000]. Лечение любых опухолевых заболеваний цитостатическими и иммуносупрессивными средствами приводит к персистенции вируса. Таким образом, диагностика PV B19 особенно актуальна у пациентов онкологических и гематологических клиник, отделений трансплантации органов и тканей [Ягужинская О.Е., 2001; Hsu J. W., 2002; Heegaard E. D., 2002].

Человеческий PV B 19 считается этиологическим агентом апластической анемии у иммунокомпрометированных пациентов [Lugassy G., 2002; Kaptan K., 2001]. В ходе обследования детей с острым лимфобластным лейкозом выявлено инфицирование 8% серонегативных по PV B19 детей в ходе химиотерапии с

развитием глубокой анемии и тромбоцитопении. У 75% серопозитивных пациентов в ходе лечения выявлена ДНК PV В19, что сопровождалось лихорадкой, миалгией, сыпью [Heegaard E. D., 2002]. Имеются единичные упоминания о связи PV В19 и глубокой нейтропении у больного, прооперированного по поводу рака толстой кишки [Gautier E., 1997], что требует дальнейших исследований. Кроме того, выявленный эндотелиальный тропизм вируса поддерживает мнение, что PV В19 может быть причиной тромбозов микроциркуляторного русла. Это явление в виде микроваскулитов наблюдалось у больных после пересадки почки. Клинике почечной недостаточности предшествовала лихорадка, повышенная утомляемость, артралгии, апластическая анемия и тромбоцитопения [Murer L., 2000]. Парвовирус В 19 является причиной острой недостаточности функции костного мозга [Begue P., 1999], апластических кризов и хронической гемолитической анемии [Martin-Nunez G., 1995, Kaptan K., 2002]. Выявлена связь острой энцефалопатии у детей с талассемией и инфекции PV В 19 [Bakhshi S., 2002]. Наличие вирусов в клетках крови или плазме у здоровых доноров создает риск инфицирования реципиентов при гемотрансфузиях.

Комплексное использование методов ПЦР и ИФА позволило оптимизировать диагностику инфекции PV В19 у больных гемолитическими анемиями, протекающими на фоне иммунодефицита, обусловленного заболеванием или вызванного иммуносупрессивной терапией. Лечение донорским иммуноглобулином было успешным при персистенции вируса [Ягужинская О.Е., 2001; Kaptan K., 2001].

Больные злокачественными новообразованиями имеют высокий риск инфицирования PV В 19, но из-за ослабленного иммунного ответа серологические и клинические признаки этой инфекции могут быть не выражены, и диагноз устанавливается на основании клеточного состава при исследовании костного мозга [McNall R.Y., 2001].

M. pneumoniae выделена М. Итоном в 1944 г. и на основании способности проходить через бактериальные фильтры была отнесена к вирусам. М.

M. pneumoniae – экстрацеллюлярный патоген, колонизирующий преимущественно трахеобронхиальный эпителий, и в 3-10% случаев инфекция протекает в виде острой пневмонии с атипичным течением [Белоусов Ю.Б., 1996].

Уровень заболеваемости микоплазменной пневмонией очень колеблется в различных популяциях и зависит от метода диагностики. *M. pneumoniae* является частой причиной вспышек респираторных заболеваний в закрытых коллективах [Hammerschlag MR, 2001].

Серологические исследования у амбулаторных больных с клиникой респираторной инфекции выявляют достоверное повышение титра антител к *M. pneumoniae*, как единственному возбудителю – в 22,8% случаев [Новиков Ю. К., 2002]. Серопозитивность пациентов по *M. pneumoniae* составила 16,4% случаев среди всех обратившихся в лечебное учреждение независимо от нозологии. При исследовании титра антител к *M. pneumoniae* выявлена зависимость от возраста пациентов: у детей в среднем 1:137,9, у пожилых 1:320 [Daxboeck F., 2002].

Поскольку *M. pneumoniae* является мембранным паразитом, то она прикрепляется к рецепторам на мембране эпителиоцитов верхних дыхательных путей. При этом липидные компоненты мембраны микоплазмы диффундируют в клеточную мембрану, а стеролы клетки поступают в мембрану микоплазмы. После проникновения в клетки микоплазма размножается в их цитоплазме, образуя микроколонии. Возможно гематогенное распространение микоплазмы, особенно у детей, у которых наряду с легкими поражаются печень, желудочно-кишечный тракт и другие органы [Grulich C., 2003].

M. pneumoniae – известный возбудитель атипичной пневмонии у детей и молодых, зачастую является причиной внебольничной пневмонии [Johnson P.D., 2002]. Недавние исследования показали, что инфекция, вызванная *M. pneumoniae*, наблюдается от 1,9 до 30% случаев пневмонии у взрослых [Hammerschlag MR., 2001].

Инфекция протекает, в общем, легко и только некоторые пациенты лечатся стационарно. Однако возможны осложнения, в основном со стороны

ЦНС. У 21 пациента с микоплазменной пневмонией помимо лихорадки, головной боли, миалгии и кашля и наличия лейкоцитоза, повышенного уровня С-реактивного белка и инфильтрации легких на рентгенограммах, наблюдались: энцефалит (3), полирадикулит (1), эритема (3), аритмия (1) и гемолитическая анемия (2). Патогенез этих осложнений остается неясным [Bjorn A.M., 2002]. В литературе упоминаются случаи, когда тромбоцитопеническая пурпура была ассоциирована с *M. pneumoniae* [Salgado F., 2002]. *M. pneumoniae* может быть причиной анемии [Gehrs B. C., 2002], тромбоцитопении [Scimesa P. G., 1994]. При обследовании 184 детей в возрасте 5,33 лет, больных острым нестрептококковым фарингитом, острая *M. pneumoniae* инфекция определялась у 44 (23,9%) детей [Esposito S, 2002 E].

По результатам проведенного обследования детей от 5 лет и старше, Petridou E. et al. (2001) пришли к выводу, что острый лимфобластный лейкоз обратно пропорционально ассоциируется с серопозитивностью по вирусу Эпштейн-Барра, человеческому вирусу герпеса 6 типа, *M. pneumoniae* и PV B 19 [Petridou E, 2001].

Влияние *M. pneumoniae* на иммунокомпетентные клетки связано с тем, что в фагоцитирующих клетках микоплазма может длительно персистировать и заноситься в разные органы. Зараженные клетки являются мишенью для действия цитотоксических клеток. *M. pneumoniae* образует гемолизины. Она поражает клетки, главным образом, в результате тесного контакта с ними при воздействии токсических продуктов метаболизма (перекись водорода и др.). Это приводит к хронизации и медленному течению инфекционного процесса.

При микоплазменной пневмонии формируется клеточный и гуморальный иммунный ответ. Одновременно образуются секреторные антитела класса А (sIgA), обеспечивающие местный иммунитет. Продолжительность постинфекционного иммунитета зависит от интенсивности заболевания. После легких форм он непродолжителен, после тяжелых – не менее 5-7 лет [Борисов Л.Б., 2001].

M. pneumoniae сопровождается сдвигами в цитокиновой сети. В эксперименте в клетках рака легкого линии A549 *M. pneumoniae* индуцировала синтез провоспалительных цитокинов: ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8 [Yang J., 2002]. ФНО- α , ИФ- γ , ИЛ-6 и ИЛ-8 были значительно повышены в бронхоальвеолярном лаваже, в то время как повышения концентрации ИЛ-4 и ИЛ-10 не было [Hardy RD, 2001]. У детей с острой микоплазменной инфекцией было зафиксировано достоверное повышение уровня ИЛ-5 [Esposito S, 2002]. Моноциты периферической крови при инкубации с *M. pneumoniae* активно секретировали ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α [Kazachkov M.Y., 2002]. Содержание ИЛ-1 β при микоплазменной инфекции, как в острый период, так и в период реконвалесценции оставалось высоким [Lieberman D, 1997].

В доступной нам литературе мы нашли данных о распространенности микоплазменной инфекции у онкологических больных.

Следует отметить, что данные зарубежных авторов по заболеваемости оппортунистическими инфекциями не отражают состояния проблемы, поскольку заболеваемость у нас и за рубежом определяется различной эпидемиологической обстановкой в лечебных учреждениях, профилем больных, тактикой использования химиопрепаратов, неодинаковыми социально-экономическими факторами, режимами профилактики, диагностическими подходами.

Таким образом, литературные данные подтверждают актуальность проблемы оппортунистических инфекций для больных злокачественными новообразованиями. Поскольку в зарубежной и отечественной литературе мы не встретили данных по методологическому подходу к диагностике и прогнозированию оппортунистических инфекций у онкологических больных, приведенные материалы диктуют необходимость выработки диагностических и прогностических критериев в отношении актуальных оппортунистических инфекций у данной группы больных.

1.2 Иммунная дисфункция у больных злокачественными новообразованиями

В популяции постоянно растет количество лиц с иммунной дисфункцией. Многие факторы окружающей среды – поллютанты, микроорганизмы, ионизирующая радиация, химические соединения и лекарственные препараты – способны нарушать нормальный физиологический статус органов и систем человека. Одной из наиболее чувствительных к действию указанных факторов является иммунная система [Абидов М.Т., 2001]. Возрастает антигенная нагрузка в результате развития промышленности: химические добавки к пище, медикаменты, косметика, бытовая и строительная химия и т. д. Проникая во внутреннюю среду организма, они в прямом смысле денатурируют молекулы, превращая их в раздражающие иммунную систему антигены [Игнатьева Г.А., 1997]. В итоге мы сталкиваемся с явлениями вторичного иммунодефицита, который характеризуется, главным образом, снижением количественных и функциональных показателей клеточного иммунитета, затрагивающих Т-лимфоциты, НК, моноциты/макрофаги, лимфокинактивированные клетки [Молчанов О.Е., 2001].

Главными задачами оценки иммунного статуса человека, при наличии у него заболеваний иммунной системы, являются идентификация нарушенного звена иммунитета (собственно иммунодиагностика), прогнозирование тяжести патологического процесса, оценка эффективности проводимого лечения. Наибольшее значение иммунодиагностика как таковая имеет для установления клинического диагноза иммунодефицита [Хайтов Р. М., 2001].

Несмотря на все данные об изменениях иммунологических параметров у онкологических больных, одним из основных обсуждаемых вопросов является правильная интерпретация наблюдаемых сдвигов. В связи с этим особое внимание следует уделять динамике исследуемых показателей иммунной системы, учитывая как количество иммунокомпетентных клеток, так и их функциональную активность [Останин А.А., 1999]. Сохранение или усиление отрицательной динамики иммунологических показателей указывает на

необходимость воздействия на них с целью восстановления функциональной активности [Кадагидзе З.Г., 2001].

Среди иммунодефицитных лиц онкологические больные составляют особую группу, так как помимо всех вышеперечисленных факторов, на них оказывает влияние опухолевый процесс и специальные методы лечения (оперативное лечение, химиотерапия и лучевая терапия). При изучении структуры иммунопатологических синдромов у больных злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта получены следующие данные: инфекционный синдром – у 58,5% больных, аллергический – у 7,3%, аутоиммунных – у 9,3% [Сабиров А. Х., 2000].

Несмотря на несомненные достижения в области диагностики и лечения онкологических заболеваний, во всем мире сохраняется тенденция к росту заболеваемости раком и увеличение числа больных с распространенными формами злокачественных новообразований [Трапезников Н.Н., 2001], это касается и иммунозависимых злокачественных новообразований: лимфопролиферативных заболеваний [Справочник, 1996] и меланомы [Лемехов, 2001]. Не лучшим образом обстоит ситуация в городе Омске и Омской области, где показатели заболеваемости по-прежнему находятся на высоком уровне (таблица 1).

Вторичная иммунная недостаточность чаще всего обусловлена снижением количества или функциональной несостоятельностью клеток, необходимых для адекватного иммунного ответа. Численность клеток сокращается за счет индукции некроза или активации программы апоптоза. Функциональная клеточная анергия, как правило, возникает из-за увеличения выше физиологической нормы локальной концентрации регуляторных молекул: циклических нуклеотидов, медиаторов воспаления, цитокинов, клеточных супрессорных факторов, факторов блокирующих опухоли. Еще один значимый механизм формирования вторичной иммунной недостаточности – дисбаланс компонентов системы иммунореактивности [Ярилин А.А., 1999]. При злокачественных опухолевых процессах различных локализаций показано

снижение количества и угнетение функций Т-хелперов [Налескина Л.А., 1996]. Иммунный ответ организма на опухоль осуществляется эффекторными Т-лимфоцитами с фенотипом CD3⁺, для запуска которых необходима предварительная сенсibilизация лимфоидных клеток антигенными детерминантами, а также Т-независимыми механизмами. Уменьшение количества Т-лимфоцитов и снижение их функциональной активности наблюдается у больных опухолями разных локализаций [Шейко Е.А., 1997, Севостьянова Н. В., 2001].

Выделяют три степени иммунодепрессии [Молчанов О.Е., 2001]:

1. Угнетение системы иммунореактивности на тканевом (локальном) уровне при превращении единичной опухолевой клетки в опухолевый зачаток в результате срыва программы апоптоза.
2. Иммуносупрессия на системном уровне под действием факторов, выделяемых опухолевыми клетками. Опухоль использует механизмы супрессии для уменьшения ответственности организма на её наличие.
3. Общая иммунодепрессия, возникающая вследствие нарушения процессов регуляции

Известно, что у онкологических больных нарушена функция клеточного звена иммунной системы, в то время как гуморальное звено функционирует нормально, то есть активность Th1 подавлена, а активность Th2 сохранена. На ранних стадиях заболевания основную роль в противоопухолевой защите играют цитотоксические CD8⁺ лимфоциты. Однако такая ситуация сохраняется лишь до тех пор, пока на поверхности опухолевой клетки в достаточном количестве экспрессируются молекулы МНС I класса. По мере прогрессирования процесса снижается интенсивность экспрессии этих молекул, вплоть до полной их потери, и тогда основную роль в защите начинают играть НК, которые осуществляют антиген-независимый лизис клеток [Молчанов О.Е., 2001, Bukowski R., 1997]. Основные нарушения при злокачественных новообразованиях отмечаются в Т-клеточном звене иммунитета за счет изменения соотношения иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов

CD4⁺/CD8⁺ и изменения количества и снижения функциональной активности NK [Lauerova L., 2002]. Помимо этого важный прогностический показатель при злокачественных новообразованиях: экспрессия антигена CD95 [Fas/APO-1], опосредующего апоптоз [Апоптоз, 2000]. У больных доброкачественными процессами (хронический аднексит, миома матки, киста яичника) уровень экспрессии CD95 достигает 45-49%, а у больных некоторыми злокачественными новообразованиями экспрессия этого антигена была низкой и составила: при раке яичников – 24,7%, раке тела матки – 28,8% [Кадагидзе З. Г., 1999]. Имеются данные, что экспрессия CD95 не является обязательным критерием последующего запуска процессов апоптоза, а выявляет лишь готовность клеток к его индукции через указанный рецептор [Бойчук С. В., 2001].

У онкологических больных функция дендритных клеток, так же как и их генерация снижена [Балдуева И. А., 2001]. Взаимодействие микроорганизмов с рецепторами макрофагов имеет важное следствие – индукцию синтеза и секреции провоспалительных цитокинов, обеспечивающих развитие раннего воспалительного ответа на инфекцию [Rogers H., 1995]. При злокачественных новообразованиях и вирусных инфекциях наблюдается альтернативная активация антиген-презентирующих клеток, т.е. дендритные клетки активируются не классически – ИФ- γ , а противовоспалительными цитокинами - ИЛ-10 и ИЛ-4, что нарушает нормальное течение иммунного ответа [Birk R.W., 2001].

Кроме того, наблюдается выраженное снижение экспрессии костимулирующих молекул на дендритных клетках, необходимых для индукции пролиферации Т-клеток, которые находятся в опухолевом микроокружении [McLellan A., 2000]. В случаях низкого содержания костимулирующих молекул на дендритных клетках, вместо стимуляции и образования специфического клона цитотоксических Т-лимфоцитов, можно ожидать Т-клеточную анергию и даже апоптоз. Это означает, что многие

иммуноэффекторные клетки погибают в опухолевом микроокружении [Балдуева И. А., 2001].

Р. В. Петров и соавт. (1984) разработали поэтапный метод оценки иммунной системы человека, а именно – тесты первого и второго уровней [Петров Р. В., 1984]. Такое подразделение не утратило своего значения до настоящего времени. К началу 90х гг. сформировались взгляды на единую цитокиновую систему [Oppenheim J., 1993], которая объединяет интерфероны, продуцируемые вирусиндуцированными клетками; колониестимулирующие факторы; интерлейкины, обеспечивающие взаимодействие различных популяций лейкоцитов; факторы роста, стимулирующие или тормозящие митогенез, хемотаксис и дифференцировку клеток [Пальцев М. А., 1999, Козлов В. А., 2002, Симбирцев А. С., 2002].

Цитокиновая сеть играет важную роль в поддержании гомеостаза организма [Ходякова А. В., 2001]. Цитокины секретируются иммунокомпетентными клетками в процессе межклеточного взаимодействия, под влиянием антигенов и различных инфекционных агентов [Кетлинский С. А., 1992] и в норме направляют иммунный ответ по наиболее эффективному пути [Stevceva L., 2002]. Цитокины вовлечены в каждое звено иммунитета и воспаления, включая дифференцировку предшественников клеток иммунной системы, представление антигена, клеточную активацию и пролиферацию, экспрессию молекул адгезии и острофазового ответа [Фрейдлин И. С., 1996, Slifka M. K., 2000].

Профиль цитокинов определяется в известной мере двумя функциональными типами Т-лимфоцитов: Th1 и Th2. Th1-цитокины – ИФ- γ , ИЛ-2 – усиливают клеточный иммунитет, при котором клетки с CD8⁺-рецепторами играют важную роль в борьбе с инфекцией: ингибируют гуморальный иммунитет и дают защитный эффект от инфекционных агентов, которые инактивируются в основном благодаря реакциям клеточного иммунитета [Di Piro J. T., 1997, [Клиническая иммунология, 1998](#)]. Th2-цитокины (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13) усиливают гуморальный

иммунитет и ингибируют клеточный иммунитет, в результате чего дают защитный эффект от патогенных агентов, подавляемых с помощью реакций гуморального иммунитета [Sher A., 1998].

Наряду с другими пептидами, регулируемыми внутриклеточные процессы, цитокины участвуют в регуляции апоптоза, злокачественной трансформации, пролиферации, ангиогенеза. Серией фундаментальных работ доказана роль цитокинов в патогенезе многих типов рака [Пальцев М. А., 1997, Ярилин А. А., 1997, Var-Eli M. 1999]. Таким образом, определение концентраций цитокинов в различных биологических жидкостях является современным уровнем исследования функции иммунной системы.

Особое внимание в последние годы уделяется изучению маркеров воспаления и активации иммунитета [Насонов Е.Л., 2001]. Характерным лабораторным признаком воспалительных и инфекционных заболеваний является увеличение синтеза белков плазмы (так называемые острофазовые белки), к которым относится и лактоферрин.

Лактоферрин - железосвязывающий гликопротеин молекулярной 83 000 Д [Сухарев А.Е., 1990 №3 и № 8]. Лактоферрин является важным компонентом поддержания гомеостаза систем организма, участвуя в процессах транспорта железа, обладая антимикробной, антиоксидантной и противовоспалительной активностью. Ряд исследователей отмечает иммуномодулирующие свойства лактоферрина. Бактерицидные свойства лактоферрина определяются его способностью к конкурентному связыванию железа, необходимого для жизнедеятельности бактерий. Противовоспалительные свойства лактоферрина связаны с возможностью блокировать образование С3-конвертазы, что приводит к ингибированию классического пути активации системы комплемента и снижению способности С3 и С5 компонентов комплемента реагировать с иммунными комплексами в степени, обратно пропорциональной насыщенности железом. Кроме того, лактоферрин считается важным внеклеточным антиоксидантом, механизм действия которого объясняется способностью связывать железо и, тем самым, предотвращать повреждение

тканей гидроксильными радикалами [Дюгеев А.Н., 1991, Сухарев А.Е., 1990 №3 и № 8]. Изменения уровней содержания лактоферрина выявляются при многих патологических состояниях [Adeyemi E.O., 1990, Немцова Е. Р., 1995, Юркина Э.А., 1998]. Резкое возрастание лактоферрина характерно для бактериальных инфекций [Клинико-,1998, Adeyemi E.O., 1992]. Несколько иная картина имеет место при вирусных инфекциях: показано снижение содержания лактоферрина в нейтрофилах и плазме крови при некоторых острых вирусных инфекциях [Baynes R. D.,1988]. По данным Брызжниковой Т. С. с соавт.: в ходе обострения герпетической инфекции уровень лактоферрина в сыворотке крови не превышает норму, но возрастает по мере развития ремиссии [Функциональная,1995]. Изучается роль лактоферрина и при опухолевом процессе: при исследовании его противоопухолевого действия, получены данные, свидетельствующие о существенном замедлении процесса метастазирования легких клетками меланомы B16-F10 у мышей [Bezault J., 1994].

Ряд авторов выявили наличие рецепторов к лактоферрину на иммунокомпетентных клетках: моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, активированных Т-лимфоцитах, а также на В-лимфоцитах, что обуславливает влияние этого железосодержащего гликопротеина межклеточную кооперацию [Naidu A. S.,1991,Esaguy N.,1993 Billiau A.1996]. Было показано, что лактоферрин стимулирует экспрессию Fc-рецепторов для IgM и IgG, является стимулирующим фактором для аутореактивных Т-клеток [Esaguy N., 1993]. Как было отмечено выше, многие авторы отмечают коррелятивные взаимосвязи между уровнями лактоферрина и провоспалительных цитокинов [Baynes R.D., 1994]. Данный факт позволяет использовать недорогую и доступную тест-систему для определения лактоферрина иммуноферментным методом с целью косвенной оценки активности провоспалительных цитокинов.

Событиями раннего воспалительного ответа в первые 96 часов после инфицирования являются индукция синтеза и секреции цитокинов, к числу которых относятся ряд интерлейкинов, ИФ- γ и ФНО- α .. Балансом цитокинов

раннего периода определяется форма последующего специфического иммунного ответа – преимущественно клеточного или гуморального [Фрейдлин И.С., 1999]. Провоспалительные цитокины, обеспечивающие мобилизацию и активацию клеток, продуцируются, секретируются и действуют через свои рецепторы на иммунокомпетентные клетки на ранней стадии воспалительного ответа, участвуют в запуске специфического иммунного ответа и в эффекторной его фазе. В эту группу включены: ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ФНО- α , ИФ- α , ИФ- γ . Альтернативную группу представляют противовоспалительные цитокины, ограничивающие развитие воспаления: ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 и TGF β [ИДС.С., 2000].

