

РОЛЬ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ КАК ТРИГГЕРНОГО ФАКТОРА В РАЗВИТИИ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ И ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ВЕН И ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

КЛИМОВА Е.М., КАЛАШНИКОВА Ю.В., ПРАСОЛ В.А., ДРОЗДОВА Л.А.

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», г. Харьков

Введение. Во всем мире увеличилась частота тромбофилических заболеваний. У больных с заболеваниями периферических вен и тромбоэмболией легочной артерии выявляют моно- и сочетанную вирусную и бактериальную инфекцию, что в свою очередь может вызывать изменения иммунореактивности и гемостаза [1]. Изучение негативных последствий, вызванных цитомегаловирусом (CMV), вирусом Эпштейн-Барра (EBV-1), позволило выявить их выраженный иммунотропный эффект, приводящий к иммунной недостаточности при многих нозологических формах с осложненным течением, затрагивающим показатели гемостаза. [2, 3]. Способность этих вирусов пребывать в латентной и персистирующей форме с последующей реактивацией может приводить к существенным нарушениям иммуногенетического контроля и к инфицированию клеток интимы сосудов, что в свою очередь повышает экспрессию молекул адгезии и стимулирует синтез провоспалительных цитокинов и липидных фракций, тем самым вызывая прокоагулянтный эффект (Imbronito A.V., 2010). В такой ситуации противотромботические свойства сосудистой стенки не могут полноценно препятствовать тромбообразованию при гиперкоагуляции с участием сывороточных и тромбоцитарных факторов, а в случае повреждения сосудов нарушение целостности эндотелиального слоя и обнажение субэндотелиальной зоны служат важным механизмом, инициирующим тромбозы различной локализации. Для выбора тактики комплексного лечения данной категории больных необходимо учитывать особенности развития иммунопатологических реакций.

Цель исследования: исследование взаимосвязи сочетанной вирусной инфекции с типом иммунофизиологических нарушений и характером коагулопатий у больных с венозными тромбозами различной локализации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали компоненты сыворотки крови и иммунокомпетентные клетки у 49 больных тромбозами глубоких вен (ТГВ), 10 больных тромбозом нижней полой вены (ТНПВ) и 13 больных с тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА).

Концентрацию противовирусных антител к цитомегаловирусу человека CMV, вирусу Эп-

штейна - Барра EBV-1 и к Mycoplasma hominis определяли методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) [4, 5].

У больных с венозными тромбозами различной локализации изучали неспецифические факторы резистентности, к которым относятся активность белков системы комплемента, фагоцитарная активность и активность ферментативных систем нейтрофильных гранулоцитов (НГ), характеризующая способность НГ индуцировать респираторный взрыв.

Фагоцитарную активность НГ определяли в лейкоцитарной взвеси, полученной из гепаринизированной крови, по реакции со взвесью культуры *Saccaromyces cerevisiae*. При микроскопировании образцов (световой микроскоп ERGOVAL (Германия)) определяли фагоцитарный индекс по проценту клеток *Saccaromyces cerevisiae*, вступивших в фагоцитоз; фагоцитарное число – по числу клеток, поглощенных в среднем одним нейтрофилом крови [6].

НСТ-тест. Активность ферментативных систем нейтрофильных гранулоцитов, характеризующую спонтанную и индуцированную способность НГ образовывать активированные формы кислорода, исследовали методом световой микроскопии (световой микроскоп ERGOVAL (Германия)) с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия до диформаза (в виде гранул синего цвета) под влиянием супероксиданиона, образующегося в НАДФ-Н-оксидазной реакции, инициирующей стимуляцию фагоцитоза [6].

Активность белков системы комплемента определяли по потреблению его компонентов на реакцию антигена с соответствующими комплемент-связывающими антителами спектрофотометрическим методом. Оборудование – спектрофотометр СФ – 46 (РФ, ЛОМО) [7].

Вторичный адаптивный иммунитет.

Концентрацию сывороточных иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG определяли с использованием моноспецифических сывороток иммуно-турбидиметрическим методом на автоматическом иммуноферментном анализаторе STAT FAX 3200 (США) в бихроматическом режиме [8].

Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) оценивали спектрофотометрическим методом (спектрофотометр СФ-46

(РФ, ЛОМО)) по преципитации ЦИК на полиэтиленгликоле. [9].

Величину константы циркулирующих иммунных комплексов определяли по степени селективной преципитации ЦИК в градиенте плотности ПЭГ спектрофотометрическим методом (спектрофотометр СФ – 46 (РФ, ЛОМО)) [10].

Содержание пептидов средней молекулярной массы (ПСММ) определяли спектрофотометрированием спектрофотометр (СФ – 46 (РФ, ЛОМО)) в ультрафиолетовом диапазоне длин волн после осаждения грубодисперсных белков. [11].

Экспрессию кластеров дифференцировки лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD31⁺, CD50⁺, CD54⁺, CD89⁺, CD162⁺, HLA-DR⁺ регистрировали методом люминесцентной микроскопии (люминесцентный микроскоп МЛД-1 (РФ)) с использованием моноклональных антител (МКАТ), меченых FITC, которые специфически связываются с соответствующими поверхностными антигенами иммунокомпетентных клеток.

