

Хаманова Ю.Б.¹, Сабитов А.У.¹, Фомин В.В.¹,
Чеснакова О.А.¹, Овчинникова А.О.², Лагерева Ю.Г.³

Клиническая оценка эффективности лечения менингеальной формы энтеровирусной инфекции иммуномодуляторами

1 - ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург; 2 - МАУ «Городская клиническая больница № 40», г. Екатеринбург; 3 - МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург

Khamanova Y.B., Sabitov A. U., Fomin V.V., Ovchinnikova A.O., Chesnakova O.A., Lagereva Y.G.

Clinical evaluation of treatment of meningeal form of enteroviral infection by immunomodulators

Резюме

При лечении менингеальной формы энтеровирусной инфекции иммуномодуляторами установлено, что все они повышают численность Т-лимфоцитов, однако, ранговый расчет показал, что первые три места занимали анаферон, полиоксидоний и циклоферон. Данные препараты способствовали санации спинномозговой жидкости на второй неделе заболевания.

Ключевые слова: дети, вирусный менингит, иммуномодуляторы

Summary

In the treatment of meningeal form of enteroviral infection with the use of immunomodulators we revealed: Immunomodulators do increase the number of T-lymphocytes, but the rank analysis has shown that the first three places were taken by anaferon, polyoxidonium and tsikloferon. These medications have contributed to cerebrospinal fluid sanitation in the second week of the disease.

Keywords: children, viral meningitis, immunomodulators

Введение

Неподометитные энтеровирусы вызывают поражение респираторной, нервной, сердечно-сосудистой и др. систем. Экспериментальные фундаментальные исследования доказали феномен персистенции вирусов, латентное течение болезни и позволили обосновать патогенетические стадии болезни при энтеровирусных инфекциях [1].

Уральской школой научных сотрудников института вирусных инфекций и сотрудниками Уральской медицинской академии были уточнены вопросы диагностики (Сергеев А. Г.) [2, 3], установлены основные категории эпидемиологии (Кондрашева З. Н.) [4], при электронной микроскопии раскрыты взаимосвязи энтеровирусов с клетками, изучена и описана клиника спинальных и энцефалитических форм (Ольховиков А. И., Сабитов А. У., Фомин В. В., Ерман Б. А., Чеснакова О. А.) [1, 5-7], установлены особенности церебральной гемодинамики (Ковтун О. П.) [8], описаны особенности клиники Коксаки- и ЕСНО-инфекции (Ковтун О. П., Кожарская Г. В., Хаманова Ю. Б.) [8-10] и уточнен иммуногенез энтеровирусных менингитов (Хаманова Ю. Б.) [10]. Однако, несмотря на значительное число клинических и фундаментальных научных работ [1-12], разработка этиотропного и патогенетического лечения остается terra incognita.

Цель исследования – клинико-иммунологическая оценка эффективности иммуномодуляторов при энтеровирусных менингитах у детей.

Материалы и методы

В работе представлены материалы и результаты открытого проспективного исследования, проведенного в г. Екатеринбурге в 2005-2012 гг. Под наблюдением находилось 109 детей с энтеровирусными менингитами (ЭВМ) в возрасте от трех до четырнадцати лет, госпитализированных в отделение нейроинфекций МАУ «ГКБ №40». Был проведен комплекс лабораторно-диагностических мероприятий, который включал вирусологическое исследование фекальных проб и носоглоточных смывов, парные сыворотки, ПЦР ликвора, общий

