

На правах рукописи

Иванис Виктория Александровна

**ИММУНОПАТОГЕНЕЗ, КЛИНИКА, ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ
ТЕРАПИЯ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ
СИНДРОМОМ (ГЛПС) В РЕГИОНЕ ЦИРКУЛЯЦИИ
РАЗНЫХ СЕРОТИПОВ ХАНТАВИРУСА**

14.00.36. – аллергология, иммунология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

г. Владивосток – 2004

Работа выполнена в ГОУ ВПО Владивостокском государственном медицинском университете Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Доктор медицинских наук Маркелова Елена Владимировна

Доктор медицинских наук, профессор Слонова Раиса Александровна

Официальные оппоненты:

Академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, лауреат Государственной премии Беседнова Наталия Николаевна;

Доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки РФ, профессор Сиротин Борис Залманович;

Доктор медицинских наук, профессор Просокова Елена Викторовна.

Ведущая организация:

Институт экспериментальной медицины РАМН, г. Санкт-Петербург (отдел иммунологии)

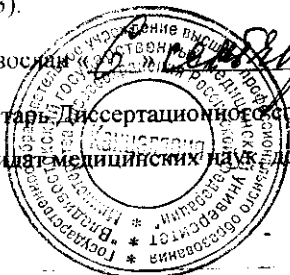
Защита состоится «27» октября 2004 г. в 10⁰⁰ часов

на заседании Диссертационного совета Д 208.007.02 при ГОУ ВПО Владивостокском государственном медицинском университете по адресу: 690106 г. Владивосток, ГСП, проспект Острякова, 2 (главный корпус).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО Владивостокском государственном медицинском университете по тому же адресу (корпус 3).

Автореферат разослан «27» октября 2004 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета
кандидат медицинских наук доцент



Диго Р. Н.

Актуальность проблемы

По современным представлениям, хантавирусная инфекция – широко распространенная зоонозная инфекция, актуальность которой определяется ростом заболеваемости в мире с расширением ареала природных очагов, нередким тяжелым течением болезни, высоким уровнем летальности и экономической значимостью (Слонова Р. А., 1993; Ткаченко Е. А. с соавт., 2001; Schmaljohn C. et al., 1997; Lee H. W. et al., 1998; 2003).

К настоящему времени различают две формы клинического проявления хантавирусной инфекции – геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), хорошо известная в странах евроазиатского континента, в том числе и на территории России, и хантавирусный кардиолегочный синдром (ХКЛС), регистрируемый в странах Северной и Южной Америки – США, Канаде, Панаме, Аргентине, Мексике, Бразилии. Работами последних лет показано, что ключевые механизмы патогенеза, патоморфология органов-мишеней и ведущий симптомокомплекс обеих форм хантавирусной инфекции имеют много общего (Marcotic A. et al., 1999; Clement J., 2004; Vaheri A. et al., 2004; Spiropoulou C. et al., 2004; Lahdevirta J., 2004; Lazaro M.E. et al., 2004).

Приморский край относится к регионам с наличием активного природного очага ГЛПС, где среднегодовые показатели заболеваемости достигают 4,0 – 5,6 на 100 тыс. населения с нередким тяжелым течением болезни и высокой (1,2 – 7,8%) летальностью. В этиологической структуре ГЛПС на территории Приморского края к настоящему времени установлено значение трех серотипов/генотипов вируса – Хантаан (геновариант Far East - FE), Амур и Сеул (геновариант Vladivostok - VDV) (Слонова Р.А. с соавт., 1997; 2001; 2003; Kariwa H. et al., 2004; Jashina L. et al., 2004).

С момента первых описаний ГЛПС в 30-е годы XX столетия на Дальнем Востоке России и хантавирусного кардиолегочного синдрома в 1993 году в США выделено около 30 серотипов/генотипов возбудителя, хорошо изучены резервуары хантавируса в природе, механизм и пути инфицирования человека,

патоморфология тяжелых манифестных форм болезни и разнообразные варианты клинического течения инфекции. В патогенезе хантавирусной инфекции интенсивно изучается участие иммунокомпетентных клеток (Krakauer T. et al., 1995; Mertz G. J. et al., 1999; Markotic A. et al., 1999; 2004; Khaiboullina S. et al., 2000; Mäkelä S. et al., 2001; Sundstrom J.B. et al., 2001; Gavrilovskaya I.N. et al., 2002; Kraus A. et al., 2004). Однако ряд важных проблем хантавирусной инфекции остаются нерешенными. В первую очередь это касается патогенеза ранних фаз ГЛПС и механизмов иммунного ответа, обуславливающих развитие полиорганной недостаточности, а также сложность диагностики и терапии. Не определены окончательно вопросы эффективности и целесообразности применения иммулотропной терапии (Воронкова Г. М., 2001; Шутов А. М. с соавт., 2002; Петров В. А., 2003; Морозов В. Г., 2003; Фазлыева Р. М., 2003; Wang X. L. et al., 1987).

Результаты изучения иммунопатогенеза ГЛПС в нашей стране малочисленны, отрывочны, противоречивы и касаются, в основном, Пуумала-инфекции (Суздальцев А. А., 1992; Алексеев О. А. с соавт., 1998; Валишин Д. А. с соавт., 1998; Ющук Н. Д. с соавт., 1999; Гавриловская И. Н. с соавт., 1995; Морозов В. Г., 2002; Камилев Ф. К. с соавт., 2003; Мурзабаева Р. Т., 2003; Hupafina D. N. et al., 2004]. Единичные работы посвящены Хантаан-инфекции (Владимирова Т. П., с соавт., 1982; Дзюба О. В. с соавт., 2001; Марунин Н. А. с соавт., 2002). Комплексных исследований, посвященных иммунопатогенезу Хантаан, Амур и Сеул-инфекции, в отечественной литературе мы не встретили.

Мало известно и об особенностях клинического течения ГЛПС, ассоциированной с разными хантавирусами (Слонова Р. А. с соавт., 1999; 2001; Vuin B. S. et al., 1986; Kim J. S. et al., 1995). Классическая клиника ГЛПС, вызванная вирусом Хантаан, подробно описана дальневосточными учеными России (Ратнер Ш. И., 1962; Пиотрович А. К. с соавт., 1988; Сиротин Б. З., 1994; Фигурнов В. А., 2001), Кореи и Китая (Lee H. W. et al., 1982; Song G. C. et al., 1982) и хорошо известна практическим врачам, хотя успешность первичной клинической диагностики до настоящего времени не превышает 60%. Еще

большими трудностями в распознавании болезни отличается ГЛПС, ассоциированная с серотипом Сеул, наблюдаемая преимущественно у городского населения (Lee H. W., 1989; Byun K. S. et al., 1989).

Международные конференции по проблемам хантавирусов и хантавирусной инфекции, проводимые с 1989 года и объединяющие специалистов самых различных областей медицины и биологии, открывают новые горизонты изучения этой патологии. Залогом успешного решения актуальных проблем является комплексное и динамическое изучение всех аспектов хантавирусной инфекции.

Цель исследования

Выявить закономерности и особенности иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), обусловленной разными серотипами/генотипами хантавирусов, циркулирующих в Приморском крае, и на их основе совершенствовать диагностику и лечение этой инфекции.

Задачи

1. Провести сравнительный клинико-эпидемиологический анализ и выявить диагностические особенности ГЛПС, обусловленной серотипами/генотипами хантавируса Хангаан, Амур и Сеул.

2. Установить значение в патогенезе инфекции комплекса показателей клеточного иммунитета с идентификацией рецепторов лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, CD25, CD54, CD95.

3. Определить и оценить состояние и степень изменения факторов гуморального звена иммунитета – динамики уровней противовирусных специфических антител, свободно циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), комплемента (С) и его компонентов С3, С4, С5.

