

## **Ефективність нових противірусних препаратів – Амізону та Протефлазиду в лікуванні хворих з тяжкою формою епідемічного паротиту**

**І.В. Лоскутова**

*Луганський державний медичний університет, відділ екологічної генетики і імунології Українського наукового центру медичної генетики АМН України*

За останні роки збільшилася захворюваність на епідемічний паротит (ЕП) серед дорослого населення, причому у дорослих молодого віку ЕП перебігає більш тяжко, ніж у дітей і нерідко з розвитком ускладнень та супроводжується суттєвими порушеннями з боку імунних показників [1, 10, 12]. Було також встановлено, що у хворих з ЕП з самого початку захворювання, особливо в періоді розпаду патологічного процесу, суттєво знижується рівень сироваткового інтерферону, що в патогенетичному плані сприяє розвитку ускладнень [6, 11, 12]. Наявність значних порушень імунологічної реактивності у хворих з ЕП створює необхідність пошуку нових, більш ефективних засобів імунотерапії із застосуванням препаратів з противірусною дією та імуноактивних засобів. При розробці раціонального способу лікування хворих з ЕП, нашу увагу привернула можливість використання протефлазиду. Протефлазид – новий український препарат, який зареєстрований в Україні як системний противірусний засіб, що володіє також імуномодуючою, адаптогенною активністю, підвищує резистентність організму до негативних факторів довкілля.

Включення протефлазиду в комплексі імунотерапії хворих з ЕП базується на даних літератури [3, 4, 13] щодо його впливу на загальний і місцевий імунітет у хворих з вірусними та бактеріально-вірусними захворюваннями, а також на природну антиінфекційну резистентність, що в клінічному плані сприяє суттєвому зменшенню частоти виникнення ускладнень.

Метою дослідження було вивчення ефективності впливу протефлазиду на імунологічні показники у хворих з ЕП.

### **Матеріали та методи**

Для вивчення ефективності протефлазиду було обстежено дві групи хворих з ЕП віком від 15 до 30 років – основна, що включала 34 осіб (28 чол. та 6 жінок) і група зіставлення з 32 осіб (25 чол. та 7 жінок). Обидві групи хворих були рандомізовані за віком, статтю хворих, тяжкістю перебігу хвороби та терміном госпіталізації до інфекційного стаціонару. З загальної кількості обстежених хворих 22 чол. (33,3%) – хворі з середньотяжким перебігом ЕП, решта – з тяжким (44 чол., 66,7%). Усі хворі з ЕП отримували детоксикуючу терапію (внутрішньовенне введення 500-1000 мл 5% розчину глюкози з додаванням аскорбінової кислоти 10-20 мл 5% розчину – при середньотяжкому перебігу ЕП, неогемодез або реополіглюкін по 400 мл – у хворих з тяжким перебігом хвороби) полівітаміни, а також фізіотерапевтичні засоби (УВЧ на ураженні слинні залози). Пацієнтам основної групи додатково вводили протефлазид усередину перший тиждень по 8-10 крапель 3 рази на добу протягом 2 тижнів.

Об'єм імунологічних досліджень включав визначення клітинних показників імунітету; а саме кількості загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3+), В- клітин (CD22+) та субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+) і Т-супресорів/кілерів (CD8+) у цитотоксичному тесті [5] із застосуванням моноклональних антитіл (МКАТ) класів CD3+, CD4+, CD8+ і CD22+ [7]. Функціональна активність Т-лімфоцитів визначалася за допомогою реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) – спонтанною та у відповідь на дію неспецифічного мітогену – фітогемаглютиніну (ФГА) при постановці реакції мікрометодом. Фагоцитарна активність макрофагів (ФАМ) досліджувалася оригінальним чашечковим методом [8] із використанням в якості об'єкту фагоцитозу живої добової культури *Staph. aureus* (штам 505). При цьому враховувалися такі фагоцитарні показники - фагоцитарне число (ФЧ), фагоцитарний індекс (ФІ), індекс атракції (ІА) та індекс перетравлення (ІП).

Дослідження рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові здійснювалося методом преципітації в розчині поліетиленгліколю (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 дальтон [9]. Молекулярний склад ЦІК аналізувався за допомогою методу диференційованої преципітації в 2%, 3,5% й 6% розчинах ПЕГ [9]. При цьому визначали вміст дрібно- (< 11S), середньо- (11S-19S) та великомолекулярних (>19S) імунних комплексів.

Імунологічні дослідження проводилися в динаміці – при надходженні хворого в стаціонар (у перший день лікування), через 10-12 днів від початку проведеної терапії, після виписки його зі стаціонару та протягом першого місяця диспансерного нагляду.

