

Изменения цитокинового статуса в остром периоде клещевых нейроинфекций у детей

Бедарева Т.Ю.^{1, 2}, Попонникова Т.В.¹, Галиева Г.Ю.², Пиневиц О.С.^{1, 2},
Вахрамеева Т.Н.^{1, 3}

Changing of cytokine status in acute period of tick-borne neuroinfections in children

*Bedareva T.Yu., Poponnikova T.V., Galiyeva G.Yu., Pinevich O.S.,
Vakhrameyeva T.N.*

¹ Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово

² Кемеровская областная клиническая больница, г. Кемерово

³ Кемеровская клиническая больница № 7, г. Кемерово

© Бедарева Т.Ю., Попонникова Т.В., Галиева Г.Ю. и др.

Исследована активность цитокинов при клещевых инфекциях у детей. Выявленная низкая концентрация интерферона- γ свидетельствует о нарушении клеточного звена иммунной защиты и характерна для очаговой формы клещевого энцефалита. Тяжелые формы заболевания протекают на фоне повышения уровня интерлейкина-6 и интерлейкина-10. Максимальное повышение фактора некроза опухоли- α выявлено в дебюте микст-инфекции. Боррелиозная инфекция протекает на фоне преобладания Th2- над Th1-типом иммунного ответа.

Ключевые слова: клещевые инфекции, дети, цитокины.

Activity of cytokines of tick-borne infection of children was researched. Revealed low level of interferon- γ concentration testify about abnormality of cellular link immune protection and typical for focal forms of tick-borne encephalitis. Severe forms of disease run with background increase of interleukin-6 and interleukin-10. Maximum increase of tumor necrosis factor- α was detected in cases of mixed-infections. Borreliosis infection flows with background domination of Th-2 over Th-1 type of immune response.

Key words: Tick-borne infection, children, cytokines.

УДК 616.98-002.954-036.11-097:578.24

Введение

Весенне-летний клещевой энцефалит (КЭ) и иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), широко распространенные на территории Сибири, относятся к группе природно-очаговых трансмиссивных инфекций, передающихся с укусом клещей рода *Ixodes*. Полиморфизм клинических проявлений, возможность развития хронического прогрессирующего течения, возможность летальных исходов определяют целесообразность совершенствования диагностики, профилактики и лечения. Известно, что течение заболевания от легких инвазивных форм до развития

хронического процесса обусловлено уровнем резистентности и реактивности макроорганизма, характером иммунного ответа [1]. Однако иммунопатогенетические особенности клещевых инфекций у детей раскрыты недостаточно.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей цитокинового статуса при различных этиологических вариантах клещевых инфекций у детей.

Материал и методы

Проведен анализ 69 клинических случаев острых клещевых нейроинфекций у детей, находившихся на лечении в клинике неврологии Ке-

Бедарева Т.Ю., Попонникова Т.В., Галиева Г.Ю. и др. клещевых...

меровской государственной медицинской академии. Средний возраст пациентов составил (11,2 ± 0,6) года (от 1 до 15 лет). Этиологическая структура представлена клещевым энцефалитом (39,1%), иксодовым клещевым боррелиозом (49,4%) и их сочетанием (11,5%). Среди клинических вариантов КЭ преобладала лихорадочная форма – 18,8%, менингеальная форма составила 14,5%, очаговая – 5,8%.

В структуре ИКБ превалировал общеинфекционный синдром (40,7%), локальные формы встречались в 5,8% случаев. Микст-инфекция клещевого энцефалита и иксодового боррелиоза протекала в виде лихорадочной и менингеальной форм (8,6 и 2,9% соответственно) (таблица).

Изменения цитокинового статуса в остром периоде

Статистическая обработка клинического материала и полученных в ходе исследования данных проводилась в операционной среде Windows XP с использованием программ Excel, Origin. При математической обработке использовали *t*-критерий Стьюдента, среднее арифметическое значение \bar{x} , стандартное отклонение S^2x , коэффициент вариации CV, ошибку среднего арифметического Sx .

