

Тбилисский Государственный Медицинский Университет

на правах рукописи

Мая Джонсон

**Иммунореабилитация плафероном и феновином детей раннего возраста,
заболевших гриппом и парагриппом
(клинико-экспериментальное исследование)**

14.00.09 – Педиатрия

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Тбилиси
2006 г.

Работа выполнена на кафедре педиатрии и неонатологии Тбилисской Государственной
Медицинской Академии

Научный руководители: - Иракли Павленишвили, кандидат
медицинских наук, профессор

- Борис Корсантия, доктор

медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: - Лия Жоржолиани, доктор
медицинских наук, профессор (14.00.09)

- Вахтанг Меунаргия, кандидат
медицинских наук (14.00.36)

Защита диссертации состоится _____ 2006 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 14.01.№7 в Тбилиском государственном медицинском университете (0177, Тбилиси, пр.Важа-Пшавела №33)

Ознакомиться с диссертацией можно в библиотеке Тбилисского государственного медицинского университета (0177, Тбилиси, пр.Важа-Пшавела №29)

Автореферат разослан _____ 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета, кандидат медицинских наук,
доцент

И.Джикия

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы: Грипп до сегодняшнего дня остается наиболее широко распространенным заболеванием.. Эпидемия гриппа известна со времен Гиппократа, а в 1957-59 гг. и 1968-69 гг. отмечалась пандемия гриппа. Каждая пандемия уносила миллионы людей. В 1918 – 20 гг., во время так называемой “испанки”, погибло более 20 млн. человек. Жертвами азиатского гриппа оказались 1 млн. человек.

Заболеваемость, вызванная этой инфекцией, примерно в 5 раз больше, чем все вместе взятые другие инфекционные заболевания. Часто встречаются тяжелые формы гриппа и парагриппа (особенно в детском возрасте), которые нередко завершаются

летальным исходом. В США, во время последней эпидемии, показатель госпитализации детей с гриппозной инфекцией достиг 200 - 500 на 100.000 жителей [Committee on Infectious Diseases 2002; Reduction of the Influenza Burden in Children. Pediatrics 110;1246-1252; Izurieta h, Thompson W, Kramarz P, et al. Influenza and the rates of hospitalization for respiratory disease among infants and young children N Eng J. Med 2000; 342: 232-239; McIntosh, K. Lieu, T. 2000. Is it time to give Influenza Vaccine to healthy Infants? N England J. Med 342; 275-276].

В Грузии за период с 1997 по 2003 гг заболеваемость детей в возрасте от 1 года до 5 лет распределялась следующим образом: 1997 г. – 1036 случаев, 1998 г. – 905; 1999 г. – 1181; 2000г. – 1661; 2001 г. –1187; 2002 г. – 1033; а 2003 г. – 1808 случаев.

Респираторная вирусная инфекция у детей часто сопровождается аллергией. Установлено, что вирус гриппа усиливает сенсibilизацию верхних дыхательных путей при субоптимальной концентрации антигена. (Wohleben, G. Muller, J Tatsch, U. et al. Influenza A virus infection inhibits the efficient recruitment of Th2 cells into airways and development of airway eosinophilia. J. Immunol. 170: 4601-4611; Yamamoto, N. S. Suzuki, Y. Suzuki, A. Shirai, et al Immune response induced by airway sensitization after influenza A Virus infection depends on timing of antigen exposure in mice. J. of Virology, January, 2001, p 499-505. Vol.75, No 1).

Грипп протекает в более тяжелой форме при бронхиальной астме и при хронических заболеваниях у взрослых людей, и особенно тяжело у детей, так как их иммунная система находится в процессе формирования.

Низкая эффективность антигриппозных препаратов (в том числе гриппозных вакцин); слабый постинфекционный иммунитет, сниженная иммунокомпетентность, особенно в детском возрасте, требует всестороннего изучения гриппа и парагриппа (БАХУТАШВИЛИ В.И., ЧИКОВАНИ Т.И. – Плаферон-новый иммуномодулятор// Int. J.Immunorehabilitation, 1995, 1, 29-33; МАНДЖАВИДЗЕ Н.Ш. и др. - Иммуномодулирующая терапия пероральным интер-фероном у детей с ОРВИ// Int. J. Immunorehabilitation, 1999, 12, 190; МИРСАЕВА Г.Х. – Состояние свободно-радикального окисления липидов в тромбоцитах и антиоксидантной защиты у больных хроническим обструктивным бронхитом// Int. J. Immunorehabilitation, 2002, 4/1, 63).

Исходя из вышеизложенного, целью работы явилось изучение клинического течения гриппа и парагриппа у детей в возрасте от 1 года до 5 лет, выявление закономерностей иммунного гомеостаза в зависимости от тяжести течения гриппа и обоснование необходимости иммунокорректирующей терапии.

