

Клинико-иммунологическая характеристика больных клещевым энцефалитом в острый период в Томской области

Удинцева И.Н.¹, Жукова Н.Г.², Чечина О.Е.², Попонина А.М.¹,
Полторацкая Т.Н.³, Шихин А.В.³, Панкина Т.М.³, Зима А.П.², Пинегина Т.С.²

Clinical immunological characteristic of patients with tick-borne encephalitis during the sharp period in Tomsk Region

Udintseva I.N., Zhukova N.G., Chechina O.Ye., Poponina A.M.,
Poltoratskaya T.N., Shikhin A.V., Pankina T.M., Zima A.P., Pinegina T.S.

¹ МЛПУ «МСЧ „Строитель“», г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

³ Управление Роспотребнадзора по Томской области, г. Томск

© Удинцева И.Н., Жукова Н.Г., Чечина О.Е. и др.

Представлены результаты комплексного исследования особенностей клинического и иммунологического профилей клещевого вирусного энцефалита в острый период в Томской области. В последние годы отмечаются перераспределение соотношения клинических проявлений острого периода в пользу преобладания лихорадочных форм заболевания и тенденция к увеличению случаев длительной циркуляции антигена вируса клещевого энцефалита. Одной из важных причин такого эффекта является снижение иммунологической реактивности организма с развитием цитокинового дисбаланса и нарушение экспрессии цитокинов рецепторов лимфоцитарными клетками

Ключевые слова: клещевой энцефалит, Томская область, цитокиновый дисбаланс.

Results of complex research of features of clinical and immunological profiles tick-borne encephalitis during the sharp period in Tomsk Region are resulted in the article. Last years redistribution of a parity of clinical displays of the sharp period in favor of prevalence of feverish forms of disease and a tendency to increase in cases of long circulation of an antigene of a virus tick-borne encephalitis is marked. One of the important reasons of such effect is decrease in immunological reactance of an organism with development of cytokine's disbalance and expression infringement receptors of cytokines with lymphocytic cages.

Key words: tick-borne encephalitis, Tomsk Region, disbalance of cytokines.

УДК 616.988.25-002.954.2-036.11-07-097(571.16)

Введение

Томская область является одним из основных очагов клещевого вирусного энцефалита в России. Ежегодно в ней подвергаются нападению клещей значительные контингенты населения, что приводит к возникновению большого числа заболеваний с различными клиническими формами и разнообразным течением. Обращаемость на пункты профилактики клещевых инфекций варьирует от 15 тыс. до 28 тыс. в эпидсезон. Все лица, обратившиеся с присасыванием иксодовых клещей, обследованы лабораторно экспресс-методом (исследование крови и клещей). По

официальным данным Центра гигиены и эпидемиологии, в Томской области показатель заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в 2010 г. составил 20,99 случая на 100 тыс. населения, тогда как в среднем по стране данный показатель в 2009 г. не превысил 2,62 [9]. Климато-географические условия томского региона благоприятны для существования очагов клещевого вирусного энцефалита, которые определяются во всех районах области. Погодные условия эпидемиологических сезонов последних лет способствовали более длительному периоду активности иксодовых клещей на всей территории Томской области. Продолжительность эпидемиологических сезонов варьировала

от 170 до 200 дней, при увеличении численности иксодид (в пик активности локально средняя численность клещей составляла 88—145 экземпляров на 1 км, средняя сезонная — с 18,5 экземпляров в 2009 г. до 32,0 — в 2010 г.). Вирусоборность клещей, собранных в природе, в среднем варьирует от 0,4 до 6% [9].

Анализ особенностей клинического профиля клещевого энцефалита в Томской области на современном этапе показал перераспределение соотношения клинических проявлений острого периода в пользу преобладания лихорадочных форм нейроинфекции (до 89%) с устойчивым снижением частоты регистрации менингеальных и очаговых форм. По Томской области удельный вес лихорадочной формы в 2010 г. составил 73,4% (табл. 1) [4, 9].

