

Шушеначева Е.Е.

Кандидат медицинских наук, ГБУЗ РХ РККВД,
Хакасский государственный университет им. Катанова Н.Ф.

ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА, СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОКОРРЕКТОРА ЛИКОПИДА В ЛЕЧЕНИИ СЕРОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ СИФИЛИСЕ

Аннотация

Вопрос о серорезистентности при сифилисе - один из наиболее актуальных в сифилидологии. Причины возникновения, механизм развития данного состояния до сих пор не раскрыты. Проводилось клиническое, иммунологическое, серологическое обследование больных с серорезистентностью при сифилисе и применялся комплексный метод лечения с использованием иммунокорректора ликопида. Были выявлены нарушения в иммунном статусе - снижение количества Т-супрессоров, увеличение количества Т-хелперов, увеличение иммунорегуляторного индекса, снижение функциональной активности фагоцитарного звена иммунитета, увеличение IgA, IgM, снижение IgG. В результате лечения ликопидом отмечено повышение фагоцитарного числа, индекса, количества Т- супрессоров, уровня IgG, уменьшение содержания Т- хелперов, повышенного ИРИ. Применение метода лечения серорезистентности при сифилисе с использованием ликопида позволяет увеличить количество пациентов с ускоренной в 2-3 раза негативацией серологических реакций и повысить эффективность терапии на 30% по сравнению с традиционными схемами лечения.

Ключевые слова: серорезистентность, ликопид, иммунокорректоры

Keywords: seroresistance, licopid, immunocorrectors

Серологическая резистентность после лечения сифилиса является одной из самых актуальных проблем современной сифилидологии. Статистические данные о частоте серорезистентности после лечения сифилиса в отечественных литературных источниках имеют разноречивые данные и составляют от 1% до 46,7%. Анализ литературных данных показывает отсутствие единой теории возникновения серорезистентности. В последнее время получила развитие иммунная теория формирования серорезистентности и замедленной негативации серологических реакций. Одни авторы связывают возникновение серорезистентности с наличием инфекционного агента, другие авторы объясняют - развитием иммунологических антиидиотипических взаимодействий при длительном течении инфекционного процесса[1,2]. Возможно, состояние серорезистентности при сифилисе обусловлено генетической предрасположенностью, так как выявлено повышение частоты антигенов HLA B8, DR3, B18[3,4]. Иммунокорректирующую терапию рассматривают в настоящее время как одно из важнейших вспомогательных средств в повышении эффективности лечения и предупреждения развития серорезистентности.

Исследуемой клинической группой явились 120 больных, в возрасте от 19 до 50 лет, из них 87 женщин (73,3%), 33 мужчины (26,7%), состоявшие на клинико-серологическом контроле в Хакасском республиканском кожно-венерологическом диспансере, у которых после лечения сифилиса комплекс серологических реакций (КСР) не негативировался в течение года и более.

Больные проходили анамнестическое, клиническое и лабораторное обследование.

Лабораторное обследование включало клинические анализы, серологические реакции (КСР, ИФА), иммунологические тесты. Больные были консультированы невропатологом, кардиологом и окулистом.

Для изучения особенностей Т- и В- лимфоцитов и динамики иммунологических реакций больных с серорезистентностью применяли метод непрямой поверхностной иммунофлуоресценции на микроскопе «Люмам И-1». Экспрессию поверхностных клеточных антигенов CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры), CD22 (В-лимфоциты), CD56 (натуральные киллеры) оценивали с использованием мышиных моноклональных и меченных флюоресцинизоотиоцианатом (ФИТЦ) антител производства ЗАО «Сорбент» г. Подольск. Иммуноглобулины определяли методом Манчини. Количество циркулирующих комплексов (ЦИК) в сыворотке крови оценивали по методу Фримеля.

Для исследования функциональной активности нейтрофилов периферической крови использовали тест с определением фагоцитарного индекса и числа. В качестве объекта фагоцитоза использовались твердые частицы латекса, которые смешивались с выделенными лейкоцитами периферической крови и инкубировались при 37 ° в течение 30-60 мин.

Для выявления антитрепонемных иммуноглобулинов использовали иммуноферментную тест-систему D-1856 «РекомбиБест антипаллидум – суммарные антитела – стрип» ЗАО «Вектор Бест» (Россия). Постановку ИФА и учет результатов проводили согласно инструкциям по применению тест-систем. При количественном учете результатов ИФА с помощью спектрофотометра измеряли оптическую плотность (ОП) исследуемых образцов сыворотки крови.

