

УДК616-053.2:616.98:578.828

*Н.В.Котова, О.О.Старець***ДІАГНОСТИЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКОСТІ CD3⁺- І CD4⁺-Т-ЛІМФОЦИТІВ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ, НАРОДЖЕНИХ ВІЛ-ІНФІКОВАНИМИ ЖІНКАМИ**

Одеський державний медичний університет

Резюме. Визначена кількість CD3⁺- і CD4⁺-Т-лімфоцитів у дітей раннього віку, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, як із підтвердженим діагнозом ВІЛ-інфекції, так і неінфікованих ВІЛ. Виявлено, що відсутність імуносупресії не впливає на ймовірність швидкого прогресування ВІЛ-інфекції в дітей раннього віку й не може повною мірою служити прогностичним

критерієм розвитку СНІД-індикаторних станів. Порушення клітинної ланки імунітету в дітей раннього віку спостерігається не тільки при ВІЛ-інфекції, але й при інших інфекціях й на несприятливому преморбідному фоні.

Ключові слова: діти, народжені ВІЛ-інфікованими жінками, CD3⁺-Т-лімфоцити, CD4⁺-Т-лімфоцити.

Вступ. Збільшення кількості дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, в Україні робить актуальним удосконалення алгоритму їх ведення з оцінкою ефективності діагностичних тестів, які використовуються. В імунопатогенезі ВІЛ-інфекції важливу роль відіграють CD4-рецептори, які розташовані на поверхні лімфоцитів Т-хелперів, макрофагів, клітин мікроглії, Лангерганса, дендритних клітин, які є основними мішенями для ВІЛ в організмі; порушення їх функції призводить до розвитку імунodefіциту. Визначення кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів є рутинним тестом і «золотим стандартом» для визначення ступеня імуносупресії, оцінки прогнозу прогресу ВІЛ-інфекції, моніторингу ефективності антиретровірусної терапії. На підставі даного показника розраховують ризик прогресу ВІЛ-інфекції в стадію СНІДу і смерті хворих від причин, зумовлених ВІЛ-інфекцією протягом 12 міс. [1,2].

Фізіологічною особливістю організму дитини раннього віку є відносно висока, у порівнянні з іншими віковими групами, абсолютна кількість CD3⁺ і CD4⁺-Т-лімфоцитів. За даними літератури, для більш точної кількісної оцінки необхідно оцінювати процентний зміст CD4⁺-Т-лімфоцитів [1]. Проте діагностична ефективність визначення кількості CD3⁺ і CD4⁺-Т-лімфоцитів у дітей раннього віку з природним перебігом ВІЛ-інфекції і неінфікованих дітей з внутрішньоутробною експозицією ВІЛ-інфекції і наркотичних речовин недостатньо вивчена.

Мета дослідження. Оцінити діагностичну ефективність визначення кількості CD3⁺- та CD4⁺-Т-лімфоцитів у дітей раннього віку, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, як із підтвердженим діагнозом ВІЛ-інфекція, так і неінфікованих ВІЛ.

Матеріал і методи. Визначення кількості CD3⁺- і CD4⁺-Т-лімфоцитів проводили методом проточної цитометрії (ПЦ) за допомогою системи FACSCoount виробництва Becton Dickinson в лабораторії Одеського обласного центру профілактики і боротьби зі СНІДом у 2002 – 2005 роках. Визначали абсолютну кількість лімфоцитів, абсолютну і відносну кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів. ПЦ є методикою швидкого оптичного кількісно-

го аналізу окремо взятих клітин. Методика полягає у виявленні розсіяння світла лазерного променя при проходженні через нього клітини в струмені рідини, причому ступінь світлової дисперсії дозволяє отримати уявлення про розміри і структуру клітини. Крім того, у ході аналізу враховується рівень флуоресценції хімічних сполук, що входять до складу клітинної стінки (автофлуоресценція) або внесених до зразка перед проведенням проточної цитометрії.