Активность нативного физиологического антикоагулянта антитромбина III (АТ III). АТ III разведенной исследуемой плазмы в присутствии гепарина быстро инактивирует тромбин. Остаточная активность тромбина определяется по скорости гидролиза хромогенного субстрата фотокolorиметрическим методом с хромоген-

ным субстратом (биохимический анализатор STATFAX 1904 PLUS (США)) [12].

Активность нативного физиологического антикоагулянта протеина С определяли клоттинговым методом (коагулометр KSELMED K3002 (Польша)). Протеин С - витамин К-зависимый гликопротеин, который содержится в крови в виде профермента, под действием активатора протеин С активируется и действует как антикоагулянт, поэтому после добавления активатора протеина С к нормальной плазме происходит удлинение времени свертывания. При недостаточном количестве протеина С, протеина S или при резистентности фактора Va к действию протеина С удлинение времени свертывания выражено в меньшей степени [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных с венозными тромбозами различной локализации и разной степени тяжести выявлено увеличение концентрации специфических иммуноглобулиновых антител класса G к вирусам: CMV (в диапазоне от 0,449 до 4,008 Е), EBV-1 (в диапазоне от 0,69 до 1,51), а также антител IgG к *Mycoplasma hominis* (в диапазоне от 0,432 до 3,211). Частота встречаемости исследуемых вирусов была различной у больных венозными тромбозами различной локализации (табл.1).

Таблица 1

Частота встречаемости вирусной и бактериальной инфекции у больных венозными тромбозами различной локализации

Название инфекции	Частота встречаемости
Цитомегаловирус (CMV)	89%
Вирус Эпштейна - Барра (EBV-1)	48%
Микоплазма (<i>Mycoplasma hominis</i>)	69%

CMV у обследованных больных венозными тромбозами различной локализации встречался с частотой 89%, EBV-1 - 48%, причем у 40% наблюдалось конкурентное присутствие обоих патогенов, а также выявлено наличие антител IgG к *Mycoplasma hominis* у 69% больных. Полученные данные согласуются с данными других авторов [1].

Одной из основных защитных систем организма является система белков комплемента и ее функциями являются опсонизация (взаимодействие патогенов с C3b-компонентами комплемента для распознавания их фагоцитами), участие в реакциях воспаления, лизирующая

(антиген-зависимая и антиген-независимая) с образованием мембраноатакующего комплекса (как при классическом, так и при альтернативном пути активации комплемента) для внедрения в мембрану патогена и разрушения клетки [13]. Выявлено снижение активности белков системы комплемента в группе ТГВ до (0,90 ± 0,12) усл. ед. по сравнению с группой ТЭЛА (1,10 ± 0,17) усл.ед. и референтной группой (2,05 ± 0,10) усл.ед. (различия достоверны с референтными значениями (p<0,05), табл.2) и достоверное снижение активности белков системы комплемента в группе ТНПВ до (1,05 ± 0,21) усл.ед. по сравнению с референтной группой.

Таблица 2

Активность белков системы комплемента у больных с венозными тромбозами различной локализации

Показатель	Активность белков системы комплемента, усл.ед.
Референтные значения	2,05 ± 0,10
Тромбоз глубоких вен (ТГВ)	0,90 ± 0,12*
Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)	1,05 ± 0,21*
Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)	1,10 ± 0,17*

* - различия достоверны с референтными значениями (p<0,05).

Известно, что присутствие в организме сочетанной вирусной и бактериальной инфекции индуцирует накопление мелкодисперсных комплексов на базальных мембранах микроциркуляторного русла и создает условия для длительной активации белков комплемента, что приводит к отложению ЦИК на мембранах и развитию воспаления [14]. Длительное напряжение этой системы в результате наличия сочетанной вирусной и бактериальной инфекции у больных венозными тромбозами приводит также к явлению потребления белков системы комплемента, что вызывает снижение общей активности системы белков комплемента.

Способность лимфоцитов и мононуклеаров к фагоцитозу – один из важных защитных механизмов, относящихся к системе неспецифической иммунорезистентности.

Выявили изменения фагоцитарной активности гранулоцитарных нейтрофилов (ГН) у больных венозными тромбозами различной локализации. Наиболее выраженное снижение фагоцитарного индекса выявлено у больных ТНПВ (до 66%, в некоторых случаях – до 45%) (табл. 3). В 2 раза снижено фагоцитарное число в группе больных ТЭЛА - до (2,67 ± 0,32). Индекс завершенности фагоцитоза снижен на 20% в группе больных ТНПВ, что свидетельствует о снижении способности нейтрофилов к эндоцитозу.

Таблица 3

Показатели фагоцитарной активности гранулоцитарных нейтрофилов у больных с венозными тромбозами различной локализации

Группы	Показатель	Фагоцитарный Индекс, %	Фагоцитарное Число	Индекс Завершенности Фагоцитоза, %
Референтные значения		80,1 ± 4,9	5,50 ± 0,11	1,10 ± 0,20
Тромбоз глубоких вен (ТГВ)		82,3 ± 2,34	3,63 ± 0,24*	1,01 ± 0,04
Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)		66,0 ± 21,0	3,25 ± 1,49*	0,90 ± 0,06
Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)		74,4 ± 6,57	2,67 ± 0,32*	1,18 ± 0,14

* - различия достоверны по сравнению с референтными значениями (p<0,05).