Концентрация цитокинов в сыворотке крови больных клещевыми инфекциями в динамике заболевания, пг/мл

Клинические формы	Этиология	ФНО-α		ИЛ-12		ИЛ-6		ИЛ-8		ИЛ-10		ИФН-α		ИФН-γ	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Менингоэнцефалитические	КЭ	1,2 ± 0,5	1,8 ± 0,7	2,1 ± 0,8	0,6 ± 0,2	248,9 ± 5,4	272,9 ± 1,9	71,2 ± 6,5	68,4 ± 5,7	3,3 ± 0,8	16,2 ± 1,1	15,5 ± 1,9	14,7 ± 1,1	76,8 ± 16,2	54,1 ± 2,9
		0	0	0,1	0,1	302,6 ± 11,8	286,2 ± 9,8	95,8 ± 15,1	92,6 ± 9,4	11,9 ± 2,5	1,8 ± 0,9	25,1 ± 6,2	12,8 ± 4,1	224,7 ± 32,8	39,5 ± 6,9
Менингеальные	КЭ	1,2 ± 0,8	2,0 ± 0,9	9,8 ± 7,6	2,4 ± 2	257,9 ± 6,9	251,3 ± 0,8	67,1 ± 8,6	85,2 ± 12,1	3,6 ± 0,7	1,9 ± 0,9	1,6 ± 0,9	1,63 ± 0,8	214,5 ± 10,3	43,1 ± 10,4
	Микст-инфекция	3,7 ± 1,2	3,8 ± 0,8	16,5 ± 2,8	5,5 ± 1,1	313,6 ± 13,2	301,9 ± 11,2	124,7 ± 32,5	139,2 ± 14,9	12,1 ± 3,2	6,1 ± 1,3	11,0 ± 1,2	5,1 ± 1,3	234,9 ± 10,2	45,0 ± 9,8
	ИКБ	0,9 ± 0,5	2,3 ± 0,9	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1	314,0 ± 19,1	262,2 ± 11,2	180,3 ± 47,5	190 ± 36,1	17,1 ± 2,9	3,1 ± 0,23	47,1 ± 15,2	32,0 ± 17,2	204,0 ± 40,8	123,8 ± 13,6
Лихорадочные	КЭ	0,2 ± 0,1	4,8 ± 0,5	0,2 ± 0,1	10 ± 0,8	250,3 ± 0,9	247,1 ± 1,1	40,6 ± 4,3	53,9 ± 2,1	2,2 ± 0,2	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,76 ± 0,9	52,1 ± 12,1	50,8 ± 8,2
	Микст-инфекция	3,1 ± 0,9	3,3 ± 1,1	12,4 ± 3,1	7,1 ± 2,0	308,9 ± 11,2	259,5 ± 7,9	96,9 ± 19,1	88,2 ± 8,3	13,4 ± 4,1	4,8 ± 0,8	14,7 ± 2,3	6,5 ± 1,1	245,0 ± 13,7	46,0 ± 16,1
	ИКБ	1,8 ± 1,1	2,4 ± 0,7	6,2 ± 0,7	0,4 ± 0,3	301,1 ± 11,2	288,1 ± 15,1	167,2 ± 25,9	183 ± 21,1	12,8 ± 4,6	7,2 ± 2,2	5,3 ± 1,9	3,4 ± 1,3	451,9 ± 41,2	234,0 ± 46,1
Группа контроля		0		0,01 ± 0,001		251,3 ± 0,5		99,8 ± 22,7		1,4 ± 0,4		0,01 ± 0,001		37,3 ± 6,4	

Определение специфических антител (иммуноглобулины (Ig) G и M) к *B. burgdorferi* в парных сыворотках крови проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА) (ELISA) при помощи стандартных диагностических наборов (DAKO, Дания). Антитела к вирусу клещевого энцефалита определялись в реакции торможения гемагглютинации с антигеном вируса и методом ИФА. Определение концентрации цитокинов (интерфероны (ИФН) -α, -γ, интерлейкины

(ИЛ) -6, -8, -10, -12, фактор некроза опухоли-α (ФНО-α)) в сыворотке крови проводили с использованием коммерческих тест-систем производства ООО «Цитокин» (Россия) и R&D Systems (Wiesbaden, Германия) согласно инструкциям, прилагаемым к диагностическим наборам. Учет результатов производили на иммуноферментном анализаторе «Униплан» (Россия). Количество выражали в пикограммах на миллилитр.