Задачи исследования:

1. Установление этиологической структуры гриппозной инфекции у детей в возрасте от 1 года до 5 лет иммунофлюоресцентным методом.

2. Изучение иммунокомпетентности организма детей, заболевших гриппом, в динамике (Т-лимфоциты и их субпопуляции; В – лимфоциты, иммуноглобулины G, А и М, фагоцитарная активность нейтрофилов крови, активность лейкоцитарного интерферона);

3. На основании исследования типа “случай-контроль” у детей в возрасте от 1 года до 5 лет, заболевших гриппом, изучение клинико- иммунологической эффективности лечения больных плафероном и феновином.

4. В условиях модельной гриппозной инфекции на белых мышах изучение репродукции вируса гриппа в легких и его накопления в крови, оценка состояния иммунного гомеостаза при терапии плафероном ЛБ.

5. Изучение воздействия гриппозной интоксикации на фагоцитарную активность купферовых клеток печени и на синтез NO при терапии плафероном ЛБ;

6. Изучение состояния генетического аппарата клеток костного мозга белых мышей при гриппозной инфекции при терапии плафероном –ЛБ.

Научная новизна работы

Впервые была обоснована необходимость комплексной терапии гриппозной инфекции у детей в возрасте от 1 года до 5 лет с помощью л-формы плаферона ЛБ и феновина.

Впервые было установлено, что при гриппозной инфекции комплексная терапия плафероном ЛБ и феновином защищает купферовые клетки печени от массивного инфицирования, усиливает их фагоцитарную активность и вызывает повышение активности фермента кислой фосфатазы.

Впервые установлено, что плаферон ЛБ ограничивает как активные формы кислорода, так и интенсивность генераторов оксида азота, чем способствует снижению интенсивности стресса окисления, сохранению физиологической концентрации NO, снижению ишемии в тканях и защите клеток от апоптоза.

Практическая ценность

С целью повышения эффективности лечения гриппозной инфекции у детей в возрасте от 1 года до 5 лет предложена лингвальная форма отечественного препарата

плаферон ЛБ, который обладает противовирусным, дезинтоксикационным, антигипоксическим свойством, а также отечественный препарат феновин, в качестве антиоксиданта.

- установлено, что при гриппозной инфекции изучение иммунологических показателей возможно не только для дополнительного подтверждения клинического улучшения и результатов лечения, но и для раннего прогнозирования исхода заболевания.

Основные положения, вынесенные на защиту

- вирус гриппа у детей в возрасте от 1 года до 5 лет протекает на фоне иммунодепрессии. Плаферонфеновино-терапия вызывает улучшение клинического состояния больного, уменьшение неблагоприятных исходов заболевания, положительную динамику иммунологических показателей;
- экспериментальная гриппозная инфекция не ограничивается репродукцией вируса в верхних дыхательных путях и в легких, она в значительной мере повреждает купферовые клетки печени, угнетая активность фермента кислой фосфатазы;
- плаферонфеновинотерапия ограничивает действие генераторов оксида азота. в легких белых мышей при гриппозной инфекции.

Практическое внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в Тбилисской центральной республиканской больнице им. М.Иашвили, в детских поликлиниках г. Тбилиси.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на заседании профессиональной ассоциации неонатологов Грузии, на объединенном заседании кафедры педиатров и неонатологов Государственной Медицинской Академии Грузии.

Структура и объем работы

Диссертационная работа представлена на грузинском языке и содержит 129 печатных страниц. Работа включает: введение, обзор литературы, общую характеристику материала и использованных методов, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации и список цитированной

литературы. Текст иллюстрирован 9 таблицами и 5 рисунками. Библиография состоит из 217 источников.