Между мононуклеарными фагоцитами и лимфоцитами существует двусторонняя взаимосвязь, основанная на их способности продуцировать цитокины с аутокринным и паракринным механизмами действия. Макрофаги продуцируют и секретируют ИЛ-1, активирующий Т-хелперы. Т-хелперы продуцируют и секретируют интерферон активирующие функции макрофагов, в частности выработку ИЛ-1. Тем самым замыкается одна из петель усиления специфического иммунного ответа [Doherty T.M., 1995].

Специфический иммунный ответ, формирующийся позднее 96 часов после инфицирования, сопряжен с продукцией цитокинов, которые активируют механизмы воспаления [Фрейдлин И.С., 1999]. Решающий момент специфического иммунного ответа – это ответ CD4⁺-лимфоцитов на распознавание антигена. На этом этапе определяется форма иммунного ответа: с преобладанием антител (гуморального) или с преобладанием клеточных реакций (гиперчувствительности замедленного типа).

Направление дифференцировки CD4⁺-лимфоцитов, от которого зависит форма специфического иммунного ответа, контролируется цитокинами, образующимися в ходе воспалительной реакции. Так, в присутствии ИЛ-12 и ИФ- γ CD4⁺-лимфоциты дифференцируются в воспалительные Th1–клетки, начинают продуцировать и секретировать ИЛ-2, ИФ- γ , ФНО- α и определяют клеточный характер специфического иммунного ответа. Присутствие ИЛ-12

обеспечивается его продукцией макрофагами, а ИФ- γ - НК, активированными в раннюю фазу ответа на внутриклеточно паразитирующие бактерии и вирусы. В отличие от этого, в присутствии ИЛ-4 CD4⁺-лимфоциты дифференцируются в хелперы Th2, которые начинают продуцировать и секретировать ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ФНО и запускают гуморальный иммунный ответ, т.е. синтез специфических антител – иммуноглобулинов. Между двумя субпопуляциями CD4⁺-лимфоцитов отношения антагонистические: ИЛ-4 ингибирует генерацию воспалительных Th 1 и продукцию ИФ- γ , а ИФ- γ ингибирует пролиферацию Th 2, продукцию ИЛ-4 и его активность [Janeway Ch. A., 1994].

ИЛ-1 существует в виде двух полипептидов: ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , являющихся продуктами разных генов, но имеющих сходные биологические свойства. Клетки организма не способны к спонтанному синтезу ИЛ-1, а отвечают его продукцией на инфекцию, действие микробных токсинов, воспалительных агентов, других цитокинов, активированных компонентов комплемента или системы свертывания крови. Клетки-продуценты ИЛ-1 – это не только гемопоэтические клетки, но и эпителиальные, нервные и др. Столь же широк спектр клеток-мишей этого цитокина. Вместе с ФНО- α и ИЛ-6 ИЛ-1 входит в группу провоспалительных цитокинов с перекрывающимися биологическими свойствами. Важную роль во включении механизмов специфического иммунного ответа играет ИЛ-1 β , активирующий Т-лимфоциты. Под действием двойного сигнала (от антиген-связывающего рецептора и от рецептора, связавшего ИЛ-1 β) в Т-лимфоцитах активируются гены ИЛ-2 и гены рецепторов, специфичных для ИЛ-2. Это стимулирует клональную пролиферацию специфичных к антигену Т-клеток [Фрейдлин И. С., 1996].

С повышенным уровнем ИЛ-1 сопряжены: лихорадка, анорексия, нейтрофилия, активация эндотелиальных клеток с повышением экспрессии на них адгезионных молекул, активация нейтрофилов, повышенный синтез острофазных белков и компонентов комплемента, синтез коллагенов и коллагеназ, активация остеобластов. ИЛ-1 активирует синтез других

цитокинов: ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ФНО- α , ФНО- β , ИФ- β , GM-CSF, G-CSF, V-CSF [Кетлинский С.А., 1992].

Многие провоспалительные эффекты ИЛ-1 осуществляются в синергизме с ФНО- α и ИЛ-6 – индукция лихорадки, анорексия, роль в патогенезе септического шока, влияние на гемопоэз, участие в неспецифической противоинфекционной защите [Кетлинский С.А., 1992].

Основными продуцентами ФНО- α являются мононуклеарные фагоциты: моноциты крови и тканевые макрофаги, которые отвечают продукцией и секрецией ФНО- α на разнообразные индукторы бактериального (липополисахарид) или растительного (ФГА) происхождения, химические соединения или другие цитокины (ИФ- γ) [Фрейдлин И.С., 1999]. Наряду с ИФ- γ и ИЛ-12 он стимулирует развитие иммунного ответа по Th-1 типу и вызывает некроз различных опухолевых клеток [Wong G.H., 1986].

ФНО- α выполняет важнейшие функции в период запуска воспаления: активирует эндотелий, способствует адгезии лейкоцитов к эндотелию за счет индукции экспрессии на эндотелиальных клетках адгезионных молекул и последующей трансэндотелиальной миграции лейкоцитов в очаг воспаления, активирует лейкоциты, индуцирует продукцию других провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ИФ- β , GM-CSF [Aggarwal B., 1992].

Местная продукция ФНО- α в очаге инфекции или воспаления обеспечивает хемотаксис гранулоцитов и моноцитов в очаг, усиление фагоцитоза и микробицидности фагоцитов, усиленную их дегрануляцию, продукцию и секрецию активных кислородных радикалов, повышенную цитотоксичность фагоцитов [Janeway Ch. A., 1994].

Доказана роль ФНО- α не только в защитных реакциях, но и в процессах деструкции и репарации, сопутствующих воспалению [Володько Н. А., 1994]. Он служит одним из медиаторов деструкции тканей, обычно при длительном, хроническом воспалении [Bona C., 1996]. В качестве синергиста ФНО- α участвует в развитии синдрома кахексии [Benjamini E., 1996] и индуцирует

процесс запрограммированной гибели кардиомиоцитов (апоптоз) [Ольбинская Л.И., 2001].

Среди противовоспалительных цитокинов следует выделить ИЛ-4, являющийся костимулятором нормальных растущих пролиферирующих Т-клеток. ИЛ-4 синтезируется и секретируется Т-клетками, относящимися к субпопуляции Th2, и тучными клетками и стимулирует пролиферацию и дифференцировку тимоцитов и цитотоксических клеток, усиливает активность лимфокинактивированных клеток, индуцированную ИЛ-2, поддерживает рост тучных клеток, обладает синергической активностью с другими ростковыми факторами в поддержании роста колоний. ИЛ-4 фактор роста активированных В-клеток, усиливает экспрессию Fc-рецепторов, повышает секрецию IgG-1 и IgE В-клетками и снижает секрецию ими IgG_{2a}, IgM и IgG₃ [Новиков В.И., 1999].

Уровень продукции ИЛ-4 является одним из критериев, с помощью которых можно оценить активность Th2-ответа [Фрейдлин И. С., 1996]. ИЛ-4 блокирует и спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α моноцитами и макрофагами, повышая одновременно продукцию G-CSF и M-CSF этими клетками [Paul W., 1991].

В литературе мы встретили единичные упоминания о содержании ИЛ-4 у больных злокачественными новообразованиями: по данным Villani F. (2002) в течение 12 месяцев после окончания лечения ЛГМ содержание ИЛ-4 сыворотки крови значительно не изменялось [Villani F, 2002], а прогрессирующее лимфопролиферативное заболевание сопровождалось нарастанием уровня ИЛ-4 [Баранчук Н.В., 2003]. Лихванцевой В. Г. с соавт. (2001) выяснила, что умеренная продукция ИЛ-4 ассоциируется с медленным характером роста и более доброкачественным течением увеальной меланомы, а гиперпродукция или отсутствие ИЛ-4 - с прогрессированием процесса [Лихванцева В. Г., 2001].

Иммунная дисфункция, связанная с онкологическим процессом, является хорошо известным феноменом. Она включает большое число патологических изменений в иммунной системе, в том числе дисбаланс цитокинов [Lauergova L,

2002]. Нарушение выработки цитокинов наблюдается и в раковой клетке, что проявляется и на уровне всего организма. В литературе имеются противоречивые данные о содержании провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β и ФНО- α у онкологических больных. Ряд исследователей отмечают дефицит ФНО- α на ранних стадиях развития злокачественных новообразований [Balkwill F., 1987, Vassalli P., 1992]. Kowalczyk A. (2001) в своем исследовании показал, что концентрация ФНО- α в сыворотке крови была значительно выше у онкологических больных в сравнении с контролем и значительно снижалась после окончания лечения [Kowalczyk A, 2001].

Провоспалительные цитокины играют важную роль в патогенезе злокачественных лимфом: они могут продуцироваться неопластическими клетками [Reynolds G. M.,2002, Kurzrock R.,1997] и воздействовать как на злокачественно трансформированные, так и НК. При этом изменение секреции некоторых цитокинов могут быть одной из причин высокой пролиферативной активности опухолевых клеток [Serebrianaia N.V.,1996]. При неходжкинской лимфоме цитокины способствуют росту опухоли [Blay I.Y., 1998]. Феномен экспрессии цитокинов при лимфопролиферативных заболеваниях можно рассматривать в двух аспектах: 1) как фактор патогенеза (лимфоциты – основной источник цитокинов); 2) цитокины – маркеры лимфоцитов, вовлеченных в опухолевый процесс [Ягужинская О. Е., 2001. №4].

Независимо от ведущего звена лимфопролиферативное заболевание следует квалифицировать как вторичный иммунодефицит [ИДС.2000]. Недостаточный иммунный ответ при лимфомах обусловлен как супрессивными действием на организм растущей опухоли, так и дефектом Т-клеточного звена [Gitelson E, 2002]. По данным ряда авторов в сыворотке крови больных лимфопролиферативными заболеваниями отмечено низкое содержание цитокинов, в частности, ИЛ-1 β и ФНО- α [Смирнов В.С., 2000, Kurzrock R.,1997]. Зафиксировано постоянное снижение концентрации ФНО- α сыворотки крови в течение 12 месяцев после окончания лечения ЛГМ [Villani F, 2002]. По данным других авторов, обнаружено повышение уровня ИЛ-1 β в

сыворотке крови при заболеваниях суставов, лимфопролиферативных процессах и после хирургических вмешательств [Базарный В.В., 1999]. Исследование сывороточной концентрации ФНО- α и ИЛ-1 β у больных неходжкинскими лимфомами продемонстрировало увеличение содержания ФНО- α и ингибицию продукции ИЛ-1 β у ВЭБ-инфицированных пациентов [Серебряная Н. Б., 1998]. Таким образом, данные литературы о продукции ИЛ-1 β и ФНО- α у больных лимфомами крайне противоречивы.

Злокачественная меланома относится к разряду иммунозависимых новообразований [Фрадкин С.З., 2000] и сопровождается дисбалансом соотношения Th1/Th2 с последующим функциональным и фенотипическим сдвигом в сторону Th2, что было подтверждено исследованием уровней ИЛ-2 и ИЛ-12, сниженных до начала лечения этого злокачественного новообразования [Lauerova L, 2002]. Это создает благоприятный фон для развития инфекционных осложнений, так как развитие иммунного ответа по пути Th2 у больных злокачественными новообразованиями не позволяет полноценно элиминировать из организма ряд антигенов и в первую очередь вирусных [Stevceva L., 2002].

Диссеминированная злокачественная меланома является одним из быстро прогрессирующих заболеваний, приводящих больного к гибели через 6-8 месяцев с момента обнаружения метастазов [Акимов М. А., 1999]. При исследовании пятилетней выживаемости больных меланомой с метастазами в лимфоузлы получены следующие данные: при N2 – 50%, N1 – 60%, N0 – 70% [Lejeune F.J., 2002]. У лиц без признаков рецидива меланомы в течение 10 месяцев отмечалось повышение содержания ФНО- α [Lauerova L, 2002]. У больных меланомой наблюдается снижение уровня субпопуляций лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺, и CD8⁺, тогда как содержание иммуноглобулинов не было отклонено от нормы [Gogas H., 2002].

Показано, что все клоны цитотоксических лимфоцитов, выделенные от больных меланомой, секретируют ИФ- γ , ФНО- α , ИЛ-2, GM-CSF [Jotereau F., 1998]. При исследовании цитокинового статуса у 26 больных меланомой

выявлено значительное снижение содержания ИЛ-2 и ИФ- γ и патологическое повышение уровней ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 по сравнению со здоровыми индивидами. У пациентов, проходящих иммунотерапию и не имеющих признаков прогрессирования заболевания наблюдалось повышение ФНО- α в течение 10 месяцев лечения. Полученные данные иллюстрируют тот факт, что злокачественная меланома ассоциируется с развитием иммунного ответа по пути Th2 [Lauerova L, 2002].

Установлено, что по мере прогрессии меланомы у больных происходит изменение функции тимуса, эпифиза, гипофизарно-надпочечниковой системы и половых желез. При этом усиливается продукция андрогенов и подавляется синтез эстрогенов. Падение уровня эстрогенов в крови приводит к усиленной секреции гипофизом α -меланотропина и кортизола надпочечниками [Лабунец И. Ф., 1989]. Все это, вместе с нарушением функции тимуса, отражается на состоянии иммунной системы больного [Муцениеце А.Я., 1983]. У них снижается абсолютное и относительное содержание Т лимфоцитов, а у мужчин, кроме того, и В-лимфоцитов. В популяции Т клеток значительно падает отношение хелперов к супрессорам. Интенсивное изучение ответа организма на существование меланомы через системы натуральных киллеров, систему интерферона, антигенспецифических Т- и В-клеток, наряду с тем, что указанная опухоль считается одной из самых иммуногенных, привело к многочисленным попыткам нестандартной и специфической иммунотерапии диссеминированных форм [Cascinelli N., 1995].

На формирование иммунодефицита у больных злокачественными новообразованиями оказывает влияние и противоопухолевая терапия. Все составляющие современного комплексного лечения больных онкологическими заболеваниями являются факторами, индуцирующими иммуносупрессию по клеточному типу, что крайне опасно. В этих условиях резко возрастает риск развития вторичных инфекций, аутоиммунных заболеваний, лимфопролиферативных и других вторичных опухолей реактивация существующих очагов воспаления [Молчанов О.Е., 2001]. Повышение риска развития

инфекций у онкологических больных связано также с наличием опухолевой интоксикации, истощения, анемии, длительностью и объемом оперативных вмешательств, обширной кровопотерей в ходе операции, а также предшествующей химио- или лучевой терапией и/или использованием глюкокортикоидных препаратов [Schimpff S.C., 1995].

Из всех известных и наиболее действенных способов лечения злокачественных новообразований хирургический метод занимает первое место. Но отдаленные его результаты не всегда бывают успешными из-за нераспознанных микрометастазов, способствующих впоследствии генерализации опухолевого процесса. Одним из путей улучшения результатов хирургического лечения является иммунологический [Новиков В.И., 1999]. Очевидно, что иммунокомпromетированность онкологических больных является одним из факторов, детерминирующих возникновение и определяющих характер течения послеоперационных инфекционных осложнений. Кроме того, факторы оперативного вмешательства также оказывают повреждающее действие на иммунитет, так как специфика онкологических операций состоит в их обширности, высокой травматичности, частом нарушении регионарного кровотока вследствие иссечения лимфатических коллекторов, что создает условия для развития и генерализации инфекции [Горобец Е.С., 1997].

При дистанционной лучевой терапии радиационному воздействию подвергаются не только форменные элементы крови, лимфатические узлы, но и тимус – центральный орган иммунной системы, где происходит образование Т-лимфоцитов, тимусных факторов, управляющих Т-системой. Попадающие в зону облучения, активно рециркулирующие Т-лимфоциты более подвержены радиационному воздействию по сравнению со слабо рециркулирующими В-лимфоцитами. Кроме того, являясь стрессовым фактором, дистанционная лучевая терапия вызывает выброс гормонов надпочечников – глюкокортикоидов, которые среди множества других влияний на форменные элементы крови еще и запускают апоптоз - запрограммированную клеточную

гибель лимфоцитов и в большей мере Т лимфоцитов, усугубляя иммунную дисфункцию [Певницкая Л. А., 1996]. Сниженный уровень Т-лимфоцитов сохраняется до 1-3 лет после облучения. Снижение функции стромы тимуса влечет за собой развитие Т-клеточной недостаточности и является важным фактором позднего пострadiационного Т иммунодефицита [Савина Н.П., 2001].

Массивная лучевая терапия злокачественного новообразования сопровождается лимфо- и гранулоцитопенией. Это приводит к выраженной иммунодепрессии и повышению риска инфекционных осложнений. В нейтропенической фазе высока вероятность бактериальных и грибковых инфекций, тогда как в более позднем периоде возрастает опасность вирусных и протозойных осложнений [Чухловин А. Б., 1997].

Развитие рецидивов и метастазирования происходит на фоне угнетения функции Т-лимфоцитов и других отклонений в показателях иммунореактивности, что не всегда связано с дальнейшим ослаблением противоопухолевой защиты, а может быть обусловлено последствиями ранее проводимого лечения, угнетением активности тимуса [Лабунец И. Ф., 1989, Новиков В.И., 1999].

Значительный прогресс, достигнутый в лечении онкогематологических больных в последние десятилетия, связан с расширением арсенала цитостатиков, применением высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга. Однако одновременно с этим приходится констатировать значительные побочные эффекты, связанные в первую очередь с развитием у больных иммуносупрессии, приводящей к развитию тяжелых инфекционных осложнений [Чеботкевич В.Н., 2001]. Наиболее чувствительным к действию противоопухолевых препаратов являются активно пролиферирующие клетки, в том числе иммунокомпетентные. Имеются данные о тропности многих цитостатических и гормональных препаратов к Т-лимфоцитам и палочкоядерным лейкоцитам [Шабалин В.Н., 1988. – С.204-207].

Проводимая химиотерапия в зависимости от применяемого препарата, вызывает ослабление гуморальных и клеточных иммунных реакций, усугубляя

уже существующую иммунную дисфункцию. Осложнения, связанные с иммунным дисбалансом [Гершанович М.Л., 1999]:

1. Иммунодепрессивное действие (интеркуррентная бактериальная, грибковая, вирусная и протозойная инфекция, обострение хронической очаговой инфекции, прогрессирование опухолевого процесса).
2. Аллергические реакции (поражения кожи, пневмонит, общие реакции анафилактического типа).
3. Аутоиммунные реакции (лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения, гемолитическая анемия, васкулиты)

Одним из наиболее характерных признаков иммунодефицитного состояния, развившегося вследствие онкологического заболевания, цитостатической терапии, облучения и т. д., являются инфекции. Инфекционные осложнения не только являются одной из причин смерти онкологических больных, но и резко утяжеляют течение послеоперационного периода, являются причиной необходимости повторных операций, осложняют и удлиняют течение межкурсовых периодов (между повторными курсами химиотерапии) ухудшают качество жизни, приводят к более продолжительному пребыванию в стационаре и повышают стоимость стационарного лечения [Дмитриева Н.В., 2001].

Проблема профилактики и лечения инфекционных заболеваний в инфекционной и неинфекционной клинике становится одной из приоритетных в практическом здравоохранении. Распространение полирезистентных микроорганизмов – возбудителей воспалительных и гнойно-септических осложнений в стационарах приводит к «микрoэпидемиям» заболеваний, трудно излечимых и в высоком проценте случаев заканчивающихся летальным исходом. Этому способствует и формирование контингентов больных с врожденной и приобретенной сниженной резистентностью к условно-патогенным микроорганизмам, что особенно опасно для отделений реанимации, гематологии, онкологии, патологии новорожденных и хирургии.

Своевременно поставленный этиологический диагноз – это необходимое условие для целенаправленной терапии, приводящее к снижению продолжительности пребывания больного в стационаре [Скала Л.З.,1999]

Особый интерес вызывают вирусные инфекции, хотя бы потому, что стратегия лечения заболеваний, вызванных бактериями, разработано достаточно полно, и современная медицина располагает солидным арсеналом антибиотиков и химиопрепаратов, позволяющих в большинстве случаев успешно бороться с патогенным возбудителем. Иначе обстоят дела с вирусными инфекциями. Человечество чуть ли не ежегодно сталкивается с все новыми вирусными инфекциями, а вирусная этиология некоторых опухолей уже ни у кого не вызывает сомнения [ИДС., 2000].

Важным компонентом лечения является оценка прогностических факторов, которые позволяют оценить перспективность иммунотерапии и оценить перспективность иммунотерапии и оценить прогноз выживаемости для каждого конкретного пациента. Среди биохимических факторов прогноза выделяют: ИЛ-6, простогландин E_2 , сосудистый фактор роста, ФНО- α , ИФ- γ , CD 44, CD95 (Fas-лиганд), неоптерин, белки острой фазы (С-реактивный белок, церрулоплазмин, фибриноген). Наиболее перспективным представляется использование иммунологических показателей для прогнозирования лечебного эффекта различных методов лечения больных злокачественными новообразованиями [Молчанов О.Е., 2001]. Исследуется возможность использования для прогнозирования величины соотношения $CD4^+/CD8^+$ лимфоцитов. Показано, что продолжительность жизни и частота положительных эффектов после лечения статистически выше у тех больных, у которых соотношение $CD4^+/CD8^+$ увеличивалось на фоне иммунотерапии [Hernberg M., 1997]. Fujiwara H. (2002) в своем исследовании показал, что снижение остаточной опухолевой массы у больных лимфомами на фоне лечения рекомбинантным ИФ- α сопровождалось повышением уровня субпопуляций лимфоцитов с фенотипом $CD3^+$ и $CD8^+$ и сочеталось с благоприятным прогнозом [Fujiwara H.,2002]. **Активно изучается возможность**

прогнозирования течения злокачественного новообразования по экспрессии активационных маркеров: HLA-DR, CD71, CD95 [Олейник Е. К., 2000].

Таким образом, углубленный анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует об отсутствии научно обоснованных подходов к диагностике оппортунистических инфекций у больных злокачественными новообразованиями. Поэтому их отсутствие приводит либо к большому количеству не всегда оправданных лабораторных исследований и нерациональному использованию денежных средств, что нецелесообразно в условиях резко ограниченного финансирования медицины, либо обследование больного с целью поиска возбудителя оппортунистической инфекции не проводится вообще, а клиника заболевания расценивается как проявление злокачественного новообразования.

1.3. Представление об эпидемиологическом надзоре как системе.