Таблица 1
Структура клинических форм клещевого энцефалита за 2009—2010 гг. на территории Томской области

Клиническая форма	2009 г.		2010 г.	
	Абс.	%	Абс.	%
Стертая	22	14,0	29	13,3
Лихорадочная	117	74,0	160*	73,4
Лихорадочная (2-волновое течение)	2	1,3	1	0,5
Менингеальная	11	6,9	16*	7,3
Менингеальная (2-волновое течение)	2	1,2	4	1,8
Энцефалитическая	1	0,6	0	0
Менингоэнцефалитическая	3	1,9	8*	3,7
Всего	158	100	218	100

* $p < 0,001$ по сравнению с 2009 г.

Следует отметить четкую тенденцию к увеличению случаев длительной персистенции антигена вируса КЭ в крови, выраженность клинических проявлений которой варьирует от бессимптомного носительства до манифестации нейроинфекции [2, 8, 10].

Согласно современным представлениям, клинический облик данной нейроинфекции связан со способностью вируса КЭ длительно сохраняться в активном состоянии даже после адекватного лечения острых форм заболевания [1]. Известно, что одной из важных причин длительной персистенции вируса КЭ является снижение иммунологической реактивности организма с развитием цитокинового дисбаланса, что оказывает неблагоприятное действие на течение вирусной инфекции, обуславливая ее тяжесть и склонность к хронизации, а также резистентность к проводимой терапии [5, 7].

В связи с вышеизложенным представляется целесообразным проведение комплексного исследования

особенностей клинического и иммунологического профиля клещевого энцефалита в острый период инфекционного процесса.

Материал и методы

В настоящей работе использованы данные, полученные при обследовании 161 больного КЭ в острый период, наблюдавшегося в городском центре по профилактике и лечению клещевых инфекций (МСЧ «Строитель», г. Томск) в период с 2006 по 2008 г.

В работе использовалась клиническая классификация клещевого энцефалита в соответствии с приказом МЗ СССР № 141 от 9 апреля 1990 г. в модификации сотрудников кафедр инфекционных болезней и эпидемиологии, неврологии и нейрохирургии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) [4].

Критерии включения пациентов в исследование: возраст от 20 до 65 лет; верифицированный диагноз КЭ, отсутствие сопутствующего иксодового клещевого боррелиоза, наличие подписанного информированного согласия. Критерии исключения пациентов из исследования: клинически значимые фоновые заболевания нервной системы, которые могли бы повлиять на оценку клинических и лабораторных параметров основной патологии; онкологические и гематологические заболевания; декомпенсированный сахарный диабет; психические нарушения; асоциальный статус больных; беременность и период лактации.

Диагноз КЭ верифицировали с помощью специфического обследования (наличие антигена вируса клещевого энцефалита, специфических ранних-IgM и поздних-IgG антител в твердофазном иммуноферментном анализе крови в парных сыворотках в динамике с интервалом 10—14 дней и (или) рибонуклеиновой кислоты (РНК) вируса клещевого энцефалита в крови в полимеразной цепной реакции (ПЦР)).

В 2010 г. по Томской области зарегистрировано 218 больных с клещевым вирусным энцефалитом. По кратности лабораторного иммунологического исследования все пациенты распределились следующим образом: однократно — в 14,2% (31) случаев, двукратно — в 74,8% (163), трехкратно и более раз — в 11% (24). У 101 пациента (46,3%) в крови обнаружены специфические противоклещевые антитела (IgM и IgG) без наличия антигена вируса клещевого энцефалита, у 92 (42,2%) — противоклещевые антитела и антиген к вирусу клещевого энцефалита, у 14 (6,4%)

пациентов — только специфические антитела без исследования антигена, у 7 (3,2%) — только антиген вируса клещевого энцефалита без иммунного серологического ответа (в этой группе отмечался длительный лихорадочный период). У 4 (1,8%) больных диагноз был выставлен только на основании анамнестических данных (указание на присасывание клеща, наличие инкубационного периода), клинических проявлениях с присутствием выраженной и продолжительной гипертермии, но при этом результаты вирусологических и серологических исследований были отрицательными.

Для количественной оценки боли применяли визуальную аналоговую шкалу (ВАШ): 0—1 балл — отсутствие боли; 2—3 балла — слабая боль; 4—6 баллов — умеренная боль; 7—8 баллов — сильная боль; 9—10 баллов — невыносимая боль.