Материал и методы исследования

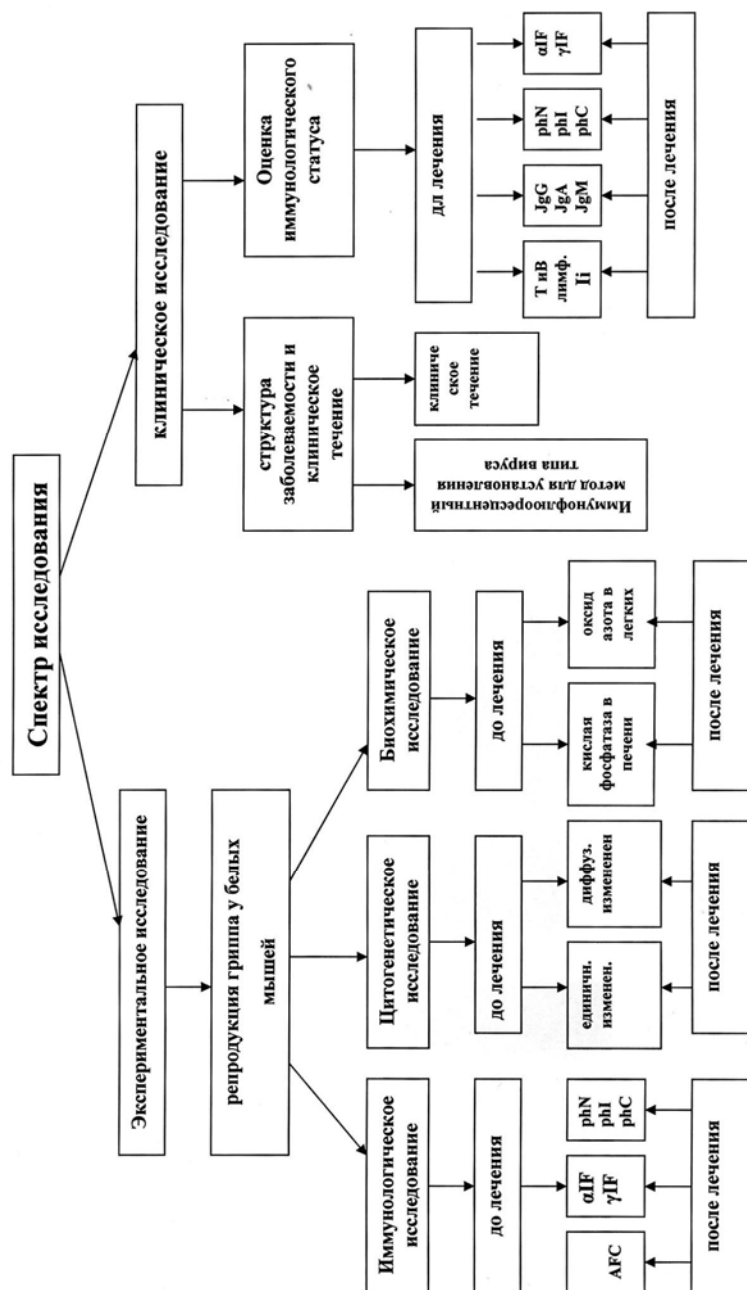
Работа выполнена на базе Тбилисской центральной республиканской больницы им. М.Иашвили (поликлиники), кафедры педиатрии Грузинской Медицинской академии, на базе Тбилисских детских поликлиник. В Институте Медицинской биотехнологии АН Грузии проведено иммунологическое и экспериментальное исследование.

I. Экспериментальное исследование.

Опыты проведены на 17-20 граммовых 80 белых беспородных мышах. Моделирование вирусной инфекции у белых мышей осуществлялось вирусом гриппа типа АО штамом PR8. Для формирования гриппозной инфекции применялось интраназальное введение вируса под эфирным наркозом, а для получения гриппозной интоксикации внутривенное введение. Динамику размножения вируса гриппа определяли титрованием суспензий органов и сыворотки крови в 10 –дневных эмбрионах и оценивали в Lg EID₅₀.

Методом локального гемолиза изучали синтез антител в клетках селезенки. Активность кислой фосфатазы и количество в купферовых клетках печени определяли на сканирующем цитофотометре (Opton).

Получение хромосомных препаратов и цитогенетическое исследование клеток костного мозга животных – проводили методом E.Ford-a D.Vollam-a (1963). Изучение азота в тканях легкого проводилось электронно-парамагнитным резонансным, исследованием.



II. Клиническое исследование (см. дизайн исследования)

Было обследовано 224 больных детей в возрасте от 1 года до 5 лет, диагноз гриппа установлен иммунофлюоресцентным методом у 138 детей, из них у 68 – тип А2, у 34-тип В и в 36 случаях выявлен антиген парагриппа.

Для установления эффективности плаферонфеновин-терапии, проведено исследование типа “случай-контроль” на 63 пациентах (Власов В.В. – 2001; Флетчер Р., 1998), из которых 33 пациента принимали плаферон и феновин (основная группа) и 30-ти пациентам проведено традиционное лечение (контрольная группа). Критерии включения больных в исследование: возраст пациента (от 1 года до 5 лет), заболевание вирусом гриппа, (установлено флюоресцентным методом); необходимость проведения терапии,

изучение иммунокомпетентности в динамике (до и после лечения). Результаты терапии вычислены с применением тетрахориальной таблицы.

Иммунокоррекция плафероном и феновином	Неблагоприятный исход	
	было	не было
было	A	B
не было	C	D

Шанс неблагоприятного исхода плафероно-феновинотерапии A/B. Шанс неблагоприятного исхода при традиционном лечении C/D. Отношение шансов OR (Odds ratio) (A/B)/ (C/D).