4. Оценить результаты мониторинга цитокинового статуса у больных ГЛПС (ФНО- α , ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-12p70, ИФН- γ , ИЛ-4) в зависимости от срока

библиографического списка используемой литературы, включающего 304 отечественных и 279 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 55 таблицами и 21 рисунком.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Ведущим механизмом патогенеза ГЛПС является сложный комплекс нарушений преимущественно клеточного звена иммунитета. Дисбаланс цитокинов с преобладанием раннего Th2 типа иммунного ответа демонстрирует процессы саморегуляции и стабилизации гомеостаза и свидетельствует о благоприятном течении болезни.
2. Основные патогенетические синдромы отражают универсальность иммунного ответа, обусловленного агрессивностью клеток-эффекторов, и не зависят от серотипа/генотипа хантавируса. Определение высоких концентраций полярных цитокинов (ИФН- γ и ИЛ-4) и метаболитов оксида азота в конденсатах паров выдыхаемого воздуха позволяет считать повреждение респираторного тракта важным звеном иммунопатогенеза ГЛПС, вызванной серотипами Хантаан, Амур и Сеул, циркулирующими в Приморском крае.
3. Нарушения гуморального звена иммунитета (снижение комплементарной активности крови, высокий уровень циркулирующих комплексов крупного размера в ранние сроки и нерастворимых мелких в более поздние сроки болезни) являются отягощающими факторами формирования тяжелых форм ГЛПС.
4. Особенности клинических проявлений ГЛПС, зависят от серотипа/генотипа хантавируса (Хантаан, Амур и Сеул), тяжелым формам инфекции, обусловленной данными серотипами, напротив, свойственен сходный симптомокомплекс полиорганной недостаточности.
5. Динамика цитокинового статуса подтверждает эффективность иммунокорректора ронколейкина® и целесообразность включения его в комплексе терапии большим тяжелыми и среднетяжелыми формами ГЛПС.

Общая характеристика работы

Контингент обследованных больных

Все наблюдаемые больные ГЛПС (n=411) были условно разделены на группы по следующим параметрам:

По этиологическому признаку, определению серотипа/генотипа хантавируса: I группа (n=231) – Хантаан и Амур, II группа (n=180) – Сеул. Соединение больных Хантаан и Амур-инфекцией в одну группу было обусловлено общностью эпидемиологических аспектов (инфицирование в природных очагах), идентичностью клинического течения по «классическому» варианту;

По тяжести клинических проявлений: тяжелые, среднетяжелые и легкие формы болезни. Легкая форма ГЛПС зарегистрирована более чем у трети больных ($36,9 \pm 2,4\%$), причем при Сеул-инфекции вдвое чаще ($p < 0,001$). Тяжелые формы были больше свойственны Хантаан, Амур-инфекции ($31,1 \pm 0,4\%$ против $11,6 \pm 1,56\%$, $p < 0,01$). Частота среднетяжелых форм была примерно одинаковой в двух группах ($p > 0,05$). Кроме того, для определения правильной терапевтической тактики мы считали необходимым выделять 6 основных клинико-патогенетических синдромов, основой которых являются время и характер иммунного ответа организма:

- общетоксический,
- гемодинамических нарушений (центральных и микроциркуляторных),
- острой почечной недостаточности (ОПН),
- синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС),
- синдром гепатита,
- респираторный синдром.

Исход ГЛПС был благоприятным у большинства больных, смерть от ГЛПС зарегистрирована у 21 больного (20 – Хантаан, Амур и 1- Сеул-инфекция), летальность составила $5,1 \pm 0,06\%$.

Материалы и методы исследования

- 1) Комплексное клинико-биохимическое обследование наблюдаемых больных и патоморфологические исследования проводили в динамике болезни по общепринятым методикам, используемым в практическом здравоохранении;
- 2) **Серологическая диагностика:** а) антитела в сыворотке крови и моче, а также их avidность определяли в непрямом методе флюоресцирующих антител (НМФА), используя специфические антигены хантавирусов к 3-м серотипам – Хантаан, Амур, Сеул; б) специфический антиген в образцах органов больных, умерших от ГЛПС выявляли в иммуноферментном методе (ИФА), используя диагностикум «Хантагност», производство ГУНИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН. Постановку НМФА и ИФА проводили согласно Методическим рекомендациям (М., 1982); в) выделение специфической РНК хантавируса из крови и органов умерших от этой инфекции, а также постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) были проведены к.х.н. Л. Н. Яшиной в ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Новосибирская область).
- 3) **Иммунологическая диагностика:** а) при определении содержания маркеров субпопуляций лимфоцитов (CD) в крови использовали метод моноклональных антител; б) количественная оценка уровней цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-12p70, ИЛ-4, ИФН- γ в сыворотке крови и ИЛ-4, ИФН- γ - в конденсатах паров выдыхаемого воздуха (КВВ) проводилась методом сэндвич-варианта твердофазного ИФА с использованием реактивов фирмы R&D Diagnostic Inc. (USA) с чувствительностью 1 пг/мл; в) уровень и размер циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли после осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ) согласно рекомендации Ю. А. Гриневич, А. Н. Алферова (1981) и П. В. Стручкова с соавторами (1985); г) уровни комплемента С и его компонентов С3, С4, С5 определяли, используя стандартный набор индикаторной гемолитической системы Кировского НИИ гематологии и переливания крови;

- 4) Физико-химические исследования для количественной оценки метаболитов оксида азота (NO) проводили непрямой методом, используя реагент Griess в 3-х биологических средах – сыворотке крови, моче и КВВ (Rodgers N.E. et al., 1992; Brett S.J. et al, 1998; Tomsen L.L. et al.; Gratziou C. et al., 1999);
- 5) Статистическую обработку полученных результатов осуществляли на персональном компьютере в операционных средах Windows 2000 методами описательной статистики и структурного анализа с использованием пакета прикладных программ «Statistica-5» и «Biostat». Оценку степени иммунных расстройств вычисляли по формуле А. М. Земскова (Караулов А. В., 2002; Кашуба Э. А. с соавт., 2003). Для определения направления и формы связи между отдельными качественными признаками, измерению ее тесноты и оценки статистической значимости различий полученных результатов использовали методы корреляционного анализа – критерий χ^2 и однофакторный дисперсный анализ - критерий Фишера (F) (Гланц С., 1999).

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Круг наших исследований касался 3-х важных аспектов ГЛПС, объединенных единой концепцией об иммуноопосредованности хантавирусной инфекции: 1 – выяснение механизмов иммунного ответа, особенно ранних фаз инфекции, и их зависимость от серотипа/генотипа хантавируса; 2 – установление клинко-патогенетических особенностей основных синдромов ГЛПС в разных этиологических группах больных и их сопряженность с выявленными иммунными нарушениями; 3 – обоснованность и целесообразность включения в комплексную терапию больных ГЛПС иммунокорректора ронколейкина®.

Результаты сравнивались в группах больных, выделенных по форме тяжести заболевания и этиологическому признаку (Хантаан, Амур и Сеул-инфекция).

Клинические особенности ГЛПС, обусловленной серотипами/генотипами Хантаан, Амур и Сеул.

Результатами исследований последних лет установлено, что клинические проявления хантавирусной инфекции, ассоциированной с разными серотипами/генотипами вируса, наряду с общностью симптоматики имеют много существенных различий. Это относится как к ХКЛС, обусловленной серотипами Син-Номбре и Андес (Liu Y. H. et al., 2002; Lazaro M. E. et al., 2004), так и к ГЛПС, вызываемой серотипами Пуумала, Добрава и Хантаан (Wichmann D., 2001; Gligic A. et al., 2004; Lahdevirta J., 2004; Clement J., 2004; Morozov B. et al., 2004; Mirsada H. et al., 2004). Сравнительные исследования Сеул-инфекции единичны (Lee H. W., 1989; Lee J. S., 1998; 2004).

Благодаря ранней лабораторной верификации диагноза нам удалось проследить и сравнить клинические проявления Хантаан, Амур-инфекции, заболеваемость которыми связана с природными очагами на территории Приморского края, и Сеул-инфекции, наблюдаемой преимущественно среди городского населения (табл. 1).

Главными отличиями Сеул-инфекции явились выраженная вариабельность и ацикличность течения, полиморфизм клинических проявлений, сходство симптоматики с рядом лихорадочных инфекций. Следует подчеркнуть, что набор патогномичных симптомов, составляющих суть общепринятого названия болезни – ГЛПС, редко наблюдался у больных Сеул-инфекцией.

