

Клинико-иммунологические аспекты клещевого энцефалита

Удинцева И.Н.¹, Чечина О.Е.², Жукова Н.Г.², Лукашова Л.В.²,
Рязанцева Н.В.², Попонина А.М.², Малышева Л.А.¹,
Бартфельд Н.Н.¹, Першина С.А.²

Clinical immunological aspects of tick-borne encephalitis

Udintseva I.N., Chechina O.Ye., Zhoukova N.G., Lukashova L.V.,
Ryazantseva N.V., Poponina A.M., Malysheva L.A., Bartfeld N.N.,
Perschina S.A.

¹ МСЧ «Строитель», г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

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

Приведены результаты клинико-иммунологического анализа больных с различными формами клещевого энцефалита по Томской области за период с 2000 по 2008 г. Выявленный цитокиновый дисбаланс наряду с нарушением экспрессии цитокиновых рецепторов лимфоцитарными клетками может служить одной из главных причин неэффективности иммунного ответа при внедрении инфекционного агента в организм и формирования хронической формы инфекционной патологии, в частности длительного антигеноносительства вируса клещевого энцефалита. Установлена тенденция к росту числа больных с длительным антигеноносительством вируса клещевого энцефалита с преобладанием среди них лиц женского пола преимущественно среднего и старшего возраста.

In this article results of the clinical-immunological analysis with different forms tick-borne encephalitis of Tomsk Region during the period from 2000 to 2008 are represented. The revealed disbalance of cytokines alongside with breach of the expressions cytokines's receptor by lymphocytes's cells, can be one of the main of the reasons to inefficiency answer when introducing the infectious agent in organism and shaping the chronic form to infectious pathology, in particular, with long presence of the antigen of the virus tick-borne encephalitis in blood. The trend to increase the level sick with long presence of the antigen of the virus tick-borne encephalitis in blood, with prevalence of the persons feminine flap, mainly average and senior age for the last years is given.

Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) является одной из наиболее значимых и распространенных на территории России арбовирусных природно-очаговых трансмиссивных инфекций. Особенно актуальна данная проблема для Сибири, в частности для Томской области, являющейся активным природным очагом клещевых инфекций, среди которых наибольшую опасность представляет КЭ. Клинический облик данной нейроинфекции характеризуется способностью вируса КЭ длительное время сохраняться в активном состоянии даже после адекватного лечения острых форм заболевания и широким по-

лиморфизмом проявлений, в первую очередь со стороны нервной системы. Возможность репликации вируса КЭ, обуславливающей клинические проявления инфекции, зависит от вирулентности вируса, жизнеспособности клетки-хозяина и состояния иммунной системы макроорганизма. Длительная антигемия вируса КЭ (более 6 мес) может характеризоваться как бессимптомным течением, так и проявлениями остаточных симптомов нейроинфекции в виде психовегетативного синдрома с психоэмоциональными и интеллектуально-мнестическими изменениями, которые существенно нарушают социальную адаптацию заболевших.

Материал и методы

Материалами для клинического анализа послужили ретроспективный разбор историй болезни и динамические наблюдения за больными с различными формами КЭ с 2000 по 2008 г. Данные пациенты были госпитализированы в острый и отдаленный периоды инфекции в городской центр по профилактике и лечению клещевых инфекций, расположенный на базе МСЧ «Строитель» (г. Томск). При установлении диагноза использовали клиническую классификацию КЭ в соответствии с приказом МЗ СССР № 141 от 9 апреля 1990 г. в модификации сотрудников кафедр инфекционных и нервных болезней Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) 2002 г. Данная классификация охватывает все параметры развития инфекционного процесса, начиная от острого или хронического антигеноносительства и заканчивая детальным разграничением остальных клинических форм в зависимости от степени тяжести, течения и исходов КЭ.

Этиологическое обоснование диагноза осуществляли с помощью двух методов: иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). В ИФА крови определяли антиген вируса КЭ, специфические иммуноглобулины (Ig) M и G антител. В ПЦР крови исследовали РНК вируса КЭ. Общеклинические обследования больных включали сбор эпидемиологического анамнеза, данные о методах профилактики КЭ (плановой вакцинации и экстренной иммунизации), тщательный анализ жалоб при поступлении, а также оценку неврологического статуса пациентов и исследование когнитивных нарушений (снижение памяти, невозможность концентрировать внимание) по краткой шкале оценки психического статуса Mini Mental State Examination (MMSE).

Лечение включало иммуноглобулин человеческий с антителами против вируса КЭ в титрах 1 : 160—1 : 320 в течение 3—5 дней, курс антибиотикотерапии (цефтриаксон, амоксициллин) при микст-инфекции в течение 7—10 дней, патогенетические средства — диуретики (фуросемид, диакарб), инфузионные растворы (реополиглю-

кин) до достижения регресса общеинфекционного синдрома, иммуномодулирующие препараты (циклоферон), а также рибонуклеазу при тяжелом течении КЭ.