Забор материала (сыворотка и плазма крови, спинномозговая жидкость) осуществлялся в период разгара клинических проявлений (в первые 3 дня болезни) и через 14 дней. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров.

Результаты и обсуждение

Выявлено, что при иксодовом клещевом боррелиозе в виде общеинфекционного синдрома уровень концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови составлял $(305,4 \pm 15,9)$ пг/мл, что свидетельствует о повышении данного показателя относительно нормы $(251,3 \pm 0,5)$, и снижался по мере регресса симптомов общей интоксикации, составляя $(281,5 \pm 0,5)$ пг/мл в динамике заболевания. При лихорадочной форме КЭ уровень ИЛ-6 не отличался от данного показателя в контрольной группе на всем протяжении болезни ($p > 0,05$). При КЭ, протекавшем в виде менингеальной формы, выявлено повышение уровня ИЛ-6 до $(260,2 \pm 9,4)$ пг/мл ($p > 0,05$) со снижением в динамике до нормальных значений. Менингеальная форма КЭ протекала на фоне нормальных показателей содержания ИЛ-6 ($(252,0 \pm 0,6)$ пг/мл). Отличительной чертой очаговой формы КЭ явилось увеличение концентрации данного цитокина в динамике до $(281,3 \pm 1,4)$ пг/мл ($p < 0,05$). При лихорадочной форме микст-инфекции КЭ и ИКБ уровень ИЛ-6 повышался более значительно, составляя $(311,4 \pm 16,7)$ пг/мл ($p < 0,05$), и впоследствии снижался до $(267,5 \pm 11,1)$ пг/мл, не достигая нормальных значений ($p > 0,05$). Таким образом, повышение содержания ИЛ-6 в крови может быть расценено как прогностически неблагоприятный признак, соответствующий наиболее тяжелому течению болезни с очаговым поражением нервной системы.

Концентрация ИЛ-10 в контрольной группе составила $(1,4 \pm 0,4)$ пг/мл. При лихорадочной и менингеальной формах КЭ его уровень повышался незначительно, составляя $(2,7 \pm 0,4)$ и $(3,6 \pm 0,7)$ пг/мл соответственно, и в динамике несколько снижался $(2,3 \pm 0,7)$ и $1,9 \pm 0,9$ соответственно, $p > 0,05$). Острый период ИКБ протекал на фоне повышения уров-

ня ИЛ-10 до $(16,5 \pm 3,7)$ пг/мл ($p < 0,05$), который снижался в динамике заболевания до $2,0 \pm 0,1$, приближаясь к нормальным значениям. Микст-инфекции также отличались увеличением концентрации ИЛ-10 в первые дни болезни ($(10,8 \pm 2,7)$ пг/мл, $p < 0,05$) с последующим снижением до $(5,2 \pm 0,5)$ пг/мл, что выше нормальных значений ($p < 0,05$). В случаях менингеальной формы КЭ в первые дни болезни уровень ИЛ-10 незначительно превышал норму ($(2,4 \pm 0,5)$ пг/мл, $p > 0,05$), однако с увеличением его концентрации в динамике до $(15,8 \pm 1,7)$ пг/мл. Таким образом, недостаточная, несвоевременная или неконтролируемая активация системы противовоспалительных медиаторов не способна ликвидировать имеющийся цитокиновый дисбаланс и может нанести вред за счет патологических эффектов системных воспалительных реакций. Данная закономерность наблюдалась при очаговой форме клещевого энцефалита, когда показатель концентрации ИЛ-10 в сыворотке крови нарастал в динамике заболевания на фоне выраженного и прогрессирующего системного воспалительного процесса.

