

А.В. Петров
К.В. Белоглазова

Крымский государственный
медицинский университет
им. С.И. Георгиевского

Ключевые слова:

ревматоидный артрит,
вирусы, *Herpesviridae*,
моноклеарные лейкоциты,
метотрексат, сульфасалазин.

ЧАСТОТА ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ — НОСИТЕЛЕЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ СЕМЕЙСТВА *HERPESVIRIDAE* ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕТОТРЕКСАТА И СУЛЬФАСАЛАЗИНА

Резюме. Проведено клиническое обследование 96 больных ревматоидным артритом на протяжении 12 мес с целью определения воспалительных процессов микробной этиологии на фоне использования базисных препаратов метотрексата в дозе 7,5–10 мг/нед в сочетании с фолиевой кислотой (69 пациентов) и сульфасалазина в дозе 2000 мг/сут (27 пациентов). Клиническое наблюдение проводили в зависимости от персистенции в моноклеарных лейкоцитах крови цитомегаловируса, вируса простого герпеса 1-го и 2-го типа и вируса Эпштейна — Барр с использованием непрямо́й иммунофлуоресценции, иммуноферментного анализа и полимеразно-цепной реакции. Установлен факт повышения частоты инфекционных осложнений и приостановки приема базисного препарата у больных ревматоидным артритом с контаминацией моноклеарных лейкоцитов крови вирусов семейства *Herpesviridae* при применении метотрексата.

ВСТУПЛЕНИЕ

Вирусы семейства *Herpesviridae*, чрезвычайно широко распространенные в человеческой популяции и в различном возрасте инфицирующие большинство людей, в настоящее время рассматривают не только как условно-патогенные микроорганизмы, но и как естественные факторы неспецифической стимуляции иммунной системы. С другой стороны, при иммунодефицитных состояниях, в том числе и медикаментозно-индуцированных, часто отмечают активацию вирусов этого семейства, которая может приводить к развитию инфекционных процессов различной локализации, значительно осложняя течение основного заболевания (Маянский А.Н. и соавт., 1998; Юлиш Е.И. и соавт., 2004).

В ранее проведенных исследованиях отмечена относительно частая персистенция вирусов семейства *Herpesviridae* у больных ревматоидным артритом (РА), особенно при достаточно большой длительности заболевания (Егорова О.Н. и соавт., 1998; Петров А.В., 2005).

Цель исследования — изучение возможности применения данных о персистенции вирусов семейства *Herpesviridae* в качестве прогностических критериев риска инфекционных осложнений при лечении пациентов с РА препаратами с иммуносупрессивным действием.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу работы положены результаты 12-месячного клинического наблюдения 96 больных РА, 69 из

которых принимали метотрексат (МТ) в дозе 7,5–10 мг/нед в комбинации с фолиевой кислотой (1 мг на протяжении 5 дней в неделю), а 27 — сульфасалазин (СФ) в суточной дозе 2000 мг. Длительность приема указанных базисных препаратов к началу наблюдения составляла от 4 до 38 мес. Глюкокортикоиды в низких дозах (до 10 мг в пересчете на преднизолон) принимали 46 больных, многие по мере потребности принимали нестероидные противовоспалительные препараты. Диагноз РА устанавливали по критериям ACR (Arnett F.C. et al., 1998). Средняя длительность течения заболевания у наблюдавшихся составила 9 лет и 5 мес. Среди участников исследования 20 мужчин и 76 женщин. Серопозитивный по ревматоидному фактору вариант заболевания определяли у 62 (64,6%) больных, степень активности РА на фоне применения базисной терапии у всех была минимальной: количество болезненных суставов — от 0 до 8, припухших суставов — от 0 до 4, СОЭ не превышала 22 мм/ч, активность болезни по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) при оценке врачом — до 25 мм, выраженность болезненных ощущений по ВАШ — до 38 мм, активность болезни по ВАШ при оценке пациентом — до 32 мм. У 23 наблюдаемых отмечали следующие системные проявления РА: синдром Рейно — у 16 больных, синдром Шегрена — у 1, недостаточность митрального клапана — у 1, ревматоидные узелки — у 8, полинейропатию — у 2, лимфоаденопатию — у 8, миалгический синдром — у 10.