анализ крови, ликвора. Исследования проводились на базе МАУ «Клинико-диагностический центр» (главный врач, д.м.н., профессор Я. Б. Бейкин). Для оценки иммунного статуса содержание лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов определялось с помощью гематологического анализатора Cobas Minos Stex (ABX). Фенотипирование лимфоцитов осуществлялось методом прямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител производства ООО "Сорбент" (г. Москва). Регистрация ре-зультатов проводилась методом лазерной проточной цитометрии на цитофлюомере FACScan (Becton Dickinson). Для оценки внутриклеточного синтеза цитокинов мононуклеары периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фиколла-верографина (1,077 г/см³). Спонтанную продукцию ИЛ2, ИЛ4, ИФН- γ и ФНО- α Т-лимфоцитами оценивали по истечении 4 часов инкубации в присутствии брешельдина А при 37 °С, в атмосфере 5 % CO₂. В качестве активатора для стимуляции внутриклеточного синтеза использовали РМА ("Sigma", 50ng/ml) плюс иономицин ("Sigma", 1 μ g/ml). Им-мунофенотипирование проводили с использованием ФИТЦ-меченых анти-CD3-моноклональных антител (ООО "Сорбент", г. Москва) РЕ-конъюгированных анти-ИЛ2, ИЛ4, ИФН- γ и ФНО- α -антител (Caltag). Для оценки внутриклеточного киллинга (бактерицидной активности лейкоцитов) и поглощательной активности нейтрофилов и моноцитов использовался метод, разработанный в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии Минздрава РФ. Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали при помощи спонтанного НСТ-теста (Демин А. А. 1981).

Был сопоставлен базисный способ лечения менингеальной формы эн-теровирусной инфекции с комплексной терапией, включавшей иммуномодуляторы. Критериями оценки эффективности проводимой терапии являлись результаты клинических наблюдений и оценка показателей системного иммунитета. Базисная терапия энтеровирусных менингитов включала назначение дегидратации, вазоактивных препаратов, комплекс витаминов группы В. В соответствии с применяемой иммуномодулирующей терапией (в остром периоде болезни) пациенты были рандомизированы по группам лечения. Детям в первой группе (n=35) назначался Амиксин (Тилорон), таблетка 60 мг, 2 дня подряд, затем через день, курс – 6 таблеток. Согласно инструкции по применению, амиксин назначался детям старше семи лет. Во второй группе (n=60) – Анаферон детский – индуктор ИФН γ , применялся в течение 7 дней по 1 таблетке три раза в день. В третьей группе (n=20) назначался Полноксидоний (Азоксимера бромид), лиофилизат для приготовления раствора для инъекций по 3 мг, 2 дня подряд, затем через день, курс – 5 инъекций. В четвертой группе (n=60) – Циклоферон (Мелглюмина акридонацетат), раствор для инъекций 12,5%, 10 мг/мл/сут однократно внутримышечно, 2 дня подряд, затем через день, курс – 5 инъекций. В пятой группе (n=39)

Виферон (рекомбинантный ИФН2 α), ректальные суппозитории 150000 МЕ детям до семи лет и старше семи лет 500000 МЕ два раза в сутки, 10 дней. В шестой группе

(n=30) – Эргоферон в течение 7 дней по 1 таблетке три раза в день.

В контрольной (седьмой) группе (n=60) дети получали соответствующую базисную терапию.

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере при помощи пакета прикладных программ «Statistica 6.0.» и «AtteStab», описание количественных признаков проводилось с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты и обсуждение

Этиотропная терапия энтеровирусных инфекций не имеет широкого практического применения [1, 8-12]. В связи с этим возникает вопрос о поиске эффективных и безопасных препаратов для лечения энтеровирусного менингита у детей [10]. Нами был сравнен базисный способ лечения энтеровирусных менингитов с комплексной терапией, включавшей иммуномодуляторы, у детей старше трех лет. Критериями оценки эффективности проводимой терапии являлись результаты клинических наблюдений, лабораторных данных и оценка показателей системного иммунитета.

В контрольной группе лихорадка и цефалгия сохранялись в течение 2-6 дней, медиана составила 3 дня, менингеальные симптомы определялись до недели, медиана – 4 дня. На 16-23 день болезни плеоцитоз составил 30 [18 50] \times 10⁶/л, санация ликвора на фоне базисной терапии наблюдалась у 57% детей, задержка санации цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) наблюдалась у 43% пациентов, из них у половины контрольный плеоцитоз превышал 30 \times 10⁶/л.