Для изучения используемых в работе методов иммунокорректирующей терапии больные были поделены на 2 группы лечения по 30 человек. В группе А (21 женщина и 9 мужчин в возрасте от 21 до 46 лет) применяли ликолипид по 10 мг №10, в группе В (21 женщины и 9 мужчин в возрасте от 20 до 43 лет) – традиционную терапию. Первым этапом являлась дезинтоксикационная терапия (гемодез по 200,0 внутривенно капельно №3 через день, полифепан по 1 столовой ложке 3 раза в день за 1 час до еды в течение 7 дней), вторым – иммунокорректирующая терапия, третьим – антибактериальная терапия (прокаин-пенициллин по 1,5 млн. ед в/м №20, лидаза 64 ЕД в/м №20).

Анализ данных 120 лиц показал, что частота задержки негативации КСР с возникшей в дальнейшем серорезистентностью, наиболее высока у больных с ранним скрытым сифилисом – 76,7%, с вторичным свежим сифилисом – 11,6 %, первичным – 5,0 %.

Таблица 1.

Первичные диагнозы и методы первичного лечения у больных с серорезистентностью

Стадия сифилиса	Методы лечения				Всего
	ЦНИКВИ 1994	МЗ РФ 1993	МЗ РФ 1993	МЗ РФ 1999	
	Ретарпен, экстенциллин	Пенициллин	Бициллин-3	Прокаин-пенициллин	
Первичный серопозитивный	6 (5%)	---	---	---	6 (5%)
Вторичный свежий	12(10%)	2(1,7%)	---	---	14 (11,7%)
Вторичный	4 (3,3%)	2 (1,7%)	---	2 (1,7%)	8 (6,7%)

рецидивный					
Ранний скрытый	58 (48,3%)	10(8,3%)	18 (15%)	6 (5%)	92 (76,6%)
Всего	80(66,6%)	14(11,6%)	18 (15%)	8 (6,7%)	120(100%)

Тщательно собирая анамнез удалось определить, что у 53,3% имелись хронические сопутствующие заболевания. Высок удельный вес больных, занимавшихся самолечением или получивших недостаточное лечение (46,7%). Почти 40,0% больных составили неработающие люди. Наиболее высокий процент - 58,4% сопутствующих заболеваний во всех возрастных группах занимают инфекции, передаваемые половым путем (хламидиоз, кандидоз, микоплазмоз, герпес, трихомониаз, гонорея). При анализе данных по возрастным группам выявлено преобладание пациентов в возрасте от 20 до 29 лет. Таким образом, полученные данные показывают, что пик развития серорезистентности приходится на возрастную группу от 22 до 46 лет – 91,7%, причем чаще у лиц женского пола. Чаще всего исходными диагнозами были ранний скрытый сифилис 48,3% и вторичный сифилис кожи и слизистых 10%. Отсутствие негитивации после лечения дюранными препаратами (ретарпен, экстенциллин) пенициллина 66,6%. Возможно развитие замедленной негитивации и серорезистентности даже у лиц полноценно лечившихся водорастворимым пенициллином по поводу ранних форм сифилиса 16,7%.

В результате исследования иммунологического статуса установлены некоторые особенности у больных с серорезистентностью. Абсолютное количество лейкоцитов было повышено по сравнению с контролем во всей выборке и у мужчин и женщин. Относительное и абсолютное содержание лимфоцитов в общей выборке, среди женщин и мужчин также превышало норму. Т-лимфоциты в относительном количестве были в пределах нормы, в абсолютных числах превышали норму, во всей группе у 48,3% больных ($1543,8 \pm 85,3$), у женщин у 54,5% ($1642,3 \pm 110,4$), у мужчин ($1365,6 \pm 96,4$). Т-хелперы в процентном соотношении у всей выборки в 83,3% ($53,8 \pm 1,12$), у женщин у 88,6% ($55,0 \pm 1,2$) и у мужчин ($50,4 \pm 2,4$) превышали показатели контроля, и в абсолютном числе у 52,3% всей выборки ($1245,9 \pm 76,2$) и у мужчин ($1070,0 \pm 84,7$) и женщин ($1339,1 \pm 99$) были выше нормальных показателей. Т-супрессоры в относительном количестве были во всех группах ниже нормы, в абсолютных числах во всей выборке у 71,7% и среди мужчин у 75,0% и женщин у 70,4% были ниже нормы ($298,5 \pm 23,5$; $295,4 \pm 35,9$; $303,9 \pm 29,3$) ($P < 0.01$). За счет повышения Т-хелперов и снижения Т-супрессоров ИРИ у 90,9% всей выборки был достоверно повышен. CD 56 (натуральные киллеры) в относительном количестве у 43,75% мужчин были снижены ($7,8 \pm 1,5$) и в абсолютном количестве во всех группах были снижены по сравнению с контролем.