Для изучения персистенции вирусов семейства *Herpesviridae* у пациентов в начале 12-месячно-

го наблюдения на первом этапе с помощью иммуноферментного метода проводили определение IgG- и IgM-антител к цитомегаловирусу (ЦМВ) и вирусу простого герпеса (ВГ) 1-го и 2-го типа и IgM-антител к капсидному антигену, ранних IgG-антител и IgG-антител к нуклеарному антигену вируса Эпштейна — Барр (ВЭБ) в сыворотке крови с использованием диагностических наборов производства НПО «Препарат» и НПО «Вектор». На втором этапе у серопозитивных больных проводили определение персистенции вирусов в мононуклеарных лейкоцитах (МЛ) крови. МЛ из периферической крови обследованных выделяли путем центрифугирования на градиенте плотности фикоколл-триомбраса. Антигены ЦМВ и ВГ определяли с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) (диагностические наборы производства СП «НИАРМЕДИК плюс» и НПО «Биомедик»), а ДНК ВЭБ с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) (диагностические наборы производства НПФ «Литекс»).

В течение 12 мес у наблюдаемых больных фиксировали все нежелательные явления терапии. Наибольшее внимание уделяли инфекционным осложнениям, под которыми подразумевалось возникновение острых или обострение хронических воспалительных процессов бактериальной и вирусной природы. В зависимости от тяжести и клинической значимости все инфекционные осложнения были разделены на две группы: умеренной тяжести и тяжелые. Критериями для отнесения нежелательного явления к градации тяжелых служили потеря или значительное ограничение трудоспособности, необходимость госпитализации и применения инъекционных антибиотиков, развитие или прогрессирование функциональной недостаточности легких, сердца и почек.

Частоту инфекционных осложнений за 12 мес изучали в зависимости от наличия или отсутствия лабораторных признаков персистенции вирусов семейства *Herpesviridae*.

Для оценки достоверности различий между сравниваемыми средними значениями величин применяли непараметрический критерий χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате вирусологического исследования установлено, что IgG-антитела хотя бы к одному из изучаемых представителей вирусов семейства *Herpesviridae* определяли в сыворотке большинства (94,8%) наблюдаемых больных РА. Антигены к ЦМВ и ВГ или ДНК ВЭБ — у 30 (31,2%) из 96 больных. Чаще всего в МЛ крови больных РА отмечали персистенцию ВГ (24,0%), а антигены ЦМВ и ДНК ВЭБ определяли в МЛ крови соответственно в 12,5 и 14,6% случаев. У 9 больных выявляли сочетанное носительство в МЛ крови ЦМВ и ВГ, у 8 — ВЭБ и ВГ, у 2 — ЦМВ и ВЭБ, а у 2 пациентов — контаминацию МЛ крови одновременно тремя вирусами. Следует отметить, что при проведении РНИФ внутриядерное свечение антигенов ЦМВ и ВГ отмечали в единичных клетках, чаще всего в 1–2 на 200–300 просмотренных.

Контаминация периферических МЛ ЦМВ и ВГ, как правило, сопровождалась появлением в сыворотке IgM-антител, что отмечали у 10 из 12 боль-

ных с персистенцией в МЛ крови ЦМВ и у 19 из 23 больных с персистенцией в МЛ крови ВГ. Выявление генома ВЭБ в МЛ крови часто сочеталось с появлением ранних IgG-антител к нуклеарному антигену вируса, что наблюдали у 17 пациентов, в то время позитивные результаты ПЦР были зафиксированы только у 14 из этих больных.

Всех пациентов с персистенцией в МЛ крови вирусов семейства *Herpesviridae* консультировал специалист-инфекционист, который не выявил клинических признаков активной инфекции и показаний для назначения противовирусной терапии этим пациентам, хотя у некоторых из них отмечали признаки лимфоаденопатии (у 7 больных с персистенцией вирусов семейства *Herpesviridae*) и миалгического синдрома (у 8 больных), которые были интерпретированы как системные проявления РА.

Анализ данных клинического наблюдения был проведен в зависимости от вида применяемой базисной терапии и факта выявления антигена или генома вирусов семейства *Herpesviridae* в МЛ крови (табл. 1). Для этого больных распределили на четыре группы. В 1-ю группу вошли 48 пациентов без персистенции вирусов семейства *Herpesviridae*, принимавшие МТ в комбинации с фолиевой кислотой в вышеуказанных дозировках, во 2-ю — 21 больной с признаками контаминации МЛ крови вирусами семейства *Herpesviridae*, принимавший МТ в комбинации с фолиевой кислотой, в 3-ю — 18 больных без персистенции вирусов семейства *Herpesviridae*, принимавших СФ в вышеуказанных дозировках, в 4-ю — 9 больных с признаками контаминации МЛ крови вирусами семейства *Herpesviridae*, принимавших СФ в указанных дозировках.