Об'єктом дослідження був стан клітинної ланки імунітету на основі оцінки показників абсолютної і відносної кількості CD3⁺ і CD4⁺-Т-лімфоцитів у дітей раннього віку, народжених ВІЛ-інфікованими жінками і з ВІЛ-інфекцією; діагностична чутливість (ДЧ) методів оцінки показників клітинного імунітету для оцінки швидкості прогресу ВІЛ-інфекції в дітей. Показники клітинного імунітету вивчали в 74 (36 хлопчиків і 38 дівчаток) дітей першого року життя з підтвердженим діагнозом ВІЛ-інфекція і 34 (19 хлопчиків і 15 дівчаток) неінфікованих ВІЛ дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками. Діагноз підтверджено на підставі двох позитивних результатів визначення провірусної ДНК або вірусної РНК методом ПЛР. У разі уточнення діагнозу методом ІФА у віці старшого 18 місяців проводився ретроспективний аналіз медичної документації. Виключення діагнозу ВІЛ-інфекції здійснювалося або на підставі 2 негативних результатів ІФА у віці молодше 18 місяців, або – 1 негативного результату ІФА у віці 18 місяців і старше з урахуванням клінічних даних та виду вигодовування.

I групу склали 30 дітей із підтвердженим діагнозом ВІЛ-інфекція, в яких клінічні прояви СНІДу (III клінічна стадія за класифікацією ВО-ОЗ 2002 р.) або важкої імуносупресії спостерігалися у віці до 12 місяців. Прогресування ВІЛ-інфекції в цієї групи дітей оцінено як швидке. До II групи увійшли 44 ВІЛ-інфікованих дитини з відносно повільним темпом прогресування ВІЛ-інфекції. III групу склали 18 неінфікованих ВІЛ дітей від ВІЛ-інфікованих матерів-споживачів ін'єкційних наркотиків. До IV групи увійшли 16 неінфікованих ВІЛ дітей, народжених ВІЛ-

інфікованими жінками, що не вживали наркотичних речовин.

Статистичну оцінку діагностичної значущості визначення показників клітинного імунітету для виявлення швидкого прогресу ВІЛ-інфекції проводили шляхом розрахунку ряду показників. Діагностична чутливість (ДЧ) – це відношення числа позитивних результатів до суми позитивних і фальшивонегативних результатів. Цей показник характеризує вірогідність наявності тяжкої імуносупресії в дитини раннього віку, інфікованої ВІЛ, із швидким темпом прогресування ВІЛ-інфекції. Крім того, нами розраховувалося відношення правдоподібності при негативному результаті (ВПНР), яка свідчить про те, у скільки разів вірогідність відсутності тяжкої імуносупресії вище в дітей раннього віку зі швидким прогресуванням ВІЛ-інфекції в порівнянні з дітьми з відносно повільним темпом прогресування захворювання. Згідно із рекомендаціями експертів робочої групи з розробки принципів доказової медицини, діагностичні ознаки (тести) роблять наступний вплив на післятестову вірогідність розпізнаного захворювання: ВПНР нижче 0,1 – істотний вплив; ВПНР 0,1 – 0,2 – помірний вплив; ВПНР 0,2 – 0,5 – незначний вплив; ВПНР 0,5 – 1 – не впливає.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 5.5, статистичного on-line калькулятора www.pentatrials.org.

Результати дослідження та їх обговорення.

До СНІД-індикаторних станів у дітей I групи були віднесені тяжкі рецидивні бактерійні інфекції, пневмоцистна пневмонія, туберкульоз, затримка фізичного і нервово-психічного розвитку (ВІЛ-енцефалопатія). У 39 (88,6%) дітей II групи клінічні симптоми ВІЛ-інфекції виражені слабо, вони відносилися до I клінічної стадії за класифікацією ВООЗ (2002 р.). У 4 (9,1%) дітей із відносно повільним темпом прогресування захворювання були ознаки II клінічної стадії ВІЛ-інфекції за класифікацією ВООЗ (2002 р.), до яких відносилися часті бактеріальні інфекції, затримка фізичного розвитку. У дітей III групи спостерігалися ознаки гіпотрофії у 64%, ураження ЦНС – у 76,5%, часті вірусні й бактеріальні інфекції – 70,6%, туберкульоз – 11,8%, хронічні вірусні гепатити – 23,5% випадків. У дітей IV групи спостерігалися ознаки гіпотрофії у 35,7%, ураження ЦНС – 50%, часті вірусні й бактеріальні інфекції – 35,7%, туберкульоз – 14,3% випадків.