Предпринятое нами серологическое тестирование (НМФА) подобного контингента больных (n=243) в поликлиниках и стационарах г. Владивостока позволило подтвердить диагноз ГЛПС (Сеул-инфекции) у 32,1% больных. Мы убеждены, что ГЛПС, обусловленная вирусом Сеул, протекающая чаще легко, с тенденцией к спонтанному выздоровлению, ранее не диагностировалась и пополняла в статистических отчетах лечебно-профилактических учреждений рубрику «ОРВИ» и других соматических и инфекционных заболеваний.

Частота основных клинических синдромов ГЛПС,
вызванной разными серотипами/генотипами хантавируса

Симптом	Хантаан, Амур (%; M±m)	Сеул (%; M±m)
Общетоксический синдром		
Лихорадка	100	100
Головная боль*	74,9±2,8	64,8 ± 3,6
Лейкоцитоз / нейтрофиллез >10% *	52,1±2,3 / 51,6±2,4	47,7±2,3 / 16,1±2,7
Синдром гемодинамических нарушений		
Гипотония (<90/50мм рт.ст.) *	22,5±2,7	31,1±3,4
Шок***	9,5±1,9	1,1±0,8
Брадикардия < 55 уд./мин. **	52,1±3,3	42,6±3,7
Менингизм *	4,03±1,1	1,1±0,8
Синдром ОПН		
Боль в поясничной области / в животе*	75,3±3,2 / 63,3±3,2	60,7±3,8
Рвота	52,1±3,3	47,7±3,7
Олигурия***	94,8±2,1	64,4±3,6
Полнурия**	23,3±2,8	11,1±2,3
Гипертония***	11,9±2,1	3,3±1,3
Протеинурия	63,3±3,2	56,3±3,7
Геморрагический синдром		
Петехеальная экзантема*	23,2 ± 2,7	11,1±2,3
Экхимозы*	25,2±2,9	8,9±2,1
Кровотечения***	11,9±2,1	3,3 ± 1,3
Макрогематурия***	25,2±2,9	8,9 ± 2,1
Тромбоцитопения <90×10 ⁹ /л **	52,1±3,3	17,9 ± 2,4
Синдром гепатита		
Гепатомегалия**	30,3±3,02	49,2±3,7
Гипербилирубинемия**	4,8±1,1	18,3±2,5
Цитолиз***	26,7±2,9	66,6±3,5
Респираторный синдром		
Кашель**	8,5±1,7	15,6±2,7
Гиперемия слизистых ротоглотки**	6,5±1,5	12,5±2,5
Признаки ОРДС I-II ст. **	14,8±2,3	9,8±1,6

Примечание. Достоверность различий в группах по этиологии (*p<0,05; **<0,01; ***<0,001).

Так олигурия, важный клинический признак ГЛПС не зарегистрирован у $35,6 \pm 3,5\%$, геморрагический синдром у $80,2 \pm 2,9\%$ больных. Особенностью Сеул-инфекции является и отсутствие отчетливо выраженных периодов инфекции, свойственных классическому течению Хантаан и Амур-инфекции (лихорадочный – олигурический – полиурический). Ацикличность течения, «хаотичность» клинических проявлений объясняет большую частоту ошибок в первичной клинической диагностике Сеул-инфекции по сравнению с Хантаан-инфекцией у наблюдаемых больных (соответственно $53,5 \pm 2,5\%$ и $39,3 \pm 2,4\%$, $p < 0,001$).

Сравнительный анализ клинической картины ГЛПС в группах больных с разной этиологией показал, что преобладающие легкие формы ГЛПС, ассоциированные с вирусом Сеул ($47,8 \pm 5,38\%$), Хантаан и Амур ($28,6 \pm 5,56\%$), практически не отличались друг от друга, проявляясь кратковременной (1-3 дня) невысокой лихорадкой, респираторным синдромом (боли в горле при глотании, покашливание, насморк, гиперемия и фолликулит слизистых ротоглотки) с быстрым обратным развитием и выздоровлением.

Наиболее значимыми диагностическими признаками, диктующими необходимость обследования больного на ГЛПС, явились: характерный внешний облик больных (гиперемия и одутловатость лица и шеи, инъекция сосудов склер и конъюнктив), «дискомфорт» в области поясницы, «мочевой синдром» (увеличение ОП, протеинурия, лейкоцитурия), цитолиз (увеличение уровней АЛТ, АСТ до 2-4 норм). Характерно одновременное и раннее появление ведущих симптомов инфекции.

Безусловно, большое значение имеет анализ эпидемиологического анамнеза (профессия, пребывание в природном очаге, быт, возможные контакты с выделениями грызунов). Тем не менее, нередко этиологическая верификация диагноза у этой категории больных была возможна только после проведения серологических исследований. Следует отметить, что специфические антитела в НМФА у больных легкими формами болезни, как правило, определялись к 5-6 дню болезни. Случалось, что к этому сроку больные выписывались из

стационара, и диагноз уточнялся ретроспективно. Важно отметить, что ни в одном случае подобной ситуации рецидивы инфекции не развивались в отличие от ряда других природноочаговых инфекций (иерсиниоз, лептоспироз и другие), что свидетельствует об элиминации хантавируса в короткие сроки и протективном характере нарастающего иммунитета.

Отличия клинической картины ГЛПС у больных разных этиологических групп были демонстративнее при среднетяжелом течении инфекции. Симптоматика Сеул-инфекции по сравнению с Хантаан, Амур-инфекцией, отличалась некоторыми особенностями, главными из которых являются:

- выраженный полиморфизм симптоматики ранней стадии;
- благоприятное течение у большинства больных;
- ацикличность течения, без чередования типичных периодов болезни, появление ведущих синдромов в ранние сроки, часто на фоне лихорадки;
- значительная частота нарушений функции печени (66,6% против 26,7%);
- большая частота респираторного синдрома (15,6±2,7% против 8,5±1,7%);
- меньшая степень выраженности проявлений почечной недостаточности
- редкость и меньшая интенсивность геморрагических проявлений.

Эпидемиологические особенности Сеул-инфекции включали: большой удельный вес женщин в структуре заболевания (почти в 3 раза), зимняя сезонность в отличие от летне-осенней при Хантаан и Амур-инфекции.

Мы разделяем мнение В. А. Фигурнова (2002) о том, что **тяжелые формы** ГЛПС отличаются особым полиморфизмом клинических проявлений и разнообразием вариантов течения, претендуя на уникальность каждого случая. В отличие от авторов, характеризующих ГЛПС, обусловленную вирусом Сеул, как легкое заболевание (Lee H. W., 1989; Wuin K. S. et al., 1989; Park S. C. et al., 1989; Kim Y.S., 1995), мы наблюдали у 11,6±0,9% больных тяжелые проявления инфекции. Наши исследования показали, что в комплексе клинических проявлений у больных в группах тяжелой Хантаан, Амур и Сеул-инфекции отличий немного и связаны они исключительно со степенью выраженности

ведущих синдромов и частотой возникновения urgentных состояний: шок, ДВС, ОПН, ОРДС, отек мозга.

Сходство характеристик морфологического субстрата различных органов при всех неотложных ситуациях (увеличение проницаемости сосудистой стенки, плазморрея, экссудативный отек межтканевых тканей, ишемия, геморрагический диатез) давало основание предполагать возможность развития у этой категории больных системного иммунного воспаления, как эффекторной фазы специфического иммунного ответа на внутриклеточную инфекцию. Данные, полученные при аутопсии одного летального случая Сеул-инфекции, были идентичны результатам морфологических исследований у 20 умерших от тяжелой формы ГЛПС, обусловленной вирусом Хантаан и Амур (распространенный ДВС-синдром, ОПН, уремия, отек легких).