При латентном течении сочетанной вирусной и бактериальной инфекции у пациентов с венозными тромбозами наблюдается снижение фагоцитарной активности ГН, т.е. способности фагоцитов поглощать чужеродные клетки.

В норме на следующем (конечном) этапе фагоцитирующие клетки осуществляют процессинг циркулирующих иммунных комплексов в фагосомах, и с помощью ферментов кислых гидролаз (катепсинов, липаз, гликозидаз) и лизоцима в присутствии активных форм кислорода элиминируют вирусные антигены вместе с клеткой-хозяином. Следовательно, способ-

ность фагоцитов расщеплять микроорганизмы зависит от функциональной активности их ферментных систем, а именно их способности образовывать активные формы кислорода, что изучено в тесте восстановления нитросинего тетразолия (табл.4).

При исследовании кислородзависимой системы цитотоксичности ГН с помощью НСТ-теста выявили, что у пациентов с венозными тромбозами различной локализации достоверно значительно повышен в спонтанном тесте процент положительных клеток, при этом его повышение в группе больных ТГВ достигало (28,7±12,3)% при референтном значении

(11,5±1,15)%, в группе ТНПВ до (30,3 ± 7,6)%, а в группе пациентов с тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) – до (60,75 ± 6,23)%, что свиде-

тельствует об антигенном раздражении вследствие бактериального воспаления, особенно выраженного в группе ТЭЛА.

Таблица 4

Активность ферментативных систем гранулоцитарных нейтрофилов у пациентов с венозными тромбозами различной локализации (по результатам НСТ-теста)

Показатель \ Группа	Референтные значения	Тромбоз глубоких вен (ТГВ)	Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)	Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)
Спонтанный НСТ-тест				
% положительных клеток спонтан	11,50 ± 1,15	28,7 ± 12,3	30,3 ± 7,6*	60,75 ± 6,23*
Средний цитохимический коэффициент спонтан СЦК (СП)	1,15 ± 0,12	0,44 ± 0,18*	0,56 ± 0,24*	0,92 ± 0,11
Стимулированный НСТ-тест				
% положительных клеток стимулир	60,0 ± 6,7	52,0 ± 7,3	47,4 ± 5,8	90,75 ± 2,33*
Средний цитохимический коэффициент стимулир СЦК (СТ)	1,15 ± 0,12	0,94 ± 0,30	0,78 ± 0,21	1,48 ± 0,09
Индекс стимуляции (ИС)	7,51±1,26	1,61 ± 0,19*	1,39 ± 0,22*	1,43 ± 0,15*

* - различия по сравнению с референтной группой достоверны (p<0,05).

Количество положительных клеток в стимулированном НСТ-тесте в группах пациентов с ТГВ и ТНПВ свидетельствовало о несколько сниженных резервных возможностях внутриклеточных ферментных систем фагоцитов, тогда как в группе больных ТЭЛА достоверно превысило значения референтной группы.

Средние цитохимические коэффициенты (СЦК) в спонтанном и стимулированном НСТ-тестах (СЦК (СП) и СЦК (СТ)) были снижены в группах пациентов с ТГВ и ТНПВ, что свидетельствует о недостаточном количестве ферментов для реализации кислород-зависимого фагоцитоза. Во всех трех группах наблюдалось значительное снижение индекса стимуляции (ИС), следовательно, снижение резерва чувствительности НГ к стимуляции наблюдалось у больных с венозными тромбозами всех локализаций. Чрезмерная активация ГН ведет к истощению их защитных функций и служит неблагоприятным прогностическим признаком.

Таким образом, у больных венозными тромбозами всех локализаций выявлены нарушения неспецифических факторов резистентности: снижена активность белков системы комплемента, снижена фагоцитарная активность гранулоцитарных нейтрофилов и их способность вырабатывать биоокислительные системы, что приводит к неполному перевариванию чужеродных антигенов. Наибольшие изменения выявлены в группе больных тромбозом ниж-

ней полой вены, у которых наиболее снижены фагоцитарный индекс, индекс завершенности фагоцитоза и все показатели стимулированного НСТ-теста.

Лимфоцит реагирует с теми антигенами, которые комплементарны к его иммуноглобулиновым рецепторам. Поскольку активация белков системы комплемента происходит опосредованно с участием иммуноглобулинов, которые связывают антиген (функция опсонизации) и образуют иммунные комплексы, активация фагоцитоза связана также с продукцией иммуноглобулиновых антител.

В группе ТГВ выявлено сниженное содержание иммуноглобулина А, в группе ТЭЛА выявлено повышенное содержание иммуноглобулина М по сравнению с данными референтной группы (табл. 5), но достоверных изменений не выявлено. При Т-независимом иммунном ответе стимуляция В-лимфоцитов приводит к значительному возрастанию концентрации антител IgM [14], что проявляется в группе больных с ТЭЛА (повышение на 90%). В этой группе повышена частота встречаемости пациентов с *M. hominis*, что хорошо согласуется с повышенной концентрацией иммуноглобулина М.

В первой фазе иммунные комплексы другим рецептором связываются с антиген-распознающими рецепторами В-лимфоцитов, затем происходит пролиферация В-лимфоцитов.

