

УДК 612.017.1:[616-002.5-07+616.981.3:578.828.6

Е.В. Маркелова¹, С.А. Сотниченко², Л.Ф. Скляр¹

¹ Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

² Краевой клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (690016 г. Владивосток, ул. Борисенко, 50)

ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, туберкулез, цитокины.

Представлены результаты исследования 90 больных с ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом. Изучали зависимость вероятности выявления туберкулеза у ВИЧ-инфицированных от исходных уровней иммунологических показателей при разных стадиях заболевания с помощью стратификационного анализа. Был также выполнен логистический регрессионный анализ с пошаговым исключением предикторов и выявления инфицирования туберкулезом в качестве зависимой переменной. Риск инфицирования туберкулезом в значительной мере зависел от уровня РНК ВИЧ, числа лимфоцитов и длительности профилактического лечения туберкулеза. Предложен алгоритм диагностического поиска раннего выявления туберкулеза у ВИЧ-инфицированных, в котором рекомендуется ввести мониторинг иммунологических маркеров (фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-10 и растворимого рецептора интерлейкина-6) и их выявление в определенных интервалах.

Туберкулез может возникать на любой фазе развития ВИЧ-инфекции, а его клинические проявления четко соответствуют степени нарушения иммунного статуса пациента [7, 8]. На ранних этапах ВИЧ-инфекции, когда иммунный статус нарушен лишь частично, туберкулез проявляется типичной для него картиной: в процесс вовлекаются преимущественно верхние отделы легких, формируются каверны. По мере нарастания иммунодефицита проявления становятся все более атипичными. Появляются признаки, характерные для первичного периода этой инфекции, часто поражаются внутригрудные лимфатические узлы и нижние доли легких, возникают внелегочные и диссеминированные процессы. В случаях выраженного иммунодефицита у лиц, уже больных туберкулезом, может происходить генерализация инфекции с возможностью смертельного исхода. Анализ данных о туберкулезе, сочетанном с ВИЧ-инфекцией, показал, что нередко у этой категории больных развитие диссеминированного процесса расценивали как проявление поздних стадий ВИЧ-инфекции, в связи с чем необоснованно назначали соответствующее этим стадиям лечение и диспансерное наблюдение [1, 2, 10]. Таким образом, по мере прогрессирования иммунодефицита при ВИЧ-инфекции клинико-морфологические симптомы туберкулеза значительно усугубляются. Учитывая вышеизложенное, в целях своевременного выявления туберкулеза целесообразно после установления диагноза ВИЧ-инфекции и до развития выраженного иммунодефицита выделять

больных, входящих в группу высокого риска заболевания туберкулезом, для последующего динамического наблюдения фтизиатром и своевременного назначения химиопрофилактики или лечения туберкулеза. С этой целью используются осмотр, физикальное обследование, рентгенологические (в том числе компьютерная томография) методы, туберкулинодиагностика, серологическое, бактериологическое и гистологическое исследования [5, 9]. Для скрининга применяются флюорография (либо рентгенография) органов грудной клетки и проба Манту. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки. На поздних стадиях ВИЧ-инфекции диагностическая ценность туберкулиновых проб теряется, а рентгенологического исследования снижается, поэтому обследование на туберкулез подобных пациентов должно носить комплексный характер.

Целью настоящего исследования явилась разработка метода ранней диагностики туберкулеза с учетом частоты встречаемости клинико-лабораторных параметров у ВИЧ-инфицированных больных.

Материал и методы. Обследовано 90 пациентов:

1-я группа — 40 человек (в т.ч. 34 мужчины) с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом в возрасте от 19 до 53 лет (в среднем $27,3 \pm 3,3$ г.);

2-я группа — 50 человек (в т.ч. 40 мужчин) с ВИЧ-инфекцией без туберкулеза в возрасте от 20 до 55 лет (в среднем $26,3 \pm 4,8$ г.).

Контрольную группу составили 50 практически здоровых лиц (доноры) того же возраста и пола. При этом у всех больных, включенных в 1-ю группу, туберкулез был выявлен на фоне ВИЧ-инфекции. Предполагаемая давность инфицирования ВИЧ, определяемая периодом времени с момента появления фактора риска, составляла от 5 до 7 лет. У 10% больных определить время инфицирования не представлялось возможным. В 85% случаев инфицирование происходило парентеральным путем. В 1-й группе преобладали инфильтративные (17 наблюдений) и диссеминированные (13 наблюдений) формы туберкулеза. Очаговый туберкулез диагностирован у 10 больных. Большинство (9) пациентов с диссеминированным туберкулезом, а также 2 пациента с инфильтративным туберкулезом легких находились в IVB стадии ВИЧ-инфекции.