Считаем важным отметить выявленную нами частоту патологии органов дыхания ($12,2 \pm 2,3\%$) в виде интерстициального отека легких или так называемого ОРДС – острого респираторного дистресс-синдрома разной степени, а также очаговой пневмонии при тяжелых формах ГЛПС, ассоциированных со всеми серотипами хантавируса. Так же, как признаки ДВС-синдрома, являющиеся визитной карточкой ГЛПС независимо от формы тяжести, так и проявления ОРДС (кашель, одышка, изменения на рентгенограмме – усиление легочного рисунка за счет сосудистого компонента, ячеистость структуры) свойственны многим больным тяжелыми и средне-тяжелыми формами инфекции. ОРДС у больных ГЛПС является логичным проявлением ведущих патогенетических феноменов болезни: высокой проницаемости эндотелия легочных капилляров, плазморреи, гиповолемии, гипергидратации тканей легкого. Установлено, что ОРДС III-IV ст. является причиной летальности не только у больных ХКЛС (Koster F., Levy H., 1998; Clement J. et al., 1995; 2004; Hallin G. W. et al., 1996; Moolenaar R. L. et al. 1995; Tapia M. et al., 1998), но и ГЛПС, обусловленной вирусом Пуумала и Хантаан (Герман Е. И. с соавт., 1998; Kim S. G. et al., 2004). Согласно современной клинико-рентгенологической классификации мы

диагностировали ОРДС I-степени у $54,1 \pm 5,1\%$ обследованных больных тяжелой формой ГЛПС, причем зависимость частоты этих проявлений от серотипа хантавируса нами не обнаружена. При фатальных исходах ОРДС III-IV степени был зарегистрирован в 25-28% случаях.

Локальная гиперпродукция цитокинов и NO, выявленная нами в КВВ, позволила показать, что легкие являются таким же органом-мишенью для хантавирусов разных серотипов, как почки и печень.

Необходимо также отметить и частоту поражения печени при Сеул-инфекции, которая проявлялась цитоллизом ($66,6 \pm 3,5\%$), гепатомегалией ($49,2 \pm 3,7\%$) и умеренной желтухой ($18,3 \pm 2,5\%$). Нередко выявление цитолиза у лихорадящего больного было поводом для серологического тестирования на ГЛПС. Информативным и ранним методом диагностики ГЛПС является и ультразвуковое исследование почек и печени, выявляющее увеличение органов, отек паренхимы и нарушение их структуры.

Таким образом, клиническая симптоматика ГЛПС, ассоциированная с разными серотипами хантавируса демонстрирует единые патогенетические основы – системность поражения с развитием в позднюю стадию полиорганной недостаточности, механизмы которых иммуноопосредованы. Однако течение заболевания у больных разных этиологических групп отличается рядом особенностей, что играет существенную роль в диагностике инфекции.

Иммунопатогенез ГЛПС, обусловленной серотипами/генотипами Хантаан,

Амур и Сеул

Сведения, полученные в последние годы при изучении хантавирусной инфекции, свидетельствуют о нескольких ключевых открытиях в «хантавирусологии», которые неопровержимо доказывают иммуноопосредованность ГЛПС и с позиций которых мы оценивали и сопоставляли полученные нами результаты.

Установлено, что хантавирус, как и другие арбовирусы, являясь инициатором инфекционного процесса, не обладает прямым цитопатогенным эффектом при

внутриклеточной репликации. Все деструктивные процессы, включая тканевые и полостные отеки, геморрагические и ишемические некрозы, которые определяются при аутопсии и в прижизненных биоптатах почек и печени, в большей мере отражают универсальность механизмов иммунного ответа, обусловленных агрессивностью клеток-эффекторов иммунного ответа (Hung T. et al., 1998; Zaki S. R. et al., 1998; Markotic A. et al, 1999; 2004; Ennis F. et al., 1999; Mertzi G., 2001; Lee X.D. et al., 2004; Dimitrijevic J. et al., 2004; Spiropoulou C. F. et al., 2004; Hardestam J. et al., 2004).

Проведенные нами исследования параметров, характеризующих реакции клеточного и гуморального механизмов иммунитета у больных ГЛПС независимо от этнологического агента и формы тяжести болезни, выявили события различного характера и степени выраженности, свидетельствующие об активации иммунокомпетентных клеток и вероятности раннего включения в патогенез инфекции каскада клеточно-опосредованных иммунных реакций.

I. Мониторинг цитокинового статуса в ранние (1-2 недели) и поздние (3-4 недели) сроки болезни зарегистрировал следующие изменения (рис. 1).

- Высокие уровни в сыворотке крови ранних провоспалительных цитокинов – **ФНО- α** , **ИЛ-1 α** (в 5–10 раз превышающие уровень контроля), продуцируемые клетками моноцитарно-макрофагальной системы (ММС), эндотелиоцитами, НК-клетками, нейтрофилами. Гиперпродукция этих цитокинов инициирует широкий спектр синергичных патофизиологических эффектов, характерных для ранней фазы ГЛПС – активизацию эндотелиоцитов к экспрессии адгезионных молекул, увеличение проницаемости клеточных мембран, капиллярную плазморею (*massive capillary leak*), трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов в ткани, цитоллиз инфицированных клеток.

Характерно, что в общей группе больных в поздние сроки ГЛПС сохранялись повышенные уровни только ФНО- α при нормализации ИЛ-1 α , который, вероятно, играет роль инициатора «запуска» иммунного каскада.

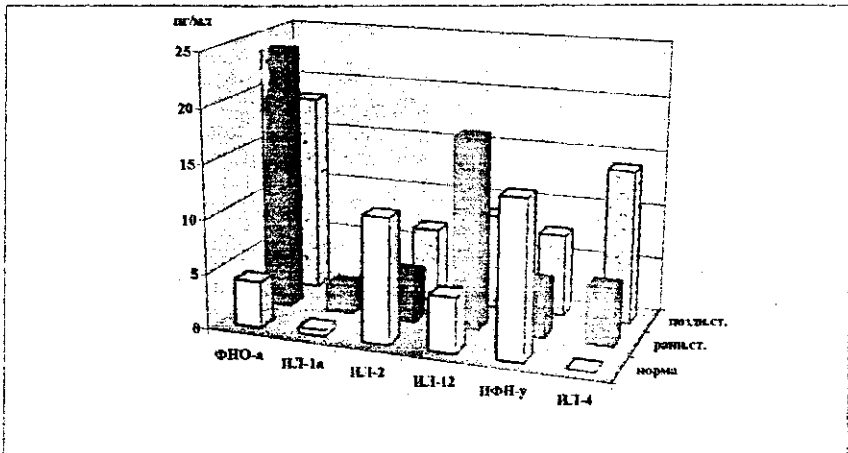


Рис. 1. Динамика цитокинов сыворотки крови больных ГЛПС

Корреляция уровней провоспалительных цитокинов с тяжестью процесса и частотой основных клинико-патогенетических синдромов ранней стадии ГЛПС, обусловленных циркуляторными расстройствами, дает право признать эти цитокины виновниками ранних феноменов ГЛПС – увеличенной проницаемости и капиллярной «протечки» и возможными инициаторами дальнейших тканевых повреждений.

- Увеличение (в 2,5 раза) уровня **ИЛ-12 (p70)**, также раннего цитокина, продукта ММС и дендритных клеток, синергично с провоспалительными цитокинами усиливающего клеточно-опосредованные иммунные реакции, ключевого определителя дифференцировки хелперного ответа в пользу Th1. Знаменательно сходство динамики активности ИЛ-12p70 с ИЛ-1α (нормализация в поздние сроки болезни).

- Снижение уровня **ИЛ-2** (в 2,5 раза), который обеспечивает адекватную иммунореактивность, индуцируя пролиферацию Th1 и опосредуя экспансию различных эффекторных клеток, включая цитотоксические CD8, NK, моноциты и тромбоциты;

- Монотонно низкие уровни **ИФН-γ** (в 3,5 раза), главного активатора

макрофагов, индуцирующего Th1-тип клеточного иммунного ответа.

- Повышение в течение болезни уровней противовоспалительного ИЛ-4 (в 1,5-2 раза), индуцирующего, напротив, Th2 (преимущественно гуморальный) иммунный ответ (включая пролиферацию В-клеток и продукцию специфических антител).