Таблица 5

Изменение показателей гуморального иммунитета - концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови пациентов с венозными тромбозами различной локализации

Группа	Показатель	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
Референтные значения		3,00 ± 0,67	1,15 ± 0,22	12,50 ± 1,55
Тромбоз глубоких вен (ТГВ)		2,44 ± 0,91	1,31 ± 0,61	11,88 ± 3,35
Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)		3,48 ± 0,74	1,2 ± 0,46	14,00 ± 2,72
Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)		3,63 ± 0,57	2,25 ± 0,41	12,23 ± 2,41

Во всех группах пациентов наблюдается снижение кластеров дифференцировки CD 19⁺ и CD 20⁺ (табл. 6), что свидетельствует о том, что у обследованных пациентов образуется мало специализированных В-лимфоцитов, которые

являются продуцентами иммуноглобулинов. Может происходить селекция В-лимфоцитов в плазматические клетки с последующей продукцией антител к вирусам.

Таблица 6

Изменение показателей гуморального иммунитета - уровень кластеров дифференцировки лимфоцитов CD 19⁺, CD 20⁺, характеризующих В-лимфоциты как продуценты иммуноглобулинов, у больных с венозными тромбозами различной локализации

Кластер дифференцировки	Группа	Референтные величины	Тромбоз глубоких вен (ТГВ)	Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)
			Экспрессия CD, %	Экспрессия CD, %
CD 19 ⁺ , %		12,5 ± 4,0	14,2 ± 2,10	10,0 ± 0,03
CD 20 ⁺ , %		18,0 ± 1,26	16,0 ± 1,12	14,0 ± 1,98

Таким образом, во всех группах пациентов с венозными тромбозами различной локализации наблюдается снижение продукции иммуноглобулинов классов А, М, G разной степени и снижение количества В-лимфоцитов – продуцентов иммуноглобулинов.

Иммунные комплексы антиген-антитело (ЦИК) образуются в организме постоянно как физиологический механизм защиты, приводящий к быстрой элиминации эндогенных или экзогенных агентов через ретикуло-эндотелиальную систему. Клиренс ЦИК нарушается при дефицитах отдельных компонентов комплемента классического пути (C1q, C1r и

C1s, C4 или C2) и уровень ЦИК повышается. При недостатке компонентов комплемента ЦИК преципитируют и откладываются преимущественно на сосудистой стенке и на структурах, экспрессирующих Fc-рецепторы, например, на базальных мембранах. В результате развивается иммунокомплексная патология. Преципитация ЦИК вызывает различные эффекты: активируется система комплемента по классическому пути, вследствие чего выделяются анафилатоксины (C3a, C4a, C5a), активируются макрофаги, инициирующие развитие местного воспалительного процесса с привлечением тучных клеток и нейтрофилов [10].

Таблица 7

Содержание циркулирующих иммунных комплексов и пептидов средней молекулярной массы в сыворотке крови пациентов с венозными тромбозами различной локализации

Группа	Показатель	ЦИК, Усл. ед.	Константа ЦИК, Усл. ед.	ПСММ, Усл. ед.
Референтные значения		98,3 ± 21,1	1,3 ± 0,4	0,233 ± 0,012
Тромбоз глубоких вен (ТГВ)		108,8 ± 5,8	1,04 ± 0,06	0,311 ± 0,018
Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)		127,0 ± 3,0	1,35 ± 0,15	0,319 ± 0,028
Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)		125,2 ± 10,6	1,24 ± 0,07	0,344 ± 0,032

При острых тромбозах нижней полой вены и тромбоземболии легочной артерии выявлены высокие значения концентрации ЦИК ((127,0 ± 3,0) усл.ед. и (125,2 ± 10,6) усл.ед. соответственно) (табл.7). Повышение ЦИК при сниженных и нормальных концентрациях сывороточных иммуноглобулинов связано с наличием высокого титра антигенов (например, вирусного происхождения) и явлением потребления сывороточных иммуноглобулинов [10, 14], что выявлено при ТНПВ и ТЭЛА. Сниженная величина константы ЦИК в группе пациентов тромбозом глубоких вен сигнализирует о конформационных изменениях ЦИК (малом размере ЦИК) и возможности в связи с этим преципитации ЦИК в тканях [10].

В группах пациентов ТНПВ и ТЭЛА, где повышена концентрация ЦИК больших размеров (табл.7), снижена способность гранулоцитарных нейтрофилов поглощать чужеродные антигены, например циркулирующие иммунные комплексы (согласуется с данными табл.3). Высокие концентрации циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови свидетельствуют также об интоксикации на фоне сочетанной вирусной и бактериальной инфекции.

Пептиды средней молекулярной массы (ПСММ) – вторичные эндогенные токсины пептидной природы, появление которых связано с активацией протеолитических ферментов в крови и нарушением их элиминации. Известно, что повышение фракции ПСММ расценивается как признак развития эндогенной интоксикации при воспалительных процессах, перитонитах, менингитах, печеночной и почечной недоста-

точности, ожоговой интоксикации, а также инфекционных интоксикациях [11]. Максимальное повышение концентрации ПСММ наблюдается в группе ТЭЛА (0,344 ± 0,032 усл.ед.) (табл.7), также выявлена высокая концентрация ПСММ в группах пациентов с ТНПВ (0,319 ± 0,028 усл.ед.) и ТГВ нижних конечностей (0,311 ± 0,018 усл.ед.), что говорит о высоком уровне интоксикации, связанной с присутствием сочетанной вирусной и бактериальной инфекции. Учитывая высокую биологическую активность пептидов средней молекулярной массы, у пациентов исследуемых групп возможны проявления нейротоксического действия ПСММ, угнетение процессов биосинтеза белка, подавление активности ряда ферментов (разобщение процессов окисления и фосфорилирования), возникновение состояний вторичной иммунодепрессии, токсическое влияние на эритропоэз, увеличение проницаемости мембран и изменение сосудистого тонуса.