Таблица 2.

Показатели клеточного звена иммунитета у больных всей выборки и в зависимости от пола.

Показатели	Здоровые доноры М±m N=20	Больные с серорезистентностью		
		Вся выборка М±m N=120	Мужчины М±m (n=33)	Женщины М±m (n=87)
Лейкоциты, кл/мкл	4500±720	5754,2±252,05	5768,7±296,3	5848,9±327,5

Общие лимфоциты, %	30±6,5	40,32±1,8	37,7±2,3	41,5±2,2
Общие лимфоциты, абс	1850±578	2324,4±128,8	2134,7±151,2	2448±168,4
CD3, %	65±10,6	65,9±1,4	64,7±2,9	66,3±1,7
CD3, абс	1230±86	1543,8±85,3	1365,6±96,4*	1642,3±110,4
CD4, %	46,2±4,3	53,8±1,12	50,4±2,4	55,0±1,2
CD4, абс	850±100	1245,9±76,2	1070,0±84,7	1339,1±99
CD8, %	17,8±12	13,0±0,9	14,3±1,7	12,5±1,0
CD8, абс	380±85	298,5±23,5	295,4±35,9	303,9±29,3
Активные Т-лимфоциты, %	45±5,5	54,6±1,2	53,0±2,6	54,9±1,4
CD56, %	9,5±3,9	9,7±0,7	7,8±1,5	10,25±0,8
CD56, абс	268±79	226,6±21,9	160,2±31,9	251,6±26,7
ИРИ	2,3±0,5	5,9±0,7**	4,3±0,5*	6,5±0,9**

Примечание * p<0,05, ** p<0,01

В-лимфоциты CD22 в процентном содержании у больных с СР при сифилисе отмечались в пределах нормы, в абсолютных числах были повышены во всей выборке (355,7±47,8) и у женщин (385,6±62,8). Уровень IgM немного превышал норму у 65,0% во всей выборке (1,5±0,1) и у 75,0% женщин (1,6±0,1). Уровень IgG был незначительно снижен во всей выборке (12,4±0,5), у женщин и мужчин у 56,25%. Уровень IgA был повышен у 56,7% во всей выборке (2,1±0,1) и среди 50,0% мужчин и 59,0% женщин недостоверно. Уровень IgE превышал норму у 25,0% мужчин (150,2±67,7). ЦИК были в пределах нормы.

Таблица 3.

Показатели гуморального звена иммунитета во всей выборке и в зависимости от пола

Показатели	Здоровые доноры M±m N=20	Больные с серорезистентностью		
		Вся выборка, n=120 M±m	Мужчины, n=33 M±m	Женщины, n=87 M±m
CD22 %	13±2,5	13,5±0,7	13,8±1,3	13,5±0,8
CD22 абс	320±86	355,7±47,8	306,3±35,0	385,6±62,8
IgM	1,35±0,5	1,5±0,1	1,1±0,1	1,6±0,1
IgG	14,2±2,3	12,4±0,5	10,7±0,8	12,7±0,5
IgA	1,8±0,13	2,1±0,1	2,07±0,25	2,1±0,12
IgE	55,3±20,5	89,9±20,5	150,2±67,7	68,0±12,8
ЦИК	95,3±10,3	93,7±0,3	94,9±0,5	93,2±0,4

Таблица 4.

Сравнительные показатели фагоцитоза во всей выборке и по полу.

Показатель	Здоровые доноры M±m N=20	Больные с серорезистентностью		
		Вся выборка N=120	Мужчины N=33	Женщины N=87
Фагоцитарное число	4,0±2,6	3,6±0,2	3,2±0,5	3,7±0,2
Фагоцитарный индекс	60±12,2	54,9±2,5	55,5±5,1	54,7±2,9
НСТ-тест спонтанный	11±5,0	18,8±1,7	17,2±2,1	19,4±2,2
НСТ-тест стимулированный	53±4,0	46,4±3,1	38,9±5,5	48±3,8

Таким образом, у больных с серорезистентностью при сифилисе выявлены следующие изменения иммунного статуса: повышение Т-лимфоцитов за счет Т-хелперов, снижение Т-супрессоров (достоверное в абсолютных числах), повышение ИРИ, снижение натуральных киллеров. В-лимфоциты были в пределах нормы, повышены уровни IgA и IgM, отмечено снижение уровня IgG. Показатели фагоцитарного числа и индекса были снижены, НСТ-тест спонтанный был повышен, НСТ-тест индуцированный снижен.