## Обговорення отриманих результатів

У результаті проведених імунологічних досліджень було встановлено, що в обстежених хворих з ЕП мають місце чітко виражені порушення імунологічного гомеостазу. Так, у гострому періоді захворювання реєструвалася Т-лімфопенія, причому була виявлена чітка залежність ступеню зниження кількості клітин з фенотипом CD3+ (популяція Т-клітин), від тяжкості перебігу ЕП, більш значне зниження Т-лімфоцитів було зареєстровано у хворих з тяжким перебігом ( $56,4 \pm 1,1\%$  при нормі  $75,5 \pm 1,6\%$ ;  $P < 0,01$ ), що супроводжувалося пригніченням їх функціональної активності за даними РБТЛ. Одночасно у хворих з ЕП, що були під наглядом, відмічалось зниження кількості CD4+-клітин (Т-хелпери/індуктори). Було встановлено, що найбільш значне зниження кількості циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+) мало місце у 32 (73,5%) обстежених хворих з наявністю тяжкого перебігу захворювання. Рівень Т-супресорів/кілерів (CD8+) у всіх обстежених хворих з середньотяжким перебігом залишався в межах норми, у зв'язку з чим імунорегуляторний індекс CD4/CD8, у переважній більшості обстежених (30 осіб, 93,8%) мав чітку тенденцію до зниження. У всіх хворих з тяжким перебігом ЕП відмічався суттєвий дисбаланс субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, переважно за рахунок значного зниження кількості Т-хелперів/індукторів (CD4+). Так, середній показник вмісту CD4+-лімфоцитів в периферійній крові був знижений до  $26,2 \pm 1,7\%$  (при нормі  $42,5 \pm 1,8\%$ ;  $P < 0,001$ ). У 5 (11,4 %) пацієнтів відмічалось пропорційно виражене зниження як числа Т-хелперів (CD4+), так і Т-супресорів (CD8+), у зв'язку з чим у цій групі хворих імунорегуляторний індекс Th/Ts зберігався в межах фізіологічної норми; у частини (6,9%) хворих з тяжким перебігом на час надходження до стаціонару відмічено чітко виражене зниження кількості циркулюючих Т-супресорів/кілерів (CD8+), внаслідок чого коефіцієнт CD4/CD8 мав тенденцію до помірного підвищення. Отже, отримані дані свідчать, що в обстежених хворих з ЕП має місце вторинний клітинний імунодефіцит, у більшості випадків за відносним Т-супресорним варіантом, оскільки він проявляється переважно дефіцитом циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+) та зниженням імунорегуляторного індексу CD4/CD8 на тлі загальної Т-лімфопенії.

Вивчення рівня В-лімфоцитів (CD22+) у периферичній крові у хворих з ЕП у гострому періоді захворювання дозволило виявити помірне зниження як абсолютної, так і відносної кількості В-клітин. Так, середній рівень CD22+-клітин складав  $19,6 \pm 0,4$  (при нормі  $22,5 \pm 1,3\%$ ;  $P = 0,05$ ). Поряд з Т-лімфопенією в обстежених хворих відмічалось значне зниження показників РБТЛ (у середньому до  $37,2 \pm 1,2$  при нормі  $62,2 \pm 1,9$ ;  $P < 0,001$ ) (таблиця).

У результаті проведених імунологічних досліджень встановлено, що у хворих з ЕП мають місце суттєві порушення з боку стану природної антиінфекційної резистентності. При цьому виявилось, що у хворих з ЕП істотно страждає ФАМ (таблиця 1).

Аналіз отриманих результатів даного дослідження показав, що спрямованість і вираженість змін ФАМ, особливо показників, які характеризують фазу перетравлення, залежали від тяжкості перебігу захворювання. Найбільш низькі індекси ФАМ виявлялись у хворих з тяжким перебігом ЕП, відзначалось зниження ФІ в середньому в 2,1 рази та ФЧ – в 1,7 рази (при відповідних нормах  $28,6 \pm 1,9$  і  $4,00 \pm 0,35$ ; при  $P < 0,05$ ), а у хворих з ЕП середньої тяжкості було зареєстровано зниження вивчених показників ФАМ, а саме ФІ в 1,5 і ФЧ – 1,8 рази. Щодо динаміки ІА, відмічалось його значне зменшення у хворих з тяжким перебігом захворювання – 2,5 рази (при нормі  $17,6 \pm 1,1$ ;  $P < 0,01$ ). У всіх хворих на ЕП найбільшого пригнічення зазнавала фаза перетравлення ФАМ, ІІ був знижений у всіх обстежених хворих в 1,5 рази з середньотяжким перебігом захворювання та у 1,9 рази – при тяжкому перебігу ЕП. Отже, найбільш значущі порушення ФАМ торкалися фази перетравлення. Відомо, що саме від активності перетравлення об'єктів, які були поглинуті макрофагами, залежить ефективність фагоцитарної реакції [7]. Тому суттєві зниження ІІ в обстежених хворих свідчать про недостатню ефективність фагоцитозу, що може сприяти з одного боку розвитку ускладнень, та з іншого – тривалому збереженню в крові ЦІК, що може приводити до активації імунокомплексних реакцій. Зменшення індексу перетравлення (ІІ) свідчило про наявність у хворих на тяжкі форми ЕП незавершеного фагоцитозу.