В периоде реконвалесценции у пациентов, не получавших иммуно-тропную терапию, отмечалось угнетение кислородзависимого киллинга нейтрофилов со снижением их функциональной активности по сравнению со здоровыми детьми, в периферическом кровотоке наблюдалась CD3+, CD4+-лимфопения, уменьшение CD3+клеток, спонтанно синтезирующих ИФН γ и TNF α (p<0,05 по сравнению с нормой).

Включение Амиксина в лечение энтеровирусного менингита у детей приводило к укорочению проявлений менингеальных симптомов, позволило добиться санации ликвора у 69 % пациентов (медиана плеоцитоза составила 13 \times 10⁶/л по сравнению с контрольной группой, p<0,05). Иммунологический эффект выражался в активации поглощательной способности моноцитов и функционального резерва CD3+IL4+-лимфоцитов, увеличении спонтанной цитокиносинтезирующей активности CD3+ИФН γ + и CD3+TNF α +клеток.

На фоне применения Анаферона детского укорачивался лихорадочный период и улучшались показатели санации ликвора (p<0,05). Иммунологический эффект наблюдался в виде модуляции кислородзависимого киллинга нейтрофилов и воздействия преимущественно на Т-клеточное звено.

Использование Полноксидония в терапии ЭВМ у детей приводило к укорочению сроков проявления лихо-

Таблица 1. Оценка эффективности применения иммуномодулирующих препаратов при менингеальной форме ЭВИ у детей ранговым методом

Показатель	Базисная терапия (БТ), n=60	Амиксин + БТ, n=35	Анаферон + БТ, n=60	Полиоксидоний + БТ, n=20	Циклоферон + БТ, n=60	Виферон + БТ, n=39	Эргоферон + БТ, n=30
Клиническая эффективность	7	2,5	1	4	2,5	5,5	5,5
Частота санации ликвора	7	4	5	3	6	2	1
Динамика показателей врожденного иммунитета от исходного уровня	1	2,5	2,5	4	6,5	5	6,5
Динамика показателей адаптивного иммунитета от исходного уровня	7	4	3	2	1	6	5
Достижение нормативных показателей врожденного иммунитета	7	4	2	3	5	6	1
Достижение нормативных показателей адаптивного иммунитета	7	5	1,5	1,5	3	4	6
Сумма рангов	36	22	15	17,5	24	28,5	25

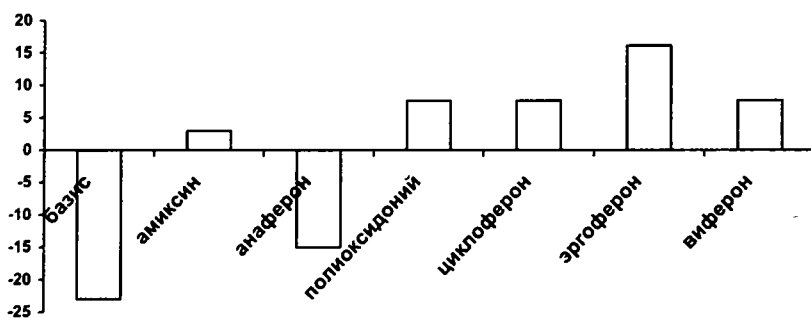


Рис.1. Относительные показатели индекса CD4/CD8 на фоне применения иммуномодуляторов по отношению к норме