Противовирусный иммунитет осуществляет система Т-лимфоцитов, которая на иммунорегуляторной стадии антиинфекционного иммунного ответа играет роль регуляторного механизма.

CD 3⁺ - участвует в узнавании антигена и его связывании с Т-лимфоцитом, в последующей передаче сигнала, экспрессируется на зрелых Т-клетках. Во всех группах наблюдается снижение экспрессии CD 3⁺, особенно в группе ТЭЛА (на 30%), в группе тромбоза нижней полой вены на 45%, что характерно для иммунодефицита (табл.9).

Таблица 9

Уровень субпопуляций лимфоцитов CD 3⁺, CD 4⁺, CD 8⁺ у больных с венозными тромбозами разной локализации

Группа CD	Референт-ные величины	Тромбоз глубоких вен (ТГВ)	Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)	Тромбоземболия легочной артерии (ТЭЛА)
		Экспрессия CD, %	Экспрессия CD, %	Экспрессия CD, %
CD 3 ⁺ , %	62,0±6,5	53,33 ± 5,87	34,5±1,5*	45,2±3,02*
CD 4 ⁺ , %	38,3±6,5	35,33 ± 3,77	19,5±2,5*	39,0±0,02
CD 8 ⁺ , %	23,4±4,4	26,5 ± 5,84	15,0±0,03*	23,6±5,86

* - достоверные различия по сравнению с референтной группой (p<0,05).

CD 4⁺ - участвует в антиген-индуцированной активации Т-клеток; регуляции адгезии Т- и В-лимфоцитов, преимущественно экспрессируется на субпопуляции зрелых Т-хелперов. Наблюдается снижение экспрессии CD4⁺ на 40% в группе больных тромбозом нижней полой вены, что свидетельствует о нарушении в этой группе каскада адгезии, дефектности антителопродукции и реакций клеточно-опосредованного иммунитета.

При недостаточной эффективности опсопинов (белков системы комплемента и иммуноглобулинов, что наблюдается в исследуемых группах) в элиминации инфекционных антигенов участвуют цитотоксические Т-лимфоциты – киллеры посредством перфорин-гранзимовых механизмов (сериновых протеаз) - агрессивный цитотоксический эффект CD 8⁺ - Т-киллеров [13, 14].

CD 8⁺ - функционирует в качестве корцептора при активации Т-клеток, представлен на субпопуляции зрелых цитотоксических Т-лимфоцитов, участвует в распознавании антигенных пептидов. Наблюдалось повышение экспрессии CD 8⁺ в группе больных тромбозом глубоких вен (ТГВ) на 10-12%. Увеличение экспрессии маркеров цитотоксических лимфоцитов CD 8⁺ можно рассматривать как снижение аутоиммунного компонента за счет аутолизующей функции Т-клеточного звена. В группе больных ТНПВ экспрессия CD 8⁺ снижена на 40%.

Для осуществления распознавания и элиминации вирусных антигенов субпопуляциями Т-лимфоцитов большую роль играет HLA-DR⁺ - лейкоцитарный антиген главного комплекса гистосовместимости II класса, главный положительный регулятор лимфоцитов, которые задействованы в распознавании и элиминации вирусных антигенов [13, 14]. В группе пациентов с ТГВ с большой давностью заболевания выявлено компенсаторное повышение HLA-DR⁺ до (43,00 ± 5,62)%, при ТЭЛА до (40,00 ± 6,11)%.

Таким образом, в группах больных с венозными тромбозами различной локализации наблюдается нарушение процессов рецепции или распознавания инфекционных антигенов, что нарушает прохождение стадии индукции, при которой антигенпрезентирующие клетки осуществляют процессинг и презентацию антигена фагоцитам (об этом свидетельствует снижение активности белков системы комплемента, снижение фагоцитарной активности и активности ферментативных систем гранулоцитарных нейтрофилов, уменьшенная экспрессия кластеров дифференцировки CD 3⁺, CD 4⁺, изменение экспрессии молекул главного комплекса гистосов-

местимости HLA-DR II класса (компенсаторное повышение при длительно персистирующей инфекции). Таким образом, можно предполагать нарушение работы распознающих рецепторов TLR 3, TLR 6, TLR 7, TLR 8, TLR 9.

Запуск каскада активации комплемента формирующимися иммунными комплексами приводит к образованию его различных фрагментов, обуславливающих в организме процессы, нормальный ход которых нередко изменяется при нарушениях в системе комплемента [10]. Так, активация белков системы комплемента может непосредственно влиять на индукцию фибринолитической системы через активацию плазминогена, взаимодействующего с Фактором XIIa (Фактор Хагемана) [15].