Для верификации диагноза КЭ применяли следующие тесты: определение антигена вируса клещевого энцефалита в сыворотке крови — иммуноферментный анализ (ИФА) крови (тест-система производства медицинского диагностического центра филиала НПО «Микроген» МЗ РФ в г. Томске НПО «Вирион») и специфических IgM- и IgG-антител к антигену вируса КЭ (тест-система производства ЗАО «Вектор-Бест», пос. Кольцово, Новосибирская область); определение РНК вируса клещевого энцефалита в крови методом ПЦР (тест-система производства медицинского диагностического центра филиала НПО «Микроген» МЗ РФ в г. Томске НПО «Вирион»).

Концентрацию цитокинов (интерлейкинов (IL) -2, IL-4, IL-10, IL-12 и фактора некроза опухоли α (TNF α)) определяли в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов. Содержание цитокинов в супернатантах оценивали с помощью твердофазного ИФА согласно протоколу фирмы-производителя тест-систем (ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург); Biosource (Бельгия)). Количество IL2-R-, IL4-R-, IL10-R-, IL12-R-, TNF-R1-презентирующих лимфоцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии с использованием фикоэритринмеченных моноклональных антител на проточном цитофлуориметре Epics XL (Beckman Coulter, Франция).

При оценке полученных данных применяли методы статистического описания и проверки гипотез [3, 6].

Для проверки нормальности распределения показателей использовали критерий Колмогорова—

Смирнова. Оценку различий между выборками проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента (при нормальном распределении переменных), *U*-критериев Вилкоксона и Манна—Уитни (в случае отсутствия согласия данных с нормальным распределением). В таблицах результаты представлены в виде среднего арифметического значения *M* и стандартной ошибки среднего *m*. Для выявления статистической зависимости между двумя переменными применяли двумерный анализ — таблицы сопряженности и тест χ^2 . Для определения взаимосвязи между отдельными количественными показателями использовали однофакторный дисперсионный анализ с методом линейных контрастов по Шеффе и LSD-тестом; результаты представлены как среднее арифметическое \bar{X} и величина стандартного отклонения *SD*. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости *p* принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В структуре нозологического диагноза острого КЭ регистрировали преобладание удельного веса лихорадочной формы средней степени тяжести (45,34%) (табл. 2).

Таблица 2
Структура клинических форм клещевого энцефалита в острый период за 2006—2008 гг. по данным городского центра по профилактике и лечению клещевых инфекций (МСЧ «Строитель»)

Клиническая форма	Абс.	%
Лихорадочная форма легкой степени тяжести	53	32,92
Лихорадочная форма средней степени тяжести	73	45,34
Стертая форма	35	21,74
Итого	161	100

Ведущим симптомом у большинства больных с лихорадочной формой клещевого энцефалита была гипертермия. У всех пациентов с легкой степенью тяжести регистрировали субфебрильную температуру. В подгруппе лиц со средней степенью тяжести также доминировал субфебрилитет, а частота фебрильной лихорадки составила 35,6% (табл. 3).

Другим часто встречающимся симптомом была миалгия, особенно в мышцах шеи и проксимального отдела плечевого пояса (интенсивность по ВАШ составила $(5,9 \pm 1,1)$ балла у больных с легкой и $(6,2 \pm 1,2)$ балла — со средней степенью тяжести), а также в области поясницы (интенсивность по ВАШ —

(4,4 ± 1,1) балла у больных с легкой и (3,6 ± 1,2) балла — со средней степенью тяжести) и в икроножных мышцах (интенсивность по ВАШ — (4,3 ± 0,6) балла у

больных с легкой и (3,7 ± 1,0) балла — со средней степенью тяжести).