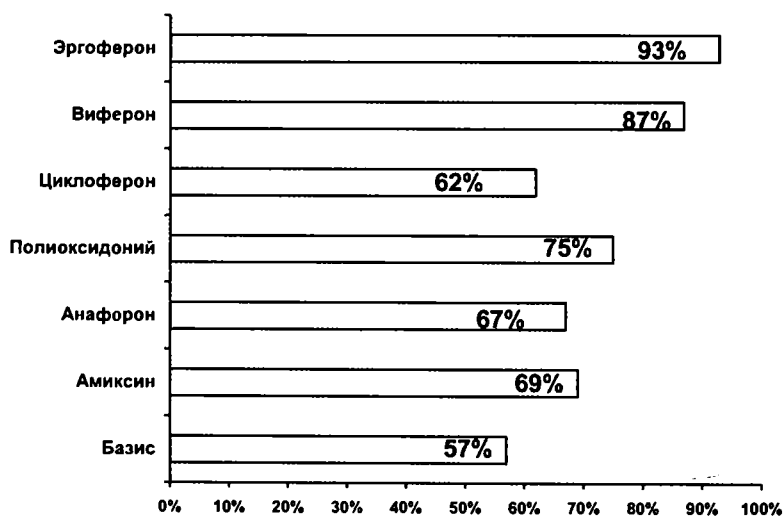


Рис.2. Частота санации ликвора у больных ЭВМ на фоне базисной и комплексной терапии

радики, цефалгин, менингеальных симптомов, санация ликвора произошла у 75% пациентов. Со стороны иммунологических показателей наблюдалось увеличение функциональной активности CD3+IL2+-клеток, а так как IL2 играет центральную роль в регуляции клеточного иммунитета, то он способствовал повышению исходно сниженных показателей Т лимфоцитов и их субпопуляций, кроме того, возросла и активность CD3+IL4+-клеток, что привело к усилению антителообразованию и купированию воспалительного процесса.

Клинический эффект Циклоферона при ЭВМ проявляется в укорочении длительности проявления менингеальных симптомов, санация ликвора наблюдалась у 62% пациентов ($p > 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Препарат обладал стимулирующей активностью: повышались показатели индуцированного НСТ-теста, что свидетельствовало об увеличении резервной способности кислородзависимой бактерицидности нейтрофилов; увеличивался уровень стимулированных CD3+-лимфоцитов, содержащих TNF α , IL2 и IL4 ($p < 0,05$), при этом данные показатели превышали нормативные значения в 2-4 раза ($p < 0,05$, по сравнению с контрольной группой).

На фоне применения Виферона санация ЦСЖ наблюдалась у 87%, в контрольной группе – у 57% больных ($p < 0,05$). В период реконвалесценции число Т лимфоцитов достигло нормативных значений по сравнению с детьми, не получившими иммуномодуляторы ($p < 0,05$). Виферон стимулировал CD3+-клетки, продуцирующие IL2 и TNF α , что способствовало нормализации числа Т-клеток и их способности к формированию межклеточной кооперации, определяющей возможность развития полноценного иммунного ответа.

Использование Эргоферона в терапии ЭВМ у детей приводило к укорочению лихорадки, санация ликвора произошла у 93% пациентов. Со стороны иммунологических показателей наблюдалась нормализация иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 (1,5 \pm 0,1 против 1,0 \pm 0,15 в контрольной группе, $p < 0,05$, рисунок 1), очевидно за счет того, что препарат содержит антитела к CD4, которые являясь аллостерическими модуляторами данного рецептора регулируют функциональную активность CD4-рецептора, что приводит к повышению функциональной активности CD4-лимфоцитов, активируется смешанный Th1 и Th2 иммунный ответ, что ведет к купированию воспалительного процесса при вирусном менингите.

Включение иммуномодуляторов в лечение ЭВМ у детей позволило добиться санации ликвора у 62-93 % пациентов, медиана плеоцитоза составила 13 \times 10⁶/л по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$ (рисунок 2).

Для сравнения клинико-лабораторной эффективности всех изученных иммуномодуляторов была применена ранговая оценка динамики клинических, ликворологических и иммунологических параметров. Использовались рейтинговые алгоритмы и определялись ранги показателей, наибольшие изменения в позитивную сторону определялись I рангом, затем 2 и т. д. Минимальная сумма рангов характеризует максимальный эффект воздействия. Итоги соответствующих расчетов представлены в табл. 1., из которой следует, что у детей при менингеальной форме ЭВИ максимальный клинико-иммунологический эффект наблюдается у Анаферона, затем порядке убывания: Полноксидоний >Амиксин >Циклоферон > Эргоферон >Виферон > базисная терапия.