Анализ изменений цитокинового статуса позволил выявить несколько тенденций в нарушении регуляции иммунного ответа:

Дисбаланс продукции цитокинов. Регистрируемая в ранние сроки болезни гиперцитокинемия касалась спектра цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 α и ИЛ-12p70, характеризующих ММС и, отчасти, Th1-иммунный ответ. Однако стабильно низкие уровни ИФН- γ – ключевого «определителя» Th-дихотомии, а также ИЛ-2 – главного фактора пролиферации Т-лимфоцитов свидетельствуют о дифференцировке иммунного ответа в пользу Th2 (гуморального) типа. Раннее повышение количества ИЛ-4 с последующим повышением его уровня в динамике инфекции подтверждает превалирующий **Th2-тип** дифференцировки. Наши результаты показывают, что доминирование Th2-ответа соопутствует более благополучному течению заболевания у большинства больных, что позволяет избежать возможные последствия разрушительного Th1-клеточно-опосредованного ответа. Мы склонны объяснить этот феномен саморегуляторными реакциями иммунного ответа, ограничивающими избыточную продукцию провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 α с их системными цитолитическими эффектами, усилением репликационной активности вируса и активизацией адгезии эффекторных клеток. Убедительным доказательством этого предположения является прямая зависимость выявленных нарушений в характеристике цитокинового статуса от тяжести ГЛПС. Направление дифференцировки Т-лимфоцитов при ГЛПС в пользу Th2-типа очевидно связано с первоначальной локализацией вируса (дыхательные пути), характером АПК (профессиональные дендритные клетки и В-лимфоциты, инфицированные эндотелиальные клетки) и преобладающей

продукцией ИЛ-4, как системной (в 1,5-2 раза), так и локальной в органах-мишенях (в КВВ в 20 раз) на ранней стадии заболевания.

Несмотря на то, что цитокиновые эффекты Th1 и Th2 носят антагонистический характер, мы разделяем критику ряда исследователей (Ярилин А. А., 1999; Черешнев В. А., 2001; Фрейндлин И. С., 2001) относительно такой упрощенной схемы оценки перекрестной регуляции Th1/Th2. По всей видимости, плейотропность, дублирующие и перекрывающие эффекты в рамках единой регуляторной иммунной системы обуславливают возможность многочисленных вариантов взаимодействия цитокинов.

2) Иммуносупрессия преимущественно Т-клеточного звена иммунитета.

Доминирование супрессивных механизмов клеточного иммунного ответа у большинства обследованных больных является очевидным фактом уже в ранние сроки болезни, что проявлялось монотонно низкими уровнями ИФН- γ и ИЛ-2 в сочетании с высокими значениями ИЛ-4, то есть смещением баланса цитокинов в сторону Th2. Главными причинами иммуносупрессии, вероятно, являются нарушения взаимодействия ММС и Т-клеток, что проявляется нарушением выработки ИЛ-2 и гиперпродукцией ИЛ-4. Вероятно, степень усиления продукции ИЛ-12p70 (активированными ММС и В-клонами клеток) оказалась недостаточной для индукции выработки ИФН- γ и, следовательно, не имело существенного веса для изменения баланса Th-лимфоцитов. Не исключена также возможность преобладания в составе ИЛ-12 его гомодимера p40, способного конкурентно связываться с рецептором ИЛ-12 и негативировать его биологическую активность. Явление анергии моноцитов может быть дополнительным механизмом иммунодепрессии, но, судя по избыточной экспрессии ФНО- α , ИЛ-1 α и ИЛ-12 (в том числе и моноцитами), эта причина менее существенна. Значение феномена иммуносупрессии следует рассматривать, как с негативной, так и с позитивной стороны. Избыточная активация Th2-клонов (в наших исследованиях ИЛ-4- главный индикатор Th2 увеличивался к 3 неделе в 4-5 раз), безусловно, негативно влияла на пролиферацию Т-лимфоцитов-хелперов (Th1), что сопровождалось устойчиво

низкими концентрациями ИЛ-2 и ИФН- γ . Однако высокие значения ИЛ-4 способны погасить «цитокиновую бурю» провоспалительных ФНО- α , ИЛ-1 α и усилить синтез специфических антител. Более того, Тотолян А. А., Фрейндлин И. Н. (2001) показано, что стимулировать ИЛ-4 – продукт Th2 способны высокие концентрации ИЛ-1 α , что совпадает с нашими данными (нормализация уровней ИЛ-1 α практически у всех больных в позднюю стадию болезни при одновременном нарастании ИЛ-4). Вместе с тем низкие концентрации ИФН- γ у больных в течение всего заболевания, вероятно, не обеспечивают достаточной стимуляции макрофагальной активности, способствуя усилению вирусной репликации. Результаты наших исследований показали, что для понимания механизмов иммунопатогенеза ГЛПС существенное значение имеет определение локальной экспрессии цитокинов. Дисбаланс альтернативных цитокинов ИФН- γ и ИЛ-4, проявляющийся супрессией Т-клеточного ответа, несравненно ярче был выражен в респираторном тракте, клетки которого (эндотелий легочных капилляров, альвеоциты) являются одними из первичных клеток-мишеней хантавируса (рис.2).

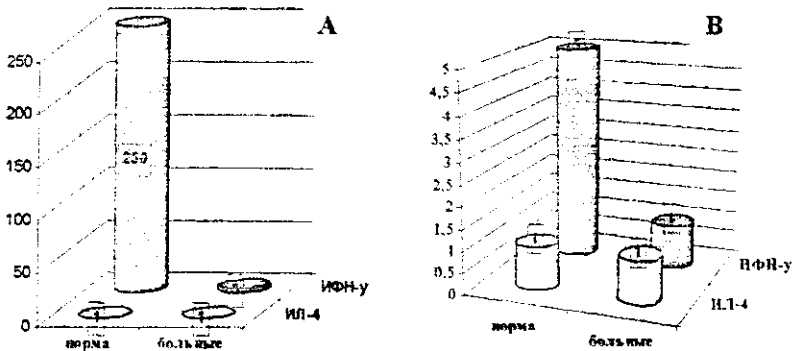


Рис. 2. Соотношения оппозиционных цитокинов ИЛ-4/ИФН- γ у больных ГЛПС в конденсатах паров выдыхаемого воздуха (А) и в сыворотке крови (В)

Так в конденсатах паров выдыхаемого воздуха (КВВ) дефицит ИФН- γ был втрое больше, чем в сыворотке крови, а величина иммунорегуляторного коэффициента ИФН- γ / ИЛ-4 в КВВ была близкой к норме только у больных легкими формами ГЛПС.

Сходство полученных нами результатов цитокинового статуса у больных ГЛПС разных этиологических групп (Хантаан, Амур и Сеул) с данными ряда авторов, изучавших динамику отдельных цитокинов при ГЛПС, ассоциированной с другими серотипами хантавируса, свидетельствует о единых патогенетических основах хантавирусной инфекции разной этиологии (Ющук Н. С. с соавт., 2000; Камилев Р. Т., 2003; Clement J. et al., 1995; Khaiboullina S. et al., 2000; Mäkela S. et al.; Sundstrom J.B. et al., 2001; Klingström J. et al., 2001; Morikawa S., 2004; Prescott J., et al., 2004).

II. Исследование клеточного звена иммунитета показало такие изменения.

- Снижение общего количества лимфоцитов - CD3 и популяции хелперов CD4 – и хелперов CD4 – клеток с одновременным увеличением цитотоксических CD8 и CD16 (NK) клеток, маркера активации CD25 (рецептор ИЛ-2) и эндотелиальной адгезивности CD54 (ICAM-1), клеточного апоптоза CD95 (Fas/Apo-1), а также маркеров зрелых В-клеток – CD22 (рис. 3).

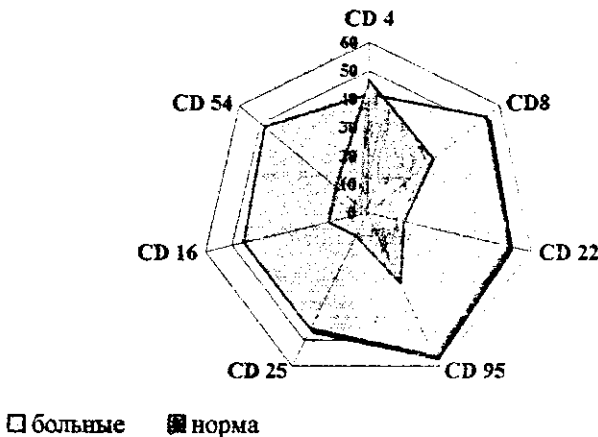


Рис. 3. Показатели клеточного иммунитета в раннюю стадию ГЛПС (%)

В последнее время особое значение придают CD8-клеткам, функционально относящимся к цитотоксическим Т-лимфоцитам, эффекторным клеткам клеточно-опосредованного иммунитета, осуществляющим лизис клеток-мишеней и участвующих в иммунных реакциях по Th1-типу реагирования, при котором характерна быстрая элиминация вируса. Установлено, что нуклеокапсидный белок хантавирусов разных серотипов служит прямой мишенью цитотоксических CD8 (Heather L. et al., 2001; Maeda K. et al., 2004; Terajima M. et al., 2004; Wang P. et al., 2004; Araki K. et al., 2004).