Проблемы управления оппортунистической патологией

Последние десятилетия охарактеризовались активным развитием теоретической эпидемиологии. Российская эпидемиологическая школа внесла основной вклад в развитие современной эпидемиологии своей глубокой и многосторонней разработкой учения об эпидемическом процессе [12, 35, 105]. В последние годы получил дальнейшее развитие эпидемиологический метод, обозначились его новые многообразные приемы, превращающие эпидемиологию в «доказательную науку», причем этот метод стал использоваться и при изучении закономерностей массовых нарушений здоровья населения [148]. Интенсивное развитие получила наука о системах и теория управления, основы которой применительно к эпидемиологии были разработаны В. Д. Беляковым [12].

С позиции эпидемиологического надзора как системы мы и попытаемся рассмотреть проблему оппортунистических инфекций. Поскольку между составляющими элементами системы существует определенная связь, то изменения в одних разделах неизбежно приводят к изменениям в других и, в конечном итоге, во всей системе в целом. В связи с изменением структуры

инфекционной заболеваемости в настоящее время изменился состав отдельных форм болезней, которые на современном этапе приобретают особую актуальность. Так, на фоне повсеместного увеличения иммунодефицитных состояний различного генеза и онкологических заболеваний отмечается рост оппортунистических инфекций, которые и явились предметом настоящей работы.

В литературе мы не встретили рекомендаций по надзору за оппортунистическими инфекциями. Особенности течения изученных инфекций предопределили многогранность наших исследований с целью оптимизации диагностики ЦМВИ, парвовирусной (В19) и микоплазменной инфекций у онкологических больных и разработки основных положений эпидемиологического надзора за ними.

При разработке предложений по профилактике различных форм инфекций, по мнению В. Д. Белякова [12], следует учитывать:

1. Особенности эпидемиологии отдельных групп и нозологических форм, предопределяющие возможные причины и условия развития эпидемического процесса.

2. Конкретные причины, условия и многообразие факторов, оказывающих влияние на характер и интенсивность эпидемического процесса. Они объединены в две группы: во-первых, факторы, связанные с внутренней средой эпидемического процесса, порождающие многообразие клинических форм инфекции и влияющие на формы проявления эпидемического процесса, и, во-вторых, внешние факторы (природная и социальная среда), способствующие или препятствующие реализации паразитарных свойств возбудителя и определяющие характер проявлений эпидемического процесса.

3. Степень эффективности мероприятий и их доступности для практического применения.

Базируясь на основных положениях, разработанных В. Д. Беляковым [12] применительно к эпидемиологии как к науке о системах, целесообразно оценивать возможность управления актуальными оппортунистическими

инфекциями. Система распознавания конкретных проявлений эпидемического процесса, причин и условий его развития составляет эпидемиологическую диагностику [12, 35, 36]. Ее качество, которое достигается лишь при рациональном использовании материальных и кадровых ресурсов противоэпидемической системы в зависимости от целей системы и задач, является необходимой предпосылкой эффективной противоэпидемической работы [12].

Развитие новых лабораторных технологий, таких как ИФА, реакция иммунофлюоресценции на основе моноклональных антител, ПЦР, создали принципиальную возможность для разработки и внедрения эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями [Н. В. Каражас 1998].

Эпидемиологический надзор составляет основу деятельности современной эпидемиологической службы. Он дает возможность комплексно и логически обоснованно использовать научные знания и средства эффективной борьбы с инфекционными болезнями и их профилактики, поэтому рассматривается как необходимое условие его эффективной деятельности [Черкасский 1990]. В настоящее время сформировались четкие представления об эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями, разработаны принципы деятельности и задачи [20, 35, 107, 145]. ВОЗ определяет эпидемиологический надзор как эпидемиологическое изучение болезни, которую рассматривает как динамический процесс, включая выяснение экологии инфицирующего агента, хозяина, резервуаров инфекции, переносчиков, а также установление сложных механизмов распространения инфекции и возможных пределов такого распространения [19]. В его основе лежит анализ специфических болезней во времени и пространстве в связи с обусловленной ими заболеваемостью и смертностью и контроль за циркуляцией этиологического агента среди населения.

Основопологающим звеном эпидемиологического надзора является непрерывно функционирующая система слежения за эпидемиологической

обстановкой с целью раннего выявления изменений в ней и предупреждения надвигающейся опасности [19]. Качественное функционирование такой системы обеспечивается наличием объективной информации об инфекции [16, 35, 106]. На распространение инфекции и частоту случаев заболевания оказывают влияние социальные и экономические сдвиги в стране, миграция населения, а также бесконтрольная урбанизация [Черкасский 1990]. Экологическая ситуация в любом районе постоянно меняется вследствие естественных процессов или вмешательства человека и в силу этого может оказывать глубокое влияние на передачу инфекций. На всех этапах эпидемического процесса на циркуляцию микроорганизмов оказывает влияние также контингент госпитализированных больных, их возраст, восприимчивость к инфекциям, меняющиеся приемы и методы исследования. Для всех эпидемиологических исследований необходимо точно определить принадлежность человека и категории людей, подверженные воздействию факторов риска [16].

Важную информацию для определения состояния иммунитета дают серологические методы, составляющие в эпидемиологическом надзоре его серологическую часть (серологический надзор) [91]. Однократные обследования популяций, включающих в себя и здоровых, и больных, называются «исследованиями распространенности, или одномоментными исследованиями», поскольку обследование популяции проводится в определенный момент времени [141]. Одномоментные исследования могут использоваться для выявления возможных причинно-следственных связей между факторами риска и заболеванием или прогностическими факторами и исходом. Показатели распространенности и частоты новых случаев используются для трех основных целей: 1) определения прогноза для конкретного больного; 2) оценки вероятности наличия у больного определенного заболевания; 3) проведения сравнительно анализа.

Роль одномоментных исследований значительно возрастает при сравнительном использовании для принятия решений. Именно сравнение

частоты случаев заболевания между группами обследуемых, имеющих и не имеющих определенные характеристики, обеспечивает самые строгие доказательства. Это позволяет определить альтернативные клинические подходы, а затем оценить их количественно путем сравнения ожидаемых результатов по частоте и клинической значимости основных исходов, что особенно важно у онкологических больных.

Эпидемиологический надзор как диагностическая система включает в себя две подсистемы, обеспечивающие его функционирование [35]: 1) подсистема информационного обеспечения; 2) подсистема эпидемиологического анализа.

Информационное обеспечение формируется за счет различных информационных потоков, в основу классификации которых, по В.В.Далматову с соавт. [35], положены современные представления о структуре эпидемического процесса, механизмах его развития и причинно-следственных отношениях между его проявлениями и факторами внешней среды. Важную роль в информационном обеспечении эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями играет скрининг населения [16,91,171], который обычно не носит диагностического характера.

Для эффективного эпидемиологического надзора необходима современная лабораторная база, позволяющая определять значимость данного заболевания для здравоохранения. Изучение образцов крови, взятых среди генеральной совокупности, дает информацию о тех явлениях, которые происходят во всей популяции, на основании обследования небольшого числа лиц [91]. Иммунологические исследования позволяют получить достоверную информацию о наличии или отсутствии в популяции данной инфекции [19].

Однако для распознавания тенденций на раннем этапе исследования возникает проблема выбора наиболее приемлемых комбинаций тестов. Для анализа влияния различных факторов на характер заболевания необходимы комплексные исследования. Основываясь на этом, целесообразно оценивать эффективность различных лабораторных тестов для скрининга и диагностики

оппортунистических инфекций и разрабатывать предложения для оптимизации их лабораторной диагностики с учетом принципа экономической целесообразности.

Система эпидемиологического анализа представлена ретроспективным, оперативным эпидемиологическим анализом и эпидемиологическим прогнозом [13, 35, 37]. Оперативный анализ и ретроспективный анализ логически связаны и служат основой прогноза. Завершающей стадией в цикле эпидемиологического надзора являются диагноз и прогноз, на основе чего разрабатывается комплекс профилактических и противоэпидемических мероприятий. Реализация эпидемиологического надзора за инфекциями осуществляется по специальным программам.

В соответствии со стадиями развития заболевания выделяют 4 уровня профилактики [16]:

- 1- примордиальный (цель – предотвратить появление и укоренение обусловленных социально-экономическими факторами и культурным укладом факторов, способствующих повышению риска заболеваний);
- 2- первичный (цель – ограничение частоты случаев болезни путем контроля за ее причинами и факторами риска);
- 3- вторичный (цель – излечение больных и уменьшение частоты наиболее тяжелых последствий болезни путем своевременной диагностики и лечения);
- 4- третичный (цель – замедление развития осложнений при уже возникшей болезни; представляет собой важный аспект терапевтической и реабилитационной медицины). Все уровни являются важными, поскольку дополняют друг друга.

В силу ряда причин, произошедших в стране за последние 15 лет, на фоне роста онкологических, иммунодефицитных состояний и оппортунистических инфекций разработка и оценка эффективных программ первичной профилактики становится приоритетом ближайшего будущего медицинской науки и практики [Дмитриева 2001, В. П. Кузнецов1996]. Оценка

эффективности тех или иных лечебно-профилактических мероприятий определяется использованием методов современной клинической эпидемиологии [141], при этом рандомизированные контролируемые исследования позволяют получить наиболее точные представления о методах диагностики, а мета-анализ позволяет обобщать результаты разномасштабных исследований и интерпретировать их отдельно и в совокупности.

Таким образом, в настоящее время при проведении скрининговых и диагностических исследований следует рассматривать вопрос об адекватности затрат на них, диагностической и прогностической значимости полученных результатов. Р. Флетчер с соавт. [141] утверждает, что медицинская помощь должна основываться на результатах самых строгих исследований и оцениваться с учетом финансовых затрат, которое общество может себе позволить. Кроме того, конкретные пациенты все чаще рассматриваются в качестве составной части больших групп аналогичных больных, что помогает не только делать более точные прогнозы относительно каждого пациента, но и выбирать наиболее целесообразный путь использования ограниченных медицинских ресурсов для оптимальной помощи возможно большему числу людей.

Углубленный анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует, во-первых, об отсутствии научно обоснованных подходов к диагностике оппортунистических инфекций у онкологических больных и, во-вторых, диктует необходимость создания дифференциально-диагностических программ. Кроме того, существует настоятельная необходимость разработки концептуальной модели управления оппортунистическими инфекциями.

Глава 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для столь гетерогенной группы, как возбудители оппортунистических инфекций, достаточно сложно выбрать унифицированные подходы к решению данной проблемы и повысить надежность и репрезентативность лабораторных и эпидемиологических методов. Тем не менее, мы выбрали, на наш взгляд, оптимальный подход к диагностике этих заболеваний, основанный на сочетании различных лабораторных тестов в зависимости от их информативности, диагностической и прогностической значимости и в соответствии с поставленными на каждом этапе работы задачами. Проведение масштабного тестирования населения на ряд инфекций различной природы стало возможным в связи с внедрением новых лабораторных технологий, таких как иммуноферментный анализ – ИФА [Weber В.,1993, Heegaard E. D.,2002], реакция прямой и непрямой иммунофлюоресценции – РИФ [Иваненко И. П.,1987], полимеразной цепной реакции – ПЦР [Spector S.A.,1985, Schmidt С.А.,2000].

Материалы

В простое слепое исследование были включены 117 больных злокачественными новообразованиями. Все больные проходили лечение и диспансерное наблюдение в областном онкологическом диспансере города Омска с 1996 по 2003 гг. В исследование были включены 48 мужчин и 69 женщин в возрасте от 16 до 74 лет, средний возраст составил $44,57 \pm 13,85$. Жителей города Омска - 73,5% (86/117), Омской области – 26,5% (31/117). 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 обследованных были:

- больные лимфогранулематозом – 30 человек;
- больные неходжкинскими лимфомами – 19 человек;
- больные злокачественной меланомой – 68 человек;
- доноры (контроль) – 852 человека.

В качестве материала для лабораторных исследований служили: кровь, сыворотка крови.

Больных, находившихся на стационарном лечении, было 68 человек, на амбулаторном наблюдении – 49.

Распространенность злокачественного процесса определяется в соответствии с клинической классификацией, принятой в 1971 году в Ann-Argov и вошедшей в 4-ое издание классификации злокачественных опухолей по системе TNM [Алгоритмы, 2002].

Среди больных лимфопролиферативными заболеваниями (ЛГМ и неходжкинские лимфомы) с I стадией - 3 больных, со II – 23, с III – 15, с IV – 8. Больные ЛПЗ каждой стадии разделены на А и В в зависимости от отсутствия (А) или наличия (В) общих симптомов. Среди них: ночные профузные поты, повышение температуры выше 38⁰ С не менее 3-х дней подряд без признаков воспалительного процесса, похудание на 10% массы тела за последние 6 месяцев [Алгоритмы, 2002].

Группу больных меланомой составили 27 человек с I стадией (T1-2N0M0), со II – 30 больных (T3N0M0), с III – 10 пациентов (T2-3N1M0 и T4N0M0), больных с IV стадией заболевания среди обследованных не было. На момент иммунологического обследования у 44 пациентов признаки злокачественного процесса отсутствовали, у 24 – имелись симптомы генерализации и прогрессирования.

При оценке состояния системы иммунитета иммунологические показатели сравнивались с показателями контрольной группы, стоявшей из 35 практически здоровых добровольцев, серонегативных к изучаемым оппортунистическим инфекциям. Средний возраст в контрольной группе составил $29,2 \pm 2,9$ лет.

Комплексное исследование больных включало детальный сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни, физикальные методы обследования (осмотр, пальпация, перкуссия, аускультация), общеклинические обследования (общий анализ крови и мочи; микрореакция с кардиолипидным антигеном; биохимический анализ крови с изучением уровня глюкозы крови, общего билирубина и его фракций, тимоловой пробы, креатинина и мочевины, аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз, протромбинового индекса; электрокардиограмма). Все больные консультированы штатным клиническим иммунологом. Объем дополнительных исследований определялся медико-экономическими стандартами для данной нозологической формы и возможностями ЛПУ.

Методы исследования

Для решения основных задач исследования с учетом специфики оппортунистических инфекций на этапах работы нами использован комплекс высокоинформативных методов: эпидемиологических, серологических, иммунологических, иммунофлюоресцентных, ДНК-анализ, статистических. Так как уровень заболеваемости оппортунистическими инфекциями определяется частотой иммунодефицитных состояний и этот компонент, наряду со специфическим возбудителем и восприимчивостью, входит в понятие «необходимая причина», то на раннем этапе работы мы исследовали характер иммунной дисфункции у онкологических больных. Выявление закономерностей формирования иммунодефицитного состояния имеет существенное отношение к профилактике и иммунодефицитов, и заболеваемости оппортунистическими инфекциями.

Эпидемиологические методы. Эпидемиологический надзор, как система диагностики, включает в себя подсистемы информационного обеспечения и эпидемиологического анализа [Беляков В.Д., 1985].

Для формирования подсистемы эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями у онкологических больных на первом этапе исследований мы провели скрининг среди пациентов, с целью идентификации возбудителя.

Иммунологические методы исследования дают объективную информацию о наличии или отсутствии в популяции данной инфекции, а изучение образцов крови позволяет на примере небольшой выборки получить представление о процессах, протекающих во всей генеральной совокупности (популяции) [Васильева В.И.,1989]. Был проведен серологический надзор, который позволяет определить распространенность заболевания в популяции и выявит наиболее восприимчивые к инфекции группы [Многоцелевые,1972].

Были проведены так называемые «исследования распространенности, или одномоментные исследования», включающие в себя и здоровых, и больных лиц. Это позволило изучить распространенность ЦМВИ, парвовирусной и микоплазменной инфекций в группе онкологических больных, выявить возможные причинно-следственные связи между факторами риска и заболеванием и прогностическими факторами.

Поскольку состояние иммунореактивности определяет особенности проявления эпидемиологического процесса, то изучение иммунореактивности проводилось у больных двух нозологических форм злокачественных новообразований. Особенности формирования иммунной дисфункции при ЛПЗ и меланоме, вероятно, могли обуславливать и распространенность оппортунистических инфекций. Таким образом, в своем исследовании мы применили целенаправленный скрининг групп (онкологических больных), подвергшихся специфическому воздействию (специальные методы лечения злокачественного новообразования) [Биглхол Р.,1994].

Подсистема эпидемиологического анализа включает в себя ретроспективный, оперативный анализ и эпидемиологический прогноз [Далматов В.В., 1990, Черкасский Б.Л., 1990]. Ретроспективный и оперативный анализ был использован нами при изучении распространенности и заболеваемости оппортунистическими инфекциями у онкологических больных.

Методы лабораторной диагностики. Оценку иммунного статуса у больных злокачественными новообразованиями 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 уровня ключевых провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов и острофазного белка - лактоферрина.

С этой целью в периферической крови определяли общее количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу. Функциональную активность нейтрофилов периферической крови оценивали по величине фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса и индекса завершенности фагоцитоза, используя лабораторный штамм *Staphylococcus aureus* [Земсков В.М., 1984]. Анализ кислородного метаболизма нейтрофилов проводили с помощью НСТ-теста [Нагоев Б.С., 1981]. Гуморальное звено иммунитета оценивали по содержанию основных классов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA [Mancini G., 1985]. Иммунные комплексы выявляли методом селективной преципитации комплексов антиген-антитело в 3,5% растворе полиэтиленгликоля (Мм 6000) с последующим фотометрическим определением плотности преципитата [Гриневич Ю.А., 1981]. Определение активности комплемента проводили путем измерения гемолитической активности комплемента по титру — наибольшему разведению сыворотки, обеспечивающей 50%-ный гемолиз [Петров Р.В., 1994]. Исследование бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) проводилось нефелометрическим методом [Иммунология: практикум., 1989]. Чувствительность иммунокомпетентных клеток к антигенам (ФГА,

туберкулин) оценивали по изменению их активности в реакции торможения миграции лейкоцитов [Лебедев К.А.,1990].

Естественные (нормальные, «натуральные») клетки-киллеры определяли морфологически – они выглядят как большие гранулярные лимфоциты [Шпарик Я.В.,1988].

Оценивали фенотипического состава лимфоцитов периферической крови по наличию мембранных дифференцировочных и активационных антигенов методом непрямой иммунофлюоресценции 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 ИЛ-1 β , ИЛ-4 и ФНО- α в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА с использованием тест-системы ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург. Чувствительность наборов для ИЛ-1 β и ИЛ-4 составляла 10 пг/мл, для ФНО- α – 20 пг/мл. Содержание острофазного белка – лактоферрина исследовали методом ИФА при помощи набора реагентов ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск

Для определения значимости конкретного заболевания для здравоохранения, установления географической распространенности этиологического агента в настоящее время и в прошлом путем исследования различных групп населения эффективный эпидемиологический надзор требует использования современных высокочувствительных и высокоэффективных методов лабораторной диагностики [Флетчер,1998].

Для этиотропного лечения необходимо получить быстрое подтверждение диагноза. Это возможно лишь на основе группы методов, позволяющих быстро выявить возбудитель, определить его специфические агенты или фрагменты ДНК непосредственно в клинических образцах различного происхождения. По своей информативности мы разделили методы лабораторной диагностики оппортунистических инфекций на две группы:

- не прямые методы, направленные на выявление специфических антител и используемые как для скрининга, так и с диагностической целью;

- прямые методы, направленные на выделение антигена или ДНК возбудителя в биологических жидкостях и используемые с диагностической целью.

При исследовании сыворотки мы исходили из того, что эффективность серологической диагностики значительно повышается при использовании нескольких методов, обладающих разной чувствительностью, специфичностью и направленностью. Это было также связано с тем, что при ЦМВИ, как показали наши исследования, необходимо определить активность инфекционного процесса.

Для диагностики цитомегаловирусной инфекции нами использованы:

- 1) иммуноферментный анализ (ИФА), позволяет определять различные классы и подклассы иммуноглобулинов на основе использования моноклональных антител с помощью тест систем фирмы «Orgenics» (Израиль) [Гришаев М.П., 1998; Каражас Н.В., 1998];
- 2) определение титра специфических антител с применением тест-системы для ИФА ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск.
- 3) ИФА для измерения индекса avidности антител с использованием тест-системы «ЦМВ-диагност» ТОО «Биосервис» г. Москва [Сухих Г. Т., 1997];
- 4) метод непрямой иммунофлюоресценции (РИФ), позволяющий детектировать антигены ЦМВ с помощью антител для выявления антигена – «ЦМВ МоноСкан» фирмы «Лабдиагностика» г. Москва [Сухих Г. Т., 1997];
- 5) полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения ДНК ЦМВ с применением реагентов «Цитопол», научно-производственной фирмы «Литех» [Особенности, 1999].

Для диагностики парвовирусной инфекции применен ИФА как основной метод определения IgG и IgM к парвовирусу В19, использованы тест-системы «HVL Hamburg» (Германия).

Для диагностики микоплазменной инфекции нами применены:

- 1) реакция прямой гемагглютинации (РПГА) для определения суммарных антител (IgG и IgM) к *M. pneumoniae* с использованием реагентов фирмы «Serodia-Мусо II» (Япония);
- 2) ИФА для определения IgM к *M. pneumoniae* с использованием реагентов «Mycopneumoscreen G+M» «НИАРМЕДИК ПЛЮС» г. Москва.

Эффективная диагностика оппортунистических инфекций включает детекцию возбудителя и антител, что требует значительных финансовых затрат, тем не менее для оптимизации лабораторной диагностики и тактики ведения пациента мы комбинировали эти тесты в зависимости от цели исследования.

В настоящее время метод ИФА стандартизирован, интенсивно используется в клинической практике и широко освещен в работах исследователей как в России, так и зарубежом [Аракелов С. А., 1990, Гришаев М.П.,1998, Heegaard E. D.,2002, Weber B.,1993]. В его основе лежит образование комплекса «антиген-антитело» на твердой фазе полистирольных планшет и дальнейшая «трансформация» ферментной метки в соответствующий сигнал, регистрируемый с помощью спектрофотометра.

Несмотря на относительно высокую стоимость анализов при использовании комплекса лабораторных исследований с диагностической целью, это вполне оправдано, так как этиологическая расшифровка диагноза принципиально влияет на тактику ведения пациента, определяет необходимость использования этиотропной и иммуномодулирующей терапии, а в отдельных случаях позволяет прогнозировать исход заболевания.

Для проведения ИФА использовалось следующее оборудование: вошер и анализатор MP 5000 фирмы «Dynatech» (Германия), спектрофотометр «Multiscan-EX» фирмы «Labsystems» (Финляндия), наборы одноканальных и многоканальных автоматических пипеточных дозаторов, термостаты, холодильное оборудование.