Заключение

Таким образом, обосновано преимущество комплексного лечения энтеровирусных менингитов с использованием иммуномодуляторов перед применением только базисной терапии. Применение иммуномодуляторов в составе комплексной терапии энтеровирусных менингитов рационально и оправдано, что позволяет рекомендовать их к практическому применению. ■

Ю. Б. Хаманова, к.м.н., доцент кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург;
А. У. Сабитов, д.м.н., профессор, зав. кафедрой детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург;
В. В. Фокин, д.м.н., профессор кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Минздрава России, г. Екатеринбург;
О. А. Чеснакова, к.м.н., ассистент кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Минздрава России, г. Екатеринбург;
А. О. Овчинникова, врач МАУ ГКБ № 40, г. Екатеринбург;
Ю. Г. Лагерев, к.м.н., зав. лабораторией иммунного статуса МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург;
Автор, ответственный за переписку - Овчинникова Анна Оганесовна, 620102, г. Екатеринбург, ул. Волгоградская, д. 189/8, тел.: (343)266-97-81, E-mail: armine@el.ru

Литература:

1. Бочаров Е.Ф., Ерман Б.А., Фокин В.В. и соавт. Энтеровирусная инфекция: Новые аспекты. Новосибирск: Наука. Сиб. Отделение; 1990.
2. Сергеев А. Г. Реакция непрямой гемагглютинации с Н-антигеном ви-русов Коксаки группы В. Автореферат дис. ... канд. мед. наук – Москва, 1982 – 26 с.
3. Анализ филогенетических связей энтеровирусов, выделенных от больных серозным менингитом в г. Екатеринбурге и Свердловской области в 2008 г. / А. В. Устюжанин, А. В. Резайкин, Т. Э. Снитковская, С. В. Скрябина, А. У. Сабитов, Ю. Б. Хаманова, А. Г. Сергеев // Уральский медицинский журнал. 2011; 13 (91): 25-30.
4. Материалы длительного наблюдения за заболеваемостью полиомиелитом в г. Свердловске / Кондрашева З. Н., Василий Ю. И., Власова и др. // Полиомиелит в условиях массовой вакцинации. Непوليوмиелитные энтеровирусные инфекции. Свердловск, 1975. С. 42-51.
5. Ольховиков А. И. Коксаки В3- и В5-инфекция у детей (паралитические формы): Автореферат ... канд. мед. наук : – Свердловск, 1979. – 22 с.
6. Сабитов А. У. Дифференциальный диагноз спиналь-

- ных форм острого полиомиелита у привитых детей: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.09 / - Свердловск, 1982. - 185 с.
7. Чеснакова О. А. Клинико-иммунологические особенности легких форм полиомиелита и сходных с ним заболеваний. Автореферат ... канд. мед. наук : - Свердловск, 1988 - 22 с.
 8. Ковтун О.П. Клинико-реоэнцефалографические критерии в оценке лечения и прогноза энтеровирусных менингитов у детей. Автореферат ... канд. мед. наук. - Свердловск, 1984 - 25 с.
 9. Кожарская Г.В. Клинико-иммунологические критерии диагностики и лечения Коксаки В и ЕСНО-вирусных менингитов у детей : дис. канд. мед. наук. - Екатеринбург, 1998 -131 с.
 10. Хаманова Ю.Б. Клявца, иммунопатогенез и оптимизация лечения энтеровирусных менингитов у детей. Автореферат ... дис. докт. мед. наук - Екатеринбург, 2013 -40 с.
 11. Rotbart HA. Viral meningitis. *Semin Neurol.* 2000;20(3):277-292.
 12. Abzug MJ, Cloud G, Bradley J, et al. Double blind placebo-controlled trial of pleconaril in infants with enterovirus meningitis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2003;22(4):335-341.