Одна из важных причин иммуносупрессии, как показали наши исследования, совпавшие с результатами ряда авторов, изучавших Т-клеточный ответ при Пуумала-инфекции (Дзюба В. А. с соавт., 2000; Камиллов Р. Х. с соавт., 2003), ХКЛС (Ennis F., 1999; Mertz F., 2001; Van Epps H. et al., 2001; Maeda K. et al., 2004; Terajima M. et al., 2004) и Хантаан-инфекции (Araki K. et al., 2004; Wang P. et al., 2004) заключается в усилении эффекторных функций цитотоксических лимфоцитов CD8⁺ (увеличение в 2 раза) и NK-клеток (увеличение CD16⁺ в 3 раза), а также в усилении апоптотических процессов (увеличение маркера апоптоза CD95⁺ в 2 раза) в отношении инфицированных Т-хелперов. Повышенная экспрессия рецептора ИЛ-2 в наших исследованиях (увеличение CD25⁺ в 5 раз) на активированных Т- и В-лимфоцитах также, видимо, не реализуется низкой продукцией этого цитокина Th1. В совокупности с повышением экспрессии молекул адгезионности ICAM (увеличение CD54⁺ в 3,5 раза) этот факт может свидетельствовать о противостоянии активационному апоптозу лимфоцитов (Сепиашвили Я. Р., 2003).

Степень изменений клеточно-опосредованного иммунитета демонстрировала тесную связь с тяжестью клинических проявлений ГЛПС. При легких формах ГЛПС уже в дебюте заболевания выявлена недостаточность ИЛ-2 и ИФН- γ на фоне существенного (в 3 раза) повышения Th2-маркера – ИЛ-4 и ИЛ-12p70, отражающих активацию антигенпредставляющих клеток (дендритных и В-лимфоцитов). В более позднем периоде уровень ИЛ-4 нарастал, супрессируя

продукцию ИЛ-12 p70, однако недостаточность активности Th1 лимфоцитов несколько сглаживалась.

У больных **среднетяжелыми формами** ГЛПС выявлена более выраженная степень супрессии Th1 лимфоцитов, хотя в поздних сроках болезни продукция ИЛ-4 (Th2) лимфоцитами была ниже таковой при легких формах.

Кроме того, нами обнаружена обратная зависимость цитотоксической активности лимфоцитов от формы тяжести (более высокие количества CD8+ и CD16+ у больных легкими формами в отличие от тяжелых), что подтверждает компенсаторный характер выявленных иммунных сдвигов. Легкие формы отличались и меньшими нарушениями гуморального звена иммунитета (невысокие уровни ЦИК, в основном растворимые среднего размера, меньшие сдвиги комплементарной активности крови).

Тяжелые формы инфекции отличались особой формой иммунного ответа.

Причины, которые формируют тяжелое и нередко фатальное течение ГЛПС, несколько. Во-первых, это может быть связано с большей инфицирующей дозой возбудителя, что подтверждается выделением штаммов хантавируса из крови больных до 8 дня, а вирусной РНК до 11 (в фатальных случаях до 9-14) дней болезни. Во-вторых, это респираторный путь инфицирования, способствующий интенсивной вирусемии и трансмиссии возбудителя (Xiao R. et al., 2004). Не исключено, что высокая вирусная нагрузка крови, безусловно, усиливает неадекватность иммунного ответа при тяжелых формах ГЛПС. Возможно, как показали некоторые исследователи, неадекватность иммунного ответа генетически детерминирована (Суздальцев А. А., 1993; Морозов В. А., 2003; Mäkelä S. et al., 1996).

В условиях избытка антигена блокируются структуры распознавания зрелых иммунокомпетентных клеток, нарушаются регуляторные процессы, что приводит к «параличу» иммунного ответа.

Нельзя исключить возможность наличия у нуклеокапсидного или других протеинов хантавируса свойств суперантигенов, наделенных индукцией

апоптоза поликлонально «охваченных» Т-лимфоцитов и дендритных клеток (Хантов Р. М. с соавт., 2000; Ярилин А. А., 1999; Фрейндлин И. С., 2000).

Результаты наших исследований цитокинового статуса при тяжелой форме ГЛПС констатировали глубокое угнетение клеточного иммунного ответа на ранних сроках заболевания: крайне низкое содержание в сыворотке крови **ИФН- γ** (в 14-20 раз), **ИЛ-2** (в 10-12 раз), **ИЛ-4** (в 4 раза) свидетельствует о нарушении функциональной активности, как CD4+ (Th1 и Th2), так и CD8+ лимфоцитов. Выявленные нарушения свидетельствуют о подавлении защитных реакций, в первую очередь, клеточного (тканевого) иммунитета у этой категории больных. Сохранение выявленных изменений цитокинового статуса в позднюю стадию болезни у больных тяжелыми формами свидетельствовало не только о функциональных преходящих нарушениях системы цитокиновой регуляции, но и о более глубоком структурном дисбалансе всей системы иммунореактивности.

В отличие от авторов, находивших высокие значения ИФН- γ в терминальный период у больных тяжелыми формами ГЛПС (Yang W. et al., 1992; Alhm C. et al.; Sundstrom J.B. et al., 2001), мы регистрировали только умеренную и локальную (в КВВ) гиперцитокинемию ИФН- γ . Уровень сывороточного цитокина был стабильно низким (в 14 раз меньше уровня у здоровых), параллельно тяжести болезни. Это констатирует **реальный недостаток продукции ИФН- γ лимфоцитами Th1 и NK-клетками**, отсутствие индукции к его синтезу (резкое снижение ИЛ-2, стимулирующего ИФН- γ – продукцию). По-видимому, и ранняя экспрессия ИЛ-12p70, увеличенная в 2,5 раза, не обеспечивает достаточного стимула к продукции ИФН- γ . Механизмы костимуляции продукции ИФН- γ – ФНО- α и ИЛ-1 α при взаимодействии поверхностных молекул, вероятно, несостоятельны при высокой вирусной нагрузке (Фрейндлин И.С., 2000, Тотолян А.А. с соавт., 2001). Кроме того, необходимо иметь в виду возможный феномен мимикрии, свойственный многим вирусам, которые продуцируют аналоги генов цитокинов и/или их рецепторов (часто касающихся ИФН- γ), блокируя их активность, обеспечивая

этим свою беспрепятственную репликацию и неадекватный иммунный ответ (Шичкин В. П., 1998; Носик Н. И., 2000; Козлов В. А., 2002).

Сопоставление концентраций ИЛ-4 (опозиционного ИФН- γ) в ранние сроки болезни в КВВ и сыворотке крови еще раз демонстрирует преимущественный локальный синтез цитокинов. Так в сыворотке крови при тяжелых формах уровень ИЛ-4 был даже снижен в отличие от больных других групп, тогда как в КВВ его концентрация превышала норму в 400 раз. У больных тяжелой формой зарегистрировано меньшее количество клеток с цитотоксическими функциями – CD8, CD16 и экспрессии маркера активации CD25, что также свидетельствует о продолжающейся персистенции вируса. Виремия изначально вызывает ферментативно-медиаторную агрессию, ведущую к гипоксии, органной ишемии, гиперкоагуляции, «окислительному» стрессу и к прямому воздействию на популяцию цитотоксических лимфоцитов CD8⁺. Кроме того, в условиях высокодозовой виремии CD8⁺ активизируют в многочисленных клетках-мишенях хантавируса эффекторные каспазы, «запускающие» процесс апоптоза. Нами установлены интенсивные процессы активационного апоптоза (увеличение CD95 в 2 раза), более выраженные у больных легкими формами в отличие от тяжелых форм. Эти результаты, на наш взгляд, логично подтверждают концепцию «апоптотического иммунодефицита» А. Н. Чередыева и Л. В. Ковальчук (1998; 2000), согласно которой избыточный активационный апоптоз касается в основном Th1-лимфоцитов, обуславливая супрессию иммунного ответа с доминированием Th2. Энергичный яркий ответ клеточных реакций с преимущественным цитолитическим клиренсом хантавируса свойственен более легкому, «гладкому» течению ГЛПС. При тяжелых формах глубокая иммуносупрессия клеточного звена иммунитета, своеобразный «иммунопарализис», вероятно, влекут за собой персистирование возбудителя и деструктивные процессы.