Для проведения РИФ использовались диагностические наборы. Учет результатов проводился на люминесцентном микроскопе MP 5000 по количеству светящихся клеток и интенсивности специфического свечения.

Метод ПЦР все шире используется в практике, благодаря высокой чувствительности и специфичности. В основе метода лежит многократное кодирование с помощью фермента ДНК-полимеразы определенного фермента ДНК, который является маркером для данного биологического вида. ПЦР на наличие ДНК ЦМВ проводилось с использованием оборудования и наборов фирм.

По данным Долгих Т.И. (2000), серопозитивность к ЦМВ диагностирована у $65,2 \pm 1,02\%$ жителей г. Омска и Омской области. Это свидетельствует о высокой распространенности ЦМВ в популяции жителей данного региона. В ходе обследования населения [Долгих Т.И., 2000] установлена малая информативность выявления IgG к ЦМВ, а также отсутствие отличия в IgM-серопозитивности между больными ЦМВИ и контрольной группой. Обнаружение специфических IgM не всегда отражает остроту заболевания. В этой ситуации высокое диагностическое значение приобретает определение индекса авидности IgG к ЦМВ, антигена и ДНК инфекта.

Исследований серопозитивности населения г. Омска и Омской области по парвовирусной и микоплазменной инфекциям не проводилось.

Таким образом, диагноз оппортунистического заболевания в каждом случае должен быть подтвержден комплексным клиническим, эпидемиологическим, иммунологическим и серологическим обследованием больного.

Методы статистической обработки данных. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0 для Windows [Реброва О. Ю., 2002].

На первом этапе анализа количественных данных проводили определение вида их распределения. Использовали количественный способ оценки симметричности распределения: если $s < M/2$ (среднее квадратическое отклонение меньше половины среднего арифметического), то распределение можно считать нормальным. В данном случае для представления данных применялась описательная статистика: M - среднее значение, s - среднее

квадратическое отклонение, m – ошибка среднего значения. При $s > M/2$ (среднее квадратическое отклонение больше половины среднего арифметического), распределение рассматривалось как отличающееся от нормального и описывалось медианой и интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля).

Для сравнения групп использовались непараметрические методы [Гублер Е. В., 1973]. Для сравнения трех независимых групп и более по количественным признакам применялся непараметрический метод сравнения ANOVA (one-way analysis of variance) Краскела-Уоллиса и медианный тест [Гланц С., 1998]. При получении результата $p < 0,05$, проводилось парное сравнение с использованием непараметрического теста Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони при оценке значения p . Сравнение двух вариационных рядов количественных и порядковых показателей проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Для выявления межгрупповых различий по качественным клиническим и лабораторным признакам использовался точный метод Фишера для малых выборок, критерий χ^2 с поправкой Йетса. Для обнаружения корреляционных связей между клиническими и иммунологическими признаками применялся коэффициент корреляции Спирмена [Гублер Е. В., 1973]. Статистически значимыми различия считали при $p \leq 0,05$.

Таким образом, комплекс тестов для иммунодиагностики был сформирован для выявления типовых изменений в иммунной системе онкологического больного. Успешное выполнение поставленных перед исследователем задач возможно только в случае получения максимально возможного объема информации, касающейся проявлений оппортунистического заболевания и комплексного проведения математической обработки данных.

ИММУННАЯ ДИСФУНКЦИЯ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Особую группу иммунокомпromетированных больных составляют онкологические пациенты. Известно, что рост злокачественной опухоли ассоциируется с прогрессирующим иммунодефицитом, затрагивающим все звенья иммунной системы [Лихванцева В. Г., 2002]. В организме больного онкологическим заболеванием формируется иммунная дисфункция, которая всегда предшествует и сопутствует неопластическому процессу и усугубляется в ходе проводимого лечения [Козлов В.К., 2001]. Поскольку все составляющие современного комплексного лечения злокачественных новообразований (хирургическое, химиотерапевтическое и радиологическое) оказываются факторами, индуцирующими иммуносупрессию по клеточному типу, то это повышает вероятность развития других заболеваний, чаще всего инфекционной природы [Горобец Е.С., 1997, Schimpff S.C., 1995, Савина Н.П., 2001, Исаков В.А., 1999].

3.1. Оценка иммунного статуса у больных меланомой

В периферической крови больных меланомой (табл. 1) было установлено статистически значимое снижение содержания лейкоцитов (U; $p=0,02$), лимфоцитов (U; $p=0,02$) и эозинофилов (U; $p=0,04$) по сравнению с контрольной группой. При оценке Т-клеточного звена отмечалось достоверное снижение уровня лимфоцитов с фенотипом CD3⁺ на 12,5% (U; $p<0,001$), уровня субпопуляции цитотоксических лимфоцитов на 8% (U; $p=0,045$). При этом у больных меланомой выявлено достоверное повышение лимфоцитов, экспрессирующих маркер апоптоза - CD95⁺, на 6,5% (U; $p=0,001$) и снижение индекса CD25⁺/CD95⁺ в 1,9 раза (U; $p=0,047$) по сравнению с контрольными

значениями. В группе больных меланомой значение РТМЛ, стимулированной ФГА, превышало в 3,5 раза ($U; p < 0,001$) значение в контрольной группе, что свидетельствует о выраженном дефиците лимфокинпродуцирующей активности лейкоцитов.

При оценке фагоцитарного звена установлено статистически значимое повышение антигенного раздражения фагоцитов в НСТ-тесте ($U; p = 0,007$), в связи с чем наблюдался дефицит метаболического резерва со снижением индекса стимуляции в 1,4 раза ($U; p = 0,004$). Оценка гуморального звена иммунитета показала, что содержание общих иммуноглобулинов не отличалось от контроля. Содержание комплемента в крови больных меланомой превышало в 1,2 раза ($U; p = 0,006$) контрольное значение.

Анализ показателей цитокинового статуса (табл. 3) выявил, что у больных меланомой наблюдалось низкое содержание провоспалительного цитокина – ИЛ-1 β по сравнению с контрольной группой ($U; p = 0,001$). Содержание ФНО- α и ИЛ-4 достоверно не отличалось от донорской группы ($U; p = 0,13$).

Также нами было замечено, что среди обследованных больных меланомой преобладали лица с крайне низким содержанием ФНО- α . Так из 23 обследованных у 15 концентрация данного цитокина была ниже 5 пг/мл. На основании этих данных, с использованием точного критерия Фишера, были получены статистически значимые различия между группой больных меланомой и контролем по частоте встречаемости лиц с уровнем цитокинов ниже нормального значения (табл. 4). Таким образом, у больных меланомой наблюдается дефицит выработки провоспалительных цитокинов, что формирует неполноценный иммунный ответ.

Таблица 4

Сравнение частоты низкого содержания цитокинов в сыворотке крови больных меланомой с группой контроля

Показатель, пг/мл	n	из них с низким содержанием цитокинов	p

ФНО- α	23	15	0,01
ИЛ-1 β	23	18	0,005
ИЛ-4	9	4	0,2

Примечание: p – анализ различия частот в двух независимых группах объектов точным критерием Фишера, «односторонний» вариант.

Патогенетическое значение выявленных нарушений иммунитета подтверждается результатами сопоставления клинико-иммунологических параметров у больных меланомой в зависимости от этапа развития злокачественного новообразования. Был проведен анализ показателей иммунного статуса с учетом распространенности процесса.

Иммунный статус радикально пролеченных больных меланомой по сравнению с контролем характеризовался повышением уровня НК-клеток на 6% (U; p=0,01), которые непосредственно или за счет антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности атакуют аномальные клетки (клетки инфицированные вирусом, раковые клетки). Также уровень больших гранулярных лимфоцитов на 6% (U; p=0,03) превышали значения в группе контроля. Следует отметить, что содержание лимфоцитов было сниженным в 1,4 раза (U; p=0,027), уровень зрелых лимфоцитов с фенотипом CD3⁺ был ниже, чем в контрольной группе на 10,5% (U; p<0,001), а уровень CD8⁺ на 9% (U; p<0,001), вероятно, за счет повышенной гибели этих клеток, так как уровень клеток, экспрессирующих маркер апоптоза был повышен на 8,5% (U; p<0,001). Об избыточной антигенной нагрузке на иммунную систему больных данной группы свидетельствует повышение показателя НСТ-спонтанного на 7% (U; p=0,005), что привело к снижению индекса стимуляции в 1,5 раза (U; p<0,001). Зафиксированные изменения показателей иммунного статуса отражают активизацию иммунореактивности на повышенную антигенную нагрузку.

Состояние иммунной системы у больных меланомой на этапе генерализации процесса характеризуется сдвигом влево до палочкоядерных форм. Отсутствие статистически значимых различий по показателям иммунореактивности на этапе генерализации злокачественной меланомы при

сопоставлении с контрольной группой можно расценить как неадекватную реакцию иммунной системы на повышенную антигенную нагрузку, истощение механизмов защиты. При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов выявлено еще большее снижение уровня зрелых Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺ на 12,3% (U; p<0,001) по сравнению с контролем. При этом зафиксировано повышение уровня незрелых лимфоцитов – 0-клеток, которые не экспрессируют антигены, характерные для В- или Т-клеток до 30,5% (интерквартильный размах от 20 до 39%) (U; p=0,018). Повышение уровня CD20⁺ лимфоцитов на 5% (U; p=0,02), возможно, так же способствует депрессии клеточного звена путем выработки цитокинов, активизирующих гуморальный иммунитет и подавляющих клеточный.

Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови больных меланомой выявил статистически значимое различие по содержанию ИЛ-1 β . В группе больных без генерализации процесса медиана и интерквартильный размах составили 1,5 пг/мл (от 0 до 26,6 пг/мл), а при генерализации – 0,6 пг/мл (от 0-2,65 пг/мл). Достоверных межгрупповых различий по содержанию ИЛ-1 β и ФНО- α зафиксировано не было, но прослеживалась тенденция к снижению их концентрации у больных с генерализацией меланомы. Факт снижения лимфокинпродуцирующей активности лейкоцитов подтверждает статистически значимое повышение РТМЛ, стимулированной ФГА, в 3,5 раза (U; p<0,001) как у радикально пролеченных больных меланомой, так и при прогрессировании злокачественного процесса.

Таким образом, у больных меланомой наблюдается дефицит выработки провоспалительных цитокинов, это может быть одной из предпосылок несостоятельности или позднего развития эффекторных реакций формирования иммунного ответа.

3.2. Состояние иммунореактивности у больных ЛПЗ

Результаты исследования иммунного статуса больных лимфомами представлены в табл. 2. Гемограмма больных ЛПЗ характеризовалась статистически значимым повышением содержания палочкоядерных (U;

$p < 0,001$) и сегментоядерных лейкоцитов (U ; $p = 0,012$) и снижением количества эозинофилов (U ; $p = 0,007$) и лимфоцитов (U ; $p = 0,005$). Сдвиг влево свидетельствует о повышенном вымывании молодых нейтрофилов из костного мозга, что связано с воспалением и интоксикацией. Уровень больших гранулярных лейкоцитов превышал значение в контрольной группе на 11,5% (U ; $p = 0,003$).

Анализ показателей фагоцитарного звена выявил повышение уровня НСТ-спонтанного на 5,5% (U ; $p = 0,005$), фагоцитарного числа в 1,5 раза (U ; $p < 0,001$) и абсолютного фагоцитарного показателя в 1,8 раза (U ; $p < 0,001$). Значение индекса стимуляции было в 1,3 раза ниже (U ; $p = 0,03$) по сравнению с группой контроля.

Выявлен дисбаланс в субпопуляционном составе лимфоцитов: по сравнению с контролем снижен уровень $CD3^+$ лимфоцитов на 13,9% (U ; $p < 0,001$), цитотоксических $CD8^+$ -лимфоцитов на 9% (U ; $p = 0,013$). При этом зафиксировано повышение уровня натуральных киллеров на 6% (U ; $p < 0,001$), субпопуляций лимфоцитов с фенотипом $CD25^+$ и $CD95^+$ на 5% (U ; $p < 0,001$) и 4,5% (U ; $p = 0,002$) соответственно. Повышение Fas-рецептора - $CD95$ на фоне увеличения уровня клеток с фенотипом $CD25^+$ объясняется тем, что активированные клетки больше чувствительны к процессам программированной клеточной гибели. Вследствие снижения уровня $CD8^+$, значение иммунорегуляторного индекса сместилось в сторону повышения (U ; $p = 0,002$). Значение РТМЛ, стимулированной ФГА, у больных ЛПЗ в 3,1 раза превысило (U ; $p = 0,002$) показатель в группе контроля.

Исследование гуморального звена иммунитета выявило статистически значимое повышение содержания сывороточного IgA в 1,3 раза (U ; $p = 0,03$) у больных ЛПЗ.

Цитокиновый статус пациента при ЛПЗ в значительной степени определяется количеством клеток, продуцирующих цитокины (в том числе и злокачественно трансформированных), их способностью отвечать или не

отвечать на регуляторные сигналы, а также реакциями на эти цитокины клеток различных типов, имеющих соответствующие рецепторы [Kurzrock R., 1997].

При исследовании показателей цитокинового статуса (табл. 3) статистически значимых различий между группой больных ЛПЗ и контролем выявлено не было. Содержание ФНО- α и ИЛ-1 β в сыворотке крови больных лимфомами имело тенденцию к повышению. Группу больных лимфомами на $44,7 \pm 8,07\%$ (U; $p=0,03$) и $50,0 \pm 7,72\%$ (U; $p=0,02$) составляли лица с содержанием ФНО- α и ИЛ-1 β соответственно ниже порогового значения нормы – 5 пг/мл (табл. 5), что достоверно отличало эту выборку от группы контроля. Этот факт указывает на наличие дефекта в секреции провоспалительных цитокинов и у больных лимфомами.

Таблица 5

Сравнение частоты низкого содержания цитокинов в сыворотке крови больных ЛПЗ с группой контроля

Показатель, пг/мл	n	из них с низким содержанием цитокинов	p
ФНО- α	17	38	0,03
ИЛ-1 β	21	42	0,02
ИЛ-4	3	13	0,47

Примечание: p – анализ различия частот в двух независимых группах объектов точным критерием Фишера, «односторонний» вариант.

Важным фактором при стадировании ЛПЗ заболевания является наличие симптомов общей интоксикации (так называемых В-симптомов: необъяснимая потеря веса более, чем на 10% за 6 последних месяцев до обращения к врачу, подъемы температуры до 38⁰ С, профузные ночные поты). Учитывая тот факт, что наличие В-симптомов существенно влияет на прогноз заболевания, представляется актуальным исследование показателей иммунного и цитокинового статуса.

Изменения иммунного статуса больных без симптомов общей интоксикации касались, в первую очередь, клеточного звена: на 12,5% (U;

$p=0,002$), по сравнению с контролем, снижен уровень $CD3^+$ лимфоцитов, на 8% ($U; p<0,001$) повышен уровень субпопуляции натуральных киллеров $CD16^+$ и на 4% ($U; p=0,02$) повышено содержание активных лимфоцитов с фенотипом $CD25^+$ на 4% ($U; p=0,008$). Наблюдалась повышенная выработка активных форм кислорода как в спонтанном, так и стимулированном НСТ-тесте на 11% ($U; p=0,014$) и 14% ($U; p=0,045$) соответственно и повышение фагоцитарного числа в 1,4 раза ($U; p=0,008$). Изменения в гуморальном звене заключались в селективной гипериммуноглобулинемии А ($U; p=0,03$) и снижении содержания IgM в 1,4 раза ($U; p=0,009$).

Более глубокие изменения иммунного статуса наблюдаются у больных ЛПЗ с общими симптомами. Гемограмма характеризовалась повышением уровня ($U; p<0,001$) палочкоядерных лейкоцитов, сегментоядерных лейкоцитов на 11% ($U; p=0,004$), БГЛ на 8% ($U; p=0,009$), а также анэозинофилией ($U; p=0,004$), снижением количества и уровня лимфоцитов в 1,7 раза ($U; p=0,002$) и на 14% ($U; p=0,002$) соответственно. Наблюдались изменения и в фагоцитарном звене, проявляющиеся снижением индекса стимуляции в 1,3 раза ($U; p=0,042$) и индекса завершенности фагоцитоза в 1,2 раза ($U; p=0,05$), что сопровождалось накоплением ЦИК, их содержание в 1,6 раза ($U; p=0,023$) было выше, чем в группе контроля. Статистически значимых изменений в гуморальном звене иммунитета у больных с симптомами интоксикации выявлено не было.

В клеточном звене зафиксированы более глубокие, чем у больных ЛПЗ без общих симптомов, изменения субпопуляционного состава лимфоцитов. Уровень $CD3^+$ лимфоцитов снижен на 17,5% ($U; p<0,001$), $CD8^+$ - на 9,5% ($U; p=0,03$) по сравнению с контролем. Также наблюдается повышение уровня NK – на 4% ($U; p=0,013$) и $CD25^+$ -лимфоцитов на 5% ($U; p=0,006$), это сопровождается повышением уровня лимфоцитов, экспрессирующих маркер апоптоза – $CD95$ на 5,5% ($U; p<0,001$).

Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови больных ЛПЗ выявил статистически значимое различие, в сравнении с контролем, по содержанию

ФНО- α . В группе больных без общих симптомов медиана и интерквартильный размах составили 6,7 пг/мл (от 0 до 20,7 пг/мл), а при наличии симптомов общей интоксикации – 13,2 пг/мл (от 0 до 108,0 пг/мл). Достоверных межгрупповых различий по содержанию ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-4 зафиксировано не было, но прослеживалась тенденция к снижению их концентрации у больных В-симптомами. Факт снижения лимфокинпродуцирующей активности лейкоцитов подтверждает статистически значимое повышение РТМЛ, стимулированной ФГА, в 2,8 (U; p=0,02) и 3,1 раза (U; p=0,012) как у больных без интоксикации, так и с симптомами интоксикации соответственно.

Таким образом, действительно, наличие симптомов общей интоксикации у больных ЛПЗ, действительно, сопровождается более глубокими изменениями в иммунном статусе. Контингент больных с явлениями интоксикации является группой риска по развитию инфекционных осложнений и нуждается в более пристальном внимании и адекватной иммунокоррекции.

*Сравнительная характеристика изменений иммунного статуса у
больных меланомой и ЛПЗ*

Сравнение показателей иммунного статуса больных меланомой и ЛПЗ (табл. 2) выявило статистически значимые различия по уровню и содержанию палочкоядерных лейкоцитов (U; p<0,001), накоплению ЦИК у больных ЛПЗ (U; p=0,01) и повышению у них фагоцитарного числа (U; p=0,004). Возможно, течение лимфопролиферативного заболевания сопровождается большей антигенной нагрузкой, что приводит к стимуляции фагоцитарного звена. Изменения субпопуляционного состава лимфоцитов у больных с обеими нозологиями имело аналогичный характер.

При сравнении показателей цитокинового статуса у больных меланомой и ЛПЗ (табл. 3) выявлено статистически значимое различие между группами по содержанию ИЛ-1 β (U; p=0,02). У больных меланомой его концентрация была резко снижена, медиана и интерквартильный размах составили 0 пг/мл (от 0 до 56,2 пг/мл). В группе больных ЛПЗ – 11,2 пг/мл (от 0 до 48,0 пг/мл).

Изучение содержания острофазного белка лактоферрина в сыворотке крови онкологических больных показало, что из 20 больных меланомой в $50,0 \pm 11,18\%$ случаев и из 40 больных ЛПЗ в $62,5 \pm 7,65\%$, этот показатель был повышен. Содержание лактоферрина в группе больных меланомой составило: медиана - 1025,0 нг/мл, интерквартильный размах от 587,5 до 1702,25 нг/мл, у больных лимфомами 1648,0 нг/мл, от 590,0 до 2550,0 нг/мл. Статистически значимых различий между группами выявлено не было (U; $p=0,4$). Также отмечено, что в группе больных меланомой после радикального лечения содержание лактоферрина было в пределах нормальных значений, медиана – 745,0 нг/мл, интерквартильный размах от 550,0 до 1121,0 нг/мл, в группе больных с генерализацией процесса наблюдалась тенденция к его повышению, соответственно: 1390,0 нг/мл (от 745,0 до 2300,0 нг/мл). Содержание лактоферрина в сыворотке крови больных ЛПЗ без общих симптомов интоксикации составило 1285,0 нг/мл с интерквартильным размахом от 570,0 до 1919,0 нг/мл. Прослеживалась тенденция к росту этого показателя при наличии В-симптомов до 1606,0 нг/мл с размахом от 600,0 до 2750,0 нг/мл.

Таким образом, иммунный статус больных меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями характеризуется комбинированной иммунной дисфункцией. В первую очередь это касается клеточного и фагоцитарного звена и сопровождается изменением как количественных, так и функциональных показателей. Можно предположить, что угнетение клеточного иммунитета связано со стойким дефектом клеток моноцитарного ряда. Формирование полноценного иммунного ответа нарушено ввиду сниженной продукции ключевых цитокинов: ИЛ-1 β и ФНО- α что создает благоприятную ситуацию для развития оппортунистических инфекций.

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ЦМВИ

Маркерами иммунологического неблагополучия, в первую очередь, являются оппортунистические инфекции, среди которых в последнее десятилетие особое внимание уделяется ЦМВИ [Галстян Г.М., 2002, Peggs К., 2002, Войлокова Р. Я., 1999]. Для большинства вирусных инфекций этиотропная терапия пока недоступна и только своевременным назначением патогенетической терапии, в данном случае иммунотерапии, можно попытаться предотвратить или облегчить развитие инфекционного процесса. Проведение адекватной иммунотерапии возможно лишь в результате изучения характера иммунной дисфункции у данной категории больных.

Эффективная диагностика оппортунистических инфекций включает определение специфических антител и антигена/ДНК возбудителя, поэтому в настоящей главе представлены результаты исследований с использованием прямых и непрямых методов лабораторной диагностики. Кроме того, приведены данные расширенных лабораторных исследований иммунологических показателей.

