ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

Барышников Е. Н., Дроздов В. Н., Шулятьев И. С., Парфенов А. И., Лазебник Л. Б.

ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ г. Москвы

Барышников Евгений Николаевич
 111123, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86
 Тел.: 8 (495) 304 3078
 E-mail: ujeen_nic@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель: оптимизация лечения больных язвенным колитом (ЯК) на основании диагностики ЦМВ-инфекции у больных с разными формами заболевания.

Материалы и методы. Проведено обследование 40 больных. Средний возраст $44,3 \pm 3,2$ года. ДНК ЦМВ выделялось из биоптатов слизистой прямой кишки, детекция производилась методом real-time ПЦР.

Результаты. ЦМВ-позитивными оказались 4 (10%) больных. В группе, получавшей иммуномодуляторы, ЦМВ-позитивность встречалась достоверно чаще, чем на стандартной терапии 3 (23,1%) против 1 больного соответственно. Среди ЦМВ-позитивных достоверно чаще встречалось тяжелое течение заболевания и гормональная зависимость: 75% против 13,9%, 75% против 8,3% соответственно.

Вывод. ЦМВ-инфекция у больных ЯК ассоциируется с тяжелым течением заболевания и гормональной зависимостью.

Ключевые слова: язвенный колит; цитомегаловирусная инфекция; гормональная зависимость.

SUMMARY

Aim: adjusting therapy of patients with ulcerative colitis (UC) regarding their cytomegalovirus (CMV) — status. **Materials and methods:** 40 patients were included, mean age — 44.3 ± 3.2 yo. DNA CMV was detected in mucosal tissue samples from rectum using real-time PCR.

Results. 4 (10%) were CMV-positive. CMV-positive status rate was higher among patients on therapy with immunomodulators 3 (23.1%) vs 1 in patients on steroids and/or salicylates. There was significantly higher rate of severe disease and steroid dependence among CMV-positive patients than among CMV-negative: 75% vs 13.9%, 75% vs 8.3% correspondently.

Conclusion. CMV-infection is associated with severe and steroid-dependent UC.

Keywords: ulcerative colitis; cytomegalovirus infection; steroid dependence.

ВВЕДЕНИЕ

Цитомегаловирус (ЦМВ) — ДНК-вирус из семейства *Herpesviridae*, включающий также такие патогены человека, как вирус Эпштейна — Барр (ВЭБ), вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов, а также Варицелла — Зостер вирус. Вирус размножается в клеточном ядре и способен вызывать латентное течение инфекции. Репликация в клетках проявляется микроскопически появлением больших внутриядерных включений и более мелких цитоплазматических включений.

Исследования последних лет показывают, что от 50 до 80% населения является серопозитивным по ЦМВ [1]. Вирус был описан в начале 1980-х гг. на фоне увеличения применения препаратов из группы иммунодепрессантов, а также наблюдения за больными с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИДа. Вирус является интеркуррентным, то есть проявляется при иммунодефицитном состоянии.

Инфекционный процесс при ЦМВ-инфекции протекает тремя путями: первичное инфицирование

(инфицирование лиц, никогда до этого момента не сталкивавшихся с вирусом). У иммунокомпетентных лиц инфекция протекает мало- или бессимптомно. Вирус пожизненно остается в геноме. В последующем в случае компрометации иммунитета (Т-клеточный ответ) возможна реактивация вируса (2-й тип инфекционного процесса). Третий — суперинфекция, заражение лица, уже серопозитивного по ЦМВ.

Активация вируса может протекать по-разному, с поражением различных органов. При поражении кишечника развивается водянистая диарея, могут выявлять эрозии и язвы и сопровождаться кровавой диареей. Длительное течение приводит к формированию псевдополипов, перфорации кишки. Цитомегаловирусный колит исключительно редко встречается у иммунокомпетентных лиц, тогда как у больных, получающих иммунодепрессанты после пересадки паренхиматозных органов, он развивается в 2–16%, у больных СПИДом — в 3–5%.

Недавние исследования, выполненные в Италии, показали, что активная ЦМВ-инфекция выявляется у 27,3% больных со стероидно-рефрактерным язвенным колитом и у 9,1% больных, хорошо отвечающих на терапию стероидами [2]. Считается, что возникновение ЦМВ-колита на фоне активного язвенного колита утяжеляет течение заболевания и ухудшает прогноз. Однако подходы к диагностике ЦМВ-инфекции у больных язвенным колитом, дающие возможность четко выделять тех, кто определенно нуждается в противовирусной терапии, до настоящего времени не выделены.