Плаферон ЛБ назначали сублингвально, по 1 амп. в день (в течение 3-х дней). Феновин назначался по 100 мг (1 капсула) – в день 1 раз.(7 дней)

Оба препарата приготовлены в Институте медицинской биотехнологии АН Грузии. Антивирусная эффективность плаферона достаточно известна. Кроме этого препарат обладает иммуномодуляторным и дезинтоксикационным действием (Kvitaichvili I., et al 1999, Chichua G. et al 2001, Korsantia B., et al 2002)

В настоящее время в клинике широко применяется препарат в новой модификации, (плаферон – ЛБ), который в процессе подготовки проходит термическую обработку, он является белково-пептидным препаратом и его получают путем экскреции из амниотической мембраны плаценты человека; содержит физиологически активные субстанции: интерферон, эндорфины, энкефалины и цитокины которые определяют многообразные фармакологические эффекты плаферона ЛБ: антивирусные, антигипоксические, дезинтоксикационные при различных патологических состояниях.

Препарат отечественного производства -феновин является фенольным экстрактом из красных сортов винограда (саперави). (Chkhikvishvili et al 2000).

Актуальность действия препарата феновин обусловлена его множественными физиологическими особенностями, среди которых следует отметить сильные антиоксидантные, дезинтоксикационные и умеренные иммуномодуляторные свойства(А. Чилая, и др. 2004 г.).

Для установления иммунного гомеостаза у 63 детей с гриппозной инфекцией, изучены следующие иммунологические параметры: процентное соотношение в крови В и Т – лимфоцитов и их субпопуляций (Т- активный, Т – хелперы, Т-супрессоры, индекс иммунорегуляции); (Jondal M. 1972), количество иммуноглобулинов трех классов М, G и А; (G. Manchini et al ,1965).

Фагоцитарная активность нейтрофилов крови оценивалась по трем показателям: фагоцитарное число и индекс, процент переваривания; активность альфа и гамма интерферона оценивалась их синтезом *in vitro* лейкоцитами крови. (Кост Е.А., Степко М.И. 1975; Биргер М.О. 1982.

Соловьев В.Д., Бектемиров Т.А. 1981) Все вышеуказанные показатели изучались в зависимости от тяжести заболевания в динамике до лечения и в процессе лечения, а также от результатов и терапевтического подхода (базисный или иммунокоррекция).

Обсуждение полученных результатов

В условиях экспериментальной гриппозной инфекции на белых мышах была изучена репродукция вируса гриппа в легких и показатели накопления вируса в крови инфицированных животных. На примере антителообразования, фагоцитоза и интерферона была дана оценка состояния иммунного гомеостаза. Также было изучено воздействие гриппозной интоксикации на активность купферовых клеток печени и состояние генетического аппарата клеток костного мозга. Все вышеуказанные параметры изучались на фоне плаферонфеновинотерапии в разные сроки инфицирования.

Из таблицы №1 видно, что у белых мышей гетерологичный плаферон способствовал снижению показателя репродукции вируса гриппа в легких (на пике, т.е 3-е сутки. – 4,9 Ig EID) с почти полным исчезновением на 10 день после инфицирования. На этом фоне в крови зафиксировано отсутствие вируса.

Таблица 1

группа животных		дни наблюдения				
		1	3	5	7	10
контроль	А	4,2	5,6	6,4	3,8	1,4
	В	0	1,2	2,3	2,1	0,4
плаферон	А	3,9	4,9	4,1	2,2	0,9
	В	0	0,5	0,8	0,3	0

Примечание: А – репродукция вируса в легких В – вирусемия (даны средние цифры от трех животных)

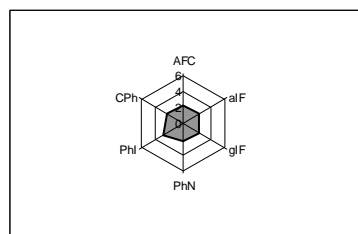
Иммунологический анализ выявил серьезную депрессию, на фоне которой протекала гриппозная инфекция, и иммунокорректирующую активность плаферона, которая способствовала элиминации вируса гриппа из организма белых мышей.

На иммунограмме, где правильный шестиугольник (линия 2) отражает иммунологические показатели вирусного контроля, а заштрихованный неправильный шестиугольник – динамику иммунологических сдвигов на фоне

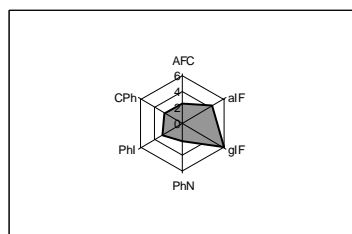
феновинплаферонотерапии, наглядно видно заметное угнетение таких значительных факторов иммунной системы, как интерферон, антитела и фагоцитоз.