III. Роль оксида азота – медиатора иммунного ответа

В отличие от некоторых авторов, сообщающих о высоких уровнях NO в крови (Сибиряк С. В. с соавт., 2003; Камилов Р. Х., 2003; Fazlyeva R. M. et al.,

2004; Klingström J. et al., 2004) нами показано отсутствие повышения системной продукции NO (уровень конечных метаболитов NO в сыворотке крови существенно не отличался от показателей у здоровых). В то же время было установлено, что регионами интенсивного локального синтеза NO являются почки и легкие – органы-мишени хантавируса (рис.4).

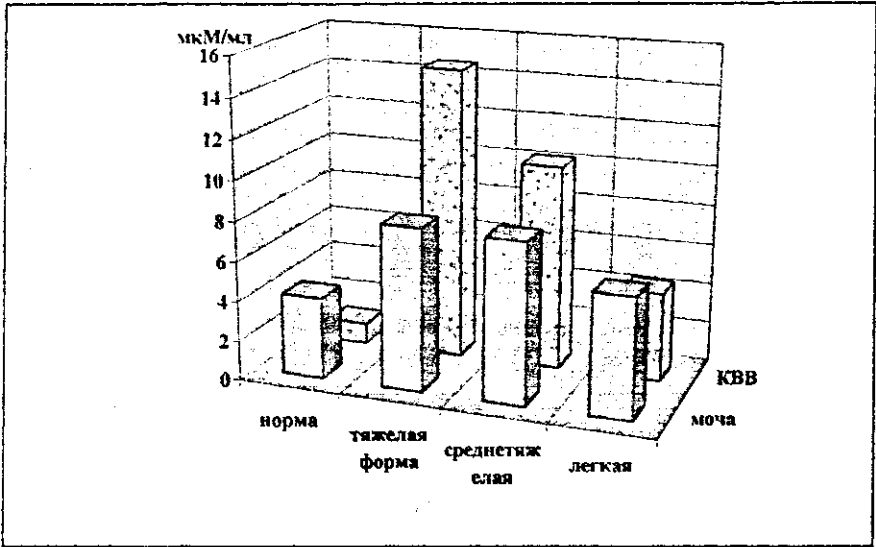


Рис. 4. Уровень метаболитов оксида азота (NO) в супернатантах мочи и конденсатах паров выдыхаемого воздуха (КВВ) в раннюю стадию ГЛПС

Особенно высокий уровень (в 8-10 раз) метаболитов NO зарегистрирован в КВВ, менее высокий (в 1,5-2 раза) – в моче. Повышение концентрации NO в этих биологических жидкостях можно объяснить усилением экспрессией iNOS в альвеоцитах, сосудистой эндотелии почек, также в тканевых макрофагах этих органов. Эти результаты демонстрируют защитную роль NO как участника процессов межклеточных взаимодействий, регуляции гомеостаза и иммунного ответа у большинства больных.

Кроме того, при тяжелых формах респираторных инфекций и ОРДС, характеризующихся избыточным синтезом NO в органах-мишенях, возможна реализация его роли как токсического агента, участвующего в разрушении белков и липидов клеточных мембран, увеличении их проницаемости, усилении адгезии и блокаде микроциркуляции (Маркелова Е. В., 2000; Guidot D.M. et al., 1994; Kooy N. W. et al., 1995).

Эти процессы, как правило, инициируют шок, ОРДС, ОПН. Вероятен и вклад NO в развитие выявленной нами иммуносупрессии путем влияния его на дифференцировку Th0 в пользу Th2. Респираторный путь инфицирования создает эволюционно сложившиеся предпосылки для преимущественной активации Th2-лимфоцитов в легких при встрече с патогеном.

Учитывая обнаруженную нами более интенсивную экспрессию цитокинов (с преобладанием спектра Th2) и NO в конденсатах паров выдыхаемого воздуха (КВВ), можно предположить, что сосудистый эндотелий легких, а возможно и бронхолегочный эпителий у больных ГЛПС являются не менее значимыми участниками патогенеза инфекции, чем ткани почек и печени.

IV. Гуморальные факторы иммунопатогенеза ГЛПС

В патогенезе ГЛПС важным и спорным до настоящего времени остается вопрос о значении нарушений гуморального звена иммунитета и роли циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в патогенезе ГЛПС (Рощупкин В.И. с соавт., 1974; 1996; Башкирев Т. А., 1980; Гавриловская И. Н., 1985; Фазлиева Р. М. с соавт., 1991; 2003; 2004; Суздальцев А. А., 1992; Морозов В. Г., 1993; 2003; Liu J. F. et al., 1992; 2001).

Результаты наших исследований показали наличие повышенного количества ЦИК у большинства (84,2±1,8%) больных, причем тяжесть заболевания достоверно не влияла на частоту и скорость образования ЦИК. Выявленная нами динамика антителообразования в НМФА (нарастание к 4-ой неделе с последующим снижением) и иммунных комплексов в общей группе больных регистрировала вполне закономерный процесс, свойственный острой инфекции

В то же время концентрация ЦИК демонстрировала четкую прямую зависимость от формы тяжести ГЛПС. Уровень ЦИК при тяжелых формах инфекции на протяжении всего заболевания был достоверно выше (особенно в кульминационные 3-4 недели), чем при менее тяжелых формах (рис.5.).

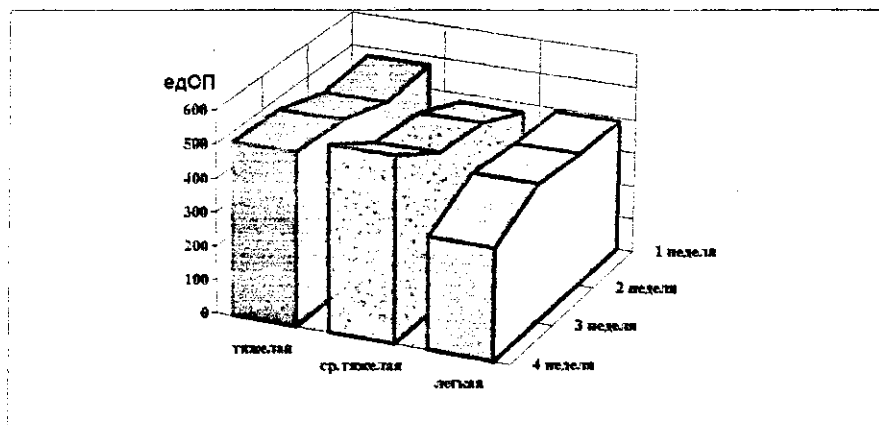


Рис. 5. Динамика уровней ЦИК в сыворотках крови больных в зависимости от срока болезни и формы тяжести ГЛПС

Более убедительные данные о значении ЦИК в инфекционном процессе при ГЛПС получены при их качественном исследовании. Особую роль, на наш взгляд, ЦИК играют при развитии тяжелых форм ГЛПС, внося дополнительную лепту в формирование деструктивных процессов.

В ранние сроки болезни в условиях избытка антигена обычно образуются крупные, растворимые, а, следовательно, непрочные ЦИК (в наших исследованиях у 100% больных тяжелыми формами), что способствует диссеминации инфекции и усилению иммуногенности вируса (Ярилин А. А., 1999). Как считают некоторые авторы, ранние крупные ЦИК, выявляемые у больных ГЛПС, могут явиться важным фактором прямых канальцевых повреждений почек, гепатоцитов, тромбоцитов (Liu Y. с соавт., 1992; 2001; Shen K. et al., 1992; Yang P., et al., 1992). Мы также склонны считать ЦИК крупных размеров в период высокой вирусной нагрузки маркерами диссеминации вируса и возможных сосудистых повреждений – ишемией и

некрозами тканей, что ведет к полиорганной недостаточности. Регистрация большого количества подобных ЦИК в раннюю стадию ГЛПС может служить критерием тяжести и прогноза ГЛПС (рис. 6).