Таким чином, можна узагальнити, що у хворих з ЕП мають місце суттєві порушення клітинної ланки імунного гомеостазу.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у всіх обстежених хворих з ЕП, поряд із змінами клітинних показників імунітету мали місце також суттєві порушення з боку гуморальної ланки імунітету (таблиця 1). Загальний рівень ЦІК у сироватці крові був суттєво підвищений у всіх обстежених хворих, та в середньому досягав  $4,51 \pm 0,25$  г/л (при нормі  $1,88 \pm 0,015$  г/л;  $P < 0,001$ ). Показово, що у обстежених пацієнтів, які були під наглядом, зростання рівня ЦІК відбувалось переважно за рахунок найбільш патогенних – середньо- (11S-19S) та дрібномолекулярних (<11S) фракцій імунних комплексів, сума яких складала в середньому  $73,4 \pm 1,8\%$  (при нормі  $52,8 \pm 2,2\%$ ;  $P < 0,05$ ).

**Таблиця 1**

**Вплив протекфлазиду на показники імунітету у хворих на ЕП (M±m)**

Імунологічні показники	Основна група (n=34)		Група зіставлення (n=32)	
	до імунокорекції	після імунокорекції	до імунокорекції	після імунокорекції
CD-3+ %	$46,2 \pm 1,9$	$69,7 \pm 0,6$ ***	$47,9 \pm 2,0$	$58,8 \pm 2,3$ *
абс.	$0,74 \pm 0,03$	$1,25 \pm 0,04$ **	$0,77 \pm 0,04$	$1,0 \pm 0,04$ *

CD-4+ % абс.	24,7 ± 0,7 0,4 ± 0,01	44,8 ± 1,8 ** 0,81 ± 0,03 **	24,9 ± 0,8 0,4 ± 0,01	38,1 ± 1,3 * 0,7 ± 0,02
CD-8 + % абс.	20,7 ± 0,8 0,37 ± 0,01	22,2 ± 1,2 0,4 ± 0,02	20,4 ± 0,9 0,33 ± 0,01	21,6 ± 0,8 0,38 ± 0,01
CD-22+ % абс.	20,1 ± 1,5 0,32 ± 0,02	22,1 ± 1,9 0,4 ± 0,04	20,2 ± 1,3 0,36 ± 0,03	21,8 ± 1,5 0,37 ± 0,03
CD-4/CD-8	1,19 ± 0,03	2,01 ± 0,05 **	1,22 ± 0,03	1,76 ± 0,04 **
РБТЛ %	37,9 ± 2,0	59,2 ± 1,5	38,4 ± 1,8	48,3 ± 1,5 **
ФАМ: ФІ %	14,0 ± 0,8	26,5 ± 1,8 ***	14,6 ± 0,9	18,8 ± 1,9 *
ФЧ	2,0 ± 0,09	3,8 ± 0,22 ***	2,2 ± 0,11	2,6 ± 0,15
ІА %	9,7 ± 0,8	11,8 ± 1,1 **	9,5 ± 0,9	10,8 ± 1,1
ІІІ %	10,1 ± 0,7	24,6 ± 1,6 ***	10,6 ± 0,5	12,9 ± 0,6 *

**Примітка:** в табл. 1,2 Р розраховано між показниками до і після імунотерапії: \* – P < 0,05, \*\* – P < 0,01, \*\*\* – P < 0,001.

Зростання вмісту середньо- і дрібномолекулярних фракцій імунних комплексів на тлі загального збільшення концентрації ЦІК сприяло вірогідному підвищенню їх сумарної концентрації в обстежених хворих з ЕП до 3,32 ± 0,09 г/л (при нормі 0,99 ± 0,05 г/л; P < 0,001). Таким чином, сумарно абсолютна концентрація суми середньо- та дрібномолекулярних комплексів була підвищеною в 3,4 рази відносно норми. У той же час відносна частина великомолекулярних імунних комплексів (>19S) у структурі загального пула ЦІК мала тенденцію до зниження і складала лише 26,6 ± 2,1% (при нормі 47,2 ± 1,9%; P < 0,01), а абсолютна кількість фракції (>19S) підвищувалася незначно.