Тромбоз возникает при нарушении баланса между тромбогенными факторами, факторами антикоагулянтной, противосвертывающей и фибринолитической систем [15] и иммунофизиологическими реакциями. Снижение концентрации нативных физиологических антикоагулянтов – ингибиторов факторов свертывания, таких как антитромбин III и протеин С, на фоне увеличения тромбогенных плазменных факторов коагуляции в сочетании с усилением агрегации тромбоцитов на фоне иммунокомплексной сывороточной болезни и вирусного повреждения эндотелия сосудистой стенки увеличивает риск тромбообразования [12, 16-19].

Выявлены различные виды недостаточности нативных физиологических антикоагулянтов в группах больных с венозными тромбозами (табл.8). В группе больных тромбозами глубоких вен активность антитромбина III составила (78,09 ± 4,06)%, из них 40% - в интервале недостаточности, в системе протеина С недостаточности не выявлено.

Таблица 8

Активность нативных физиологических антикоагулянтов антитромбина III и протеина С у больных с венозными тромбозами различной локализации

Группа	Показатель	Активность антитромбина III, %	Активность протеина С (нормированный показатель)
Референтные значения		110,0 ± 21,2 недостаточность ≤ 80%	В норме >0,7; недостаточность < 0,7
Тромбоз глубоких вен (ТГВ)		78,09 ± 4,06 Из них 40% ≤ 80%	0,94 ± 0,11 Из них НЕТ < 0,7
Тромбоз нижней полой вены (ТНПВ)		66,17 ± 16,18 Из них 67% ≤ 80%	0,68 ± 0,04 Из них 14% < 0,7
Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА)		92,18 ± 5,72 Из них 45% ≤ 80%	0,78 ± 0,12 Из них 50% < 0,7

В группе пациентов с тромбозом нижней полой вены наблюдается наиболее сниженная активность антитромбина III (66,17 ± 16,18)% и наибольшая частота встречаемости недоста-

точности этого нативного антикоагулянта (67%), а также недостаточность в системе протеина С у 14% больных.. Несколько большей была частота встречаемости недостаточности антитромбина

III (45%) в групі больних ТЭЛА, при цьому при дослідженні активності протеїна С його недостаточність в цій групі була виявлена у 50% пацієнтів. Активізація системи нативних фізіологічних антикоагулянтів безпосередньо взаємозв'язана з білками системи комплементу. Около 60% протеїна S, який являється кофактором нативного фізіологічного антикоагулянта протеїна С в формі вільної фракції, знаходиться в плазмі в зв'язаному вигляді з С4b-фракцією комплементу [16]. Системний запальний відповідь супроводжується збільшенням концентрації фрагмента комплементу - протеїна С4bBP, що може призводити до дефіциту вільної фракції протеїна S, що порушує регуляцію каскаду коагуляції і зменшує антикоагулянтний потенціал активованого протеїна С [17].

Таким чином, у больних з венозними тромбозами різної локалізації виявлені багаторічні порушення гемостазу, що виникають на фоні поєднаної вірусної і бактеріальної інфекції, а саме різні види недостаточності нативних фізіологічних антикоагулянтів, що може бути пов'язано з недостаточністю системи комплементу.

Для коагулопатических захворювань високу діагностичну цінність має дослідження експресії молекул адгезії і їх лігандів (CD31⁺, CD 50⁺, CD 54⁺, CD 89⁺, CD 162⁺) (табл.10). Процес переходу нейтрофілів в ткани (діapedез) забезпечують молекули адгезії PECAM-1 (CD 31⁺), експресуються як мігруючими нейтрофілами, так і ендотеліальними клітками. При цьому нейтрофіли «протискаються» в щілині між ендотеліальними клітками посткапілярних венул завдяки розходженню міжкліткових контактів. PECAM-1 опосередковує тромбоцитарно-ендотеліальну адгезію через гомофільне взаємодія і грає важливу роль в регуляції адгезії до ендотелію окремих субпопуляцій Т-лімфоцитів. Експресія даного рецептора достовірно зменшена на 31,25% у больних з ТЭЛА до (11,0±0,02)% і на 20% у пацієнтів з ТГВ до (13,14 ± 3,29)% (табл. 10), що може призводити до підвищеному ризику агрегації тромбоцитів на ендотелі венозної стінки і формуванню пристіночного шару Т-лімфоцитів у поверхні ендотелію.

Таблиця 10

Експресія молекул адгезії CD31⁺, CD 50⁺, CD 54⁺, CD 89⁺, CD 162⁺ у больних з венозними тромбозами різної локалізації

CD	Група	Референтні величини	ТГВ	ТЭЛА
			Експресія CD, %	Експресія CD, %
CD 31 ⁺ , %		16,0 ± 3,34	13,14 ± 3,29	11,0±0,02*
CD 50 ⁺ , %		32,8 ± 3,1	51,17 ± 4,00*	
CD 54 ⁺ , %		18,5 ± 3,6	14,67 ± 1,61	12,0±0,01*
CD 89 ⁺ , %		30,0 ± 3,0	4,86 ± 1,98*	
CD 162 ⁺ , %		57,0 ± 10,7	19,17 ± 6,85*	

* - достовірні відмінності порівняно з референтною групою (p<0,05).

CD 50⁺ (ICAM-3) – рецептор молекул адгезії і ко-стимуляторна молекула, експресується на всіх (незрілих і зрілих) лейкоцитах і ендотеліальних клітках, регулює диференціювання лейкоцитів, бере участь в ініціації імунної відповіді (взаємодія Т-лімфоцитів з антиген-презентуючими клітками), має не тільки адгезійну функцію, але і функцію сигнальної молекули (ліганд β2 – інтегрин (CD11a/CD18)). В групі ТГВ достовірно підвищена експресія рецептора молекул адгезії CD50⁺ (51,17 ± 4,00)% на лейкоцитах (табл. 10).