Течение инфекционного процесса у онкологических больных носит сложный характер и может определяться целым рядом факторов – каскадом биологических защитных и патологических реакций, индуцируемых возбудителем. Нами была проведена оценка иммунореактивности онкологических больных к ЦМВ. При обследовании 73 пациентов в 100% (n=73, 100%) случаев был получен положительный результат ($\chi^2=5,83$; p=0,016). Установленный общий уровень серопозитивности к ЦМВ при обследовании

580 жителей г. Омска и Омской области составил $65,2 \pm 1,02\%$. Результаты распределения обследованных по частоте выявления IgG к ЦМВ представлены в табл. 6

Таблица 6

Частота выявления антител класса IgG к ЦМВ методом ИФА в группах онкологических больных

№ группы	Группа	Всего обследовано (n)	Структура титров антител класса IgG			Средняя геометрическая титра (95%ДИ)	p
			1/100-1/400	1/800-1/1600	1/3200 и выше		
1	Больные меланомой	26	0 0%***	13 50,0±9,81 %*** ^	13 50,0±9,81 %***	1/2324*** ^^ (1/2069-1/2977)	$\chi^2=167,14$ p<0,001
2	Больные ЛПЗ	47	0 0%***	7 14,8±5,19 %***	40 85,1±5,19 %***	1/3200*** (1/3058-1/3920)	$\chi^2=756,77$ p<0,001
3	Доноры	852	222 67,7±1,6 %	88 26,8±1,52 %	18 5,5±0,78 %	1/296 1/278- 1/306	

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

^, ^^, ^^^ - достоверные различия с больными ЛПЗ (p<0,05; 0,01; 0,001).

При сравнении наблюдаемых частот антител класса IgG к ЦМВ между группами онкологических больных и донорской группой выявлено достоверное различие по повышению удельного веса высокотитражных сывороток, что может свидетельствовать о нарастании активной циркуляции возбудителя у лиц

данных групп. Группы больных меланомой и ЛПЗ различались между собой по статистически значимому преобладанию в 1 группе лиц со среднетитражными сыворотками. Во 2 группе наблюдалась тенденция к превалированию лиц с высокими титрами IgG к ЦМВ.

Публикации последних лет указывают на важность определения активной и первичной ЦМВИ [Spector S.A.,1985, Weber B.,1993, Schmidt C.A.,2000], существенную помощь при этом оказывает выявление IgM, а также расшифровка IgG-антител по их авидности. Результаты тестирования образцов сыворотки на наличие IgM представлены в табл. 7.

Таблица 7

Частота выявления антител класса IgM к ЦМВ методом ИФА в группах онкологических больных

№ группы	Группа	Всего обследовано (n)	Количество серопозитивных лиц		p
			абс.	% (M±m)	
1	Больные меланомой	26	9	34,6±9,33%*	$\chi^2=5,66$; p=0,02
2	Больные ЛПЗ	44	19	43,2±7,47%***	$\chi^2=16,18$; p<0,001
3	Доноры	580	79	13,6±1,42%	

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

Как видно из таблицы, среди больных меланомой лица с IgM-серопозитивностью встречались в 2,5 раза, а в группе больных ЛПЗ в 3,2 раза чаще, чем у доноров, межгрупповые различия были недостоверны (ТМФ; p=0,41).

Результаты изучения авидности IgG-антител к ЦМВ среди серопозитивных лиц помогли установить первичное инфицирование. Материалы по данному разделу представлены в табл. 8. При сравнении

распределения частот значений индекса avidности в группе больных меланомой выявлено достоверное различие с донорской группой по преобладанию антител-IgG с индексом avidности 35-45% (в 1,5 раза чаще по сравнению с донорами), что является признаком недавней реактивации. Случаев первичной инфекции зафиксировано не было. В группе больных ЛПЗ частота первичной ЦМВИ была сопоставима с донорской группой, статистически значимые различия были выявлены по числу лиц с возможной недавней реактивацией инфекции и составили 51,1% больных (в 3 раза чаще, чем у доноров). Статистически значимых межгрупповых различий по распределению частот значений индекса avidности IgG к ЦМВ выявлено не было.

Таблица 8

Результаты изучения avidности IgG-антител к ЦМВ методом ИФА среди серопозитивных лиц

№ группы	Группа	Всего обследовано (n)	Из них с индексом avidности			p
			до 35% абс. % (M±m)	35-45% абс. % (M±m)	более 45% абс. % (M±m)	
1	Больные меланомой	26	0 0%	12 46,2±9,78%	14 53,8±9,78%	$\chi^2=4,4$ 0,04
2	Больные ЛПЗ	47	6 12,8±4,87%	24 51,1±7,29%	17 36,1±7,01%	$\chi^2=5,82$ 0,016
3	Доноры	50	8 12,0±4,60%	8 16,0±5,18%	36 72,0±6,35%	

Примечание: *, **, *** - достоверные различия с контролем (p<0,05; 0,01; 0,001), сравнение распределения частот наблюдаемых значений с ожидаемыми.

Одновременно с определением титра специфических антител к ЦМВ проводилось количественное определение специфических иммуноглобулинов. Данное исследование позволяет более точно оценить содержание специфических антител и их динамику по мере наблюдения за пациентом.

Поскольку имеется сильная положительная корреляционная связь между определением титра антител и их количественным содержанием в иммуноферментных единицах $r_s = 0,97$ для IgM и $r_s = 0,71$ для IgG ($p < 0,001$), то эти методы можно считать взаимозаменяемыми. Полученные результаты представлены в табл. 9

Таблица 9

Содержание специфических иммуноглобулинов к ЦМВ в сыворотке крови больных меланомой и ЛПЗ

Показатель	n	M	ДИ 95%	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	SD	SEM
1 группа								
IgM к ЦМВ, ЕIU	17	35,24	11,97- 58,5	0,0	0,0	75	45,25	10,97
IgG к ЦМВ, ЕIU	17	187,71	160,44- 214,97	172	144	230	53	12,86
2 группа								
IgM к ЦМВ, ЕIU	30	44,1	24,4- 63,8	0,0	0,0	84	52,78	9,64
IgG к ЦМВ, ЕIU	29	208,9	188,8- 229,1	210	190	255	53,03	9,85

При анализе полученных данных не было выявлено статистически значимого различия между группами по содержанию IgG и IgM к ЦМВ. Больные обеих групп имели высокое содержание IgG к ЦМВ, на порядок превышающее нормальные значения.

Для подтверждения клинического диагноза ЦМВИ были использованы прямые методы диагностики. Наиболее информативным для констатации активности инфекционного процесса является исследование лейкоцитов крови на наличие «ранних белков» ЦМВ с использованием реакции иммунофлюоресценции [Каражас Н.В., 1998], а также детекция ДНК ЦМВ

методом полимеразной цепной реакции – ПЦР, причем, как показали наши исследования, количество положительных находок увеличивается при исследовании лейкоцитарной взвеси вместо сыворотки крови. Оценка эффективности лабораторных тестов проведена по их анализу и представлена в табл. 10.

Таблица 10

Результаты диагностических исследований прямыми методами в группах больных меланомой и ЛПЗ

№ группы	Группа	Антиген в L крови		ДНК ПЦР		p
		n	абс. % (M±m)	n	абс. % (M±m)	
1	Больные меланомой	17	5 29,4±11,05%	26	8 30,8±9,05%	p>0,05
2	Больные ЛПЗ	31	16 51,6±8,98%	47	30 63,9±7,01%	p>0,05

Примечание: *, **, *** - достоверные различия с группой больных меланомой (p<0,05; 0,01; 0,001), с использованием точного метода Фишера, «односторонний вариант».

Статистически значимых различий между группами больных по частоте выявления антигена/ДНК ЦМВ выявлено не было. Также отсутствовало статистически значимое различие между группами по частоте выявления ДНКемии ЦМВ ($\chi^2=1,83$; p=0,17).

Известно [Исаков В.А.,1999], что функциональное состояние иммунной системы организма играет большую роль в развитии инфекционного процесса, который в свою очередь действует угнетающе на иммунную систему организма, нарушая регуляцию иммунных реакций. Поэтому по результатам использования прямых методов диагностики все обследованные онкологические больные были разделены на две подгруппы: с отрицательным результатом ПЦР и с наличием ДНК ЦМВ.

В группе больных меланомой с отрицательным результатом ПЦР у 15 человек на момент обследования признаки прогрессирования злокачественного процесса отсутствовали, у 3 больных злокачественный процесс носил генерализованный характер. Нагноение в послеоперационном периоде наблюдалось одного больного. У больных меланомой с ДНКемией ЦМВ у 7 пациентов наблюдалась генерализация злокачественного процесса, по данному показателю было выявлено статистически значимое межгрупповое различие (U; $p < 0,001$) и выявлена сильная положительная ассоциация между наличием у больного ДНКемии ЦМВ и генерализацией меланомы - $r_s = 0,84$ ($p < 0,001$). Заживление послеоперационной раны вторичным натяжением через отторжение кожного лоскута или нагноение наблюдалось у 4 больных (U; $p = 0,012$), чаще, чем в случае отсутствия ДНКемии ЦМВ. Возможно, эти больные уже на момент операции составляли группу риска по развитию оппортунистических инфекций, и этот показатель ассоциировался с наличием ДНК ЦМВ в крови $r_s = 0,6$ ($p < 0,001$).

Показатели иммунного статуса больных обеих подгрупп представлены в табл. 12. В ходе анализа полученных данных были выявлены статистически значимые различия между подгруппами больных с учетом ДНК ЦМВ и контролем. В иммунном статусе больных меланомой с отрицательным результатом ПЦР наблюдалось повышение содержания палочкоядерных лейкоцитов и индекса стимуляции. Фагоцитарное число было в 1,3 раза выше, а количество активных фагоцитов в 1,5 раза ниже значений в контрольной группе. То есть состояние фагоцитарного звена больных данной подгруппы характеризовалось функциональным дисбалансом. Вероятно, действующая по системе модулей иммунная система компенсирует дефицитные компоненты за счет усиления других функций. Т-клеточное звено характеризовалось изменениями количественных показателей: снижением на 10,5% уровня субпопуляции лимфоцитов с фенотипом $CD3^+$, а содержание лимфоцитов с $CD95^+$ превышало значение в контрольной группе на 9,5%. Активизация апоптоза, возможно, и являлась причиной снижения уровня зрелых

лимфоцитов. Этот процесс также мог быть причиной изменения соотношения субпопуляций лимфоцитов: индекс CD4/CD8 в 1,3 раза превышал, а CD25/CD95 был в 2,1 раза ниже контрольного значения. РТМЛ, стимулированная ФГА, в 3 раза была выше, чем в контроле.

В реализации гуморальных и клеточных механизмов иммунного ответа важную роль играют цитокины. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных меланомой без ДНКемии ЦМВ было ниже пороговых значений, что может указывать на истощение клеток-продуцентов, отсутствии резерва иммунореактивности и возможном повышенном риске этих больных в отношении развития инфекционных осложнений.

Иммунный статус больных меланомой с положительным результатом ДНК ЦМВ характеризовался несколько иными изменениями, чем у больных без ДНКемии ЦМВ. В гемограмме наблюдалось снижение уровня эозинофилов и тенденция к лимфоцитопении, что указывает на стрессовую нагрузку. На фоне тенденции к повышению уровня НСТ-теста (спонтанного), свидетельствующей об антигеном раздражении фагоцитов, наблюдается еще более выраженное, чем у больных без ДНКемии ЦМВ, повышение фагоцитарного числа в 1,5 раза и снижение количества активных фагоцитов в 1,7 раза. Превышение содержания комплемента в 2 раза может свидетельствовать об элементах аутоагрессии в ходе развития иммунного ответа на вирус. Субпопуляционный состав лимфоцитов характеризовался снижением на 11,5% уровня CD3⁺ лимфоцитов, повышением на 8,5% В-лимфоцитов с фенотипом CD20⁺ и на 8% активированных CD25⁺-лимфоцитов. Также получены статистически значимые различия уровня CD95⁺ лимфоцитов (U; p=0,004), между ДНК ЦМВ и данной субпопуляцией лимфоцитов выявлена сильная отрицательная корреляция - $r_s = -0,86$ (p<0,001).

Изменения в цитокиновом звене у больных меланомой с ДНКемией ЦМВ (табл. 12) сопровождалось статистически значимым снижением содержания ИЛ-1 β и тенденцией к снижению ФНО- α , ИЛ-4 по сравнению с контролем. Такое резкое снижение концентрации цитокинов в сыворотке крови можно

объяснить либо нарушением их синтеза и секреции, либо повышенным их потреблением в зонах опухолевого роста, в связи с преобладанием среди больных с ДНКемией ЦМВ лиц с генерализацией меланомы.

При анализе серологических показателей выявлено статистически значимое различие между подгруппами по содержанию IgM к ЦМВ, медиана и интерквартильный размах составил у больных без ДНК ЦМВ 0,0 (0,0) ЕАУ, при ДНКемии ЦМВ – 82,0 ЕАУ (от 66,0 до 88,0 ЕАУ) (U; p=0,002). Индекс avidности IgG к ЦМВ характеризовался наличием преимущественно высокоавидных антител в случае отсутствия ДНК ЦМВ 66,5±4,37% и низкоавидных антител – 39,7±1,29% при ДНКемии ЦМВ (U; p=0,001), выявлена сильная отрицательная корреляционная связь между наличием ДНК ЦМВ и индексом avidности – $r_s = -0,82$ (p<0,001). Также индекс avidности коррелировал с наличием IgM к ЦМВ в сыворотке крови, как при оценке результата в титре, так и в международных ферментных единицах - $r_s = -0,82$ (p<0,001).

Статистически значимых результатов при анализе ассоциации между содержанием цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-4) и ДНКемией ЦМВ выявлено не было.

Больные лимфомами также были разделены на 2 подгруппы, в зависимости от наличия ДНКемии ЦМВ. Статистически значимых различий между подгруппами по распространенности и характеру злокачественного процесса выявлено не было. Результаты исследования иммунного статуса больных представлены в таблице 13. Выявлены количественные изменения гемопоказателей у больных ЛПЗ без ДНКемии ЦМВ в виде повышения уровня и количества палочкоядерных лейкоцитов и больших гранулярных лимфоцитов. Повышение в 1,9 раза фагоцитарного числа и в 2,1 раза количества активных фагоцитов указывает на активизацию фагоцитарного звена. В тоже время выявлен выраженный дефицит лимфокинпродуцирующей активности лейкоцитов: РТМЛ с ФГА превышает в 4,7 раза значение в контрольной группе. Значительных изменений в гуморальном звене

зафиксировано не было. Основные изменения присутствовали в Т-клеточном звене. На 11,5% снижена субпопуляция зрелых CD3⁺ и на 9% цитотоксических CD8⁺ лимфоцитов. При этом иммунорегуляторный индекс оказался повышенным в 1,6 раза. Выявлено достоверное повышение уровня субпопуляций натуральных киллеров с фенотипом CD16⁺ на 6%, активированных ИЛ-2 CD25⁺ лимфоцитов на 6% и CD95⁺ - на 4,5%.

У больных ЛПЗ с ДНКемией ЦМВ зафиксированы отклонения большего количества показателей иммунного статуса. Гемограмма характеризовалась повышением количества палочкоядерных лейкоцитов, ростом уровня сегментоядерных лейкоцитов, снижением содержания эозинофилов и лимфоцитов. Также наблюдалось повышение уровня БГЛ на 11,5%. Выявлены более глубокие изменения в фагоцитарном звене: помимо повышенного фагоцитарного числа и абсолютного фагоцитарного показателя, на 7% выросло значение НСТ-теста (спонтанного) и в 1,4 раза снизился индекс стимуляции, что свидетельствует о выраженной антигенной нагрузке. Изменения в гуморальном звене характеризовались селективной гипериммуноглобулинемией А. Изменения уровня субпопуляций лимфоцитов были аналогичны больным без ДНКемии. Следует отметить более выраженное снижение уровня зрелых CD3⁺ лимфоцитов – на 19,5%.

Результаты обследования больных на содержание цитокинов представлены в табл. 13. Выявлено статистически значимое снижение ИЛ-1β в обеих подгруппах. Концентрация ФНО-α и ИЛ-4 была в пределах нормальных значений, межгрупповых различий выявлено не было.

Комбинированная иммунная дисфункция способствует широкому распространению ЦМВИ у больных меланомой и ЛПЗ - 100% (m=5,19%) и развивается как реактивация хронической инфекции. Проведенные исследования показали, что принадлежность к определенной нозологической форме не является определяющей в частоте развития ЦМВИ. Вероятно, причиной этого являются аналогичные изменения иммунного статуса у больных обеими нозологиями. Для больных злокачественными

новообразованиями с ДНКемией ЦМВ характерны более глубокие изменения в иммунном статусе. И если у больных меланомой наблюдалась ассоциация между распространенностью злокачественного процесса и ДНКемией ЦМВ, то в случае больных лимфопролиферативными заболеваниями между характером и распространенностью злокачественного процесса не выявлено. Можно предположить, что при ЛПЗ ДНКемия, возможно, коррелирует с этапом лечения, что является объектом нашего дальнейшего анализа. Таким образом, иммунная дисфункция у онкологического больного усугубляется при развитии оппортунистических инфекций, а высокая серопозитивность по ЦМВИ больных злокачественными новообразованиями увеличивает риск реактивации и клинической манифестации данной инфекции.

РОЛЬ МИКСТ-ИНФИЦИРОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОЙ ДИСФУНКЦИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Поскольку были выявлены однонаправленные изменения со стороны ряда показателей иммунного статуса у больных меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями, то мы посчитали возможным объединить в дальнейшем больных обеих нозологических форм, принадлежащих к группе иммунозависимых [Фрадкин С. З., 2000, Справочник по онкологии, 1996], для дальнейшего анализа течения моноинфекции ЦМВ и микст-инфекций.

Наряду с ЦМВИ на фоне сниженной иммунорезистентности высока вероятность развития и парвовирусной инфекции В19, которая может усугублять течение патологического процесса [Ягужинская О.Е., 2001, Rooyogawan Y., 2000], протекая в виде моно- или микст-инфекции. Вместе с тем, в связи с малочисленностью литературных данных по частоте распространенности респираторного микоплазмоза у онкологических больных, мы посчитали целесообразным в комплексную оценку иммунореактивности больных злокачественными новообразованиями представить и результаты изучения специфического иммунитета к *M. pneumoniae*.

В ходе выполнения исследования мы попытались установить наличие сочетанного инфицирования и возможное его влияние на формирование иммунной недостаточности у онкологических больных. Результаты представленные в табл. 14, показали, что среди 73 обследованных пациентов моноинфекция ЦМВ отмечалась у 32 (43,84±5,81%), у 56,16±5,81% больных установлен факт микст-инфицирования.

Варианты сочетания ЦМВИ с парвовирусной и ЦМВИ с микоплазменной встречались, практически, с одинаковой частотой, тогда как уровень серопозитивности по всем трем инфекциям одновременно выявлялся почти в 2 раза реже, чем серопозитивность по двум инфекциям, и в 3,6 раза, чем моноинфекция ЦМВ. Можно предположить, что микст-инфицирование создает благоприятный фон для затяжного и персистирующего течения каждой инфекции.

Таблица 14

Инфицированность возбудителями оппортунистических инфекций онкологических больных

Наличие инфекции	Количество серопозитивных лиц (abc)	% серопозитивных (M±m)
Моноинфекция ЦМВ	32	43,84±5,81%
Парвовирусная (PV В19) + ЦМВИ	15	20,54±4,73%
Микоплазменная (M. pneumoniae) + ЦМВИ	17	23,29±4,95%
Парвовирусная (PV В19) + мкоплазменная (M. pneumoniae) + ЦМВИ	9	12,33±3,85%

Так как все обследованные больные были инфицированными ЦМВ, то был проанализирован характер ЦМВИ в случае моноинфекции и микст-инфицирования. Выявлена тенденция к повышению числа больных с IgM к ЦМВ в случае микст-инфицирования - 18 (46,15±7,98%), тогда как при моноинфекции ЦМВ результат был положительным у 10 (32,26±8,4%) больных. Количественное определение специфического IgM показало, что медиана при моноинфекции ЦМВ составила 0 ЕIU, а интерквартильный размах от 0 до 75 ЕIU, при микст-инфицировании – 54 ЕIU, от 0 до 82 ЕIU, но статистически значимого различия выявлено не было (U; p=0,26). Среднее геометрическое значение титра IgG к ЦМВ по подгруппам, практически, не различалось и

составило 1/2750 и 1/2940. Также не было выявлено различия при количественном определении IgG к ЦМВ: его содержание составило $197,36 \pm 15,16$ ЕIU и $202,72 \pm 9,34$ ЕIU при моно- и микст-инфицировании соответственно (U; $p=0,77$). Среднее значение индекса авидности IgG к ЦМВ составило $53,47 \pm 2,66\%$ у больных при моноинфекции ЦМВ, что указывает на перенесенную в прошлом ЦМВИ, в случае микст-инфицирования данный показатель был достоверно (U; $p=0,04$) ниже и составил $45,98 \pm 1,88\%$. Такое значение индекса авидности характерно для завершения острого процесса ЦМВИ.

При моноинфицировании ДНКемия ЦМВ выявлена у 10 ($31,25 \pm 8,19\%$) больных, и у 22 ($53,66 \pm 7,79\%$) микст-инфицированных больных ($\chi^2=1,47$; $p=0,23$). Однако, при анализе частоты ДНКемии в зависимости от сочетания инфекций, выявлено, что при одновременном инфицировании парвовирусной инфекцией и ЦМВИ ДНКемия встречалась у 13 больных (ТМФ; $p=0,044$), чаще, чем при других комбинациях. Частота персистенции ЦМВ, ДНКемия на фоне отсутствия специфического IgM, по подгруппам статистически значимо различалась (ТМФ; $p=0,025$): среди моноинфицированных ЦМВ больных был зафиксирован только один случай ($3,13 \pm 3,08\%$) персистенции ЦМВ, при микст-инфицировании персистенция вируса выявлена у 10 ($24,39 \pm 6,71\%$) больных. В данном случае микст-инфицирование способствует более тяжелому течению ЦМВИ.

Развитие микст-инфекций на фоне онкологического процесса оказывает негативное влияние на состояние иммунной системы что, возможно, создает благоприятный фон для затяжного и персистирующего течения инфекционного процесса [Долгих М. С., 2001]. Поэтому нами было проанализировано состояние показателей иммунного статуса в зависимости от того, моно- или микст-инфицирование зафиксировано у данного больного. Результаты иммунограммы представлены в табл. 15. Гемограмма больных, моноинфицированных ЦМВ, характеризовалась относительным и абсолютным моноцитозом, что, вероятно, свидетельствует о регрессии процесса, в данном случае мы рассматриваем

течение ЦМВИ, и сдвигом влево до палочкоядерных форм, указывающим на сохраняющийся воспалительный процесс. Повышение фагоцитарного числа в 1,4 раза (U ; $p=0,01$), объясняется избыточной активацией фагоцитов. О стихании острого воспалительного процесса можно также судить по снижению содержания IgM в сыворотке крови (U ; $p=0,04$). Полученные данные свидетельствуют об изменении численного состава среди иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов: выявлено снижение уровня зрелых лимфоцитов на 13,5% (U ; $p<0,001$), CD8⁺-лимфоцитов на 10% (U ; $p<0,001$), что сместило значение ИРИ в сторону повышения в 1,5 раза (U ; $p<0,001$). Так как натуральные киллеры служат главным эффекторным механизмом сопротивления при ЦМВИ [Ройт А., 2000], то повышение их уровня на 6 % (U ; $p=0,005$) можно расценить как благоприятный фактор борьбы с инфекцией. Повышенная экспрессия активационного маркера CD25⁺ на 4%, а уровня лимфоцитов, экспрессирующих маркер апоптоза - CD95⁺ на 6,5%, является показателем активно протекающего иммунного ответа, когда с одной стороны под воздействием антигена происходит пролиферация и дифференцировка Т-клеток, а с другой стороны запускается процесс апоптоза выполнивших свою функцию клеток [Бойчук С.В., 2001].