Таблица 3

Частота регистрации основных клинических проявлений у больных в остром периоде клещевого энцефалита, %

Клинические проявления	Лихорадочная форма		Стертая форма (n = 35)	χ^2_1	χ^2_2
	Легкая степень тяжести (n = 53)	Средняя степень тяжести (n = 73)			
<i>Общепаразитарный синдром</i>					
Гипертермия	100	100	0		
Озноб	94,3	97,3	37,1*+	33,9	49,47
Слабость	79,2	89,0	94,3*	3,79	0,77
Гипергидроз	71,7	95,9	65,7+	0,36	18,01
Миалгии	79,2	89,0	82,9	0,18	0,8
Катаральные явления	24,5	64,4	5,7*+	5,28	32,85
<i>Общемозговой синдром</i>					
Головная боль	100	100	97,1	1,53	2,1
Головокружение	71,7	84,9	22,9*+	20,16	40,0
Тошнота	75,5	78,1	62,9	1,62	2,79
Рвота	13,2	20,6	0*+	5,02	8,35
Боль в глазных яблоках	28,3	43,8	11,4+	3,55	11,0
Светобоязнь	18,9	28,8	2,9*+	4,94	11,18
<i>Признаки поражения вегетативной нервной системы</i>					
Расстройства сна	50,9	68,5	28,6*+	4,33	15,27
Эмоциональная лабильность	69,8	56,3	82,9+	1,92	7,39
Дистальный гипергидроз	73,6	78,1	77,4	0,14	0,01
Гиперемия кожи лица и шеи	86,8	87,7	17,1*+	42,3	51,6
Красный дермографизм	41,5	42,5	37,1	0,17	0,28

* Достоверность различия показателей у больных с легкой степенью тяжести лихорадочной формы и стертой формы ($p < 0,05$).

+ Достоверность различия показателей у больных со средней степенью тяжести лихорадочной формы и стертой формы ($p < 0,05$).

Постоянными спутниками острого периода при этой форме КЭ были разной степени вегетативные расстройства: нарушения сна, повышенная возбудимость и другие эмоциональные отклонения, гиперемия кожи лица и верхней части туловища, дистальный гипергидроз и стойкий красный дермографизм.

В группе пациентов со стертой формой КЭ наблюдали разнообразные проявления общепаразитарного синдрома и нарушения со стороны вегетативной нервной системы при отсутствии температурной реакции.

В клиническом профиле синдрома инфекционной интоксикации доминировали слабость, гипергидроз и миалгии; 37,1% пациентов отмечали ощущение озноба.

Обращает на себя внимание меньшая частота регистрации катарального синдрома в дебюте заболевания у лиц со стертой формой в сравнении с группой больных с лихорадочной формой инфекции (5,7% про-

тив 24,5%; $\chi^2 = 5,28$ при легкой степени тяжести инфекции и 64,4%; $\chi^2 = 32,85$ — при средней степени тяжести).

У большинства больных имели место диффузная головная боль и тошнота, достоверно реже в сравнении с группой больных с лихорадочной формой инфекции — другие признаки общемозгового синдрома: головокружение (22,9% против 71,7%; $\chi^2 = 20,16$ при легкой степени тяжести и 84,9%; $\chi^2 = 40,00$ при средней степени тяжести), боли в глазных яблоках (11,4% против 43,8%; $\chi^2 = 11,00$ — при средней степени тяжести) и светобоязнь (2,9% против 18,9%; $\chi^2 = 4,94$ при легкой степени тяжести и 28,8%; $\chi^2 = 11,8$ — при средней степени тяжести).

Из проявлений синдрома вегетативной дисфункции наиболее часто наблюдали эмоциональную лабильность и дистальный гипергидроз. Реже по сравнению с группой больных с лихорадочной формой заболевания регистрировали расстройства сна (28,6%

против 50,9%; $\chi^2 = 7,33$ при легкой степени тяжести и 68,5%; $\chi^2 = 15,27$ — при средней степени тяжести), гиперемии кожи лица и шеи (17,1% против 86,8%; $\chi^2 = 42,30$ при легкой степени тяжести и 87,7%; $\chi^2 = 51,60$ — при средней степени тяжести).

Всем пациентам с целью подтверждения этиологического диагноза проводили серологическое исследование крови (табл. 4).