CD 54⁺ - ICAM-1 (молекула міжкліткової адгезії), експресується на активованих ендотеліальних клітках, Т-лімфоцитах і активованих В-лімфоцитах, ліганд β2 – інтегрин (CD11a/CD18 і CD11b/CD18). Активізація даного рецептора відбувається під впливом цитокінів (інтерлейкіна -1, γ-інтерферону,

фактора некрозу опухолі). Зменшення експресії CD 54⁺ до (14,67 ± 1,61)% в групі ТГВ і до (12,0±0,01)% в групі ТЭЛА може бути наслідком зв'язування рецепторів з різними вірусними лігандами (ефект вживання). Зменшення експресії CD 54⁺ свідчить про неспроможність неспецифічного міжкліткового взаємодія і порушенні механізму лізису патологічного осередку, оскільки даний рецептор є рецептором для ефекторів імунітету, в тому числі вірусних антигенів.

В групі больних ТГВ досліджували експресію CD89⁺ – низкомолекулярного Fc-фрагмента рецептора іммуноглобуліна А (FCAR) на мембранах нейтрофілів, моноцитів, макрофагів, еозинофілів, де він опосередковує передачу іммунологічного відповіді патогенам, взаємодіяючи з IgA-опсонізованими цілями і інду-

цирует такие иммунологические процессы, как фагоцитоз и респираторный взрыв, антителозависимую клеточную цитотоксичность, стимуляцию высвобождения медиаторов воспаления. Более чем в 6 раз снижена экспрессия CD 89⁺ в группе больных с ТГВ до (4,86 ± 1,98)%, при референтных значениях (30,0 ± 3,0)%, что может являться дополнительным свидетельством наличия сочетанной персистирующей инфекции. У этих больных выявлено значительное снижение адгезии и эндоцитоза фагоцитирующих клеток, хорошо согласуясь со сниженными параметрами фагоцитоза и результатами НСТ-теста.

CD162⁺ – лиганд Р-селектина, т.е. высокоаффинный рецептор Р-селектина, экспрессированный на стимулированных Т-лимфоцитах. Активацию рецепторов к Р-селектину вызывает активация тромбоцитов. Р-селектин находится в α-гранулах и выделяется тромбоцитарной мембраной, реализуя связывание тромбоцитов с лейкоцитами в разнообразных клинических ситуациях. В этом случае контакт с тромбоцитами приводит к разнообразным реакциям со стороны лейкоцитов, в результате которых последние выделяют цитокины и адгезивные протеины, формируя воспалительный ответ. В группе больных ТГВ наблюдается 3-кратное снижение экспрессии CD162⁺, что может приводить к нарушению продукции цитокинов и адгезивных протеинов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные изменения иммунного ответа на фоне вирусной персистенции у больных с венозными тромбозами различной локализации характеризуются нарушением первичных факторов резистентности и изменением показателей вторичного адаптивного иммунитета. Иммунорегуляторная стадия у пациентов всех групп с венозными тромбозами различной локализации также претерпевает негативные изменения: снижена экспрессия CD 4⁺ как основных «действующих лиц» этой стадии, что недостаточно для адекватного формирования клеточного иммунного ответа.

Эффекторная стадия антиинфекционного иммунитета – негативно изменена: снижено количество В-лимфоцитов – продуцентов иммуноглобулиновых антител, наблюдается гипоиммуноглобулинемия (Ig M), снижена рецепция иммуноглобулинов (снижение экспрессии CD 89⁺), снижение цитотоксических CD 8⁺- Т-лимфоцитов в группе больных тромбозом нижней полой вены.

Таким образом, проявление коагулопатической ситуации в виде венозного тромбоза является финальным событием в каскаде иммунных и физиологических реакций, запускающим (триггерным) механизмом которого нередко

является вирусная и/или бактериальная инфекция. Повторение подобной коагулопатической ситуации возможно при обострении или переходе инфекции из одной формы в другую. В связи с этим необходимо проведение терапии в трех направлениях: коррекция нарушений гемостаза как терапия по жизненным показаниям, направленная противовирусная терапия специфическими противовирусными иммуноглобулинами для удаления триггерного фактора, иммунокоррекция (активация цитотоксической Т-клеточной субпопуляции путем назначения иммуномодуляторов) для разблокирования глубинных иммунных механизмов и усиления противоинфекционного иммунитета с целью предотвращения предпосылок формирования коагулопатических ситуаций, связанных с последствиями сочетанной вирусной и бактериальной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Imbronito A. V. Detection of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in coronary atherosclerotic tissue / A. V. Imbronito, S. L. Marcelino, S. R. Grande, F. D. Nunes, G. A. Romito // Brazilian J. Microbiology. – 2010. – V. 41. – P.563-566.
2. Kimura H. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection / H. Kimura, Y. Hoshino, H. Kanegane et al. // Blood. - 2001. - Vol. 98, №215. - P.280-286.
3. Климова Е.М., Бойко В.В., Криворучко И.А. и соавт. Персистирующая вирусная инфекция, сывороточные антитела и хромосомная нестабильность при миастении // Клінічна хірургія. – 2000. - №7. – С.14 - 16.
4. Исаков В.А. Герпес: патогенез и лабораторная диагностика. Руководство для врачей / В.А. Исаков, В.В. Борисова, Д.В. Исаков. СПб.: «Лань», 1999. -192с.
5. Колкова Н.И. К вопросам диагностики хламидийных инфекций / Н.И. Колкова, В.Р. Мартынова // Клин. лаб. диагностика. - 1998. - №2. - С.20-21.
6. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге // Новосибирск: Наука, Сибирское отделение. – 1983. – 254с.
7. Вавилова Л.М., Голосова Т.В. Система компонента: механизмы активации и регуляции значений в биологии и медицине // Итоги науки и техники. Сер. Иммунология. – М.: ВИНТИ, 1990. – Т.24. - №4. – С. 42 – 46.
8. Гамалея Н.Б., Мондрус К.А. Сравнение двух методов определения иммуноглобулинов классов А, М, G (спектрофотометрия и радиальная иммунодиффузия) // Клин. лаб. диагностика. – 1994. - №1. – С. 6-7.

9. Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов // Лаб. дело. – 1981. - №8. – С. 493.
10. Константинова Н.А. Иммунные комплексы и повреждение тканей. – М.: Медицина. – 1996. – 256с.
11. Макарова Н.П., Коничева И.Н. Синдром эндогенной интоксикации при сепсисе // Анестезиол. и реаниматол. – 19195. - №6. – С. 4 – 6.
12. Дмитриев В.В. Практическая коагулология // Минск.: Бел. Наука. – 2004. – 544с.
13. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: пособие для студентов, врачей – интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей. – 4-е изд., доп. – К., 2010. – 552с.
14. Казмирчук В.Е., Мальцев Д.В. Диагностика и лечение инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр (вирусом герпеса человека 4 типа). Методические рекомендации // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2011. - №3 (42). – С 27 – 32.
15. Волков Г.Л. Современные представления о системе гемостаза // Волков Г.Л., Платонова Т.Н., Савчук А.Н., Горницкая О.В., Чернышенко Т.М., Краснобрижая Е.Н. Киев.: Наукова думка. – 2005. – 296с.
16. Samama M.M., Conard J., Horellon M.H. et al. Ch.4. Coagulation abnormalities predisposing to the development of deep vein thrombosis // Prevention of venous thromboembolism / Eds. D. Bergquist, A.J. Cometota, A.N. Nicolaidis et al. – Med-Orton, 1994.
17. de Frutos G., Alim R.I.M., Hardig Y. et al. Differential regulation of aa and bb chains of C4b-binding protein during acute phase response resulting in stable plasma levels of free anticoagulant protein S // Blood. – 1994. – V. 84. – P.815 – 822.
18. Kreutz R., Bliden K., Tantry U., et al. Viral respiratory tract infections increase platelet reactivity and activation: an explanation for the higher rates of myocardial infarction and stroke during viral illness // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2005. - № 3. – P.2108-2109.
19. Vercellotti GM. Proinflammatory and procoagulant effects of herpes simplex infection on human endothelium. Blood Cells. 1990; 16(1): 209-15.

УДК 616.913-036.22:504.058

ОЦІНКА ЕПІДЕМІЧНОЇ СИТУАЦІЇ З ДИФТЕРІЙНОЇ ІНФЕКЦІЇ В УМОВАХ ДІЇ МЕДИКО-ЕКОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ

*ЧОП'ЯК В. В. *, ПОДАВАЛЕНКО А. П. **, ГОЛОВЧАК Г. С. **, РЄЗНИКОВ А. П. ***, МОРОЗ В. О. ****

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

**Харківська медична академія післядипломної освіти

***Рівненська обласна санітарно-епідеміологічна станція

Вступ. Захворюваність на інфекції, що контролюються засобами специфічної профілактики, залежить, в першу чергу, від інтенсивності циркуляції збудників інфекційних хвороб, ефективності імунопрофілактики та дії соціальних факторів [1, 2, 3, 9, 10]. У період зниження захворюваності на аерозольні контрольовані інфекції циркуляція серед населення збудників цих інфекцій може підтримуватися особами, які мають порушення в імунній системі [2, 11]. Відомо, що найсприйнятливішими до інфекцій дихальних шляхів є особи з хронічною соматичною патологією ЛОР-органів [6, 8], які при ускладненні епідемічної ситуації з крапельних інфекцій можуть сприяти їх розповсюдженню.

Дифтерія відноситься до контрольованих інфекцій з аерозольним механізмом передачі.

У сучасних умовах в Україні спостерігається значне зниження захворюваності на дифтерію та носійство коринібактерій дифтерії [4]. Проте фахівці висловлюють застереження, що після багатьох років благополуччя можливий епідемічний підйом захворюваності на дифтерію [13, 14]. Тому важливо в період реєстрації низьких показників захворюваності на дифтерію своєчасно виявляти та усувати негативні фактори, які можуть призвести до активізації епідемічного процесу цієї інфекції.

Зважаючи на вищезазначене, метою роботи стала оцінка епідемічної ситуації з дифтерійної інфекції в умовах дії несприятливих факторів в період зниження циркуляції збудників дифтерії на різних за медико-екологічною характеристикою територіях України.