Иммунограмма 1

Показатели гриппозной инфекции у белых мышей при плаферонфеновино-терапии (Сравнение с группой без плаферона: вторая линия)



на 3-й день



10-й день

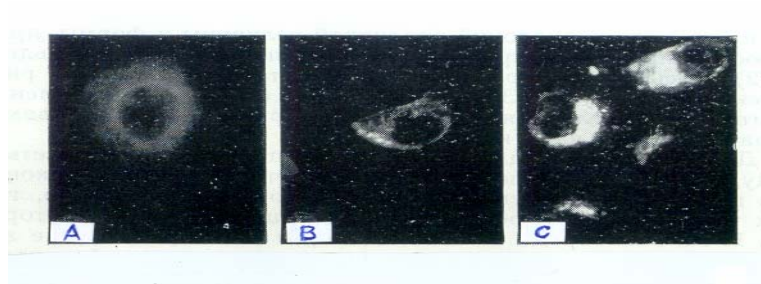
Имеются сведения о том, что гриппозная инфекция не ограничивается репродукцией вируса в верхних дыхательных путях и легких, а сопровождается серьезной интоксикацией организма. С этой точки зрения довольно чувствительной оказалась ткань печени. Исходя из указанных данных, было проверено наличие вирусных частиц в печени инфицированных белых мышей, а также фагоцитарная активность купферовских клеток.

Иммунофлюоресцентный анализ выявил локализацию антигенов в гепатоцитах печени и в купферовских клетках. (Рисунок) На 3-й день после инфицирования отмечалось яркое свечение купферовских клеток и специфическая флюоресценция в некоторых клетках цитоплазмы ("B"). На 5-й день светилось приблизительно 70% гепатоцитов (30-40 клеток на срезе), что свидетельствует о накоплении гриппозного антигена в клетках паренхимы печени. Интенсивность свечения купферовских клеток у "защищенных животных" не повышалась ("C"). На 5-й день в этих клетках уже не было специфического свечения, а в паренхиме были выявлены единичные слабофлюоресцирующие гепатоциты, (7-9 клеток на срезе).

Таким образом, плаферон защищал клетки печени от массивного инфицирования, за счет поглощения вирусного антигена в купферовских клетках и их дальнейшего фагоцитоза.

Вышеуказанная иммунофлюоресцентная картина накопления вируса гриппа в ткани печени указывает на усиление фагоцитарной активности купферовских клеток под влиянием плаферона, что способствует купированию инфекции и снижению повреждения тканей печени.

рисунок 1.



Для дополнительного подтверждения указанных фактов нами была изучена кислая фосфатаза. Известно, что неспецифическая кислая фосфатаза относится к числу индикаторных ферментов, т.е отражает процесс переваривания при фагоцитозе. В нашем эксперименте количества этого фермента указывают на интенсивность поглощенного вируса гриппа купферовскими клетками печени.

С помощью цитофотометра “Opton” была распечатана гистограмма среза печени, на которой посчитано количество точек – кислой фосфатазы (гистограмма 1).

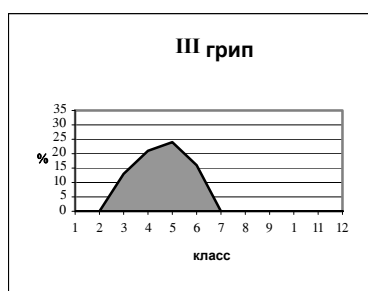
В клетках интактных белых мышей (I группа) вариационные кривые размещались в пределах 4-10 классов. Гриппозная интоксикация (III группа) характеризуется сильным угнетением функции лизосомного аппарата клеток: кривая размещена в пределах 2-7 классов.

Примен Плаферон на здоровых животных вызывал повышение активности кислой фосфатазы на 15%-ов (вариационная кривая в пределах 3-11 классов), среди инфицированных белых мышей плаферон, усиливал фагоцитоз на 20% и вариационная кривая располагалась в пределах 2-9 классов (IV группа).

Гистограмма 1

Количество кислой фосфатазы в печени белых мышей





Учитывая известную мутагенность разных вирусов для организма человека и животных, а также генетическое детерминирование иммунореактивности организма (антивирусная защита), была изучена протекторная способность плаферона, для объяснения некоторых механизмов повреждающего воздействия вируса гриппа и защиты организма.

Цитогенетическое исследование инфицированных белых мышей показало, что гриппозная инфекция вызывала довольно серьезное повреждение хромосом. (таблица 6). Общее число абберантных метафаз составило 36,3% (интактные животные – 2,2%); чаще встречались диффузные повреждения (24,7%), чем единичные (11,6%). Из единичных аббераций, в основном, зафиксированы ацентрические фрагменты и разрывы.

Таблица 2

Влияние гриппозной инфекции и плаферонотерапии на абберантные хромосомы (%)

группы	единичные изменения		диффузные изменения			Общее количество метафаз.
	Хромосомы	Хроматиды	деспирализация	фрагментация	лилизис	
	1	2	3	4	5	6
0	0,3	1,1	0,7	0,1	0	2,2
I	3,2	8,4	5,3	2,3	17,1	36,3
II	0,6	2,3	2,7	0,8	6,4	12,8

Примечание: 0 – контроль; I – вивиральная инфекция

II – вивиральная инфекция + плаферон-феновин

A – I/0: все показатели $p < 0,001$;

B – II/0: $p < 0,001$;

C – II/I: 1 и 3 – $p < 0,05$; 2 и 6 – $p < 0,001$; 4 и 5 – $p < 0,01$.