В настоящей работе целенаправленно проводили исследование цитокинового профиля. Материалом для исследования являлась венозная кровь обследованных лиц, взятая утром до приема пищи и стабилизированная гепарином (20 ЕД/мл). Концентрацию цитокинов (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 и TNF- α) определяли в культуральных жидкостях. Содержание цитокинов в супернатантах оценивали с помощью твердофазного ИФА согласно протоколу фирмы-производителя тест-систем. Оптическую плотность растворов регистрировали на микропланшетном фотометре «Multiskan EX». Концентрацию цитокинов рассчитывали по калибровочной кривой. Уровень экспрессии цитокиновых рецепторов (IL2-R, IL4-R, IL10-R, IL12-R, TNF-RI) на лимфоцитах оценивали методом проточной лазерной цитометрии с использованием фикоэритрин-меченых моноклональных антител на проточном цитометре «Epic XL».

В контрольную группу были включены 19 здоровых доноров с аналогичными характеристиками по полу и возрасту, не страдавших инфекционными заболеваниями и не предъявлявших на момент обследования жалоб соматического профиля.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Для проверки нормальности распределения показателей использовали критерий Колмогорова—Смирнова. Достоверность различий средних величин оценивали с помощью непараметрических критериев Манна—Уитни (для независимых выборок) и Уилкоксона (для зависимых выборок).

Результаты и обсуждение

Под наблюдением за анализируемый период было 3 876 больных КЭ в возрасте от 18 до 70 лет, которые в дальнейшем были разделены на три группы:

1-я группа — 2 494 (64,36%) пациента, которых наблюдали в острый период инфекции с диагнозом КЭ, лихорадочная форма; из них с легкой

Материалы 5-й Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы неврологии»

степенью тяжести 1 006 (40,34%), со средней — 1 401 (56,2%) и с тяжелой — 87 (3,47%). Женщин было 1 018 (46%), мужчин — 1 165 (54%). Средний возраст ($48,4 \pm 2,36$) года;

2-я группа — 771 (19,9%) больных, у которого в острый период инфекции диагностировали микст-инфекцию — КЭ и иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ). Из них у 252 (32,8%) лиц зарегистрированы КЭ, лихорадочная форма, средней степени тяжести и ИКБ, эритемная форма, у 519 (77,2%) — КЭ, лихорадочная форма, средней степени тяжести и ИКБ, манифестная безэритемная форма. В этой группе было 377 (49%) женщин и 394 (51%) мужчины. Средний возраст ($44,6 \pm 3,15$) года;

3-я группа — 610 (15,74%) обследованных, у которых манифестация КЭ была несколько лет назад и в крови определяли антиген вируса КЭ. Под наблюдением было 404 (66,3%) женщины и 206 (33,7%) мужчин. Средний возраст ($46,1 \pm 3,29$) года.

Проведенный анализ всех больных в зависимости от пола показал, что в первых двух группах соотношение женщин и мужчин было примерно одинаковым (1 : 1,13 и 1 : 1,06 соответственно), тогда как в 3-й значительно преобладали женщины (1,49 : 1) (рис. 1). Данная закономерность, вероятнее всего, может быть объяснена наличием у женщин большего числа сопутствующей патологии, которая может приводить к росту вторичной иммунологической недостаточности, что, в свою очередь, может явиться фактором риска формирования длительного антигеноносительства вируса КЭ; а также не исключены социальные факторы (нежелание мужчин обращаться за медицинской помощью в связи с необходимостью финансового обеспечения семейного бюджета).

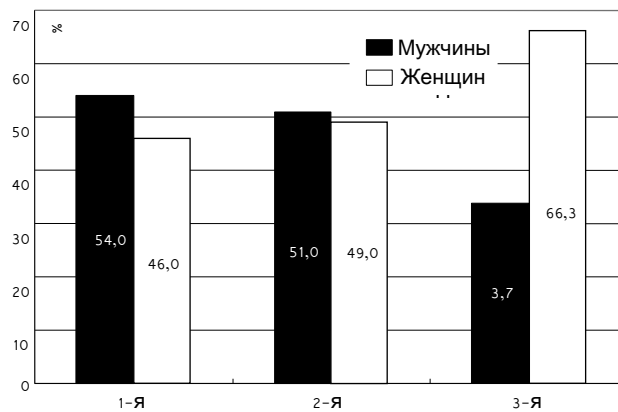


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от пола

Изучение возрастных особенностей исследуемых пациентов выявило, что в первых двух группах больные сопоставимы по возрасту (молодых — 37,7%

в 1-й группе и 38,5% во 2-й группе; лиц от 41 до 70 лет — 62,3% в 1-й группе и 61,5% во 2-й группе) (рис. 2). В 3-й группе значительно преобладали лица среднего и старшего поколения (молодых — 31,4%, а лиц старшего поколения 68%).