Під час оцінки імунного статусу тяжку імуносупресію виявлено в 36,4% (n=4) дітей I групи. Тяжка імуносупресія у всіх хворих поєднувалася з клінічними проявами СНІДу. У трьох хворих з тяжкою імуносупресією спостерігалася низька абсолютна кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів (546-702 клітини в 1 мкл) при показниках їх відносної кількості від 19–38%, відповідним 1-й і 2-й категоріям, що визначають ступінь імуносупресії за класифікацією CDC (1994 р.). У даному випадку

низька кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів визначалася разом із зниженням абсолютної кількості CD3⁺-лімфоцитів. В одного хворого спостерігалася низька абсолютна (514 клітин в 1мкл) і відносна (7%) кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів у поєднанні зі зниженням кількості CD3⁺-лімфоцитів та лейкопенією. У більшості дітей I групи (63,6%) клінічні симптоми СНІДу розвинулися без тяжкої імуносупресії з показниками клітинного імунітету, які відносяться до 1-ї та 2-ї імунологічної категорії за класифікацією CDC (1994 р.).

У II групі у двох дітей спостерігалася зниження абсолютної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів, яке відповідає 2-й імунологічній категорії за класифікацією CDC (1994 р.). В одному випадку зниження абсолютної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів супроводжувалося низькою їх відносною кількістю. В одному випадку зниження відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів не супроводжувалося зменшенням їх абсолютної кількості.

У III групі в п'яти дітей виявлено зниження процентного вмісту CD4⁺-Т-лімфоцитів нижче 25%. Двоє з цих дітей мали низьку масу тіла при народженні; імуносупресія спостерігалася при туберкульозі, вірусному гепатиті В, бактеріальних інфекціях. У чотирьох із них виявлена виражена гіпотрофія. Одна дитина померла від кишкової інфекції. У трьох дітей кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів нижча 35%. Зниження відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів не супроводжувалося зменшенням їх абсолютної кількості.

У всіх дітей IV групи кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів перевищувала 25%, проте в половині цей показник нижчий 35%. Зниження кількості CD3⁺-лімфоцитів у цій групі не спостерігалася.

Середні значення абсолютної кількості CD3⁺-лімфоцитів, абсолютної і відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів представлені в таблицях 1, 2, 3.

При аналізі середніх показників абсолютної кількості CD3⁺-лімфоцитів, абсолютної та відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів не виявлено вірогідних статистичних відмінностей в абсолютній кількості CD3⁺-лімфоцитів і CD4⁺-Т-лімфоцитів у дітей з різними темпами прогресування ВІЛ-інфекції. Абсолютна кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів у ВІЛ-інфікованих дітей вірогідно нижча, ніж у неінфікованих дітей. Виявлені вірогідні відмінності відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів у ВІЛ-інфікованих дітей із швидкими темпами прогресування захворювання в порівнянні з неінфікованими дітьми. Серед неінфікованих ВІЛ у дітей від матерів-споживачів наркотичних речовин відносна кількість CD4⁺-Т-лімфоцитів нижча. Цей факт зумовлений станом здоров'я дітей у зв'язку з токсичним пренатальним впливом наркотиків, з більшою частотою у споживачів наркотиків інших інфекцій, що передаються плоду, гіршим соціально-побутовим положенням сімей споживачів наркотиків.

При оцінці статистичної значущості показників клітинного імунітету (виявлення тяжкої

Таблиця 1

Середні значення абсолютної кількості CD3⁺-лімфоцитів (кількість клітин у 1 мкл) у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, при ВІЛ-інфекції з різними темпами прогресу ВІЛ-інфекції і в неінфікованих дітей

Група	М	ДІ	M _{min}	M _{max}	д	Р
I група (n=10)	5,51	3,34– 7,69	1,70	10,90	3,04	p ^{3-4*}
II група (n=10)	5,32	3,82–6,82	2,90	8,70	2,09	
III група (n=18)	6,51	5,65–7,37	3,6	11,0	2,39	
IV група (n=16)	5,48	4,96–5,99	2,8	7,5	1,37	

Примітка: р* – відмінності вірогідні; n – число хворих

Таблиця 2

Середні значення абсолютної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів (кількість клітин в 1 мкл) у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, при ВІЛ-інфекції з різними темпами прогресу ВІЛ-інфекції і в неінфікованих дітей