В результате лечения иммунокорректором ликопидом, прокаин-пенициллином отмечено следующее: абсолютное содержание лейкоцитов повысилось (от 5839,6±356,5 до 6183,3±302,9) $p<0.01$, количество лимфоцитов (40,5±2,5) в относительных числах повысилось (48±1,4) и в абсолютных числах (от 2425,8±193,2 до 2776,5±57,2). Относительное количество Т-лимфоцитов (CD3) было понижено (от 64,4±2,8 до 54,3±2,2) $p<0.01$; повышенное абсолютное количество (1611,9±131,9) увеличилось (1710,6±70,4). Повышенные Т-хелперы (CD4) (52,75±1,7) в относительном количестве снизились до нормальных величин (48,8±1,8) $p<0.05$, в абсолютных числах стали больше показателей доноров (от 1289,1±116,3 до 1343,8±64,5). Сниженные Т-супрессоры (CD8) в процентном содержании (14,04±1,4) уменьшились до 13,3±0,8, в абсолютных цифрах сниженные CD8 (324,3±38,2) повысились практически до нормы (366,8±25,5). Повышенный ИРИ (6,0±1,12) снизился, но сохранился выше нормы (4,9±0,8). Содержание натуральных киллеров (CD56) практически не изменилось. Активные Т-лимфоциты в относительном количестве уменьшились (от 55,3±1,8 до 44,6±2,3) $p<0.01$.

Таблица 5.

Динамика показателей клеточного иммунитета в результате применения иммунокорректора ликопида.

Показатели	Здоровые доноры M±m N=20	Группа «А» N=30	
		До лечения	После лечения
Лейкоциты, кл/мкл	4500±720	5839,6±356,5	6183,3±302,9
Общие лимфоциты, %	30±6,5	40,5±2,5	48±1,4**
Общие лимфоциты, абс	1850±578	2425,8±193,2	2776,5±57,2

CD3, %	65±10,6	64,4±2,8	54,3±2,2**
CD3, абс	1230±86	1611,9±131,9	1710,6±70,4
CD4, %	46,2±4,3	52,75±1,7	48,8±1,8*
CD4, абс	850±100	1289,1±116,3	1343,8±64,5
CD8, %	17,8±12	14,04±1,4	13,3±0,8
CD8, абс	380±85	324,3±38,2	366,8±25,5
Активные Т-лимфоциты, %	45±5,5	55,3±1,8	44,6±2,3**
CD56, %	9,5±3,9	10,5±0,9	9,0 ±0,4
CD56, абс	268±79	256,5±31,1	254,5±13,9
ИРИ	2,3±0,5	6,0±1,12*	4,9±0,8

Примечание - ** - p<0.01 * - p<0.05

Уровень IgM немного повысился больше нормы (от 1,4±0,1 до 1,5±0,1), незначительно повышенный IgA остался повышенным (от 2,0±0,14 до 2,1±0,1). Сниженный уровень IgG повысился (от 11,8±0,5 до 12,5±0,5). Отмечено повышение В-лимфоцитов (CD22) в относительном (с 13,75±0,9 до 14,3±0,8) и абсолютном содержании (с 331,2±31,9 до 399,2±18,8) p<0.01.

Таблица 6.

Динамика показателей гуморального иммунитета в результате применения иммунокорректора ликопида.

Показатели	Здоровые доноры M±m N=20	Группа «А» N=30	
		До лечения	После лечения
CD22 %	13±2,5	13,75±0,9	14,3±0,8
CD22 абс	320±86	331,2±31,9	399,2±18,8**
IgM	1,35±0,5	1,4±0,1	1,5±0,1
IgG	14,2±2,3	11,8±0,5	12,5±0,5
IgA	1,8±0,13	2,0±0,14	2,1±0,1
IgE	55,3±20,5	50,3±9,7	10,7±0,8**
ЦИК	95,3±10,3	94,3±0,5	95,5±0,4

Примечание - ** - p<0.01 * - p<0.05

Сниженные фагоцитарные число (3,4±0,3) и индекс (57,1±3,9) повысились до нормальных величин (4,1±0,13) p<0.01 и (71,7±1,6) p<0.01 соответственно. Повышенный спонтанный НСТ-тест (18,2±2,6) понизился до нормы (13±1,8). Сниженный стимулированный НСТ-тест (35,3±4,3) повысился до нормы (65,8±1,5) достоверно (P<0,01).

Таблица 7.

Динамика показателей фагоцитоза в результате применения иммунокорректора ликопида.