Таким образом, нами выявлена выраженная мутагенность вируса гриппа для белых мышей, что проявилось в значительном росте общего количества абберантных метафаз ($P < 0,001$). Плаферонотерапия вызвала защитное воздействие на изученные параметры: общее число абберантных метафаз составило 12,8%. Несмотря на то, что плаферон полностью “не смог” нейтрализовать мутагенное действие вируса (сравнение с

интактными животными), его протекторный эффект (по сравнению с “чисто” гриппозной инфекцией) оказался трехкратным ($P < 0,001$). Наши исследования показали нейтрализующий антимуtagenный эффект плаферона к гриппозной инфекции. Можно предположить разные механизмы этого действия, но сам факт протекторного эффекта плаферона может оказаться довольно полезным в профилактике хромосомных повреждений при гриппозной инфекции (интоксикации).

Электронно-парамагнитным (ЭПР) резонансным исследованием в тканях легких белых мышей регистрировался ЭПР спин-меченный сигнал незначительной интенсивности NO (12,6 мм/мг) у интактных животных. На 5-й день инфекции интенсивность ЭПР – сигнала увеличивалась (28,3 мм/мг). На 10-й день, когда гриппозная инфекция у белых мышей в легких уже завершилась, концентрация NO составила 21,9 мм/мг, т.е. на клеточном уровне зафиксировано серьезное повреждение ответственных репарационных процессов. Интенсивность ЭПР- сигналов NO под воздействием плаферона резко снижалась, и на 10-й день почти достигала нормы (13,4 мм/мг).

Таблица 3

Изменение соотношения NO в тканях белых мышей при гриппозной инфекции

контроль мм/мг	грипп		грипп + плаферонофеновин	
	на-5 день	на-10 день	на-5 день	на-10 день
12,6±0,4	28,3±1,5	21,9±1,4	18,7±1,1	13,4±0,6

Таким образом, NO играет важную роль в патогенезе экспериментальной гриппозной инфекции, что выражается в воздействии NO на возбуждаемые аминокислотные рецепторы и интенсификацию свободных радикальных процессов.

Таким образом, на примере гриппозной интоксикации у белых мышей показана важная защитная роль плаферона, как на иммунную систему в целом, так и на показатели местной фагоцитарной реакции. Одним из протекторных механизмов плаферона можно считать его антиоксидантную способность, которая способствует восстановлению дыхания клеток и восстановлению функциональной активности иммунокомпетентных клеток..

Нами было обследовано 224 больных в возрасте от 1 года до 5 лет, у которых иммунофлюоресцентным методом, в 138 случаях был идентифицирован антиген гриппа.

Таблица 4

Этиологическая структура ОВРИ у детей

Количество больных	показатели	иммунофлюоресцентный ответ		Антиген гриппа		
		положит.	отрицат.	А 2	В	парагрипп
224	абсолютный	138	86	68	34	36
	%	61,6	38,4	49,3	24,6	26,1

У 68 (49,3%) выявлен тип А2, у 34 (24,6%) тип В, а в 36 (26,1%) случаях антиген парагриппа. По тяжести заболевания больные распределены следующим образом: легкая форма зафиксирована в 18 случаях вируса гриппа типом А2, 10 типа В. Средняя тяжесть зафиксирована в 98 случаях. Из них у 46 детей выявлен гриппозный антиген типа А2, у 22 детей – типа В, а в 30 случаях был выявлен антиген парагриппа.

Иммунокомпетентность организма была изучена у 63 детей, больных гриппом. В динамике изучен дизайн исследования, иммунологические параметры при обращении в поликлинику, с момента лечения на (3-4-й день) и на 8-13 день. В таблице 5, представлены результаты исходного иммунологического анализа: грипп у детей характеризовался значительным угнетением клеточных и гуморальных факторов. Выявлена корреляция между тяжестью заболевания и интенсивностью иммунодепрессии организма.

Таблица №5

Показатели иммунного статуса у детей с гриппозной инфекцией.

Показатели	Контроль	средний (63)	легкий (44)	тяжелый (19)
T (%)	46,3	41,9	42,3	41,5
Ta (%)	23,8	16,4*	16,6	16,2
Th (%)	29,1	23,9*	24,4	23,6
Ts (%)	17,1	17,9	1,79	17,9
Ii	1,70	1,33*	1,36	1,31
B (%)	21,8	18,4	18,5	18,3
IgM (g/l)	1,03	0,71	0,76	0,66
IgG (g/l)	10,5	9,4	9,6	9,2
IgA (g/l)	1,45	0,96	0,99	0,93
PhN (%)	64,3	50,3*	50,3	50,3
PhI	4,24	1,84*	1,87	1,81
PhC (%)	62,2	49,1*	49,7	48,5
□IF (u/ml)	18,4	8,2*	8,8	7,6
□IF (u/ml)	13,1	2,8*	3,1	2,5

Примечание: со знаком (*)) показано достоверное различие с контролем..