Таблица 4

Результаты иммунофлюоресцентного анализа крови у больных клещевым энцефалитом, %

Показатель	Лихорадочная форма		Стертая форма (n = 35)	χ^2_1	χ^2_2
	Легкая степень тяжести (n = 53)	Средняя степень тяжести (n = 73)			
АГ вируса КЭ (низкое содержание)	37,7	34,3	77,1* ⁺	13,15	17,44
АГ вируса КЭ (среднее содержание)	20,7	31,5	8,6 ⁺	2,34	6,81
АГ вируса КЭ (высокое содержание)	41,5	34,3	14,3* ⁺	7,35	4,69
IgM	28,3	31,5	8,6* ⁺	5,04	6,81
IgG	41,5	46,6	91,4* ⁺	22,16	20,02
IgM + IgG	30,2	21,9	0* ⁺	33,21	9,01

* Достоверность различия показателей у больных с легкой степенью тяжести лихорадочной формы и стертой формой ($\chi^2_1 > 3,80$).

⁺ Достоверность различия показателей у больных со средней степенью тяжести лихорадочной формы и стертой формой ($\chi^2_2 > 3,80$).

В группе больных с лихорадочной формой инфекции число лиц со средним и высоким содержанием антигена вируса инфекции в сыворотке крови достоверно выше по сравнению со стертой формой заболевания. В то время как в группе лиц со стертой формой КЭ преобладали пациенты с низким содержанием антигена вируса клещевого энцефалита. В группе со стертой формой обращают на себя внимание достоверно меньшая частота регистрации больных с наличием ранних антител к КЭ и преобладание количества пациентов с IgG в сравнении с группой больных с лихорадочной формой инфекции.

В настоящей работе проведен анализ цитокинпродуцирующей функции лимфоцитов и экспрессии ими цитокиновых рецепторов с определением направленности развития иммунного ответа у больных с КЭ.

В остром периоде КЭ регистрировали поляризацию иммунного ответа по Th1-пути с преобладанием продукции провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-12 и TNF α) и уменьшением уровня цитокинов с противовоспалительными свойствами (IL-4 и IL-10) (табл. 5).

Таблица 5

Результаты определения содержания цитокинов с про- и противовоспалительными свойствами в супернатантах у больных клещевым энцефалитом, пг/мл

Цитокин	Здоровые доноры (19 человек) (X; SD)	Пациенты с клещевым энцефалитом (21 человек)	
		(X; SD)	Min—max
IL-2	42,01; 4,56	52,95; 3,28	40,57—61,4
IL-4	89,49; 8,36	95,32; 6,20	73,68—152,63

IL-10	56,68; 6,26	57,63; 5,98	46,20—67,93
IL-12	62,16; 5,13	72,30; 3,35 [#]	57,43—76,01
TNF α	53,56; 6,73	77,71; 5,31	57,64—87,21

Примечание. Min—max — диапазон значений выборки; [#] — достоверность различия показателей у больных клещевым энцефалитом и здоровых доноров ($p < 0,05$).

Оценка презентации цитокиновых рецепторов (IL2-R, IL4-R, IL10-R, IL12-R, TNF-R1) лимфоцитами у пациентов с острой формой КЭ показала значительное снижение количества клеток, несущих данные рецепторы, по сравнению с контрольной группой (табл. 6).

Таблица 6

Экспрессия цитокиновых рецепторов лимфоцитами периферической крови у больных клещевым энцефалитом, % (X; SD)

Показатель	Здоровые доноры (19 человек)	Пациенты с КЭ (21 человек)
Экспрессия IL2-R	94,55; 5,41	34,94; 3,24 [#]
Экспрессия IL4-R	90,28; 5,12	44,43; 2,90 [#]
Экспрессия IL10-R	96,40; 1,34	36,26; 2,98 [#]
Экспрессия IL12-R	94,22; 2,77	34,31; 2,14 [#]
Экспрессия TNF-R1	5,79; 1,44	2,03; 0,55 [#]

[#] Достоверность различия показателей у больных КЭ и здоровых доноров ($p < 0,05$).