Лихорадочная форма КЭ в разгар болезни характеризовалась снижением концентрации ИЛ-8 в сравнении с группой контроля ($(99,8 \pm 22,7)$ пг/мл) и составляла $(40,6 \pm 4,3)$ пг/мл с незначительным ($p > 0,05$) повышением в динамике – до $53,9 \pm 2,1$. Подобные результаты получены в группе больных менингеальной и очаговой формами КЭ. В группе больных ИКБ в виде общеинфекционного синдрома в первые дни болезни отмечено повышение данного показателя до $(180,3 \pm 47,5)$ пг/мл. В динамике заболевания у большинства пациентов концентрация ИЛ-8 увеличивалась, обратно коррелируя с выраженностью клинических проявлений общеинфекционного синдрома ($r = 0,7$; $p < 0,05$). При сочетанной инфекции концентрация ИЛ-8 снижалась в динамике. Однако статистически значимой разницы показателей не обнаружено ($p > 0,05$). Учитывая вариабельность исходной концентрации цитокина (от 16,2 до 251,4 пг/мл), диагностически и прогностически значимым представляется определение его продукции в

динамике заболевания. Таким образом, полученные данные также свидетельствуют об угнетении продукции ИЛ-8 при клещевом энцефалите и более сохранной провоспалительной активности при исходном клещевом боррелиозе, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [2]. При микст-инфекции отмечается иммунный дисбаланс, причем направленность иммунопатологических изменений аналогична таковой при КЭ.

В ходе проведенного исследования выявлено, что интерферон- α в сыворотке крови контрольной группы присутствовал в низких концентрациях, в среднем $(0,01 \pm 0,001)$ пг/мл. При ИКБ в виде общеинфекционного синдрома отмечено значительное повышение данного показателя у 78% больных $((43,3 \pm 13,6)$ пг/мл) с тенденцией к последующему снижению в периоде ранней реконвалесценции. У 28% больных при низких значениях ИФН- α в первые дни заболевания отмечено его многократное повышение в динамике. При лихорадочной и менингеальной формах КЭ данный показатель повышался незначительно – до $(1,1 \pm 0,2)$ пг/мл и в динамике достоверно не изменялся. При микст-инфекции выявлено наиболее высокое содержание в крови ИФН- α $((15,8 \pm 3,2)$ пг/мл, $p < 0,05$) с первых дней болезни, причем более выраженное при лихорадочной форме в отличие от менингеальной. Необходимо отметить, что максимальная концентрация ИФН- α выявлена в остром периоде клещевых инфекций, протекавших с поражением нервной системы. Так, при менингоэнцефалите концентрация цитокина составляла в среднем $(15,1 \pm 3,2)$ пг/мл без достоверных изменений в динамике. В случаях регионарной нейропатии при ИКБ, несмотря на слабую выраженность общеинфекционных проявлений, отмечено повышенное содержание ИФН- α – до $(4,5 \pm 1,1)$ пг/мл.

Известно, что вирусы обладают способностью самостоятельно индуцировать систему ИФН, играющую роль естественных индукторов. По существу на сегодняшний день представлениям, активация специфического противовирусного иммунного ответа с участием ИФН- γ как важного иммунорегуляторного цитокина с по-