Исходя из вышеизложенного, нами в процесс лечения гриппозной инфекции был включен отечественный препарат плаферон ЛБ, как иммунокорректирующее средство, а также отечественный препарат феновин, как антиоксидантное средство.

Для установления эффективности плаферонотерапии, 63 детям, у которых клинически был выявлен грипп средней тяжести, проведено исследование типа “случай – контроль”. Проведение указанной терапии было согласовано с родителями.. В результате лечения у пациентов контрольной группы (70%) была отмечена картина клинического улучшения. У них отсутствовали симптомы лихорадки, катаральные явления, ларингит, боли в суставах, интоксикация. У 9 пациентов клиническое состояние не улучшилось. Гриппозная инфекция осложнилась пневмонией у 3-х детей.

В результате плаферонфеновин терапии из 33 больных детей клиническое выздоровление отмечено в 29 (87,8%) случаях;. у них отсутствовали вышеуказанные симптомы. В 4-х случаях не отмечено клинического улучшения.

При оценке результатов плаферонфеновин -терапии по тетрагоризонтальной таблице оказалось, что шанс неблагоприятного исхода при плаферонфеновин- терапии равен 0,13, тогда как при традиционном лечении - 0,42, т.е отношение шансов (OR) между адьювантной иммунотерапией базисной и терапией составило 0,3, что указывает на положительную эффективность иммунокорректирующей терапии в лечении гриппозной инфекции.

Учитывая корреляцию между тяжестью заболевания и состоянием иммунного гомеостаза организма, была изучена динамика иммунологических показателей в связи с проведенным лечением.

Таблица 6

Иммунологические показатели у детей с гриппозной инфекцией в зависимости от результатов лечения (базисная терапия)

показатели	контроль	1 – 2 день 30	3 – 4 день		8 – 13 день	
			A (21)	B (9)	A (21)	B (9)
T (%)	46,3	41,9	42,4	41,1	42,9	41,6
Ta (%)	23,8	16,4	17,8	16,5	19,5*	18,3
Th (%)	29,1	23,9	24,9	23,0	25,5	24,4
Ts (%)	17,1	17,9	17,5	18,1	17,4	17,2
Ii	1,70	1,33	1,42	1,27	1,46	1,41
B (%)	21,8	18,4	18,6	18,5	19,9	19,3
IgM (g/l)	1,03	0,71	0,76	0,74	0,84	0,81

IgG (g/l)	10,5	9,4	9,6	9,3	9,9	9,6
IgA (g/l)	1,45	0,96	0,99	0,94	1,09	1,02
PhN (%)	64,3	50,3	50,7	50,1	51,8	50,7
PhI	4,24	1,84	2,13	1,88	2,68	2,53
PhC (%)	62,2	49,1	49,4	49,4	50,7	49,8
□IF (u/ml)	18,4	8,2	8,2	7,9	9,8	8,3
□IF (u/ml)	13,1	2,8	3,7	2,5	5,6*	3,6

Примечание: группа А – удовлетворительные результаты; В- неудовлетворительные результаты; со знаком (*) показано достоверное различие от начальных цифр.

В группе В (неудовлетворительные результаты – 9 больных) в начале исследования отмечалось или полное отсутствие положительных сдвигов, или дальнейшее угнетение. На поздних этапах выявлено монотонное (недостоверное) увеличение изучаемых параметров.

Среди больных гриппом, которые принимали плаферон ЛБ и феновин анализ показал (таблица №7), что при удовлетворительных результатах (группа А – 29 пациентов, 87,8%) почти все показатели на ранних этапах лечения (на 3-4 день) имели положительную динамику; в том числе достоверно увеличилось фагоцитарное число (54,1%) и завершение фагоцитоза (53,3%), гамма-интерфероновая активность (5,8 ед/мм) всего -3 показателя. Следует отметить, что в указанные сроки, в аналогичных группах (без плаферона и феновина) отмечена только недостоверная тенденция к активации. В более поздние сроки лечения (на 8-13 день) зафиксирована почти полная нормализация изучаемых параметров, среди них 9 показателей поднялись “выше” начальных форм.