При застосуванні з метою імунотерапії в комплексному лікуванні хворих з ЕП протезфлазиду, має місце чітка виражена позитивна динаміка імунологічних показників, а саме ліквідація Т-лімфопенії, підвищення кількості Т-хелперів/індукторів (CD4+), нормалізація імунорегуляторного індексу CD4/CD8, підвищення показника РБТЛ, у той час, як у групі зіставлення зберігаються зсуви імунологічних показників, що свідчить про збереження імунодефіцитного стану (табл. 1).

Індивідуальний аналіз імунограм показав, що у хворих основної групи підвищувався початково знижений рівень Т-лімфоцитів (CD3+), зростала кількість Th (CD4+), нормалізувався коефіцієнт CD4/CD8, а також збільшувався показник РБТЛ із ФГА, що свідчило про позитивний вплив протезфлазиду на імунологічні показники. У той же час у хворих групи зіставлення зберігалися зсуви імунологічних показників – позитивна динаміка була суттєво менш виражена, зберігалася Т-лімфопенія (58,8 ± 2,3; P < 0,05), дисбаланс субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, тому залишався зниженим імунорегуляторний індекс (CD4/CD8) та показник РБТЛ із ФГА.

Призначення протезфлазиду сприяло підвищенню показників ФАМ, особливо ІІІ. У той же час, у групі зіставлення значення ІІІ ФАМ залишалися вірогідно зниженими у більшості обстежених як відносно норми, так й основної групи. Отже, запропонований метод імунотерапії хворих з ЕП з включенням протезфлазиду патогенетично обґрунтований, оскільки він позитивно впливає на клітинні показники імунітету у хворих.

Відмічено також позитивний вплив протезфлазиду на гуморальні показники імунітету (табл. 2), що проявлялося зниженням концентрації ЦІК, нормалізацією їх молекулярного складу, перш за все зменшенням вмісту найбільш патогенних середньомолекулярних фракцій (11S-19S).

**Таблиця 2**

**Вплив протезфлазиду на гуморальні показники імунітету у хворих з ЕП (M ± m)**

Імунологічні показники	Основна група (n=34)		Група зіставлення (n=32)	
	до імунотерапії	після імунотерапії	до імунотерапії	після імунотерапії
ЦІК, г/л	4,52 ± 0,15	1,91 ± 0,15 ***	4,51 ± 0,15	2,68 ± 0,21 *
>19S, %	25,9 ± 2,2	46,8 ± 1,9 ***	22,2 ± 2,5	40,1 ± 2,1 **
г/л	1,17 ± 0,09	0,89 ± 0,05	1,0 ± 0,09	1,07 ± 0,08 *
11S-19S, %	43,7 ± 2,5	31,6 ± 1,8 **	44,6 ± 2,3	36,4 ± 2,2 *
г/л	1,98 ± 0,12	0,6 ± 0,04 ***	2,01 ± 0,13	0,98 ± 0,08 *
<11S, %	30,4 ± 1,7	21,6 ± 1,6 **	33,2 ± 1,8	23,5 ± 2,0 *
г/л	1,37 ± 0,11	0,42 ± 0,04 ***	1,5 ± 0,11	0,63 ± 0,07 *

У хворих групи зіставлення також зберігався помірно підвищеним рівень ЦІК (2,68 ± 0,21 г/л) та зсуви їх молекулярного складу, переважно за рахунок збільшення вмісту дрібно- та середньомолекулярних комплексів. Можливо, це пов'язано зі збереженням у цій групі пригнічення показників ФАМ, особливо фази перетравлення.

Дійсно, відомо, що середньомолекулярні імунні комплекси (11S-19S) можуть бути еліміновані з крові переважно за рахунок підвищення функціональної активності макрофагальної фагоцитуючої системи [3]. Зниження інтенсивності фази перетравлення ФАМ свідчить про пригнічення функціональної активності макрофагів, тому суттєво зменшується швидкість елімінації ЦІК з крові, вони тривало циркулюють і можуть обумовлювати активність імунокомплексних реакцій. Суттєве значення має вплив протейфлазиду на показники ФАМ та функціональну активність Т-лімфоцитів. Отже виходячи з суттєвої ролі макрофагів в елімінації найбільш токсигенних середньомолекулярних (11S-19S) імунних комплексів, можна вважати, що стимуляція показників ФАМ у хворих основної групи сприяла зменшенню вмісту у периферичній крові рівня ЦІК середньомолекулярної фракції, а це в свою чергу сприяло зменшенню вираженості синдрому імунотоксикозу та можливості розвитку імунокомплексних реакцій.