В нашем институте мы начали обследовать поступающих на лечение в отделение патологии кишечника больных язвенным колитом на ЦМВ-инфекцию с 2009 года. Целью исследования является оптимизация лечения больных язвенным колитом на основании диагностики ЦМВ-инфекции у больных с разными формами заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проводился забор биоптатов слизистой прямой кишки во время ректо- или колоноскопии. Образцы гомогенизировались. Использовались коммерческие наборы, которые позволяют одновременно определять ДНК ЦМВ и ВЭБ. ДНК указанных вирусов изолировалась с использованием коммерческих тест-систем *RiboPrep (Inter Lab. Service)*. Амплификацию производили в полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме real-time с помощью системы *Smart Cycler 2*. Количественный анализ основывался на формулах, предлагаемых производителем оборудования, а также полученных в ходе реакции калибровочных кривых. Результат представлялся в виде «число копий на 10⁵ клеток ткани». Релевантным значением считалось количество копий более 100 в 10⁵ клеток ткани. Обследовано 40 больных язвенным колитом, из них 21 мужчина и 19 женщин. Средний возраст обследованных 44,3 ± 3,2 года. У 22 больных установлено тотальное поражение толстой кишки, у 13 — левостороннее, у 5 — дистальное. Тринадцать больных получали азатиоприн и /или инфликсимаб, 27 лечились стероидами и /или салицилатами. Характеристика больных отражена в *табл. 1*. Статистическая обработка производилась с помощью программы «Биостатистика» ver. 4.03 by Stanton A. Glantz. Достоверность различий определялась вычислением точного критерия Фишера (для малых групп).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди всех обследованных больных 4 (10%) оказались ЦМВ-позитивными. В группе больных, получавших лечение азатиоприном и /или инфликсимабом, 3 (23,1%) больных оказались ЦМВ-позитивными. Количество ДНК копий ЦМВ варьировало от 5650

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ		
Параметр	Характеристика	n
Пол	м/ж	21/19
Протяженность поражения	Дистальное	5
	Левостороннее	13
	Тотальное	22
Тяжесть течения	Легкая	7
	Среднетяжелая	25
	Тяжелая	8
Течение	Впервые выявленный	2
	Хроническое рецидивирующее	25
	Хроническое непрерывное	13
Лечение	Стероиды и/или аminosалицилаты	27
	Азатиоприн и/или инфликсимаб	13
Всего		40

до 20114 на 10^5 клеток ткани. В группе больных, которые успешно лечились стероидами и /или аминосалицилатами, лишь один больной оказался ЦМВ-положительным. Количество копий ДНК ЦМВ составило 616 на 10^5 клеток ткани. При расчете точного критерия Фишера статистическое различие частоты ЦМВ-положительности в двух группах практически достигало принятого уровня достоверности ($p = 0,09$).

Клинически ЦМВ-положительные больные, лечившиеся иммуномодуляторами, характеризовались тяжелым непрерывным течением заболевания, тотальным поражением толстой кишки, гормональной зависимостью и /или гормональной рефрактерностью, по поводу чего назначались азатиоприн и /или инфликсимаб. Однако эффективность лечения иммуномодуляторами у этих больных не была достаточной: больные нуждались в лечении низкими дозами стероидов.

При сравнении больных, у которых была выявлена ДНК ЦМВ в слизистой оболочке толстой кишки на уровне более 100 копий на 10^5 клеток ткани, с остальными по таким критериям, как протяженность поражения толстой кишки, гормональная зависимость, тяжелое течение заболевания, мы получили данные, отраженные в табл. 2. Среди ЦМВ-положительных по сравнению с теми, у кого ЦМВ не обнаруживался, достоверно чаще встречались тяжелое течение язвенного колита и гормональная зависимость: 75% против 13,9% ($p < 0,05$) и 75% против 8,3% ($p < 0,01$) соответственно. Протяженное (тотальное) поражение толстой кишки встречалось чаще среди ЦМВ-положительных больных язвенным колитом, однако различие не было статистически достоверным: 75% против 52,8%.

Больные, положительные на ЦМВ, оказались одновременно положительны и на ВЭБ. Среди всех обследованных оказались 11 (27,5%) ВЭБ-положительных больных. Количество ДНК копий ВЭБ варьировало от 149 до 1977 на 10^5 клеток ткани. Причем среднее количество ДНК ВЭБ у ЦМВ-положительных больных было достоверно выше, чем у ЦМВ-негативных: $1245,0 \pm 72,21$ и $150,6 \pm 40,5$ копий/ 10^5 клеток ткани соответственно ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Небольшое количество обследованных больных пока не позволяет делать заключения, касающиеся изменения подходов к лечению больных язвенным

колитом. Однако предварительные выводы сделать можно уже сейчас. У больных, нуждающихся в лечении иммуномодуляторами, достоверно чаще обнаруживается активная ЦМВ-инфекция. Активная ЦМВ-инфекция у больных язвенным колитом ассоциируется с гормональной зависимостью и тяжелым течением заболевания. Наличие активной ЦМВ-инфекции и инфекции ВЭБ ассоциируется с неудовлетворительным эффектом терапии иммуномодуляторами. Активация ЦМВ-инфекции всегда сопровождается активацией ВЭБ-инфекции.