Изучали содержание цитокинов — фактора некроза опухоли- α (ФНО α) и интерлейкинов (ИЛ) 6 и 10 — и их растворимых рецепторов (РР) — РР α 55

Таблица 1

Ранняя диагностика туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией с использованием анализа множественной логистической регрессии

Показатель	Первоначальная модель		Окончательная модель		p
	отношение шансов	95% доверительный интервал	отношение шансов	95% доверительный интервал	
III стадия ВИЧ-инфекции	0,84	0,35–2,03	0,85	0,35–2,03	0,019
IV стадия ВИЧ-инфекции	3,25	1,32–8,03	3,37	1,40–8,11	
Нагрузка ВИЧ более 10 000 копий/мл	9,36	4,90–17,87	9,82	5,24–18,37	<0,001
Нагрузка ВИЧ 400–9999 копий/мл	2,46	1,19–5,09	2,52	1,25–5,11	
Нагрузка ВИЧ менее 400 копий/мл	1,13	0,33–3,90	1,14	0,33–3,90	
CD4 ⁺ -клетки более 500 в мкл	1,15	0,61–2,18	1,22	0,65–2,27	0,017
CD4 ⁺ -клетки менее 500 в мкл	1,79	0,88–3,62	1,92	0,98–3,79	
ФНО α	1,70	0,94–3,10	1,61	0,92–2,83	0,049
РР ИЛ-6	0,56	0,29–1,06	0,49	0,26–0,89	
ИЛ-10	0,90	0,46–1,76	0,81	0,42–1,56	
Профилактическое лечение туберкулеза до 3 мес.	6,54	1,32–32,31	8,53	1,93–37,59	0,010
Профилактическое лечение туберкулеза больше 3 мес.	5,30	1,36–20,72	6,08	1,66–22,26	

ФНО α (I тип), РР_{p75} ФНО α (II тип), РР ИЛ-6 – в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов R&D Diagnostics Inc. (США). Для этого периферическую кровь (5 мл) забирали шприцем из локтевой вены, центрифугировали при 3000 об./мин на холоде в течение 10 мин. Сыворотку разливали по 0,5 мл в эпиндорфы, замораживали и хранили до использования при –76°С. Расчеты проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы.

Для риска выявления туберкулеза рассчитывался 95% доверительный интервал, а его сравнение проводилось с помощью критерия χ^2 или двустороннего точного критерия Фишера, а для непрерывных переменных – с применением критерия Стьюдента или рангового критерия Уилкоксона. Взаимосвязь уровней системных цитокинов, их растворимых рецепторов и развития туберкулезного процесса оценивалась с помощью стратификационного анализа [4, 6]. Оценивали допустимость предположения о линейной зависимости выявления туберкулеза от стадии заболевания и уровней изучаемых медиаторов с помощью обобщенной линейной модели (пакет «S-плюс»), оцениваемой с помощью сглаживания кубическим сплайном. Был также выполнен логистический регрессионный анализ с пошаговым исключением предикторов и выявления инфицирования туберкулезом в качестве зависимой переменной. Критический уровень статистической значимости (p) при удалении предикторов принимался равным 0,25 по результатам теста правдоподобия. Начальная модель включала четыре группы неколлинеарных (взаимонезависимых) переменных. В первую вошли составляющие стратегии профилактики туберкулеза: присутствие или отсутствие

профилактической схемы лечения, ее длительность, схемы. Кроме того, были проанализированы схемы антиретровирусной терапии, если она назначалась, срок ее начала и длительность применения, число изменений в лечении (однако они не вошли в окончательную модель из-за коллинеарности). Вторая группа переменных включала стадии ВИЧ-инфекции и последние показатели уровня вирусной РНК и числа лимфоцитов CD4⁺ (CD – Cluster of Differentiation). В третью группу вошли возраст и пол, а в четвертую – показатели цитокинового статуса до и после диагностики туберкулеза. Затем был выполнен пошаговый логистический регрессионный анализ в двух подгруппах: при выявлении туберкулеза и при его отсутствии на разных стадиях ВИЧ-инфекции с учетом иммунологических параметров. Использовался пакет программ STATA [3, 4].