следующим уничтожением инфицированных клеток с помощью активированных Т-лимфоцитов является ключевым моментом противовирусной защиты макроорганизма [4]. Доминирующую позицию среди неспецифических защитных противовирусных реакций иммунной системы занимает ИФН- γ . Динамика данного показателя была различной в зависимости от этиологии и клинической формы болезни. При общеинфекционном синдроме боррелиозной этиологии отмечено значительное повышение содержания ИФН- γ в крови в сравнении с группой контроля $((194,0 \pm 35,4)$ и $(37,3 \pm 6,4)$ пг/мл соответственно) со снижением в динамике до $(135,0 \pm 24,6)$ пг/мл. При лихорадочной форме КЭ концентрация ИФН- γ достоверно не отличалась от нормы и составляла в среднем $(55,6 \pm 9,2)$ пг/мл без динамики в течение острого периода заболевания. Максимальная концентрация цитокина выявлена при локальных формах клещевого боррелиоза в виде кольцевидной мигрирующей эритемы и регионарной нейропатии – $(463,6 \pm 25,8)$ пг/мл. Повышение концентрации ИФН- γ установлено также при микст-инфекции, протекавшей в виде лихорадочной и менингеальной форм, и в случае серозного менингита вирусной этиологии $((237,5 \pm 13,6)$ пг/мл) со снижением данных показателей до нормальных значений в динамике. Высокие значения концентрации ИФН- γ в период разгара заболевания являются прогностически благоприятными. При очаговой форме КЭ повышение концентрации ИФН- γ было менее выраженным $((87,9 \pm 22,1)$ пг/мл), что согласуется с результатами ранее проведенных исследований [3].

В ходе настоящего исследования максимальное повышение провоспалительного цитокина ИЛ-12 в остром периоде заболевания выявлено у больных менингеальной формой микст-инфекции $((16,5 \pm 2,8)$ пг/мл) со снижением в динамике заболевания $(5,5 \pm 1,1)$ без достижения уровня контрольной группы $(0,01 \pm 0,001)$. Повышение уровня данного цитокина наблюдалось при менингеальной форме КЭ $((9,8 \pm 7,6)$ пг/мл) и локальных формах ИКБ $(6,2 \pm 0,7)$ с приближени-

Экспериментальные и клинические исследования

ем к уровню контрольной группы в периоде ранней реконвалесценции ($2,4 \pm 2,0$ и $0,4 \pm 0,3$ соответственно). ИКБ в виде общеинфекционного синдрома и менингеальной формы протекал на фоне незначительного повышения ($p > 0,05$) уровня ИЛ-12 ($0,3 \pm 0,2$) и $0,1$ пг/мл без динамики в течение всего периода заболевания. Лихорадочная форма КЭ протекала с повышением данного показателя в динамике заболевания до ($10,0 \pm 0,8$) с ($0,2 \pm 0,1$) пг/мл ($p < 0,05$), что можно объяснить низким уровнем ИЛ-10, являющегося физиологическим ингибитором и антагонистом ИЛ-12 [5], не отличавшегося ($p > 0,05$) от группы контроля в разгар клинических проявлений. При менингоэнцефалитической форме КЭ уровень цитокина Т-хелпера (T_H) 1-го типа иммунного ответа повышался незначительно, составляя ($2,1 \pm 0,8$) пг/мл, и снижался до ($0,6 \pm 0,2$) пг/мл в динамике заболевания, обратно коррелируя с уровнем противовоспалительного цитокина ИЛ-10, что свидетельствует о дефекте клеточного звена иммунитета при очаговых формах КЭ.

Уровень фактора некроза опухоли- α , являющегося цитокином первой волны, обладающего выраженными пирогенными свойствами, поступающего в кровь уже в первые часы после альтерации [6], максимально увеличивался в остром периоде менингеальных форм микст-инфекций клещевого энцефалита и иксодового боррелиоза, достигая ($3,7 \pm 1,2$) пг/мл без изменения ($p > 0,05$) в динамике заболевания ($3,8 \pm 0,8$). При лихорадочной форме КЭ в разгар болезни уровень ФНО- α превышал показатели группы контроля незначительно, однако в динамике заболевания выявлено максимальное увеличение до ($4,8 \pm 0,5$) пг/мл, что сопоставимо с данными клинической картины – ведущим был астеновегетативный синдром в виде повышенной утомляемости (78,5%), рассеянности внимания (34,9%), головных болей церебрального характера (9,4%). Часть больных (69%) предъявляли жалобы на диссомнические расстройства в виде трудностей при засыпании или (и) прерывистого сна. Лабильность вегетативной нервной системы, проявляющаяся разлитым красным дермографизмом, гипергидро-

зом, определена у 69,8% пациентов в остром периоде и у 2 пациентов в периоде реконвалесценции очаговой формы КЭ, при которой также установлено увеличение данного показателя в динамике заболевания.