Мы использовали метод ПЦР-диагностики, осуществляя детекцию ДНК вирусов непосредственно в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки. В опубликованных исследованиях детекцию ЦМВ проводили различными методами. Так, Masoni и соавт., 2005 [2] при иммуногистохимическом исследовании биоптатов ЦМВ выявлялся у 10 из 40 (25%) гормонально-резистентных больных.

По данным индийских исследователей [4], обследовавших 63 больных с язвенным колитом различной протяженностью и активностью заболевания тремя различными методами (серологическое исследование IgM, ДНК ЦМВ в биоптатах, гистологическое исследование), активная ЦМВ-инфекция выявляется у 15,8% больных. ЦМВ-положительность ассоциируется с тотальным поражением толстой кишки, женским полом, наличием гистологической активности язвенного колита, лечением азатиоприном, повышенной частотой колэктомий и фатальных исходов.

K. Tetsu и соавт., 2006 [5] исследовали операционный материал больных язвенным колитом: ЦМВ выявлялся достоверно чаще в группе больных с тяжелым язвенным колитом. ЦМВ-положительность ассоциировалась с более старшим возрастом.

Другая исследовательская группа из Японии [6] проанализировала возможность активации ЦМВ на фоне лечения стероидами и /или иммунодепрессантами. У 52,1% больных была зафиксирована реактивация инфекции, при этом уровень антигенемии и ДНК вируса были низкими, вирус не обнаруживался при микроскопии биоптатов слизистой. Реактивация ЦМВ не приводила к изменению частоты ремиссии и выполнения колэктомии.

Таблица 2

ЧАСТОТА ТОТАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ, ГОРМОНАЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ, ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ СРЕДИ БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМ ЦМВ-СТАТУСОМ			
	ЦМВ-положительные, n = 4	ЦМВ-негативные, n = 36	p
Тотальное поражение	3 (75%)	19 (52,8%)	нд
Гормональная зависимость	3 (75%)	3 (8,3%)	< 0,01
Тяжелое течение	3 (75%)	5 (13,9%)	< 0,05

У. Такуя и соавт. [7] показали, что 56,7% больных язвенным колитом, рефрактерных к лечению иммунодепрессантами, имели ДНК ЦМВ в биоптатах слизистой толстой кишки. У 92,3% из них достигалась ремиссия после лечения ганцикловиром.

В общем полученные нами данные похожи на те, что опубликованы другими исследователями, однако остается неясным, следует ли включать в программу лечения ЦМВ-положительных больных язвенным колитом противовирусные препараты. По-видимому, это вопрос, на который предстоит ответить с помощью дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tessier D. J., Williams R. A. Cytomegalovirus Colitis. — URL: <http://emedicine.medscape.com/article/173151-overview>.
2. Maconi G., Colombo E., Zerbi P. Prevalence, detection rate and outcome of cytomegalovirus infection in ulcerative colitis patients requiring colonic resection // *Dig. Liver Dis.* — 2005. — Vol. 37, № 6. — P. 418–423.
3. Kambham N. et al. Cytomegalovirus infection in steroid-refractory ulcerative colitis: a case-control study // *Am. J. Surg. Pathol.* — 2004. — Vol. 28, № 3. — P. 365–373.
4. Janak K., Ujjala G., Uday C. et al. Infection with cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease: prevalence, clinical significance and outcome // *J. Med. Microbiol.* — 2004. — Vol. 53. — P. 1155–1160.
5. Tetsu K., Toshiaki W., Keisuke H. et al. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis // *Scand. J. Gastroenterol.* — 2006. — Vol. 41, № 6. — P. 706–711.
6. Katsuyoshi M., Yasushi I., Takeshi M. et al. Cytomegalovirus is frequently reactivated and disappears without antiviral agents in ulcerative colitis patients // *Am. J. o Gastroenterol.* — 2006. — Vol. 102, № 2, — P. 331–337.
7. Takuya Y., Hiroshi N., Satoru U. et al. Usefulness of quantitative real-time PCR assay for early detection of cytomegalovirus infection in patients with ulcerative colitis refractory to immunosuppressive therapies // *Inflammatory Bowel Diseases.* — 2007. — Vol. 13, № 12. — P. 1516–1521

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Активная ЦМВ-инфекция достоверно чаще обнаруживается среди больных, нуждающихся в лечении иммуномодуляторами. Активная ЦМВ-инфекция у больных язвенным колитом ассоциируется с гормональной зависимостью и тяжелым течением заболевания. Наличие активной ЦМВ-инфекции также ассоциируется с неудовлетворительным эффектом на проводимое лечение иммуномодуляторами. Активация ЦМВ-инфекции всегда сопровождается активацией ВЭБ-инфекции.