Результаты исследования. Однофакторный анализ показал, что риск инфицирования туберкулезом статистически значимо зависит от уровня РНК ВИЧ, числа лимфоцитов CD4⁺ и длительности профилактического лечения. В целом при уровне вирусной РНК менее 400 копий/мл риск инфицирования туберкулезом составил 0,6% (доверительный интервал – 0,4–0,9%), при уровне 1000–10000 копий/мл – 1,5% (доверительный интервал – 0,8–2,5%), а при уровне более 10 000 копий/мл – 6,8% (доверительный интервал – 4,6–9,6%). Была также обнаружена зависимость между частотой выявления туберкулеза и стадией ВИЧ-инфекции: по мере прогрессирования заболевания достоверно увеличивалась вероятность выявления туберкулеза. На риск инфицирования не влияли возраст, пол и схема антиретровирусной терапии. В окончательной модели пошаговой логистической регрессии сохранялось независимое влияние уровней вирусной РНК, CD4⁺-лимфоцитов и стадии

Таблица 2

Параметры описательной статистики иммунологических показателей, используемых с прогностической целью у пациентов с ВИЧ-инфекцией для выявления бессимптомного туберкулеза

Статистический показатель	Иммунологические показатели, пг/мл		
	ФНО α	ИЛ-10	РР ИЛ-6
Средняя	21,39	18,56	1231,37
Стандартное отклонение	2,07	3,45	464,28
Стандартная ошибка	1,87	2,37	396,87
Медиана	21,28	19,07	1261,02
Мин. (10% перцентиль)	19,72	15,48	770,76
Макс. (90% перцентиль)	23,87	21,86	1800,31

ВИЧ-инфекции на риск инфицирования туберкулезом. Плановое профилактическое лечение туберкулеза в первоначальной модели почти не влияло на риск инфицирования, однако в окончательной модели существенно снижало его при продолжительности более 3 месяцев (табл. 1).

По мере прогрессирования ВИЧ-инфекции нарастают уровни ФНО α , РР II типа ФНО α , ИЛ-6 и снижалась (в IVБ и IVВ стадиях) концентрация РР ИЛ-6. Уровень ИЛ-10 возрастал только в терминальной стадии. У больных туберкулезом при прогрессировании ВИЧ-инфекции до IVВ стадии возрастало содержание ФНО α , его РР II типа, ИЛ-6, ИЛ-10 и РР ИЛ-6. В терминальной стадии ВИЧ-ассоциированного туберкулеза зарегистрировано относительное снижение уровней РР ФНО α II типа, ИЛ-10 и РР ИЛ-6 по сравнению с больными 2-й группы в аналогичной стадии. Выявленные различия иммунной реактивности дают основания к разработке дополнительных критериев дифференциальной диагностики на разных стадиях ВИЧ-инфекции, ВИЧ-ассоциированного туберкулеза и прогноза болезни.

Обсуждение полученных данных. Известно, что в клинической диагностике туберкулеза существуют определенные трудности, связанные с его атипичными проявлениями [1, 11]. В связи с этим особенно актуальными являются вопросы ранней диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных. При анализе показателей динамики цитокинов в сыворотке крови факторами неблагоприятного прогноза (выявление туберкулеза в бессимптомной стадии ВИЧ-инфекции) оказались уровни ФНО α , ИЛ-10 и РР ИЛ-6 ($p=0,049$). С учетом параметров описательной статистики были определены интервалы данных иммунологических показателей, ассоциирующие с выявлением туберкулеза в бессимптомной стадии ВИЧ-инфекции (табл. 2). Указанные интервалы иммунологических маркеров можно рассматривать как прогностические критерии возникновения туберкулеза на бессимптомных стадиях ВИЧ-инфекции. Полученные результаты позволяют предложить алгоритм диагностического поиска туберкулеза у