Група	М	ДІ	M _{min}	M _{max}	д	Р
I група (n=11)	1518,64	884,15-2153,13	514,00	3534,00	944,45	p ^{1-3*}
II група (n=7)	1490,4	1074,23-1906,06	948,00	274,00	449,71	p ^{1-4*}
III група (n=18)	2150,61	1891,63-2409,59	629,0	3228,0	765,4	p ^{2-3*}
IV група (n=16)	2088,75	1817,14-2360,36	937,0	3234,0	753,35	p ^{2-4*}

Примітка: р* – відмінності вірогідні; n – число хворих

Таблиця 3

Середні значення відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів (%) у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, при ВІЛ-інфекції з різними темпами прогресу ВІЛ-інфекції і в неінфікованих дітей

Група	М	ДІ	M _{min}	M _{max}	д	Р
I група (n=8)	24,13	16,39– 31,86	7,00	38,00	9,25	p ^{1-2*}
II група (n=8)	34,88	25,20– 44,55	22,00	51,00	11,57	p ^{1-3*}
III група (n=18)	33,72	30,33–37,12	17,0	49,1	8,03	p ^{1-4*}
IV група (n=16)	38,34	34,76–41,92	27,0	59,0	9,94	p ^{3-4*}

Примітка: р* – відмінності вірогідні; n – число хворих

імуносупресії за кількістю CD4⁺-Т-лімфоцитів) у дітей раннього віку з підтвердженим діагнозом ВІЛ-інфекція ДЧ склала 0,3 (ДІ 0,01 – 0,26), ВПНР – 0,63. Отримані дані свідчать про низьку чутливість визначення показників клітинного імунітету в дітей із ВІЛ-інфекцією раннього віку.

Висновки

1. Оцінка стану клітинного імунітету в дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, передбачає комплексний підхід з аналізом результатів дослідження абсолютної кількості CD3⁺, абсолютної і відносної кількості CD4⁺-Т-лімфоцитів методом проточної цитофлуорометрії.

2. Відсутність імуносупресії не впливає на вірогідність виявлення швидкого прогресу ВІЛ-інфекції в дітей раннього віку і не може повною мірою служити прогностичним критерієм розвитку СНІД-індикаторних станів.

3. Порушення клітинної ланки імунітету в дітей раннього віку спостерігається не тільки при ВІЛ-інфекції, але і при інших інфекціях і на несприятливому преморбідному фоні.

4. Діти, народжені ВІЛ-інфікованими жінками – споживачами наркотичних речовин, є групою ризику з розвитку не тільки ВІЛ-інфекції, але й інших інфекцій, що супроводжуються істотним порушенням імунітету.

Перспективи подальших досліджень. Механізм розвитку порушень у клітинній ланці імунітету в неінфікованих дітей вимагає подальшого вивчення. Для оцінки стану здоров'я дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, визначення ризику прогресування ВІЛ-інфекції необхідне вивчення гуморальної ланки імунітету, чинників, що визначають міжклітинні взаємодії імунної відповіді.

Література

1. Запорожан В.М., Аряєв М.Л., Старець О.О. та ін. Попередження трансмісії ВІЛ від матері до дитини. Навчальний посібник для акушерів-гінекологів, неонатологів, педіатрів, інфекціоністів, сімейних лікарів, організаторів охорони здоров'я, лікарів-інтернів і студентів. – Київ: Акві-К, 2003. – 184 с.
2. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 168 с.
3. Bunders M., Cortina-Borja M., Newell M.L. European Collaborative Study: age-related standards for total lymphocyte, CD4⁺ and CD8⁺ T cell counts in children born in Europe // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2005. – №24. – P. 595 – 600.
4. Consultation for the development of protocols for HIV care for Ukraine and other Commonwealth Independent States countries. – WHO HQ, March, 2004.

DIAGNOSTIC EFFICIENCY OF DETERMINING THE AMOUNT OF CD3⁺- AND CD4⁺-T-LYMPHOCYTES IN INFANTS BORN TO HIV-INFECTED WOMEN

N.V.Kotova, O.O.Starets

Abstract. The amount of CD3⁺- and CD4⁺-T-lymphocytes has been determined in infants, born to HIV-infected women, both with a confirmed diagnosis of HIV-infection and noninfected children. It has been shown, that the absence of immunosuppression does not influence on the probability of rapid progression of HIV-infection in infants and can not be to a greater degree prognostic criterion of the development of AIDS-indicated conditions. A violation of the cellular link of immunity of infants is observed not only in HIV-infected infants but also in infants with other infections and against an unfavourable premorbid background.