Несколько иные изменения выявлены в иммунограмме микст-инфицированных больных. Наблюдается повышение уровня БГЛ на 11,5% (U ; $p=0,05$) по сравнению с контролем. По сравнению с моно-инфицированными ЦМВ, относительное и абсолютное содержание БГЛ было выше на 15,5% и в 1,9 раза соответственно. Выявлены изменения в гуморальном звене иммунореактивности: в 1,4 раза (U ; $p=0,03$) повышено содержание IgA, в 1,8 раза (U ; $p=0,05$) и концентрация ЦИК, что можно объяснить возросшей антигенной нагрузкой. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов было аналогично группе больных с моно-инфицированием ЦМВ.

Дополнительная антигенная нагрузка на иммунную систему онкологического больного может послужить причиной срыва адекватного течения иммунного ответа. Одним из проявлений этих нарушений может быть

дефект выработки цитокинов [Blay I.Y.,1998, Di Piro J.T.1997]. Результаты исследования содержания цитокинов в сыворотке крови представлены в табл. 16 и иллюстрируют тот факт, что присоединение оппортунистических инфекций на фоне онкологического заболевания еще более усугубляет дисбаланс в цитокиновой сети. О дефиците лимфокинпродуцирующей активности лимфоцитов свидетельствует повышение РТМЛ, стимулированной ФГА в 3 и 2,6 раза в подгруппах с моно- и микст-инфицированием соответственно (U ; $p=0,004$). Выявлено достоверное снижение концентрации ФНО- α при микст-инфицировании как при сравнении с контролем, так и между группами, при этом у больных с моно-инфицированием ЦМВ сывороточное содержание ФНО- α было в пределах нормы. Учитывая, что ФНО- α продуцируется моноцитами/макрофагами и Th-1 лимфоцитами [Oppenheim J.,1993], то дефицит его выработки в первую очередь указывает на недостаточность функции этих клеток. Так как функция ФНО- α заключается в стимуляции развития иммунного ответа по Th-1 типу и индукции некроза различных опухолевых клеток, то больные с микст-инфицированием составляют группу риска по развитию тяжелых вирусных инфекций и генерализации злокачественного процесса. Низкое содержание ИЛ-1 β , выявленное в обеих группах, является препятствием для запуска полноценного специфического иммунного ответа. В то же время содержание ИЛ-4, который ингибирует клеточный иммунитет, необходимый для борьбы с вирусами и внутриклеточными микроорганизмами, не отличалось от значений в группе контроля.

Было выявлено статистически значимое различие между подгруппами по содержанию острофазного белка лактоферрина (табл. 16): у больных при моно-инфекции ЦМВ его содержание находилось в пределах нормальных значений или немного повышено, при микст-инфицировании зафиксирован подъем его концентрации, который, вероятно, носит компенсаторный характер и в некоторой мере нивелирует дефект выработки цитокинов. Это еще раз подтверждает сложившееся представление об иммунной системе, как системе

модулей, где дефект одного звена может компенсироваться за счет усиления другого.

Таблица 16

Содержание цитокинов и лактоферрина у онкологических больных при моно- и микст-инфицирования

Показатель	n	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	моноинфицирование		микстинфицирование		p
					n	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	
ФНО-α, пг/мл	21	23,4	1,4	106	28	0,0** ^	0,0	12,7	0,003 (0,02)
Интерферон-α, пг/мл	0	-	-	-	7	3,2	1,0	4,4	-
Интерлейкин-1β, пг/мл	19	2,1*	0,0	19,7	29	2,3*	0,0	19,3	0,02
Интерлейкин-4, пг/мл	6	19,8	4,6	36,8	15	7,9	0,5	33,8	0,64 (0,46)
Интерлейкин-6, пг/мл	4	0,0	0,0	0,0	9	0,0	0,0	0,0	-
Лактоферрин, нг/мл	18	752,5	570,0	1690,0	24	1897,5^	715,0	2761,0	(0,024)

Примечание: *, **, *** p- достоверные различия с контролем (p<0,05; 0,01; 0,001); ^, ^^, ^^ (p) - достоверные различия между группами (p<0,05; 0,01; 0,001) с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни;

Для изучения особенностей течения каждой инфекции при микст-инфицировании был проведен детальный анализ выяснения взаимосвязей между клиническими и лабораторными показателями.

Особенности иммунного ответа при инфицировании PV B19.

Серопозитивными по парвовирусной инфекции были 24 из 47 пациентов (51,06±7,29%), тогда как в контрольной группе этот показатель составил 5±4,87% (ТМФ; p=0,0055). По нозологической структуре 5 (20,83±8,29%) из 24 человек были больные меланомой, остальные 19 человек (79,17±8,29%) –

лимфомами (ТМФ; $p=0,015$). У 16 ($34,04\pm 6,91\%$) из 47 больных, обследованных на специфические антитела к PV B19, был выявлен активный инфекционный процесс: высокое содержание антител класса М – $44,75\pm 2,14$ U/ml, и G – $3,65\pm 0,43$ U/ml. Большинство это были больные с ЛПЗ – 14 человек (ТМФ; $p=0,012$). У двух больных отсутствовало переключение с выработки IgM на IgG. Первая больная К., 32 лет, после радикальной операции по поводу меланомы кожи. Был выявлен резко повышенный уровень IgM к PV B19 – 68 U/ml, что сопровождалось анемией с уровнем гемоглобина 110 г/л. Одновременно были выявлены антитела класса G к *M. pneumoniae* в титре 1/320. При обследовании больная отмечала учащение приступов бронхиальной астмы. ЦМВИ на момент обследования была неактивной: специфический IgM отсутствовал, антитела класса G были представлены высокоавидными, антиген и ДНК ЦМВ в крови не выявлялись. Второй больной Б., 52 лет, обследован на этапе проведения ДЛТ, после 12 курсов ПХТ по поводу генерализованной лимфосаркомы IV стадии. Содержание IgM к PV B19 составило 45 U/ml, ЦМВИ протекала в форме персистенции, так как ДНКемия ЦМВ сочеталась с отсутствием специфического IgM и низким значением индекса авидности IgG – 40%. Одновременно выявлен повышенный титр антител класса IgG к *M. pneumoniae* – 1/640. Микст-инфицирование у данного больного сопровождалось субфебрильной лихорадкой, анемией (содержание гемоглобина 117г/л) и обострением хронического бронхита. Оба больных взяты под дальнейшее наблюдение в связи с риском развития инфекционных осложнений и ухудшения течения основного заболевания.

У 8 ($17,02\pm 5,48\%$) человек, из 47 обследованных, определялись только специфические антитела класса G к PV B19 – $4,06\pm 0,24$ U/ml, указывающие на стихающий инфекционный процесс.

Мы проанализировали характер ЦМВИ на фоне острой парвовирусной инфекции, стихающем инфекционном процессе и при серонегативности. Из 16 пациентов с острой инфекцией PV B19 у 9 человек присутствовали антитела класса М к ЦМВ, содержание которых указывало на острую ЦМВИ –

95,44±12,61 EIU. Среднее геометрическое титра специфических антител класса G составило 1/2934, при количественном измерении их содержание было резко повышенным - 209,73±14,4 EIU. ДНКемия ЦМВ выявлена у 13 человек, при этом у 4 больных инфекция протекала при недостатке специфических антител на фоне персистенции вируса. ДНКемия ЦМВ сопровождалась присутствием IgG с индексом авидности 40,54±1,74%, при персистенции вируса - 45,5±4,37%. У 3 больных ЦМВИ зафиксирована на этапе ремиссии, что подтверждалось отсутствием IgM, антиген/ДНК ЦМВ и наличием высокоавидных антител класса G – 56,0±5,67%. При этом ни у одного больного не выявлены низкоавидные антитела, у 10 пациентов индекс авидности был в диапазоне от 33 до 40%, что указывает на завершение острого процесса, возможно, рецидива ЦМВИ. У 6 больных присутствовали высокоавидные антитела класса G к ЦМВ, что могло бы быть показателем ремиссии инфекции, но при исследовании ДНК ЦМВ в трех случаях был получен положительный результат: в 1 случае – активный процесс, у 2 больных – персистенция вируса.

Из 8 больных со стихающей парвовирусной инфекцией только у одного пациента не было признаков активизации ЦМВИ. Этот случай обращает на себя внимание благоприятным течением иммунного ответа. Больной Л., 66 лет, с диагнозом: Т-клеточная лимфома II A стадия, был обследован после 3 курсов ПХТ по схеме СНОР. Гемопоказатели были в пределах нормы. Показатели иммунного статуса также не выходили за границы нормальных значений. Показатели цитокинового статуса указывали на адекватное развитие ответа: ФНО-α – 4,8 пкг/мл, ИЛ-1β – 21,5 пкг/мл, уровень лактоферрина был слегка повышен и составил 1919 нг/мл. Содержание IgG к PV B19 было слабоположительным – 2,7 U/ml. IgM к ЦМВ не определялся, титр IgG составил 1/3200, индекс авидности составил 59%, антиген/ДНК ЦМВ отсутствовал. Пациент был серопозитивным и по микоплазменной инфекции, титр суммарных антител: 1/80, а IgM к *M. pneumoniae* отсутствовали. Несмотря на наличие микст-инфицирования, адекватная выработка провоспалительных цитокинов и острофазного белка лактоферрина позволила пациенту в полном

объеме пройти курс специального лечения. Из осложнений в ходе лечения был зафиксирован лучевой пневмонит, по поводу чего проведена противовоспалительная терапия с положительным эффектом. В настоящее время, спустя год после окончания лечения, больной чувствует себя удовлетворительно, признаков прогрессирования злокачественного процесса не выявлено.

Серонегативными по парвовирусной инфекции были 9 пациентов. Острая ЦМВИ была зафиксирована только у 3 больных, случаев персистенции ЦМВ не выявлено. Индекс avidности составил $53,33 \pm 5,57\%$. Можно предположить, что меньшая антигенная нагрузка на иммунную систему пациентов позволил им более эффективно справиться с ЦМВ.

Все больные, обследованные на парвовирусную инфекцию, были разделены на подгруппы по серопозитивности. Было выявлено статистически значимое различие между подгруппами по частоте ДНКемии ЦМВ - $83,33 \pm 7,61\%$ в подгруппе серопозитивных и $26,09 \pm 9,16\%$ в подгруппе серонегативных по PV B19 (ТМФ; $p=0,027$). При анализе результатов исследования иммунного статуса получено достоверное различие показателей между подгруппами. В подгруппе больных, имеющих специфические антитела к PV B19, содержание моноцитов было резко снижено, медиана и интерквартильный размах составили $0,082 \times 10^9/\text{л}$ (от $0,017$ до $0,13 \times 10^9/\text{л}$) (U; $p=0,003$), тогда как в серонегативной подгруппе их количество было в пределах нормы - $0,17 \times 10^9/\text{л}$ (от $0,14$ до $0,28 \times 10^9/\text{л}$). Можно предположить, что моноциты мигрировали в ткани для борьбы с вирусной инфекцией. Также выявлено изменение в составе субпопуляций лимфоцитов: в подгруппе инфицированных PV B19 больных повышен уровень цитотоксических $CD8^+$ -лимфоцитов до $28,14 \pm 2,88\%$ (U; $p=0,047$), что указывает на активизацию противовирусных механизмов иммунного ответа, но снижение уровня клеток, экспрессирующих антиген HLA-DR до $8,13 \pm 1,65\%$ (U; $p=0,027$) может быть показателем неэффективной работы антигенпредставляющих клеток, что нарушает формирование полноценного иммунного ответа. У серонегативных

по парвовирусной инфекции больных уровень HLA-DR клеток был значительно выше: $14,17 \pm 1,54\%$.

При исследовании содержания цитокинов (ФНО- α , ИФ- α , ИЛ-1 β , 4, 6) и лактоферрина статистически значимых различий между подгруппами выявлено не было. Можно предположить, что инфицирование PV B19 не сопровождается сдвигами концентрации изучаемых цитокинов в сыворотке крови, что не исключает возможности изменения их содержания в тканях организма.

Особенности иммунного ответа при инфицировании *M. pneumoniae*.

Обследование больных на серопозитивность по микоплазменной инфекции показало, что антитела класса G к *M. pneumoniae* выявлялись у $35,62 \pm 5,6\%$ (26/73) больных, тогда как в группе контроля таких лиц было $16,9 \pm 3,23\%$ (22/130) ($\chi^2=5,39$; $p=0,02$). Серопозитивных больных обследовали на содержание IgM к *M. pneumoniae*, и в $45,0 \pm 11,12\%$ (9/20) случаев был получен положительный результат, различие с донорской группой, где не было выявлено ни одного человека со специфическим IgM, было статистически значимое ($\chi^2=37,15$; $p<0,001$). Обращает на себя внимание тот факт, что IgM к *M. pneumoniae* были выявлены только у больных ЛПЗ и отсутствовали при меланоме (ТМФ; $p=0,029$). Можно предположить, что злокачественный процесс, характеризующийся системным поражением лимфоидной ткани, способствует развитию острой микоплазменной инфекции.

Был проведен анализ особенностей течения ЦМВИ на фоне инфицирования *M. pneumoniae*. В группе больных, серонегативных по микоплазменной инфекции, ДНКемия ЦМВ встречалась в $48,94 \pm 7,29\%$ (23/47) случаях, а персистенция ЦМВ у 4 из 23 больных. Среди серопозитивных пациентов результаты были положительными у $60,0 \pm 10,95\%$ (12/20) больных, а у 4 из 12 зафиксирована персистенция ЦМВ, но различия были статистически незначимы ($\chi^2=0,21$; $p=0,65$). Значение индекса avidности IgG к ЦМВ указывало на наличие высокоавидных антител и составило – $50,15 \pm 2,06\%$ и $49,8 \pm 3,25\%$ соответственно по группам (U; $p=0,4$). Статистически значимые

различия получены при анализе титра IgG к ЦМВ. Среднее геометрическое титра IgG к ЦМВ у серонегативных и серопозитивных к *M. pneumoniae* без IgM пациентов составило 1/2721 и 1/2487 и было достоверно ниже, чем у больных с IgM к *M. pneumoniae* – 1/4032 (U; p=0,029). В данном случае можно сделать два предположения: либо микоплазменная инфекция развивается чаще у лиц, ослабленных в ходе течения ЦМВИ, либо развитие микоплазменной инфекции способствует более медленному течению ЦМВИ. Возможно и одновременное действие этих двух факторов.

В иммунном статусе больных, серопозитивных к *M. pneumoniae*, было выявлено достоверное повышение абсолютного содержания сегментоядерных лейкоцитов до $3,39 \times 10^9$ /л (интерквартильный размах от 2,49 до $4,84 \times 10^9$ /л) (U; p=0,03), которое сопровождалось высоким значением НСТ-стимулированного – 30% (интерквартильный размах от 23 до 52%) (U; p=0,01). В подгруппе серонегативных по микоплазменной инфекции больных эти показатели составили $2,66 \times 10^9$ /л (от 1,74 до $3,28 \times 10^9$ /л) и 18% (от 13 до 33%) соответственно. Подгруппу серопозитивных по микоплазменной инфекции больных мы разделили с учетом наличия или отсутствия IgM к *M. pneumoniae* и проанализировали показатели иммунного статуса уже с учетом этого показателя. Мы выяснили, что статистически значимое повышение сегментоядерных лейкоцитов (U; p=0,05) и НСТ-стимулированного (U; p=0,02) было характерно для больных с IgM к *M. pneumoniae*, медиана и интерквартильный размах составили: $4,31 \times 10^9$ /л (от 2,51 до $8,54 \times 10^9$ /л) и 46% (от 44 до 52%) соответственно. На стимуляцию функции фагоцитов также указывает повышение индекса активации до 2,2 (от 2 до 2,4). Об избыточной антигенной нагрузке на иммунную систему свидетельствует лимфопения: 16% (от 11 до 20%) и $0,77 \times 10^9$ /л (от 0,5 до $1,26 \times 10^9$ /л). У больных, перенесших микоплазменную инфекцию и имеющих только IgG к *M. pneumoniae* содержание сегментоядерных лейкоцитов, лимфоцитов, НСТ-спонтанного и индекса активации соответствовало значению в группе контроля. Можно

предположить, в результате персистенции в фагоцитирующих клетках *M. pneumoniae* способствует их активации.

Полученные нами результаты изучения содержания цитокинов соответствуют литературным данным о способности *M. pneumoniae* стимулировать выработку провоспалительных цитокинов [Kazachkov M.Y., 2002, Lieberman D, 1997]. У онкологических больных, серопозитивных по микоплазменной инфекции, выявлено статистически значимое различие по содержанию ИЛ-1 β : медиана и интерквартильный размах составили 8,3 пг/мл (от 0 до 59 пг/мл) (U; p=0,02), тогда как у серонегативных пациентов его содержание было резко снижено – 0 пг/мл (от 0 до 2,3 пг/мл). Также в группе серопозитивных пациентов прослеживалась тенденция к повышению содержания ФНО- α – 3,9 пг/мл (от 0 до 14 пг/мл) (U; p=0,94) и противовоспалительного цитокина ИЛ-4 – 16,7 пг/мл (от 6,7 до 33,8 пг/мл) (U; p=0,38). В группе онкологических больных, серонегативных по микоплазменной инфекции, содержание ФНО- α было низким – 0 пг/мл (от 0 до 28 пг/мл), а ИЛ-4 – в пределах нормального значения – 7,7 пг/мл (от 0 до 12,5 пг/мл). Анализ результатов исследования показал, что наличие IgM к *M. pneumoniae* сопровождается как повышением концентрации ИЛ-1 β , так и ИЛ-4, при сравнении с серонегативными больными и составляет: 21,5 пг/мл (от 3,9 до 276,0 пг/мл) (U; p=0,04) и 33,8 пг/мл (от 25,2 до 87,7 пг/мл) (U; p=0,09) соответственно.

Статистически значимых различий между группами по содержанию лактоферрина выявлено не было. Однако, прослеживалась тенденция к снижению его содержания: от повышенного значения в группе серонегативных к *M. pneumoniae* пациентов – 2500 нг/мл (от 1480 до 3150 нг/мл) и промежуточного значения в группе пациентов без IgM к *M. pneumoniae* – 1957,5 нг/мл (от 1055 до 2773 нг/мл) к нормальной концентрации в группе больных с IgM к *M. pneumoniae* – 1302,5 нг/мл (от 580 до 1919 нг/мл). Вероятно, данная динамика еще раз подтверждает предположение о

компенсаторной роли лактоферрина при недостаточной выработке провоспалительных цитокинов.

Инфицирование больных ЛПЗ возбудителями оппортунистических инфекций на этапах проведения противоопухолевой терапии

По данным Исакова В. А. (1999), ЦМВИ у взрослых встречается, преимущественно как позднее осложнение злокачественных опухолей []. Результаты наших исследований указывают на высокий уровень инфицированности больных ЛПЗ уже на этапе постановки диагноза. Все обследованные больные ЛПЗ до начала противоопухолевой терапии были серопозитивны по IgG к ЦМВ и этот показатель был достоверно выше (χ^2 ; $p=0,03$), чем в контрольной группе, где серопозитивность по данной инфекции составила $65,2\pm 1,02\%$. Средняя геометрическая титра IgG к ЦМВ до начала лечения составила 1/3005, была максимальной во время ПХТ - 1/3456, а на этапе ДЛТ имела тенденцию к снижению - 1/2691, в донорской группе – 1/296 (U; $p<0,001$).

Больные ЛПЗ в ходе болезни и ее лечения переносят реактивацию ЦМВИ, на что указывает отсутствие низкоавидных антител класса G. Данные описательной статистики индекса авидности IgG к ЦМВ представлены на рис. 1. Прослеживается тенденция к повышению случаев реактивации ЦМВИ на этапе проведения ПХТ, что сопровождается снижением индекса авидности с $48,7\pm 2,92\%$ перед началом лечения до $43,2\pm 2,8\%$ во время ПХТ и подъемом до $48,2\pm 3,14\%$ на этапе ДЛТ.

На реактивацию ЦМВИ указывало также наличие специфических антител класса IgM и антиген/ДНКemia. Частота выявления IgM к ЦМВ была максимальной до начала лечения и на этапе проведения ПХТ (χ^2 с поправкой Йетса; $p=0,015$), антитела класса M выявлены у 8 из 19 и у 7 из 15 больных соответственно. На этапе проведения ДЛТ и после окончания лечения она не отличалась от донорской группы. Частота обнаружения ЦМВ методом ПЦР до начала лечения составила $68,18\pm 9,93\%$ (ЦМВ выявлялся у 15 из 22 больных) и

имела тенденцию к снижению в группах по мере выполнения программы лечения: у 10 из 15 больных во время ПХТ и у 7 из 15 при ДЛТ зафиксирована ДНКемия ЦМВ.

Одновременно больные обследовались на наличие антител к парвовирусу В19. Серопозитивными по парвовирусной инфекции были 11 из 15 пациентов, до начала лечения (ТМФ; $p=0,0033$). Статистически значимых различий между группами по уровню серопозитивности на этапах лечения выявлено не было. Результаты исследований показали, что частота острой парвовирусной инфекции была максимальной до начала лечения: выявлено статистически значимое различие с группой контроля (ТМФ; $p=0,003$). Как и в случае с ЦМВИ, прослеживалась тенденция к уменьшению числа лиц с острой парвовирусной инфекцией по мере прохождения этапов лечения ЛПЗ.