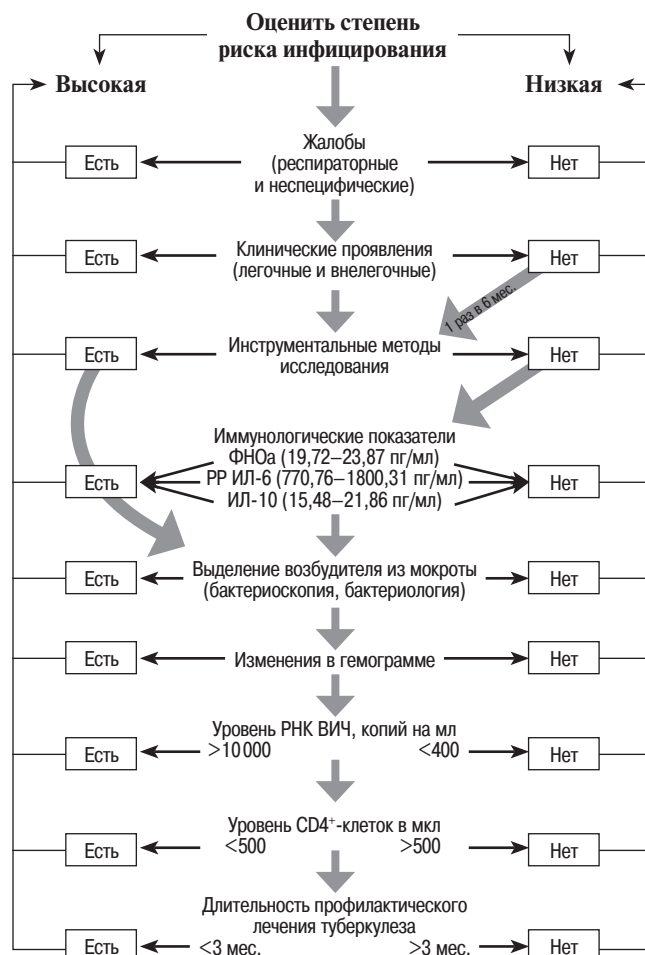


Рис. Алгоритм ранней диагностики туберкулеза у ВИЧ-инфицированных.

ВИЧ-инфицированных. При отсутствии жалоб, клинических данных и рентгенологических изменений рекомендуется ввести мониторинг вышеуказанных иммунологических маркеров, и их выявление в определенных интервалах укажет на риск возможного инфицирования и необходимость проведения повторных углубленных исследований (рис.).

Литература

1. Карачунский М.А. Туберкулез при ВИЧ-инфекции // Проблемы туберкулеза. 2000. № 1. С. 47–52.
2. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция и СПИД / под ред. В.В. Покровского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 128 с.
3. Лядов В.Р. Основы теории вероятностей и математической статистики. СПб: Фонд «Инициатива», 1998. 200 с.
4. Марчук Г.И. Математические модели в иммунологии. Вычислительные методы и эксперименты. М.: Наука, 1991. 300 с.
5. Фролова О.П., Якубовяк В., Кравченко А.В. и др. Рекомендации по снижению заболеваемости туберкулезом среди населения с высокой распространенностью ВИЧ-инфекции. М., 2004. 104 с.
6. Anon. S-Plus, Guide to Statistics. Vol. 1. Seattle, WA: Data Analysis Products Division, 2000.
7. De Castro Cunha R.M., Kallas E.C., Rodrigues D.S. et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha production by CD4⁺ T and CD8⁺ T lymphocytes in AIDS patients with tuberculosis // Clin. Exp. Immunol. 2005. No. 140 (3). P. 491–497.

8. Gardam M.A., Keystone E.C., Menzies R. et al. Anti-tumor necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management // *Lancet Infect. Dis.* 2003. No. 3. P. 148–155.
9. Gebrekristos H.T., Lurie M.N., Mithethwa N., Karim Q.A. Knowledge and acceptability of HAART among TB patients in Durban, South Africa // *AIDS Care.* 2005. Vol. 17, No. 6. P. 767–772.
10. Girardi E., Raviglione M.C., Antonucci G. et al. Impact of the HIV epidemic on the spread of other diseases: the case of tuberculosis // *AIDS.* 2000. Vol. 14, Suppl. 3. P. 47–56.
11. Michailidis C., Pozniak A.L., Mandalia S. et al. Clinical characteristics of IRIS syndrome in patients with HIV and tuberculosis // *Antivir. Ther.* 2005. Vol. 10, No. 3. P. 417–422.

Поступила в редакцию 01.06.2009.