Показатели	Здоровые доноры M±m N=20	Группа «А» N=30	
		До лечения	После лечения
Фагоцитарное число	4,0±2,6	3,4±0,3	4,1±0,13**
Фагоцитарный индекс	60±12,2	57,1±3,9	71,7±1,6**
НСТ-тест спонтанный	11±5,0	18,2±2,6	13±1,8
НСТ-тест стимулированный	53±4,0	35,3±4,3	65,8±1,5**

Примечание - ** - $p < 0.01$ * - $p < 0.05$

При контроле наблюдений реакций стандартного серологического комплекса негативация КСР произошла у 19 из 30 пациентов, что составило 63,3%. Снижение показателей КСР от резко положительных (4+) до положительных (3+) и слабopоложительных (2+) наблюдалось у 9 больных, что составило 30,0%. У 2х больных показатели серологических реакций остались без изменений, их доля составила 6,7%. Средний срок наступления негативации составил 11,3±1,6 месяца. Отмечалось достоверное снижение коэффициента позитивности суммарного ИФА ($p < 0,01$). До лечения этот показатель составлял 3,9±0,15, а после лечения снизился более чем в 2 раза и составил 1,9±0,08.

В группе «В» в результате лечения прокаин-пенициллином в дозе 1,5 млн ед в сутки внутримышечно ежедневно №20 в сочетании с ферментными препаратами (лидаза по 64 ЕД внутримышечно ежедневно №20), поливитаминами негативация КСР произошла у 10 из 30 больных, что составило 33,3%. Снижение позитивности от резко положительных результатов (4+) до положительных (3+) и слабopоложительных (2+) отмечено у 13 пациентов, что составило 43,3%. Не отмечалось снижения позитивности серологических результатов КСР у 7 больных, это составило 23,3%. Средний срок негативации составил 18,6±1,6 месяцев. Отмечено недостоверное снижение показателей суммарного ИФА. Коэффициент позитивности до лечения был равен 4,12±0,3, после лечения снизился незначительно и стал равен 4,0±0,5.

Итак, выявлены более высокие показатели процентов негативации серологических реакций в методике с применением ликопида в сочетании с антибактериальной терапией, составившие 63,3%, соответственно по сравнению с результатами лечения антибактериальными препаратами без применения иммунокорректоров – 33,3%, что превышает данные показатели на 30,0%.

Сравнивая результаты комплексного иммунокорректирующего лечения и стандартного антибактериального лечения больных с серорезистентностью при сифилисе было выявлено, что сроки наступления негативации при использовании иммунокорректирующего лечения (11,3±1,6 мес) меньше сроков при традиционном лечении (18,6±1,6 месяцев).

При проведенных методах лечения отмечено значительное снижение позитивности показателей суммарного ИФА, достоверное при использовании ликопида ($p < 0,05$), а при лечении без применения иммунокоррекции, значения ИФА практически не изменились.

Таким образом, в результате комплексного лечения ликопидом, прокаин-пенициллином у больных с серорезистентностью при сифилисе произошла нормализация в

фагоцитарном звене иммунитета (повышение сниженных фагоцитарных числа и индекса, повышение сниженного НСТ-теста стимулированного, снижение повышенного спонтанного НСТ-теста), активация лейкоцитов, лимфоцитов (повышение абсолютного содержания лейкоцитов, общих лимфоцитов, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров), в процентном количестве было отмечено повышение общих лимфоцитов, снижение Т-лимфоцитов, снижение повышенных Т-хелперов, уменьшение - сниженных Т-супрессоров, снижение активных Т-лимфоцитов, снижение натуральных киллеров, повышение В-лимфоцитов. Было отмечено снижение повышенного ИРИ, повышение выработки IgA, IgM, IgG. Итак, исследования показали, что ликопад в комплексе с прокаин-пенициллином, ферментами, дезинтоксикационной терапией оказывает иммунокорректирующее действие у больных с серорезистентностью при сифилисе, что приводит к изменениям в серологических реакциях, проявляющихся снижением позитивности и негативацией их.

Литература

1. Овчинников Н.М., Васильев Т.В., Сазонова Л.В. и др. К вопросу о серорезистентных формах сифилиса // Вестн. дерматол. и венерол., 1980, №4.- С. 68-72.
2. Васильев Т.В., Орлина Э.А., Максудов Ф.М. и др. К вопросу о патогенезе и терапии серорезистентных форм сифилиса // Вестн. дерматол. и венерол., 1984, №6. – с. 36-39.
3. Милич М.В. Эволюция сифилиса. – М., 1987. – С. 95-110.
4. Цераиди Н.Ф., Мажников А.Т., Поспелов Л.Е. Антигены HLA у больных с ранним, поздним и серорезистентным сифилисом // Вестн. дерматол. и венерол., 1992, №8. – С. 14-18.