Таблица 1

Частота определения маркеров инфекции вирусами семейства *Herpesviridae* у наблюдаемых больных РА (n=96)

Инфекционный агент	Выявление IgG-антител	Выявление IgM-антител	Выявление антигена или генома
ВГ, n (%)	78 (81,3)	19 (19,8)	23 (24,0)
ЦМВ, n (%)	56 (58,3)	10 (10,4)	12 (12,5)
ВЭБ, n (%)	31 (33,3)	1 (1,0)	14 (14,6)

В течение 12 мес наблюдения несколько пациентов прервали лечение базисными препаратами из-за отсутствия эффективности: 5 больных 1-й группы, 2 больных — 2-й и по 1 больному — 3-й и 4-й. Результаты анализа инфекционных осложнений терапии базисными препаратами представлены в табл. 2. В анализ не включали случаи неосложненных острых респираторных вирусных инфекций продолжительностью до 5 дней. Отметим, что активацию такой латентной инфекции ВГ, как лабиальный (у 3 больных) и опоясывающий герпес (у 1 больного), отмечали только у больных, принимавших МТ.

Как показал анализ частоты нежелательных явлений, связанных с инфекционными осложнениями терапии базисными препаратами (табл. 3), во 2-й группе больных (носителей вирусной инфекции, принимавших МТ) по сравнению с 1-й группой достоверно выше была частота инфекционных осложнений ($p < 0,01$) за счет случаев вирусных и бактериальных воспалительных процессов как умеренной

тяжести ($p < 0,05$), так и тяжелых ($p < 0,01$), а также достоверно чаще отмечали связанные с инфекционными осложнениями случаи отмены МТ ($p < 0,05$). У больных, принимавших СФ (3-я и 4-я группы) достоверные отличия в показателях частоты нежелательных явлений, связанных с инфекционными осложнениями, в зависимости от статуса носительства в МЛ крови вирусов семейства *Herpesviridae* отсутствовали, хотя отмечали тенденцию к увеличению количества больных, прервавших лечение в 4-й группе (11,1% против 5,6%, $p > 0,05$).

Таблица 2

Характеристика инфекционных осложнений в наблюдаемых группах больных РА (количество случаев)

Заболевание	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Пневмония	1*	2**	0	0
Бронхит	1	1	1	0
Синусит	2	3	1	1
Тонзиллит	1	0	0	0
Фарингит	3	2	2	1
Конъюнктивит, склерит	1	0	0	1
Отит	2*	2	0	1
Ларингит	1	2	1	2*
Пиелонефрит, цистит	6***	9****	6**	0
Стоматит	1	0	0	0
Фурункулез, пиодермия	1	1*	0	0
Герпетическая инфекция	0	4	0	0

В диагностические рубрики объединены как случаи острых процессов, так и обострения хронических; *обозначение, указывающее на количество случаев тяжелых инфекционных осложнений.

Таблица 3

Частота нежелательных явлений, связанных с инфекционными осложнениями терапии МТ и СФ

Нежелательное событие	Группа				Уровень достоверности отличий
	1-я (n=48)	2-я (n=21)	3-я (n=18)	4-я (n=9)	
Больные, прервавшие лечение из-за инфекционных осложнений, n (%)	4 (10,4)	9 (42,9)	1 (5,6)	1 (11,1)	$p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 < 0,05$
Больные с инфекционными осложнениями, n (%)	13 (27,1)	17 (81,0)	7 (38,9)	4 (44,4)	$p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,01$ $p_3 < 0,1$
Больные с инфекционными осложнениями умеренной тяжести, n (%)	8 (16,7)	10 (47,6)	5 (27,8)	3 (33,3)	$p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,01$ $p_3 > 0,01$
Больные с тяжелыми инфекционными осложнениями, n (%)	5 (10,4)	7 (33,3)	2 (11,1)	1 (11,1)	$p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,01$ $p_3 > 0,05$

p_1 – достоверность отличий между показателями в 1-й и 2-й группах, p_2 – достоверность отличий между показателями в 3-й и 4-й группах, p_3 – достоверность отличий между показателями во 2-й и 4-й группах.