Таким образом, клиническое течение лихорадочной формы КЭ характеризовалось наличием проявлений общезинфекционного и общемозгового синдромов, признаков поражения вегетативной нервной системы с преобладанием парасимпатического тонуса, форми-

рованием адекватного специфического иммунного ответа. Особенностью стертой формы КЭ явилось наличие общеинфекционного синдрома при отсутствии температурной реакции, а также незначительно выраженных проявлений вегетативной дисфункции с преимущественным поздним гуморальным специфическим иммунным ответом.

Заключение

В остром периоде клещевого энцефалита имело место преобладание продукции провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-12 и TNF α) и уменьшение уровня цитокинов с противовоспалительными свойствами (IL-4 и IL-10), что согласуется с современными представлениями об иммунопатогенезе острой вирусной инфекции. Однако установленное снижение количества IL2-R-, IL4-R-, IL10-R-, IL12-R- и TNF-RI-несущих лимфоцитов крови, вероятно, является одной из главных причин нарушения регуляторных функций указанных цитокинов в отношении лимфоцитов крови, обеспечивающих противовирусный иммунитет, и дальнейшей хронизации инфекционного процесса.

Литература

1. Амосов А.Д. Клещевой энцефалит: информационно-методическое пособие. Кольцово, 2006. 115 с.
2. Антонов П.В., Цинзерлинг В.А. Современное состояние проблемы хронических и медленных нейроинфекций // Архив патологии. 2001. № 1. С. 47—51.
3. Боровиков В.П. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. СПб. : Питер, 2001. 360 с.

4. Жукова Н.Г., Команденко Н.И., Подоплека Л.Е. Клещевой энцефалит в Томской области. Томск, 2002. 255 с.
5. Жукова О.Б., Рязанцева Н.Н., Новицкий В.В. Вирусная персистенция: иммунологические и молекулярно-генетические аспекты // Бюл. сиб. медицины. 2003. Т. 2, № 4. С. 113—119.
6. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. СПб. : Фолиант, 2003. 429 с.
7. Зима А.П. Система цитокинов и их рецепторов при хронических вирусных инфекциях: молекулярные механизмы дисрегуляции: дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2008. 352 с.
8. Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит: руководство для врачей. Новосибирск, 2001. 360 с.
9. Полторацкая Т.Н., Шихин А.В., Портнягина Е.В. и др. Эпидемиологические особенности клещевого энцефалита в Томской области за 2008 год // Актуальные проблемы инфекционной патологии: материалы Рос. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии СибГМУ. Томск, 2009. С. 140—141.
10. Calza L., Manfredi R., Chiodo F. Tick-borne infections // Recent Prog Med. 2004. V. 95, № 9. P. 403—413.

Поступила в редакцию 13.01.2011 г.

Утверждена к печати 18.02.2011 г.

Сведения об авторах

И.Н. Удинцева — канд. мед. наук, врач-невролог МСЧ «Строитель» (г. Томск).

Н.Г. Жукова — д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии СибГМУ (г. Томск).

О.Е. Чечина — канд. мед. наук, руководитель Научно-образовательного центра молекулярной медицины СибГМУ (г. Томск).

А.М. Попонина — аспирант кафедры кибернетики СибГМУ (г. Томск).

Т.Н. Полторацкая — канд. мед. наук, Управление Роспотребнадзора по Томской области зав. лабораторией паразитологических исследований Федерального государственного учреждения здравоохранения Центра гигиены и эпидемиологии в Томской области (г. Томск).

А.В. Шихин — канд. мед. наук, Управление Роспотребнадзора по Томской области главный врач Федерального государственного учреждения здравоохранения Центра гигиены и эпидемиологии в Томской области (г. Томск).

Т.М. Панкина — энтомолог Федерального государственного учреждения здравоохранения Центра гигиены и эпидемиологии в Томской области (г. Томск).

А.П. Зима — д-р мед. наук, профессор кафедры фундаментальных основ клинической медицины СибГМУ (г. Томск).

Удинцева И.Н., Жукова Н.Г., Чечина О.Е. и др. Клинико-иммунологическая характеристика больных КЭ в острый период...

Т.С. Пинегина — ординатор кафедры неврологии и нейрохирургии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Жукова Наталья Григорьевна, тел. (382-2) 53-20-50.