Keywords: children, born to HIV-infected women, CD3⁺-T-lymphocytes, CD4⁺-T-lymphocytes.

State Medical University (Odesa)

Рецензент – проф. Л.О.Безруков

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №1.- P.30-33

Надійшла до редакції 17.10.2006 року

УДК 616.1-009.86:577.1

І.І.Кричун

ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ГЛУТАРГІНУ І ЕРБІСОЛУ НА ПЛАЗМОВИЙ ВМІСТ АДГЕЗИВНИХ МОЛЕКУЛ (ФІБРОНЕКТИНУ, sVCAM-1 І SE-СЕЛЕКТИНУ) У ХВОРИХ НА ВЕГЕТО-СУДИННУ ДИСТОНІЮ

Кафедра нервових хвороб, психіатрії та медичної психології ім. С.М.Савенка (зав. – проф. В.М.Пашковський) Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. При гіпертонічному типі вегето-судинної дистонії спостерігається максимально високий рівень у крові фібронектину, що поєднується з підвищенням концентрації в плазмі крові sVCAM-1 і sE-селектину – відповідно в 1,8 і 2,6 рази. Включення глутаргіну в комплексне лікування хворих на вегето-судинну дистонію за гіпертонічним типом практично не змінює вмісту в крові фібронектину, sVCAM-1 і sE-селектину. При гіпотонічному типі вміст у крові фібронектину, sVCAM-1 і sE-селектину залишається сталим і відповідає такому в практично здорових осіб. Використання ербісолу при гіпотонічному типі захворювання не змінює жодного з досліджуваних показників. При зміша-

ному типі вегето-судинної дистонії на тлі збільшення рівня в крові фібронектину на 43% відмічаються максимально високі плазмові концентрації sVCAM-1 (майже в 4 рази вище за контроль) і sE-селектину (утричі більше за контрольні показники). Сумісне застосування ербісолу і глутаргіну в терапії хворих на вегето-судинну дистонію за змішаним типом зменшує і нормалізує плазмові концентрації фібронектину і sE-селектину. Рівень sVCAM-1 у крові за поєднаної дії глутаргіну і ербісолу знижується вдвічі, проте залишається в 1,8 рази більшим за такий у практично здорових осіб.

Ключові слова: вегето-судинна дистонія, ендотелій, фібронектин, sVCAM-1, sE-селектин.

Вступ. Відомо, що спадкові або набуті біохімічні порушення метаболізму ендотеліоцитів поєднуються зі структурним ушкодженням ендотелію, про що свідчить накопичення в крові хворих ендотеліальних тілець та біохімічні ознаки денудації резистивних судин [11,12]. Численними дослідженнями останнього десятиріччя доведено, що в патогенезі розладів регуляції артеріального тиску в людини важливу роль відіграє саме ендотеліальна дисфункція, сутність якої полягає в генетично детермінованому або набутому порушенні динамічної рівноваги між функціонально антагоністичними вазоактивними чинниками ендо-, пара- та автокринної дії [1,2,9]. Встановлено, що генетичні дефекти на рівні ендотеліальної клітини реалізуються в порушення балансу аргіназного і NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну [14,15] або функціональної взаємодії між ендотеліальним фактором релаксації і ендотеліном-1 [4] та функціона-

льно антагоністичних ейкозаноїдів [10]. Якщо проблема значення ендотеліальної дисфункції в патогенезі гіпертонічної хвороби знаходиться в центрі уваги дослідників, то подібні дослідження при вегето-судинній дистонії тільки розпочинаються. Нез'ясованим залишається і вплив деяких препаратів на функціональний стан ушкодженого ендотелію.

Мета дослідження. З'ясувати вплив комплексного лікування з використанням глутаргіну й ербісолу на вміст у плазмі крові розчинних форм молекул адгезії: фібронектину, sVCAM-1 (soluble Vascular Cellular Adhesion Molecule-1) і sE-селектину (Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule-1) при різних типах вегето-судинної дистонії.

Матеріал і методи. Обстежено 48 хворих на вегето-судинну дистонію (чоловіків – 17, жінок – 31) віком від 14 до 30 років. Серед них у 18 пацієнтів діагностовано гіпертонічний тип, у 12 – гіпотонічний, та у 18 – змішаний тип захворювання.