При сравнении этих показателей у больных с персистенцией в МЛ крови вирусов семейства *Herpesviridae*, принимавших разные варианты базисной терапии (2-я и 4-я группы), выявили, что у пациентов, принимавших СФ, были ниже частота инфекционных осложнений ($p < 0,1$) и частота прерывания приема базисного препарата из-за инфекционных осложнений ($p < 0,05$).

ДИСКУССИЯ

В настоящее время препаратом первой линии в базисной терапии РА остается МТ. При анализе работ, посвященных изучению побочных явлений,

отмечаемых при длительном приеме этого препарата, в том числе и воспалительных процессов инфекционного характера, достаточно важным представляется факт отсутствия существенного прироста частоты этих явлений при повышении дозы МТ (Capell H.A. et al., 1998; Weinblatt M.E. et al., 1998; van Ede A.E. et al., 2001). Это позволяет предположить, что побочные явления возникают у пациентов с определенным профилем иммунного статуса, который является наиболее уязвимым для иммуносупрессивного действия МТ. Учитывая значительную сложность, разноречивость и многообразие иммунологических тестов, используемых для оценки напряженности антиинфекционных иммунных механизмов, более перспективным представляются пути косвенной оценки дееспособности иммунной системы.

В этой связи наше внимание привлекли известные клинические наблюдения активизации такой герпетической инфекции при длительном лечении МТ, как лабиальный и опоясывающий герпес, рецидивирующий генитальный герпес, часто требующие отмены препарата. Между тем вирусы семейства *Herpesviridae* чрезвычайно распространены среди людей, о чем в том числе свидетельствует факт выявления IgG-антител к ВГ, ЦМВ и ВЭБ у 94,8% обследованных нами больных с РА. Эти вирусы могут длительно бессимптомно персистировать в лимфоидной ткани, проявляя признаки генерализации только при иммунодефицитных состояниях.

В настоящем исследовании нами выделена когорта больных РА, принимающих базисные препараты с иммуносупрессивным действием и имеющих признаки начальной, доклинической, еще контролируемой иммунной системой активации вирусной инфекции в виде контаминации единичных МЛ крови и появления IgM-антивиральных антител к ВГ и ЦМВ и ранних IgG-антител к нуклеарному антигену ВЭБ. Именно у этой когорты больных в настоящем исследовании при дальнейшем наблюдении при продолжении приема базисного препарата отмечено повышение частоты инфекционных осложнений различной этиологии, в том числе и 4 случая активации герпетической инфекции (при приеме МТ). Это позволяет рассматривать персистенцию вирусов семейства *Herpesviridae* как маркер своеобразной брешы в иммунной системе больного РА, принимающего МТ, которая сопровождается повышением риска развития интеркуррентных инфекционных воспалительных процессов. При определении признаков персистенции вирусов семейства *Herpesviridae* в МЛ крови, по-видимому, целесообразна замена МТ на другой базисный препарат. Хотя в настоящем исследовании количество больных, принимающих СФ, было ограниченным, полученные данные все-таки позволяют считать этот препарат более безопасным у пациентов с герпесвирусной инфекцией.

Учитывая, с одной стороны, необходимость трудоемкой процедуры выделения МЛ из крови и использование люминесцентного микроскопа для анализа контаминации МЛ крови вирусными агентами, а с другой — частое сочетание контаминации МЛ крови и появления IgM-антител к ВГ и ЦМВ

и ранних IgG-антител к нуклеарному антигену ВЭБ, возможно использование этих серологических маркеров активации вирусов семейства *Herpesviridae* в широкой клинической практике с целью прогноза переносимости МТ больными РА.

ВЫВОДЫ

1. У больных РА, принимающих МТ в диапазоне доз от 7,5 до 10 мг/нед в комбинации с фолиевой кислотой, персистенция вирусов семейства *Herpesviridae* в МЛ крови ассоциируется с повышением частоты инфекционных осложнений умеренной тяжести в 2,9 раза, частоты тяжелых инфекционных осложнений в 3,2 раза и частоты отмены МТ из-за инфекционных осложнений в 4,1 раза в течение 12 мес лечения.

2. При выявлении в МЛ крови антигенов или геномов вирусов семейства *Herpesviridae* в МЛ крови или/и противовирусных IgM-антител в сыворотке больных РА, принимающих МТ, представляется обоснованной рекомендация о замене базисного препарата на СФ с целью снижения риска развития инфекционных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

Маянский А.Н., Бурков А.Н., Астафьев Д.Г., Рассанов С.П. (1998) Персистенция вирусов: иммунологические и патогенетические аспекты. Клинич. медиц., 12: 19–25.