Таким чином, отримані дані свідчать, що включення протейфлазиду до курсу імунокорекції хворих з різним ступенем тяжкості ЕП, обумовлює ліквідацію вторинного імунодефіцитного стану та нормалізацію імунологічних показників. Диспансерний нагляд показує, що серед хворих на ЕП, які отримували протейфлазид, суттєво зменшується частота розвитку синдрому післяінфекційної астенії та поліпшується імунологічний стан у період ранньої реконвалесценції. Дійсно, через 1 місяць після виписки зі стаціонару явища післяінфекційної астенії мали місце у 10 (37,0%) перехворілих групи зіставлення і лише у 3 (9,6%) реконвалесцентів з основної групи, тобто в 3,9 рази менш. Суттєва Т-лімфопенія (зниження кількості CD3+-лімфоцитів менш 52%, тобто  $0,92 \cdot 10^9/\text{л}$  та менш) була у 12 (44,4%) пацієнтів з групи зіставлення і лише у 4 (12,9%) реконвалесцентів з основної групи, тобто в 3,4 рази менше ( $P < 0,01$ ). Показово, що вірогідне зниження кількості Т-лімфоцитів було характерно саме для хворих з наявністю синдрому післяінфекційної астенії.

Отже, отримані результати дозволяють вважати перспективним та доцільним використання протейфлазиду в комплексі імунокорекції хворих з ЕП, оскільки це сприяє нормалізації імунологічного гомеостазу, розвитку ускладнень та зменшує частоту імунодефіцитних станів у періоді реконвалесценції.

### Література

1. Журавлева Н.В., Родоская Н.К. Иммунодефициты и естественное ингибирование активности макромолекулярных антител. - Воронеж: Изд-во ВГУ, 1988. - 96 с.
2. Иммунологические методы / Под ред. Г.Фримеля. Пер. с нем.-М.: Медицина, 1987. - 472 с.
3. Крючко Т.А., Несина И.Н. Эффективность применения протейфлазиды в комплексной терапии детей с хроническим гепатитом // Иммунологія та алергологія. - 2002. - № 4. - С. 38-40.
4. Матяш В.І., Власик Т.Л., Шевчук В.Б. і співавт. Застосування нового противірусного препарату протейфлазиду в лікуванні гепатиту С // Труды VI з'їзду інфекціоністів. - Одеса, 2002. - С.326.
5. Фролов В.М., Рычнев В.Е. Исследование циркулирующих иммунных комплексов их диагностическое и прогностическое значение // Лаборат. дело. - 1986. - № 3. - С. 159-161.
6. Фролов В.М., Колесниченко Г.И., Пересадин Н.А. Клинико-иммунологическая характеристика эпидемического паротита // Кишечные, зоонозные и вирусные инфекции: Матер. V съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов Узбекистана. - Ташкент, 1987. - Т.2. - С. 328-330.
7. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Баскаков И.Н. Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных // Лаборат. дело. - 1989. - № 6. - С. 71-72.
8. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Гаврилова Л.А. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови // Лаборат. дело. - 1989. - № 8. - С. 121-122.
9. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Бойченко П.К. Диагностическое и прогностическое значение циркулирующих иммунных комплексов у больных // Врачеб. дело. - 1990. - № 6. - С. 116-118.
10. Фролов В.М., Колесниченко Г.И., Пересадин Н.А. Клинико-иммунологические особенности эпидемического паротита в современных условиях // Детские инфекции. - Киев: Здоровья, 1991. - Вып. 19. - С.35-41.
11. Фролов А.Ф., Фролов В.М., Лоскутова И.В. Эпидемический паротит: особенности клиники и современные подходы к лечению // Сучасні інфекції. - 1993. - № 3. - С.94-98.
12. Фролов В.М., Лоскутова И.В. Сучасні підходи до лікування уражень статевих залоз у чоловіків, хворих на епідемічний паротит // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. праць. - Київ; Луганськ, 2001 - Вып. 4 (36). - С. 77-83.
13. Фролов В.М., Соцька Я.А. Ефективність протейфлазиду в медичній реабілітації хворих на хронічний бронхіт, сполучений з хронічною тонзиллярною патологією: Зб. наук. праць. - Київ; Луганськ; Харків, 2002. - Вып. 4 (36). - С. 210-214.