Заключение

Изучение цитокинового статуса в динамике заболевания у детей с клещевыми инфекциями позволило выявить особенности иммунного ответа в зависимости от этиологических вариантов и клинических форм. Так, низкие показатели концентрации ИФН- γ свидетельствуют о нарушении клеточного звена иммунной защиты и характерны для очаговой формы клещевого энцефалита. Тяжелые формы заболевания с поражением нервной системы протекают на фоне повышения уровня концентрации ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови. Максимальное повышение ФНО- α выявлено при микст-инфекциях без динамики в течение всего заболевания, в то время как при КЭ происходит его многократное увеличение к периоду ранней реконвалесценции. Боррелиозная инфекция протекает на фоне преобладания T_H 2-го типа над T_H 1-го типа иммунного ответа, о чем свидетельствуют низкие показатели ИЛ-12 в динамике заболевания. Установленные иммунопатогенетические особенности различных проявлений клещевых инфекций могут быть использованы для прогнозирования течения заболевания на ранних этапах инфекции с целью своевременного проведения соответствующей терапии и предупреждения хронизации процесса.

Исследование поддержано Грантом Президента РФ (МД-3485, № 02.120.11.22235) и Грантом губернатора Кемеровской области.

Литература

1. Васильева Ю.П. Клинико-иммунологические критерии хронизации иксодового клещевого боррелиоза у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2003. С. 22.
2. Крылова Н.В., Леонова Г.Н., Майстровская О.С. Продукция цитокинов лейкоцитами крови, инфицированной дальневосточными штаммами вируса клещевого энцефалита // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006. № 3. С. 95–99.

Бедарева Т.Ю., Попонникова Т.В., Галиева Г.Ю. и др. клещевых...

3. Моргацкий Н.В., Железникова Г.Ф., Скрипченко Н.В. Иммунопатогенетические особенности клещевого энцефалита у детей и новые подходы к терапии // Мед. иммунология. 2007. Т. 9. № 2-3. С. 235-236.
4. Насырова Р.Ф., Рязанцева Н.В., Жукова Н.Г. и др. Молекулярные и клеточные основы патогенеза клещевого энцефалита // Бюл. сиб. меди-

Изменения цитокинового статуса в остром периоде

- цины. 2006. Прил. 1. С. 42-51.
5. Пирогова Н.В. Механизмы нарушений клеточного звена резистентности при клещевых природно-очаговых инфекциях: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2003. С. 46.
6. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов // Мед. иммунология. 2001. Т. 3. № 3. С. 361-368.

Поступила в редакцию 13.04.2009 г.

Сведения об авторах

Бедарева Т.Ю. – врач-невролог отделения для детей с поражением ЦНС, психики и опорно-двигательного аппарата Кемеровской областной клинической больницы, аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Кемеровской государственной медицинской академии (г. Кемерово).

Попонникова Т.В. – д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Кемеровской государственной медицинской академии (г. Кемерово).

Галиева Г.Ю. – заведующая отделением для детей с поражением ЦНС, психики и опорно-двигательного аппарата Кемеровской областной клинической больницы (г. Кемерово).

Пиневич О.С. – врач-невролог отделения для детей с поражением ЦНС, психики и опорно-двигательного аппарата Кемеровской областной клинической больницы, аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Кемеровской государственной медицинской академии (г. Кемерово).

Вахрамеева Т.Н. – врач-невролог Кемеровской клинической больницы № 7, аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Кемеровской государственной медицинской академии (г. Кемерово).

Для корреспонденции

Бедарева Татьяна Юрьевна, тел. (3842) 52-16-89, e-mail: bt528320@rambler.ru