SIGNIFICANCE OF CYTOKINE STATUS IN EARLY DIAGNOSTICS OF TUBERCULOSIS ASSOCIATED WITH HIV-INFECTION

E.V. Markelova, S.A. Sotnichenko, L.F. Sklyar

Vladivostok State Medical University (2 Ostryakov Av. Vladivostok

690950 Russia), Regional Clinical Centre of Prevention and Fight against AIDS (50 Borisenko St. Vladivostok 690016 Russia)

Summary — The paper describes results of examination of 90 HIV-positive patients and patients having HIV-infection associated with tuberculosis. The authors have studied dependency of detection probability for tuberculosis diagnosed in HIV-positive patients from initial levels of immunological profile at various stages of disease using stratification analysis. They also have performed logistic regression analysis with backward selection of predictors and detecting of tuberculosis contagion as dependent variable. Tuberculosis risk was dependent to a considerable extent on HIV RNA level, number of lymphocytes and length of tuberculosis preventive treatment. They have suggested a diagnostic search algorithm for early detection of tuberculosis in HIV-positive patients, which implies monitoring of immunological markers (tumour-a necrosis factor, interleukin-10 and soluble receptor of interleukin-6) and their detection in certain intervals.

Key words: HIV-infection, tuberculosis, cytokines.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 4, p. 44–47.

УДК 616.981.3:578.828.6]-085.28-053.2(571.63)

С.Н. Караблина, Г.А. Паращенко

Краевой клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (690011 г. Владивосток, ул. Борисенко, 50).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОПРОФИЛАКТИКИ ВЕРТИКАЛЬНОГО ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ

Ключевые слова: перинатальный контакт, химиопрофилактика передачи ВИЧ.

Представлен опыт проведения химиопрофилактики вертикального пути передачи ВИЧ в Приморском крае. За 1997–2008 гг. под наблюдением находилось 553 ребенка, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами. Диагноз «перинатальная ВИЧ-инфекция» установлен в 61 случае, 341 ребенок снят с диспансерного учета по достижении возраста 18 мес. При трехэтапной химиопрофилактике с назначением антиретровирусных препаратов не позднее 28-й недели беременности риск передачи ВИЧ от матери ребенку значительно ниже, чем при экстренной двухэтапной профилактике.

В последнее десятилетие в связи с ростом числа ВИЧ-инфицированных женщин особую актуальность приобрели вопросы передачи инфекции от матери к ребенку. Ее вероятность составляет, по данным разных авторов, от 30 до 50% [1, 2, 4]. При своевременных мероприятиях по предупреждению передачи ВИЧ риск можно снизить до 1–2%. В рамках приоритетного национального проекта «Здоровье» комплексу мероприятий, направленных на профилактику передачи ВИЧ от матери к ребенку, уделяется большое внимание.

Материал и методы. За 1997–2008 гг. на диспансерный учет у врача-педиатра ККЦ СПИД поставлено 553 ребенка, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами. 545 из них родились в Приморском крае, 8 при-

были из других территорий РФ (рис. 1). Диагноз «перинатальная ВИЧ-инфекция» установлен в 61 случае, 341 ребенок снят с диспансерного учета по достижении возраста 18 мес. и больше при отсутствии клинических и лабораторных проявлений ВИЧ-инфекции, 107 человек выбыли за пределы Приморского края. 44 ребенка умерли в разные периоды жизни, 8 из них — с диагнозом «перинатальная ВИЧ-инфекция».

Передача ВИЧ от матери ребенку возможна во время беременности, в родах и при грудном вскармливании. В связи с этим химиопрофилактика перинатального заражения включает в себя химиопрофилактику во время беременности, в течение родов и для новорожденного. Наименьший риск вертикальной передачи вируса отмечается при проведении всех трех этапов профилактики с одновременным отказом от вскармливания молоком инфицированной женщины. Невозможность проведения одного из этапов химиопрофилактики не является основанием для отказа от следующего.

До 2004 г. наиболее широко использовалась схема профилактики вертикальной передачи ВИЧ, рекомендованная Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol-076. Матери назначали зидовудин (группа нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы) внутрь во время беременности и внутривенно во время родов, ребенку — зидовудин внутрь с 6–12 часов жизни [3]. С 2004 г. согласно приказу МЗ РФ № 606 от 2003 «Об утверждении инструкции по профилактике