Также больные ЛПЗ были обследованы дополнительно для исключения микоплазменной инфекции. До начала лечения антитела к *M. pneumoniae* выявлены у 6 из 21 больного и у 6 из 16 пациентов при проведении ПХТ, достоверного различия с группой контроля не выявлено. Однако, на этапе проведения ДЛТ уровень серопозитивности статистически значимо различался с контролем (ТМФ; $p=0,03$). Вероятно, в отличие от ЦМВИ и инфекции РV В19, микоплазменная инфекция присоединяется на более поздних этапах лечения и может быть одним из факторов риска развития осложнений специальных методов лечения.

Таким образом, для больных ЛПЗ характерна реактивация ЦМВИ и развитие парвовирусной инфекции до начала лечения злокачественного новообразования и во время проведения ПХТ и высокий риск развития микоплазменной инфекции у этапа проведения ДЛТ.

Интерпретация результатов исследования показателей иммунной системы больных ЛПЗ затруднена ввиду присутствия и действия ряда тропных по отношению к ней факторов: опухолевого процесса, иммуносупрессивных методов лечения и инфекционных агентов. Многочисленными исследованиями, о чем свидетельствуют литературные данные последних лет,

показана возможность размножения ЦМВ в Т- и В-лимфоцитах, а также макрофагах человека, которые служат резервуаром для вируса. Микоплазма может длительно персистировать в фагоцитирующих клетках и заноситься в разные органы. Она поражает клетки, главным образом, в результате тесного контакта с ними при воздействии токсических продуктов метаболизма (перекись водорода и др.). Это приводит к хронизации и медленному течению инфекционного процесса. Поскольку на этапе противоопухолевой терапии происходит изменение активности инфекционного процесса, то это отражается и на активности фагоцитов.

Результаты исследований содержания цитокинов (табл.17) свидетельствуют о том, что до начала лечения концентрация ФНО-альфа и ИЛ-4 была в пределах нормальных значений, а ИЛ-1 β , по сравнению с контролем, была ниже (U; p=0,014). На этапе проведения ПХТ отмечено нарастание дефицита цитокинов что указывало формирование глубокого дисбаланса в цитокиновой сети и объясняло факт формирования неполноценного иммунного ответа против возбудителей оппортунистических инфекций. Следует отметить, что на этапе ПХТ пациенты находились в состоянии тяжелой иммунной дисфункции. К моменту проведения ДЛТ содержание изучаемых цитокинов принимало нормальные значения.

Изучение содержания острофазного белка лактоферрина в сыворотке крови больных ЛПЗ на этапах проведения противоопухолевой терапии показало (табл.17), что на этапе проведения ПХТ его содержание было минимальным, а у больных до лечения и при ДЛТ его концентрация была повышена.

Особенности иммуноориентированной терапии у больных меланомой и ЛПЗ

Одним из путей улучшения результатов специальных методов лечения злокачественных новообразований является иммунологический. Проведение иммуноориентированной терапии затруднено из-за того, что сложные функции

иммунной системы существенно меняются в зависимости от вида противоопухолевой терапии, генерализации процесса, индивидуальной чувствительности больного. Иммунотерапия проводится не только с целью изменения биологического взаимоотношения опухоли и организма в благоприятном для больного направлении, но и для повышения резистентности иммунной системы больного к возбудителям инфекционных заболеваний [Новиков, 1999].

Перечисленные в ходе исследования отклонения показателей иммунного статуса, сопровождающиеся развитием оппортунистических инфекций, дают основание предполагать, что необходимо включать в программы лечения онкологических больных средств иммунотерапии, воздействующих преимущественно на регуляторные и эффекторные звенья иммунореактивности и способных изменять взаимоотношения между опухолью и организмом в благоприятном для больного направлении.

Самым сложным вопросом при исследовании эффективности применения иммуномодуляторов является правильная оценка целесообразности назначения иммунокорректирующего лечения и его эффективности. Целесообразность иммунореабилитационных мероприятий у онкологических больных требует четких обоснований [Кадагидзе З. Г., 2001]:

а) у больного должны быть выявлены стойкие нарушения функционирования различных звеньев иммунной системы;

б) коррекция нарушений иммунитета должна проводиться с использованием препаратов, механизм действия которых хорошо изучен и направлен на стимуляцию именно подавленного звена иммунной системы;

в) лечение необходимо проводить под строгим иммунологическим контролем.

В соответствии с приведенными требованиями к проведению иммуноориентированной терапии больным злокачественными новообразованиями назначалась иммунокоррекция. Основные изменения иммунного статуса онкологических больных характеризовались

формированием иммунной дисфункции по Т-клеточному и фагоцитарному звеньям, что определяло выбор препаратов при назначении лечения.

Больным меланомой, вне зависимости от этапа развития опухолевого процесса (ремиссия или прогрессирование), проводилась неспецифическая терапия препаратами рекомбинантного интерферона- α (реафероном), при непереносимости интерферонотерапии (выраженный гриппоподобный синдром, лейко-, тромбоцитопения) назначались индукторы интерферонов (неовир, циклоферон) или тимомиметики (тималин, тактивин, имунофан). Терапия дополнялась назначением антиоксидантов (препараты витаминов А, Е, С и микроэлемента селена), растительных адаптогенов (настойка левзеи, аралии, элеутерококка или эхинацеи), гепатопротекторов (эссенциале, карсил).

Профилактическую иммунотерапию реафероном в дозе 3 млн. МЕ внутримышечно 3 раза в неделю [Grob J.J., 1998, Rehamberger H., 1998] получали 12 больных меланомой после радикальной операции. Лечение назначалось не ранее 1 месяца после операции после исследования показателей иммунного статуса и продолжалось до 18 месяцев (в среднем 9 ± 2 месяца). Контроль иммунного статуса проводился 1 раз в 6 месяцев. При обследовании больных на фоне иммунотерапии отмечалась нормализация показателей Т-звена и фагоцитоза. Случаев реактивации ЦМВИ на фоне лечения выявлено не было, индекс авидности составил $49,3 \pm 2,52\%$. Ни у одного больного не было зафиксировано парвовирусной и микоплазменной инфекции. Таким образом, цель использования ИФ- α в малых дозах – это стимуляция иммунного ответа не только против остаточных циркулирующих опухолевых клеток и профилактика метастазирования, но и стимуляция иммунореактивности против возбудителей оппортунистических инфекций.

Назначение иммунотерапии больным меланомой на фоне прогрессирования процесса позволило нам длительно поддерживать пациентов в удовлетворительном состоянии. Иммунотерапия проводилась 8 больным с признаками генерализации процесса под контролем показателей иммунного статуса. Препаратами выбора являлись: реаферон, лейкинферон, циклоферон и

неовир. Все больные отметили уменьшение астенического синдрома, исчезновение лихорадки у 2 пациентов, у 3 больных отмечена стабилизация и прекращение дальнейшего распространения злокачественного новообразования.

Больным ЛПЗ проводилась иммуноориентированная терапия с учетом изменений иммунного статуса. Так как ведущим был выделен Т-клеточный иммунодефицит, то, практически, все обследованные у клинического иммунолога больные получали тимомиметики пролонгированными (до двух месяцев) курсами, антиоксиданты. При выявлении лабораторных признаков реактивации ЦМВИ назначался реаферон по стандартной схеме. При сочетании ЦМВИ с лейкопенией – лейкоинтерферон [Кузнецов В. П., 1996] по 10 000 МЕ внутримышечно через день, на курс до 10 инъекций. Больные, которые получали иммунотерапию с момента постановки диагноза, отмечали менее выраженный астенический синдром, у них реже выявлялись эпизоды цитопении (лейкопении и лимфоцитопении) и анемии.

Таким образом, полученные данные в группе больных с микст-инфекцией указывают на высокую частоту сочетания ЦМВИ с парвовирусной и микоплазменной инфекциями на фоне иммунодефицитного состояния. Не исключено, что у онкологических больных ЦМВ играет решающую роль в запуске иммунопатологических процессов. Относительно низкая иммуногенность, характерная для возбудителей оппортунистических инфекций, обуславливает длительное взаимодействие микроорганизма с иммунной системой и персистенцию инфекции, а формирование неполноценного иммунного ответа создает ситуацию для развития затяжного инфекционного процесса и персистенции инфекта.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Проблема оппортунистических инфекций в последнее десятилетие приобрела особую актуальность в связи с ростом иммунодефицитных состояний различного генеза. Она является комплексной и решается многими медико-биологическими и клиническими дисциплинами (общей патологией, иммунологией, вирусологией, эпидемиологией, онкологией, акушерством и гинекологией, педиатрией и др.). Однако, каждая из них имеет свою цель, свой аспект, уровень и специфический подход к изучению этой патологии, позволяющий достигнуть цели. Суть клинического подхода состоит в изучении болезни (болезней) и клинического состояния пациента с целью её лечения. Эпидемиология изучает патологию (болезни) на популяционном уровне, и её предметной областью является не болезнь, а заболеваемость населения (популяционный уровень изучения патологии). В связи с этим, суть эпидемиологического метода состоит в изучении заболеваемости населения (эпидемического процесса) с целью её профилактики. Причем, эпидемиология использует сложившийся в клинической медицине алгоритм характеристики патологии в виде известных 5 групп понятий: этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение. Для популяционной (эпидемиологической) характеристики патологии эти основные понятия трансформируются в аналогичные по сути, но отражающие популяционный уровень науки понятия:

- причины и условия, формирующие заболеваемость (патологию популяционного уровня);
- механизм формирования заболеваемости населения;
- проявления заболеваемости;
- эпидемиологическая диагностика;
- профилактика.

В своей работе мы попытались применить данные категории к оппортунистическим инфекциям – разнородной группе инфекций, объединяющим фактором которым является сниженный иммунитет организма (популяции). Именно это обстоятельство обеспечивает манифестацию болезней, входящих в эту группу, и приводит к тяжелым медико-социальным последствиям (смерть, инвалидизация). Особую значимость приобретает данная проблема у онкологических больных. В данной группе больных развитие основного патологического процесса происходит на фоне выраженной дисфункции иммунной системы, и снижение иммунорезистентности в целом, особенно на фоне проводимой химио- и лучевой терапии, усугубляет ситуацию и создает оптимальные условия для развития инфекционного процесса, вызванного возбудителями оппортунистических инфекций, особенно вирусной природы. Следовательно, в понятие «необходимая причина» при оппортунистических инфекциях (кроме специфического возбудителя и восприимчивости) следует включать ещё одну компоненту – сниженный иммунитет организма (населения). Таким образом, частота манифестации (заболеваний) – уровень заболеваемости оппортунистическими инфекциями – определяется частотой иммунодефицитных состояний и их распределением по территории, в различных группах населения и во времени. Эпидемиологическое изучение только этого явления уже дает возможность составить представление о территориях, группах и времени риска заболеваемости группой оппортунистических инфекций, а также в целом сформировать представление о факторах риска, формирующих иммунодефициты. Последнее обстоятельство имеет существенное отношение к профилактике не только иммунодефицитов, но и заболеваемости оппортунистическими инфекциями.

Итак, причина заболеваемости населения оппортунистическими инфекциями состоит во взаимодействии популяций определенных условно-патогенных микроорганизмов с популяцией восприимчивых людей, имеющей в своем составе контингент иммунодефицитных лиц. В связи с этим, устранение

факторов и механизмов, формирующих этот контингент, следует рассматривать как важное направление примордиальной и основной (первичной) профилактики.

Процесс формирования заболеваемости (эпидемический процесс) при оппортунистических инфекциях реализуется за счет механизмов и движущих сил, присущих всей группе оппортунистических болезней, но в тоже время он имеет существенное отличие от классических инфекций, прежде всего, механизмом манифестации. Как известно, заболеваемость неравномерно распределяется по территории, в различных группах населения и во времени, формируя «территории риска», «группы риска» и «время риска». Дифференцируется также степень риска.

Для классических инфекций В.Д.Беляков [12] ввел понятие «риск инфицирования» и «риск заболевания». Это разграничение особенно актуально для оппортунистических инфекций. Учитывая значительную специфику этих понятий при данной группе инфекций, считаем необходимым расширить эту дифференциацию и выделить три степени риска:

- риск инфицирования возбудителем оппортунистических инфекций;
- риск манифестации оппортунистической инфекции;
- риск тяжелых последствий (смерть, инвалидизация).

Следует отметить, что каждый вариант риска формируется специфической группой факторов, т.е. следует говорить о «факторах риска инфицирования», «факторах риска манифестации», «факторах риска тяжелых последствий» оппортунистической патологии. Безусловно, это обстоятельство должно найти отражение в структуре эпидемиологического надзора и системы профилактических мероприятий.

С позиции теории управления и учения о системах профилактика заболеваемости представляет собой управленческую систему, включающую взаимосвязанные подсистемы, и функционирующую с целью снижения (контроля) заболеваемости. Использование принципов теории управления в медицине (прежде всего, в эпидемиологии) привело к появлению понятия

«эпидемиологический контроль» и дифференциации инфекционных болезней на управляемые, частично управляемые и неуправляемые средствами профилактики.

В соответствии с этой классификацией оппортунистические инфекции до настоящего времени следует относить к числу неуправляемых (неконтролируемых) системой мероприятий. Начиная с 60-х годов ВОЗ настойчиво рекомендовало национальным службам здравоохранения для успешной борьбы с инфекционными болезнями разрабатывать и внедрять программы эпидемиологического надзора. Под эпидемиологическим надзором понималась система мероприятий, обеспечивающая постоянный сбор и анализ информации о состоянии эпидемиологических процессов инфекционных болезней о факторах, способствующих развитию заболеваний. Основная цель эпидемиологического надзора заключалась в обеспечении органов управления достоверной информации для принятия оптимальных управленческих решений и построения системы профилактических мероприятий, адекватной ситуации.

Для оппортунистических инфекций до настоящего времени в отечественной и мировой практике не разработаны модели эпидемиологического надзора и управления заболеваемостью. Создавая эти модели, мы опирались на опыт зарубежных и отечественных специалистов [13, 16, 35, 158] и учитывали результаты собственных проспективных исследований. Принципиальная схема управления инфекционной заболеваемостью населения (эпидемиологический контроль) включает следующие подсистемы *информационную, аналитическую и организационно-исполнительскую* (схема 1). Две первые подсистемы и составляют эпидемиологический надзор. Информационная подсистема является базисной и применительно к классическим инфекциям включает ряд важных информационных потоков:

- информация о проявлениях эпидемического процесса;
- информация, характеризующая факторы и пути передачи возбудителя;
- информация, характеризующая биологические свойства возбудителей;

- информация о социальных, природных и иных факторах риска, включая систему профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Учитывая особенности оппортунистических инфекций, необходимость дифференциации инфицированности и заболеваемости, на основе полученных данных мы выделили применительно к этой группе инфекций следующие информационные потоки. В первую очередь, для установления частоты распространенности ЦМВИ, парвовирусной *B19* и микоплазменной инфекций в Омской области мы оценили как *наиболее значимую информацию об иммунореактивности* некоторых диагностических групп населения Омской области, среди которых особое внимание на данном этапе эпидемиологических исследований привлекли онкологические больные, среди которых были выделены группы больных с иммунозависимыми заболеваниями (лимфопролиферативные заболевания и меланома) и заболеваниями, относящимися к группе иммунонезависимых (рак гортани). При этом установили, что инфицированность онкологических больных ЦМВ составляет 100%, антитела к парвовирусу *B19* встречаются у больных меланомой в % случаев, а у больных с лимфопролиферативными заболеваниями – у %. Микоплазменная инфекция имеет частоту распространенности в данных группах %.

При исследовании распространенности болезней [141] мы исходили из того, что важную информацию для определения состояния иммунитета дают серологические методы, составляющие в эпидемиологическом надзоре его серологическую часть (*серологический надзор*), и в условиях отсутствия отлаженной системы активного выявления случаев заболевания только серологический надзор позволяет оценить распространенность заболевания и выявить наиболее восприимчивые к инфекции группы населения [91], к которым в первую очередь следует отнести онкологических больных, а среди них – больных с лимфопролиферативными заболеваниями.

Изучение полученных материалов явилось основанием для формирования новых информационных потоков, среди которых особую важность приобретает факт установления случая первичной (активной) инфекции, и на результатах собственных исследований мы доказали это. Не располагая данными о частоте первичного инфицирования и активности инфекционного процесса, представляющих особую угрозу для состояния здоровья больного, вряд ли можно выделить группы высокого риска заболевания оппортунистическими инфекциями. Поэтому во второй информационный поток нами выделено установление факта *первичного инфицирования и активного течения инфекционного процесса*. Так, нами показано, что у онкологических больных чаще всего имеет место реактивация ЦМВИ, а не первичное инфицирование, однако даже реактивация ЦМВИ на фоне сформированного у онкологических больных иммунодефицита и дисбаланса в цитокиновой системе способна привести к ухудшению прогноза и, что не исключено, способствовать генерализации метастатического процесса. В связи с этим, существует необходимость комплексного подхода к обследованию данного контингента, включающего в обязательном порядке выполнение диагностических исследований определённого уровня (использование прямых методов диагностики).

Поскольку каждая эпидемиологическая ситуация определяется в конечном итоге особым конкретным сочетанием множества разнородных и разнонаправленных факторов, то эпидемический процесс даже одной и той же инфекции почти в сходных условиях развивается по-разному, что ограничивает возможность стандартных решений при проведении профилактики заболеваний этой группы. Роль отдельных причин и условий неравнозначна, и эффективность работы во многом зависит от того, насколько правильно распознаны ведущие причины и условия.

Применительно к оппортунистическим инфекциям особенно четко проявляется разница между понятиями «риск инфицирования» (не зависит от состояния иммунной системы) и «риском заболевания» (в первую очередь

определяется состоянием иммунной системы, а также наличием факторов риска). Риск инфицирования отражают результаты серологического скрининга. Риск заболевания оппортунистическими инфекциями определяется результатами диагностических исследований (при ЦМВИ - определение авидности антител, детекция антигена или ДНК возбудителей), которые имеют достаточную информативность для установления активности и формы течения инфекционного процесса.

Способы оценки связи между воздействием факторов и заболеванием называют *«оценками эффекта»* [141]. Из рекомендуемых видов оценки эффекта (добавочный риск, относительный риск, добавочный популяционный и добавочная доля популяционного риска) с учетом цели настоящего исследования основное внимание мы уделили относительному риску, который нам позволил доказать при изучении иммунологических аспектов (глава) наибольшую вероятность развития оппортунистических заболеваний в большей степени у больных с лимфопролиферативными заболеваниями, в меньшей степени – у больных меланомой.

Одномоментные исследования были нами использованы для выявления возможных причинно-следственных связей между факторами риска и заболеванием или прогностическими факторами и исходом. Как показали наши исследования и литературные данные [], развитию оппортунистических инфекций способствует также ряд других факторов: применение химио- и лучевой терапии, оказывающих иммунодепрессивное действие, структурные повреждения органов или систем макроорганизма на фоне развития основного патологического процесса. Нельзя исключить и длительное воздействие вирусов (онковирусов, ЦМВ) на иммунную систему, что способно усугубить иммунодефицит и вызвать более тяжелые нарушения в цитокиновой системе.

Манифестация различных инфекций зависит как от этиологии и патогенеза иммунодефицита (врожденного или приобретенного), так и факторов риска, что особенно показано при рассмотрении оппортунистических инфекций (как моноинфекции, так и микст-инфекции) в главе 5.

Так, наши данные свидетельствуют о том, что вирусная микст-инфекция формирует у пациентов более тяжелую патологию. Это подтверждает и установленное нами в процессе выполнения настоящей работы значительное повышение уровня лактоферрина, относящегося к острофазным белкам, у больных с микст-инфекцией. Сформулированные нами факторы риска у больных с лимфопролиферативными заболеваниями и меланомой при сочетании являются и прогностическими факторами, с помощью которых можно идентифицировать группы пациентов с одной болезнью, но с разным прогнозом. Поэтому *факторы риска* мы выделили в третий информационный поток.

Аналитические эпидемиологические и иммунологические исследования по оценке гипотезы о влиянии ряда факторов риска, представленные в предыдущих главах, показали отягощающее течение заболевания при наличии таких факторов риска как степень выраженности иммунодефицита, активная инфекция, длительная антиген/ДНК-емия ЦМВ и микст-инфекция. При наличии этих факторов следует формировать группы повышенного риска заболевания

Придавая особенно важное значение последствиям оппортунистической заболеваемости, в отдельный информационный поток мы выделили *качество жизни и исходы заболеваний – смертность и инвалидизация*. Улучшение качества жизни онкологических больных занимает одно из важных мест проводимого мониторинга, поэтому своевременное воздействие на выявленные факторы риска, на которые еще можно повлиять, имеет важное значение. В частности, при изучении иммунологических аспектов течения оппортунистических инфекций у онкологических больных показана важность проведения иммунореабилитации, особенно в случае выявления активной ЦМВИ (моно- и особенно микст-инфекции). Важность этого заключения определяется еще и тем, что применение противовирусных препаратов таких как ганцикловир, к которому наиболее чувствителен ЦМВ, затруднено ввиду выраженного побочного действия препарата. Проявляя осторожность в плане

подбора лекарственных препаратов на различных этапах лечения, как показали наши исследования, целесообразно воздействовать на иммунную систему. Повышение иммунорезистентности в большинстве случаев сдерживает репликацию ЦМВ и других возбудителей оппортунистических инфекций, позволяет добиться позитивного результата и, в конечном итоге, улучшить качество жизни и продлить ремиссию у онкологических больных путем сдерживания развития оппортунистической патологии.

Поскольку наиболее значимый поток информации для проведения эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями, а также для клинической диагностики формируется с помощью лабораторных методов, то следующим информационным потоком является *уровень лабораторной диагностики и критерии диагностической надежности*. Именно от них зависит эффективность скрининговых и лабораторно-диагностических исследований. Высокая стоимость исследования является одной из причин медленного внедрения в практику новой технологии (ДНК-диагностики), поэтому научно обоснованный подход на отдельных этапах обследования пациента позволяет комбинировать лабораторные тесты с учетом их информативности и рационально использовать денежные средства, медицинское оборудование и время персонала.

Использование данных подходов к осуществлению мониторинга за онкологическими больными с лимфопролиферативными заболеваниями и меланомой позволили создать функционирующую систему скрининговых и диагностических исследований, направленных на выявление активно протекающих оппортунистических инфекций и позволяющих выделить группу риска по развитию активной инфекции.

Последний информационный поток, который дает представление 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.

Таким образом, информационное обеспечение при эпидемиологическом надзоре за оппортунистическими инфекциями с учетом специфики данной группы инфекций включает 7 информационных потоков, которые позволяют реализовать информационную подсистему эпидемиологического надзора на региональном уровне. С учетом сложности получения последней информации можно утверждать, что использование 6 потоков уже достаточно для реализации диагностических функций эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями на региональном уровне.