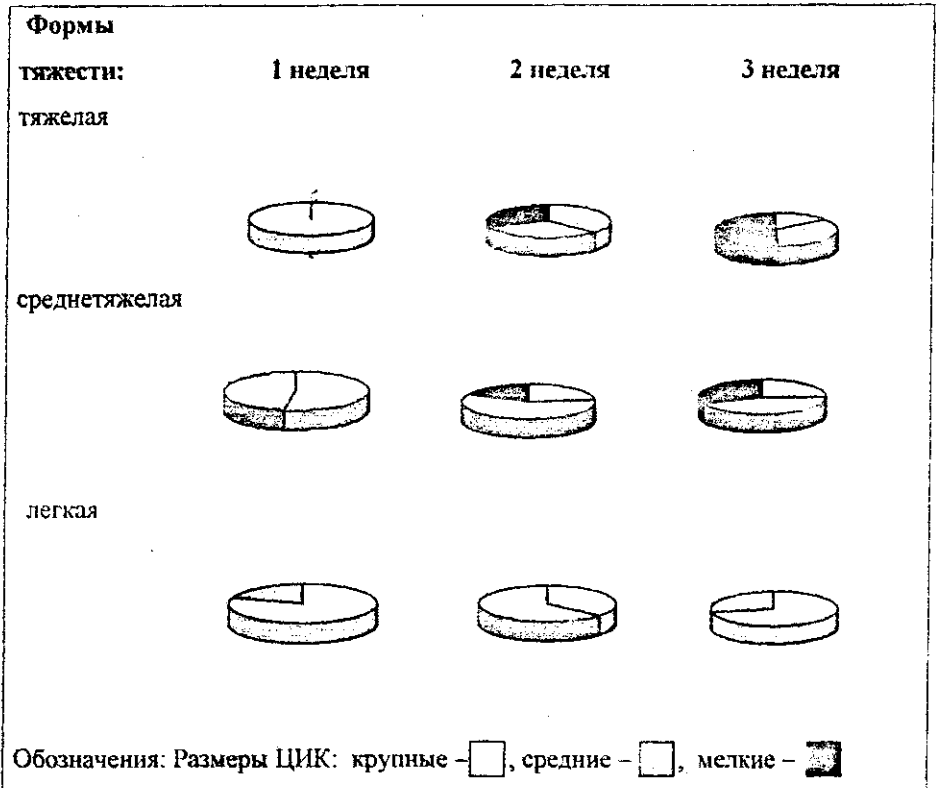


Рис.6. Соотношение ЦИК разных размеров в зависимости от формы тяжести и срока ГЛПС

Кроме того, ЦИК, нарушая процессы распознавания вирусных антигенов, ингибируя клеточно-опосредованный иммунный ответ, углубляют иммуносупрессию, что подтверждается в наших исследованиях гиперцитокинемией ИЛ-4, нарастающей параллельно динамике ЦИК. Взаимодействие ЦИК с тромбоцитами приводит к агрегации последних и запуску ключевых вазоактивных биологических эффектов болезни -

увеличению сосудистой проницаемости и ДВС-синдрому. Высокая концентрация ЦИК мелких размеров, формирующихся с нарастанием протективных иммуноглобулинов класса G, определяющихся преимущественно в более поздние сроки болезни (на 2 неделе – 19,4% и 3 неделе - 32,1%) у больных тяжелыми формами болезни, возможно, является одной из причин усугубления повреждений сосудистого эндотелия органов-мишеней. В сыворотках крови больных с легкой формой ГЛПС ЦИК мелких размеров не определялись. Это положение подтверждается и преобладанием в эти же сроки болезни мелких ЦИК у больных Хантаан и Амур-инфекцией по сравнению с Сеул. Однако быстрое снижение концентрации ЦИК как крупных, так и мелких комплексов на фоне роста специфических антител в поздние сроки инфекции у больных всех форм тяжести свидетельствует об успешной элиминации возбудителя и отсутствии формирования иммунокомплексной патологии у большинства больных ГЛПС.

Снижение содержания компонентов комплемента также зависело от тяжести клинических проявлений инфекции, что свидетельствует об активном участии системы комплемента в механизмах образования и элиминации иммунных комплексов. Достаточная активация комплемента у больных более легкими формами, вероятно, поддерживало ЦИК в растворенном состоянии, предупреждая формирование нерастворимых, повреждающих ткани преципитатов. Нормализация содержания белков комплемента к концу болезни зарегистрирована только у больных легкими формами ГЛПС.

Анализ исследованных параметров, характеризующих иммунопатогенез ГЛПС, вызванной разными серотипами/генотипами хантавируса, показал одинаковый характер и динамику выявленной патологии, что позволяет утверждать о единых механизмах иммунопатогенеза Хантаан, Амур и Сеул-инфекции. Степень выявленных нарушений характеризовалась большей глубиной у больных Хантаан, Амур-инфекцией в отличие от Сеул, что, вероятно, связано с более высокой вирулентностью возбудителя (Слонова Р.А., 2003; Isegava Y. et al ., 1994; Lee H. W., 1998; Ткаченко Е. А., 2003).

Формулы иммунных расстройств (ФРИС) в ранние сроки болезни

Общая группа больных ГЛПС (-)	ИЛ2 ⁻² ИФНγ ⁻² CD4 ⁻² C3-C5 ⁻² (+) ФНОα ⁺³ ИЛ1α ⁺³ ИЛ12p70 ⁺² CD16 ⁺² CD25 ⁺³ CD54 ⁺³ CD95 ⁺² CD22 ⁺³ ЦИК ^{+2круп}
Тяжелая форма	(-) ИЛ2 ⁻³ ИФНγ ⁻² ИЛ4 ⁻³ CD4 ⁻² C3-C5 ⁻³ (+) ФНОα ⁺³ ИЛ1α ⁺³ ИЛ12p70 ⁺² CD8 ⁺² CD16 ⁺² CD25 ⁺² CD54 ⁺³ CD95 ⁺² CD22 ⁺² ЦИК ^{+3круп}
Среднетяжелая форма	(-) ИЛ2 ⁻² ИФНγ ⁻² CD4 ⁻² C3-C5 ⁻² (+) ФНОα ⁺³ ИЛ1α ⁺² ИЛ12p70 ⁺² ИЛ4 ⁺² CD8 ⁺² CD16 ⁺² CD25 ⁺³ CD54 ⁺³ CD95 ⁺² ЦИК ^{+2круп, +2сп}
Легкая форма	(-) ИФНγ ⁻¹ (+) ФНОα ⁺³ ИЛ12p70 ⁺² ИЛ4 ⁺² CD8 ⁺² CD16 ⁺³ CD25 ⁺³

Формулы иммунных расстройств в поздние сроки болезни

Общая группа больных	(-) ИЛ2 ⁻² ИФНγ ⁻² C3-C5 ⁻² (+) ФНОα ⁺² ИЛ4 ⁺³ ЦИК ^{+1мел.}
Тяжелая форма	(-) ИЛ2 ⁻² ИФНγ ⁻³ C3-C5 ⁻³ (+) ФНОα ⁺² ИЛ12 (p70) ⁺² ИЛ4 ⁺³ ЦИК ^{+2мел.}
Среднетяжелая форма	(-) ИЛ2 ⁻² ИФНγ ⁻² C3-C5 ⁻² (+) ФНОα ⁺² ИЛ4 ⁺³ ЦИК ^{+1мел.}
Легкая форма	(-) ИЛ12p70 ⁻² (+) ФНОα ⁺² ИЛ4 ⁺³

Примечание: (-_{1,2,3}) степени супрессии; (+_{1,2,3}) степени гиперфункции;

С учетом полученных данных нами предложена схема иммунопатогенеза ГЛПС (рис. 7). Безусловно, центральной клеткой иммунопатогенеза является активированный **сосудистый эндотелий**, который выполняет сразу несколько ролей: 1 – клетки-мишени, резервуара и трансмиссии вируса, 2 – начального «полигона» иммунного ответа – источника цитокинов, NO и других медиаторов, 3 – дополнительной АПК (совместно с дендритными клетками и В-лимфоцитами).