

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВИУСИДА У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ С ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ А И В

Д.А. Мусаходжаева

Научно-исследовательский институт вирусологии и клинический Институт эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней, Институт иммунологии Академии наук Республики Узбекистан

Актуальность исследований. Вирусные гепатиты относятся к числу наиболее распространенных инфекционных заболеваний в любом возрасте. Вирус обнаруживается как у лиц с активной формой заболевания, так и, что более существенно, при хроническом течении вирусных гепатитов. Несмотря на значительные успехи современной гепатологии, вопрос патогенетически обоснованного лечения больных вирусными гепатитами остается открытым. Клиническая практика показывает необходимость комплексного подхода к лечению вирусных гепатитов с включением средств, влияющих на иммунную систему, репликацию вируса, воспалительный и пролиферативный процессы.

Применение противовирусных препаратов - виразола, ацикловира, аденин-арабинозида, иммуномодуляторов - декариса, диуцифона, вакцины БЦЖ - показало их определенную эффективность в лечении больных вирусным гепатитом В. Основным недостатком указанных препаратов является в ряде случаев временное снижение репликативной активности вируса гепатита В, их высокая токсичность, неблагоприятное влияние на клинико-иммунологические показатели, а также высокая стоимость. Определенные результаты были получены при применении препарата тимусной природы - тактивина, под влиянием которых было достигнуто снижение титра HBs-антигена в крови. Наиболее признанным в лечении хронических гепатитов в мировой практике является применение интерферона. Однако, значительная часть больных с начала лечения не чувствительна к интерферонам, положительные результаты в ряде случаев носят временный характер. После отмены препарата вновь регистрируется высокая репликативная активность вируса. Учитывая, что стабильные положительные результаты лечения интерфероном при гепатите В удается получить у 20-40% больных, обоснованным является дальнейший поиск лечебных средств при данном заболевании.

Результаты исследования показали, что препарат ВИУСИД обладает способностью восстанавливать нарушенные функции иммунной системы, в частности, подавлять развитие иммунопатологического процесса путем активации иммурегуляторных клеток, стимулировать фагоциты и продукцию противовирусных антител. ВИУСИД, по-видимому, стимулирует монооксигеназную систему печени, обеспечивающую процессы

детоксикации, восстанавливает структуру поврежденных клеток печени. В задачу исследования входило определение методом ПЦР наличия ДНК вируса гепатита В и оценка состояния иммунной системы у больных различными формами вирусного гепатита А и В в процессе применения препарата.

В отделении гепатитов Научно-исследовательского института инфекционных заболеваний проведено обследование и лечение 129 больных вирусными гепатитами. Из них с гепатитом А (НВА) - 53 больных ребенка, с гепатитом В (НВВ) - 76 больных (из них - 38 детей в возрасте от 2 до 13 лет и 38 взрослых в возрасте от 18 до 36 лет). Контрольную группу составили 27 практически здоровых детей того же возраста и 30 здоровых взрослых в возрасте от 18 до 36 лет. Исследования проводили до лечения, после традиционного лечения и после традиционного лечения в сочетании с ВИУСИДОМ.

При вирусном гепатите В взрослым больным в течение 30 дней препарат назначали по 2 пакета 3 раза в день, в следующие 30 дней по 2 пакета два раза в день. Начиная с третьего мес. до шестого рекомендовано назначать ВИУСИД по 2 пакета 1 раз в день. С 6-го мес. до 1 года - по 2 пакета 2 раза в неделю. Доза ВИУСИДА для детей - 1 пакет 2 раза в день в течение года. При вирусном гепатите А препарат назначали взрослым и детям в течение 10 дней.

Иммунологические исследования проведены в группе иммуноморфологии лаборатории генодиагностики Института иммунологии АН РУЗ в соответствии с рекомендациями Института иммунологии Минздрава России, которое включало:

- определение содержания лейкоцитов, относительного и абсолютного числа лимфоцитов;
- определение относительного и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов;
- определение фагоцитарной активности нейтрофилов и концентрации иммуноглобулинов G, A, M в сыворотке крови.