Неотъемлемой частью эпидемиологического надзора при выполнении его диагностических функций является информационное обеспечение органов управления и учреждений, участвующих в эпидемиологическом контроле, что позволяет решать организационно-методические вопросы при управлении заболеваемостью.

Основой для прогнозирования проявлений эпидемического процесса является аналитическая подсистема (схема 1), включающая ретроспективный и оперативный эпидемиологический анализ. Она позволяет оценить особенности и тенденции развития инфекционного и эпидемического процессов среди населения и своевременно выявить изменения в характере и силе действия основных причин и условий, определяющих интенсивность эпидемического процесса в отдельных группах населения, и присоединение случайных факторов. Относительно оппортунистических инфекций возможно рассматривать вопрос именно по группе инфекций, поскольку эти заболевания имеют широкую распространенность, преимущественно протекают на фоне иммунодефицита и не имеют патогномичных признаков.

Разработанные нами предложения имеют два уровня реализации: региональный и учрежденческий.

Среди территорий риска следует назвать лечебно-профилактические учреждения, где концентрируются гематологические и онкологические

больные. Выявление времени риска заболевания оппортунистическими инфекциями зависит от ряда факторов. Среди них в первую очередь следует отметить проведение химио- или лучевой терапии, наличие гемотрансфузий (с учетом возможности переливания ЦМВ-инфицированной крови или крови, содержащей парвовирус *B19*), генерализацию метастатического процесса.

Аспекты управления оппортунистическими инфекциями. На основе полученных нами данных и научных подходов к проблеме мы рассмотрели систему управления заболеваемостью населения оппортунистическими инфекциями с учетом тенденции их развития в нашем регионе. Необходимо признать, что реализация организационно-исполнительской подсистемы напрямую зависит от финансирования рациональной системы мониторинга (эпидемиологического надзора).

В настоящее время профилактика рассматривается как система управления патологией. С этих позиций существует известная дифференциация инфекционных болезней на управляемые средствами профилактики, частично управляемые и неуправляемые. По степени управляемости оппортунистические инфекции относятся к последней группе. Поэтому с учетом важности проблемы мы сделали попытку найти формы и методы частичного управления заболеваемостью этими инфекциями.

Процесс управления заболеваемостью имеет циклический характер и реализуется в несколько этапов. Если представить процесс управления как систему, то эти этапы следует рассматривать как подсистемы (схема 2). В этой схеме две первые подсистемы могут быть объединены в одну (диагностическую) подсистему, которая может рассматриваться как самостоятельная система (имеет все признаки системы). Эта диагностическая система в течение длительного времени рассматривалась изолированно (не в контексте управления патологией) и именовалась специфическим термином «эпидемиологический надзор» (ВОЗ) в отличие от другого понятия «эпидемиологический контроль», которое включает в себя всю систему управления заболеваемостью. Используя данную схему, при проведении

настоящей работы мы показывали возможность воздействия на патологию, формирующуюся под влиянием возбудителей оппортунистических инфекций. Цикличность системы указывает на необходимость постоянного контроля за патологией и своевременной коррекции действующих программ.

В соответствии с этим мы разработали предложения по профилактике врожденных и приобретенных форм изученных инфекций, учитывая 4 уровня профилактики [16].

Примордиальный уровень имеет цель предотвратить появление и укоренение факторов, способствующих повышению риска заболеваний, обусловленных социально-экономическими факторами и культурным укладом. На распространение инфекции и частоту случаев заболевания, в частности оппортунистическими инфекциями, значительное влияние оказывают социальные и экономические сдвиги в стране, бесконтрольная урбанизация, изменение экологической ситуации, в результате чего повсеместно отмечается рост первичных и вторичных иммунодефицитов, в том числе и в таком крупном промышленном центре как г. Омск.

Поскольку оппортунистические инфекции развиваются прежде всего в иммунокомпрометированном организме, то этот факт в значительной степени определяет рост заболеваемости. Этот уровень профилактики должен рассматриваться в государственном масштабе. Он требует значительных финансовых вложений для реализации соответствующих программ, и только такой подход на фоне социальной нестабильности в стране и регионе сможет оказать существенный вклад в снижение заболеваемости оппортунистическими инфекциями и неблагоприятных исходов.

Первичный уровень, цель которого ограничить частоту случаев болезни, на наш взгляд, вряд ли может быть реализован в плане снижения частоты онкологических заболеваний. Тем более, что в последние годы отмечается тенденция к росту показателя заболеваемости злокачественными новообразованиями, в том числе меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями, и не прослеживается роста показателя пятилетней

выживаемости, что чрезвычайно важно для онкологических больных. Разработанный нами научный подход к диагностике оппортунистических инфекций позволяет на региональном уровне реализации рационально и экономно провести диагностику заболеваний с учетом выявленных факторов риска и оптимизировать лечение больного.

Разработка и оценка эффективных программ первичной профилактики становится важным приоритетом ближайшего будущего. Наряду с этим, на фоне ограничения ресурсов важно, чтобы наука была интегрирована в разработку новых профилактических программ для оценки эффективности и экономической целесообразности деятельности различных служб, деятельность которых направлена на сохранение здоровья нации.

Первичная профилактика предусматривает два подхода:

- *стратегии популяции* (может охватывать всю популяцию с целью снижения среднего риска, не требует выявления групп повышенного риска, радикальна, имеет большой потенциал для возможности всей популяции, но дает мало пользы отдельным лицам, потому что их абсолютный риск заболеть довольно низок);

стратегии повышенного риска (охватывает только людей, подвергающихся повышенному риску в результате конкретного воздействия, однако к её недостаткам относят трудности выявления лиц с повышенным риском, временный и ограниченный эффект; она требует программы скрининга для идентификации

Как показали наши исследования, применительно к оппортунистическим инфекциям именно последняя стратегия является более обоснованной в нынешних экономических условиях. На фоне широкого носительства возбудителей оппортунистических инфекций, преобладания инapparантных форм инфекции, большого влияния факторов риска, лишь индивидуальная стратегия будет эффективной и экономически более целесообразной при условии внедрения программно-целевого подхода к данной проблеме на основе

принципов комплексности и преемственности между заинтересованными службами.

В настоящее время для оппортунистических инфекций наиболее значимой является *вторичная профилактика*, нацеленная на излечение пациентов и 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.

Представленная схема вторичной профилактики последствий оппортунистических инфекций (схема 3) отражает оперативную систему выявления врожденной и приобретенной патологии в группах риска. Особенность предлагаемого алгоритма заключается в том, что скрининговые исследования при выявлении отклонений от нормальных показателей должны завершаться диагностическими исследованиями и консультацией узких специалистов (онколога, иммунолога, инфекциониста) для выбора тактики ведения пациента.

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 не столько снижение заболеваемости оппортунистическими инфекциями, но и снижение продолжительности госпитализации, улучшение качества жизни пациентов между курсами противоопухолевой терапии и после ее окончания.

Таким образом, использование различных уровней профилактики позволяет в определенной степени управлять заболеваемостью, в том числе, оппортунистическими инфекциями. *Профилактика в клинической практике* осуществляется преимущественно на вторичном и третичном уровне,

Таким образом, рассматривая в целом проблему профилактики оппортунистических инфекций, следует отметить необходимость разработки

новых профилактических программ для оценки эффективности деятельности различных служб.

Глава 6

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку исследования последних лет [Выдумкина С.П.,1999, Дмитриева Н. В.,2001, Долгих М. С.,2001, Р. Я. Войлокова,1999, G. Bezold, J. Yang,2002] свидетельствуют о возрастающей роли возбудителей оппортунистических инфекций как в общей популяции, так и у больных злокачественными новообразованиями, то в нашей работе мы провели детальный анализ на примере ЦМВИ, парвовирусной В19 и микоплазменной инфекций. Основное внимание было уделено ЦМВИ, так как ее широкое распространение среди населения может создавать угрозу и способствовать развитию осложнений у онкологических больных.

При установлении закономерностей эпидемиологии оппортунистических инфекций у больных злокачественными новообразованиями мы использовали современные методы эпидемиологической и лабораторной диагностики: эпидемиологические, серологические, иммунологические, иммунофлюоресцентные, ДНК-диагностику и статистические.

Изучая возможности управления заболеваемостью оппортунистическими инфекциями, мы исходили из того, что необходимо разрабатывать мероприятия для снижения заболеваемости инфекциями среди больных злокачественными новообразованиями.

Актуальность данной проблемы [Моисеев С.И.,2002, Ягужинская О.Е.,2001, Fujiwara H,2001, Harkins L.,2002] диктует необходимость изучения эпидемиологических, иммунологических и клинико-лабораторных аспектов, так как специфика оппортунистических заболеваний у онкологических больных осложняет их клиническое распознавание, что приводит к гиподиагностике.

Все это требовало научно обоснованной направленности исследований с целью оптимизации диагностики, профилактики и лечения оппортунистических заболеваний с учетом особенностей их течения.

В ходе работы мы исходили из того, что больные злокачественными новообразованиями являются иммунокомпрометированными пациентами, что создает фон для развития инфекций и в первую очередь оппортунистических. И если в отношении возбудителей гнойно-септических состояний в онкологической практике проводятся интенсивные исследования [Дронова О. М.,1991, Дмитриева Н. В.,2001, Schimpff S. C.,1995], то проблема инфекций, вызванных вирусами и внутриклеточными микроорганизмами, рассматривается в основном в контексте развития осложнений у больных гемобластозами [Schmidt C.A.,2000, Nichols W. G.,2002, Morrison V. A.2000, McNall R.Y.,2001]. Вместе с тем при нарушении иммунореактивности организма, не только у больных гемобластозами, но и при солидных опухолях, оппортунистические инфекции способны вызвать тяжелую патологию, иногда со смертельным исходом [Snoeck R.,1995].

Полиморфизм клинических проявлений изучаемых болезней, а также преобладание интранатальных форм, определяет специфику системы эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями у онкологических больных. На первый план выдвигается активное раннее выявление больных с помощью прямых и непрямых лабораторных методов исследования, что является важнейшим условием организации эпидемиологического надзора за этими болезнями.

Поскольку иммунокомпрометированность больных злокачественными новообразованиями способствует развитию ЦМВИ, парвовирусной В19 и микоплазменной инфекций, то основные усилия были направлены на выявление группы пациентов с наиболее выраженными сдвигами в иммунном статусе: больных меланомой на этапе генерализации, больных ЛПЗ с В-симптомами.

В соответствии с поставленными задачами нами были проведены исследования в следующих направлениях:

1) исследование характера иммунной дисфункции у больных иммунозависимыми злокачественными новообразованиями (меланомой и лимфопролиферативными заболеваниями);

2) скрининг больных на ЦМВИ, парвовирусную В19 и микоплазменную инфекции;

3) установление факта моно-или микст-инфицирования онкологических больных и установление активности инфекционного процесса при моно- и микст-инфицировании и выработки диагностических и прогностических, включая иммунологические, критериев;

4) проведение ретроспективного и оперативного эпидемиологического анализа.

Первый фрагмент работы был посвящен исследованию состояния иммунной системы больных меланомой и ЛПЗ с целью выявления особенностей иммунной дисфункции при данных нозологических формах.

Интерпретация результатов исследования показателей иммунной системы больных злокачественными новообразованиями затруднена ввиду присутствия и действия ряда тропных по отношению к ней факторов: опухолевого процесса, иммуносупрессивных методов лечения и инфекционных агентов. Тем не менее, мы проанализировали данные исследований, выделяя группы и подгруппы по нозологическому признаку, распространенности и характеру процесса.

Полученные результаты показали, что у больных меланомой присутствует иммунная дисфункция по Т-клеточному звену: снижен уровень лимфоцитов с фенотипом $CD3^+$ и $CD8^+$ в результате активации апоптоза, на что указывает повышенная экспрессия Fas-рецептора - CD95. Изменения в фагоцитарном звене характеризуются повышением антигенного раздражения фагоцитов в НСТ-тесте и, как следствие, дефицитом метаболического резерва со снижением индекса стимуляции.

Исследование показателей иммунного статуса радикально пролеченных больных меланомой и на этапе прогрессирования также выявило ряд различий. У больных без признаков генерализации меланомы помимо перечисленных

выше изменений выявлено повышение уровня НК-клеток, которые непосредственно или за счет антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности атакуют аномальные клетки (клетки инфицированные вирусом, раковые клетки), тогда как у больных меланомой на этапе прогрессирования их уровень не отличался от контрольной группы. Повышение уровня CD20⁺-лимфоцитов, зафиксированное при генерализации злокачественного процесса, возможно, так же способствует депрессии клеточного звена путем выработки цитокинов, активизирующих гуморальный иммунитет и подавляющих клеточный.

О снижении лимфокинпродуцирующей активности лейкоцитов как у радикально пролеченных больных меланомой, так и при прогрессировании злокачественного процесса свидетельствует статистически значимое повышение РТМЛ, стимулированной ФГА. Анализ содержания цитокинов в сыворотке крови больных меланомой выявил статистически значимое снижение содержания одного из ключевых провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 β . Кроме того, среди всех обследованных больных меланомой преобладали лица с крайне низким содержанием ФНО- α и ИЛ-1 β . Таким образом, у больных меланомой наблюдается дефицит выработки провоспалительных цитокинов, что формирует неполноценный иммунный ответ.

Исследование показателей иммунного статуса больных лимфомами выявило также наличие иммунной дисфункции по Т-клеточному звену и фагоцитозу. Но в фагоцитарном звене наблюдалось не только повышение значения НСТ-теста (спонтанного) и снижение индекса стимуляции, но и рост фагоцитозного числа и абсолютного фагоцитарного показателя. А в гуморальном звене получено повышение сывороточного IgA.

В группе больных лимфомами также преобладали лица с содержанием ФНО- α и ИЛ-1 β ниже порогового значения нормы – 5 пг/мл. Этот факт указывает на наличие дефекта в секреции провоспалительных цитокинов и у больных лимфомами.

Сравнительный анализ иммунологических показателей больных ЛПЗ с В-симптомами и без них показал, что у больных с В-симптомами присутствуют более глубокие изменения субпопуляционного состава лимфоцитов. Также у них выше уровень циркулирующих иммунных комплексов. Особенно высока концентрация иммунных комплексов в том случае, когда блокируются механизмы клеточного иммунитета.

Исследование содержания ИЛ-4, ингибирующего клеточный иммунитет, необходимый для борьбы с вирусами и внутриклеточными микроорганизмами, не выявило различий с группой контроля как у больных меланомой, так и у больных ЛПЗ.

Нами были предприняты попытки поиска показателей, компенсирующих недостаточную выработку провоспалительных цитокинов у больных злокачественными новообразованиями. Многие авторы отмечают коррелятивные взаимосвязи между уровнями лактоферрина и провоспалительных цитокинов [Baynes R.D., 1988, 1994, J. Bezault, 1994, E.O. Adeyemi, 1994]. Данный факт позволяет использовать недорогую и доступную тест-систему для определения лактоферрина иммуноферментным методом с целью косвенной оценки активности провоспалительных цитокинов.

Изучение содержания острофазного белка лактоферрина в сыворотке крови онкологических больных показало, что у $50,0 \pm 11,18\%$ больных меланомой в $50,0 \pm 11,18\%$ и у $62,5 \pm 7,65\%$ больных ЛПЗ этот показатель был повышен. В группе больных меланомой после радикального лечения содержание лактоферрина было в пределах нормальных значений, в группе больных с генерализацией процесса прослеживалась тенденция к его повышению. Содержание лактоферрина в сыворотке крови больных ЛПЗ без общих симптомов интоксикации было в пределах нормы, и наблюдалась тенденция к росту этого показателя при наличии В-симптомов.

Результаты исследований иммунного статуса больных меланомой и лимфомами позволили выделить однотипность иммунной дисфункции с

преимущественной локализацией изменений в Т-клеточном звене и фагоцитозе с нарушением выработки провоспалительных цитокинов.

На следующем этапе исследований для установления распространенности ЦМВИ, парвовирусной В19 и микоплазменной инфекции у больных меланомой и ЛПЗ нами была проведена оценка иммунореактивности онкологических больных к данным инфекциям.

Так, нами было показано, что уровень серопозитивности к ЦМВ составил 100% ($m= 5,19\%$). Выявлено достоверное различие с контрольной группой по повышению удельного веса высокотитражных сывороток, что может свидетельствовать о нарастании активной циркуляции возбудителя среди онкологических больных. Среди больных меланомой преобладали лица со среднетитражными сыворотками, тогда как при ЛПЗ превалировали больные с высокими титрами IgG к ЦМВ. При изучении IgM-серопозитивности оказалось, что IgM к ЦМВ в группе больных меланомой встречался в 2,5 раза, а в группе больных ЛПЗ в 3,2 раза чаще, чем у доноров.

При обследовании больных злокачественными новообразованиями для нас было важно выяснить характер ЦМВИ: первичная ли это инфекция или обострение хронической. На первичную инфекцию указывает наличие низкоавидных антител класса G к ЦМВ с индексом авидности до 35%. Поскольку среди больных меланомой ни у одного пациента не были выявлены низкоавидные антитела, то первичную ЦМВИ эта группа лиц переносит в течение жизни, до возникновения онкологического заболевания. У 46,2% больных меланомой зафиксирована недавняя реактивация, а у 53,8% ремиссия ЦМВИ.

Лабораторные признаки первичной ЦМВИ встречаются у 12,8% больных лимфомами, с такой же частотой, что и в донорской группе. Не исключено, что больные ЛПЗ в ходе болезни и ее лечения переносят реактивацию ЦМВИ. На это указывает высокая частота случаев реактивации ЦМВИ среди больных лимфомами - 51,1%.

Оценка эффективности методов лабораторной диагностики ЦМВИ подтвердила низкую значимость серологического теста по выявлению IgG, поскольку для больных меланомой и ЛПЗ характерен высокий его уровень: средняя геометрическая титра составила 1/2324 и /3200 соответственно.

Наиболее информативным для констатации активности инфекционного процесса является исследование лейкоцитов крови на наличие «ранних белков» ЦМВ с использованием реакции иммунофлюоресценции [Каражас Н.В.,1998], а также детекция ДНК ЦМВ методом полимеразной цепной реакции – ПЦР, причем, как показали наши исследования, количество положительных находок увеличивается при исследовании лейкоцитарной взвеси вместо сыворотки крови. При обследовании больных меланомой «ранние белки» ЦМВ встречались в 29,4% случаев, а ДНКемия ЦМВ у 30,8% больных, тогда как среди больных ЛПЗ в 51,6% и 63,9% случаев соответственно.

Поэтому по результатам использования прямых методов диагностики все обследованные онкологические больные были разделены на две подгруппы: с отрицательным результатом ПЦР и с наличием ДНК ЦМВ.

Нами был проведен корреляционный анализ при выявлении факторов риска развития ДНКемии ЦМВ. В группе больных меланомой получена сильная положительная ассоциация между наличием у больного ДНКемии ЦМВ и генерализацией меланомы - $r_s=0,84$ ($p<0,001$). Среди больных лимфомами статистически значимых различий между ДНКемией ЦМВ и распространенностью и характером злокачественного процесса выявлено не было.

Иммунный статус больных меланомой с ДНКемией ЦМВ характеризовался высоким уровнем ЦИК и более выраженной активацией В-клеток. При интенсивной репродукции возбудителя происходит стимуляция продукции антител, что способствует повышенному образованию комплексов «антиген-антитело», которые элиминируются фагоцитами. Следствием этого является активация фагоцитарного звена и гиперкомплементемия,

свидетельствующая об элементах аутоагрессии в ходе развития иммунного ответа на вирус.

Резкое снижение концентрации цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4) в сыворотке крови больных меланомой с ДНКемией ЦМВ можно объяснить либо нарушением их синтеза и секреции, либо повышенным их потреблением в зонах опухолевого роста, в связи с преобладанием лиц с генерализацией злокачественного процесса.

У больных ЛПЗ с ДНКемией ЦМВ, по сравнению с больными без ДНКемии, зафиксированы более глубокие отклонения в фагоцитарном звене, свидетельствующие о выраженной антигенной нагрузке, но выявленное снижение ИЛ-1 β свидетельствует о нарушении формирования полноценного иммунного ответа.

Таким образом, наблюдательные исследования на ЦМВИ больных меланомой и лимфомами на территории Омской области позволили нам оценить распространенность инфекции и получить сведения об активной циркуляции возбудителя цитомегалии, а также научно обосновать необходимость комплексного подхода к лабораторной диагностике, отдавая предпочтение прямым методам, в частности методу ПЦР. Выявленные нами изменения иммунного статуса при ДНКемии ЦМВ: глубокий дисбаланс субпопуляций лимфоцитов и активизация фагоцитоза на фоне недостаточности провоспалительных цитокинов, диктует необходимость проведения активной иммуноориентированной терапии.

Поскольку иммунокомпromетированность онкологических больных формирует фон для развития не только моно-, но и микст-инфицирования. В связи с этим нами была изучена иммунореактивность при сочетании ЦМВИ с парвовирусной В19 и/или микоплазменной инфекциями.

Нами было установлено, что моноинфекция ЦМВ встречалась у 43,84% больных, тогда как в 56,16% случаев установлен факт микст-инфицирования. Варианты сочетания ЦМВИ с парвовирусной и ЦМВИ с микоплазменной встречались, практически, с одинаковой частотой, тогда как уровень

серопозитивности по всем трем инфекциям одновременно выявлялся почти в 2 раза реже, чем серопозитивность по двум инфекциям, и в 3,6 раза, чем моноинфекция ЦМВ.

Между группами моно- и микст-инфицированных больных выявлено различие по характеру ЦМВИ.

Практические рекомендации

1. Больные злокачественными новообразованиями нуждаются в иммунологическом обследовании и исследованиях, направленных на выявление возбудителей оппортунистических инфекций уже на этапе постановки диагноза, до начала проведения противоопухолевой терапии.

2. Методом выбора при скрининге на оппортунистические инфекции является ИФА, направленный на обнаружение специфических антител IgM и IgG, однако для определения этапа развития инфекции необходимы дополнительные диагностические исследования, включающие прямые методы диагностики и определение авидности антител.

3. С целью оптимизации диагностики, лечения и профилактики оппортунистических инфекций необходимо провести следующие мероприятия: а) выявить характер иммунной дисфункции; б) определить наличие моно- или микст-инфицирования; в) установить форму инфекционного процесса и его активность.

4. Наибольшее значение в управлении оппортунистическими инфекциями имеет вторичная профилактика, направленная на раннее выявление инфекции и снижение неблагоприятных последствий болезни путем проведения адекватной иммуноориентированной терапии.