таблица 7

Иммунологические показатели у детей больных гриппом, в зависимости от результатов иммунокорректирующего лечения

Показатели	контроль	1 – 2 день (33)	3 – 4 день		8 – 13 день	
			А (29)	В (4)	А (29)	В (4)
T (%)	46,3	41,9	43,2	41,5	44,5*	43,1
Ta (%)	23,8	16,4	18,6	16,9	21,2*	20,4*
Th (%)	29,1	23,9	25,9	23,6	27,8*	26,6
Ts (%)	17,1	17,9	17,3	17,9	16,7	16,5
Ii	1,70	1,33	1,49	1,31	1,65*	1,60
B (%)	21,8	18,4	19,3	18,9	20,4	19,6

IgM (g/l)	1,03	0,71	0,96	0,81	0,93	0,91
IgG (g/l)	10,5	9,4	10,1	9,6	10,4	9,9
IgA (g/l)	1,45	0,96	1,12	0,96	1,26	1,07
PhN (%)	64,3	50,3	54,1*	51,3	58,7*	54,6*
PhI	4,24	1,84	2,47	1,94	3,58*	2,42
PhC (%)	62,2	49,1	53,3*	50,1	56,0*	52,3
□IF (u/ml)	18,4	8,2	10,6	8,3	14,4*	10,2
□IF (u/ml)	13,1	2,8	5,8*	2,9	8,8*	5,3*

Примечание: группа А – удовлетворительные результаты; В- (неудовлетворительные результаты; со знаком (*)) показано достоверное различие от начальных цифр.

Несмотря на такую высокую клиническую (иммунокорректирующую) активность, мы зафиксировали, результаты лечения 4-х пациентов признаны неудовлетворительными (12,1%). Именно у них на 3-4 день не отмечены положительные иммунологические сдвиги. При последующих сроках имелась более активная динамика, но их уровень заметно отставал от нормы.

Наши клинические наблюдения подтвердили, что вирус гриппа вызывает серьезное угнетение иммунного гомеостаза организма. Кроме того, были выявлены протекторные эффекты плаферона, способствующие улучшению клинической картины инфекции и нормализации иммунологических показателей.

На примере плаферона и феновина подтвердилась возможность применения иммунологических параметров для оценки эффективности лечения, а также в качестве ранних и поздних прогнозируемых критериев.

Выводы

1. У детей в возрасте от 1 года до 5 лет грипп протекает на фоне выраженной иммунодепрессии. Плаферонфеновин-терапия в 87,8% случаев улучшает клиническое течение заболевания на раннем этапе лечения (70% в контрольной группе), снижает риск неблагоприятного исхода (OR=0,3), и статистически достоверную динамику иммунологических показателей, в виде увеличения активности интерферона, антителообразования и фагоцитоза.
2. Иммунологические параметры при гриппозной инфекции позволяют оценить эффективность лечения, исход заболевания и ранний прогноз осложнений;

3. Плаферон\–ЛБ и феновин способны нейтрализовать иммунодепрессивное действие вируса гриппа, снизить показатели репродукции в легких и вирусемии, уменьшить летальность животных.
4. Гриппозная инфекция вызывает угнетение активности фермента кислой фосфотазы в купферовских клетках печени белых мышей, Плаферонотерапия способствует повышению активности кислой фосфотазы, что указывает на усиление интенсивности завершения фагоцитоза.
5. При модельной гриппозной инфекции в легких белых мышей плаферон ЛБ ограничивает как активные формы кислорода, так интенсивность генераторов оксида азота, способствуя снижению окислительного стресса сохранению физиологической концентрации NO, снижению ишемии в тканях, защите клеток от апоптоза
6. Цитогенетический анализ костного мозга белых мышей выявил выраженную мутагенность вируса гриппа, со значительным ростом общего количества аберантных метафаз (36,3%). И защитное воздействие плафероно-феновинотерапии со значительным снижением аберантных метафаз (до 12,8%).

Практические рекомендации

1. У детей в возрасте от 1 года до 5 лет плаферонфеновин –терапия как эффективное противовирусное средство улучшает клиническое течение заболевания, снижает риск неблагоприятного исхода, улучшает иммунокомпетентность организма ребенка и может быть рекомендовано как эффективное противовирусное средство для широкого применения в поликлинической и стационарной сети;
2. При оценке эффективности лечения детей с гриппозной инфекцией, исхода заболевания и раннего прогнозирования осложнений, рекомендовано определение иммунологических параметров крови.
3. Полученные данные о иммунодепрессивном состоянии у детей с гриппозной инфекцией, дают возможность включить плаферонфеновин-терапию и без определения иммунологических параметров в крови.

Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации:

1. –И.Э.Енукидзе,М.В.Джонсон,Б.М.Корсантия Имунотропный эффект плаферона и феновина у белых мышей при экспериментальной гриппозной инфекции //Экспериментальная и клиническая медицина 2002 №3-4 (9-10) .
2. М.В. Джонсон, Б.М. Корсантия, А.Г.Гачечиладзе. - Клинические и иммуностимулирующие эффекты плаферона и феновина при гриппозной инфекции детей “Georgian Medical News”,2003 ISSN 1512-0112 9(102) сентябрь .
3. M. Jonson, A. Chilaia, T. Koridze - Study of Protective Action of Plaferon on Some Indices of Experimental Influenza in white Mice // Tbilisi State Medical University Annals of Biomedical Research and Education, 2003.