Юлиш Е.И., Волосовец А.П., Кривоустов С.П., Чернышев О.Е., Самойленко И.Г. (2004) Цитомегаловирусная инфекция у детей. Doctor, 1: 48–51.

Егорова О.Н., Балабанова Р.М., Чувывров Г.Н. (1998) Значение выявления при ревматических заболеваниях антител к вирусам семейства *Herpesviridae*. Терапевт. архив, 5: 41–45.

Петров А.В. (2005) Клинічне значення персистенції вірусів родини *Herpesviridae* в мононуклеарних лейкоцитах хворих на ревматоїдний артрит. Укр. ревматол. журн., 2: 26–32.

Arnett F.C., Edworthy S.M., Bloch D.A. (1998) The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum., 31: 315–324.

Capell H.A., Maiden N., Madhok R. (1998) Staying on DMARD treatment suppresses RA activity even after 12 years. J. Rheumatol., 25: 1880–1886.

van Ede A.E., Laan R.F., Rood M.J., Huizinga T.W., van der Laar M.A., van Denderen C.J. et al. (2001) Effect of folic or folinic acid supplementation on the toxicity and efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a forty-eight week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Arthritis Rheum., 44: 1515–1524.

Weinblatt M.E., Maier A.L., Fraser P.A., Coblyn J.S. (1998) Longterm prospective study of methotrexate in rheumatoid arthritis: conclusion after 132 months of therapy. J. Rheumatol., 25: 238–242.

ЧАСТОТА ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ — НОСІЇВ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ СІМЕЙСТВА *HERPESVIRIDAE* ПРИ ЗАСТОСУВАННІ МЕТОТРЕКСАТУ І СУЛЬФАСАЛАЗИНУ

А.В. Петров, К.В. Білоглазова

Резюме. Проведено клінічне обстеження 96 хворих на ревматоїдний артрит протягом 12 міс з метою виявлення запальних

процесів мікробної етіології на фоні застосування базисних препаратів метотрексату в дозі 7,5–10 мг/тиж в поєднанні з фолієвою кислотою (69 пацієнтів) та сульфасалазину в дозі 2000 мг/добу (27 пацієнтів). Клінічне спостереження проводили залежно від персистенції в мононуклеарних лейкоцитах крові цитомегаловірусу, вірусу простого герпесу 1-го і 2-го типу та вірусу Епштейна — Барр із застосуванням непрямой імунофлуоресценції, імуноферментного аналізу і полімеразно-ланцюгової реакції. Встановлено підвищення частоти інфекційних ускладнень та припинення прийому базисного препарату у хворих на ревматоїдний артрит з контамінацією мононуклеарних лейкоцитів крові вірусів сімейства *Herpesviridae* при застосуванні метотрексату.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, віруси, *Herpesviridae*, мононуклеарні лейкоцити, метотрексат, сульфасалазин.

THE FREQUENCY OF INFECTIOUS COMPLICATION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND PERSISTANCE OF *HERPESVIRIDAE* VIRUSES ON TREATMENT WITH METHOTREXATE AND SULFASALAZINE

A.V. Petrov, K.V. Biloglazova

Summery. The clinical observation of 96 patients with rheumatoid arthritis during 12 month aimed with detection of microbial inflamative processes on treatment with methotrexate in weekly dose 7,5–10 mg in combination with folic acid (69 patients) and sulfasalazine (27 patients) in daily dose 2000 mg. was done. This study of treatment infectious complication was performed depending of persistence in blood mononuclear leukocytes of Cytomegalovirus, the 1-st and 2-nd types of Herpes virus simplex and Epstein-Barr virus with applying of indirect immunofluorescence, immunoenzyme analysis and polymerize chain reaction. The increased frequency of infectious complications and methotrexate interruption in patients with rheumatoid arthritis and contamination of blood mononuclear leukocytes by *Herpesviridae* viruses was established in treatment with methotrexate.

Key words: rheumatoid arthritis, viruses, *Herpesviridae*, mononuclear leukocytes, methotrexate, sulfasalazine.

Адрес для переписки:

Петров Андрей Владимирович
95050, Симферополь, ул. Киевская, 131, к. 41
Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, кафедра терапии № 1
с курсом эндокринологии
E-mail: petroff14@yandex.ru