Кровь для исследования забирали из локтевой вены в пробирки с гепарином (25 ед/мл). Выделение лимфоцитов из венозной крови проводили по общепринятому методу Boyum A в градиенте плотности фиколл-верографина (1,077). Содержание популяционного состава лимфоцитов в периферической крови определяли при помощи моноклональных антител (ЗАО "Сорбент-сервис", Москва) к маркерам CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-киллеры), CD16 (естественные киллеры), CD20 (В-лимфоциты). Принцип метода заключался в прикреплении к поверхности лимфоцитов эритроцитов человека, сенсibilизированных моноклональными антителами ЛТ.

Количество образовавшихся "розеток" выражали в процентах (относительный показатель).

Содержание иммуноглобулинов определяли методом радиальной иммунодиффузии по Mancini (применяли моноспецифические сыворотки НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи, Москва). Фагоцитарную активность лейкоцитов определяли по методу Кудрявцевой путем инкубации смеси лейкоцитов и латексных частиц при 37° С 30 мин. (использовали меламиноформальдегидный латекс, (1,5 микрон) производство ГНЦ ВНИИБП, Москва).

Для обнаружения ДНК вируса гепатита В использовался метод полимеразной цепной реакции, с использованием набора реагентов "Авиценна-НВУ-ПЦР", Москва. Детекцию ПЦР-продукта проводили методом электрофореза в агарозном геле, окрашенном этидиум бромидом, в УФ-свете при длине волны 302 нм. По наличию специфического фрагмента амплификации размером 150 пар нуклеотидов судят о присутствии ДНК вируса гепатита В человека в анализируемом материале. Регистрацию результатов проводили визуально. Для проведения метода была использована кровь из локтевой вены, которая собиралась в специальные пробирки с раствором ЭДТА, в объеме 5 мл.

Обследовано 50 чел. до лечения и 39 чел. после лечения. Одновременно с ПЦР методом проводились серологические методы обследования с использованием тест-систем "Serodia", Япония. Отмечена определенная клиническая эффективность в результате проведения общепринятого лечения. Однако, результаты по изучению динамики иммунного статуса показали незначительное влияние проведенной терапии на измененные параметры иммунитета (различия не достоверны).

После курса ВИУСИДА увеличилось относительное количество лимфоцитов. Относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов в группе детей в среднем увеличилось с $44,4 \pm 0,6\%$ и 676 ± 90 в 1 мкл до $50,0 \pm 1,0\%$ и 999 ± 104 в 1 мкл (соответственно) ($p < 0,001$), количество CD4+клеток (Т-хелперы) повысилось в среднем до $30,7 \pm 0,6\%$ по сравнению с показателями до лечения - $26,2 \pm 0,4\%$ и после общепринятого лечения ($p < 0,001$). Количество CD8+клеток Т-киллеров возросло с $15,3 \pm 0,4$ до $17,9 \pm 0,3\%$, приближаясь к показателям контрольной группы ($p < 0,001$). Наблюдалась тенденция к снижению исходно повышенного относительного количества CD16+клеток (естественных киллеров).

Фагоцитарная активность достоверно возросла в группе детей и взрослых до $53,8 \pm 1,4\%$ в среднем по сравнению с соответствующими данными до лечения ВИУСИДОМ и после традиционной терапии ($42,7 \pm 1,7\%$, $45,6 \pm 2,9\%$ соответственно). Выявлена тенденция к нормализации

иммуноглобулина G. Содержание иммуноглобулина M не изменилось по сравнению с соответствующими показателями после общепринятого лечения.

Заключение

Выявлена иммунокорректирующая эффективность ВИУСИДА у детей и взрослых с вирусными гепатитами А и В, что проявлялось в нормализации исходно измененного содержания Т-л, Т-хелперов, Т-киллеров, естественных киллеров, увеличении фагоцитарной активности нейтрофилов. При действии традиционной терапии достоверных изменений исследованных показателей не обнаружено.