В последние годы отмечена тенденция к росту числа лиц с резидуальными явлениями КЭ в виде длительного антигеноносительства вируса КЭ и психовегетативного синдрома. Так, если в 2000 г. на лечении был 31 пациент с последствиями КЭ, то в 2006 г. уже 96 и в 2007 г. — 66 (рис. 3).

Данную направленность можно объяснить способностью вируса КЭ длительное время сохраняться в активном состоянии даже после адекватного лечения острых форм заболевания,

а также дефицитом системы клеточно-гуморального иммунитета пациентов. Согласно современным представлениям, вирусная интервенция мобилизует все врожденные и адаптивные иммунные механизмы, направленные на ограничение и элиминацию инфекции [6, 8]. В то же время при формировании инфекционного процесса вирусы для обеспечения собственного выживания используют пути, позволяющие им ускользнуть от действия протективных иммунных реакций организма. При этом возможность пролонгированного присутствия вирусного агента, обуславливающего клинические проявления инфекции, детерминирована несколькими компонентами: патогенностью инфекционного агента, влиянием факторов окружающей среды и состоянием иммунной системы макроорганизма.

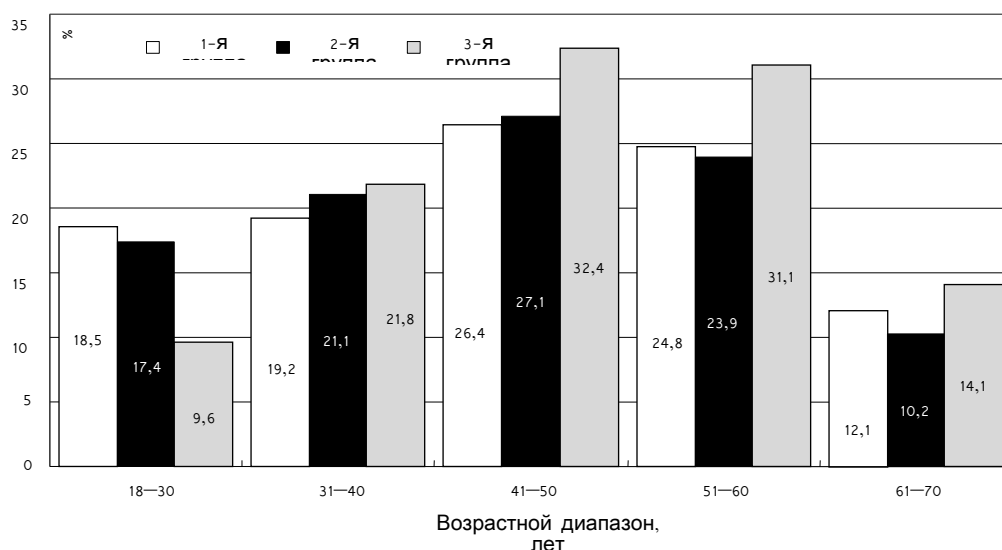


Рис. 2. Возрастной диапазон исследуемых групп

Вполне закономерно, что приоритетное значение в генезе дисбаланса иммунного равновесия отводится вирусиндуцированным изменениям иммунокомпетентных клеток [1, 7, 9].

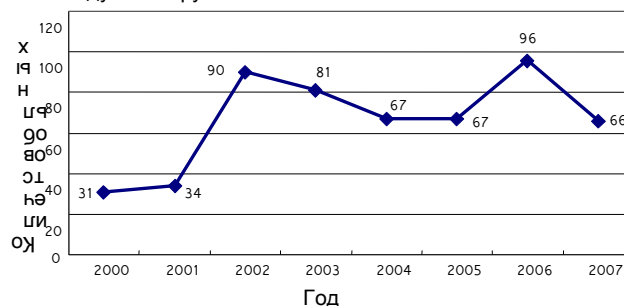


Рис. 3. Динамика больных с резидуальными явлениями КЭ по годам

При анализе давности заболевания у лиц с длительным антигеноносительством установлено, что 297 (55,7%) пациентов перенесли острую стадию КЭ 1–5 лет тому назад и 237 (44,3%) — в пределах 6–10 лет. Соотношение по годам представлено на рис. 4.

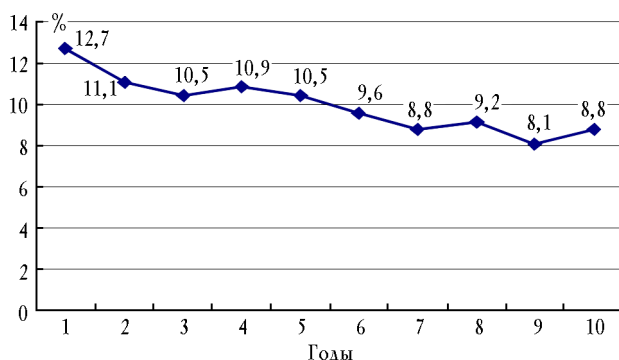


Рис. 4. Распределение больных с антигеноносительством вируса КЭ в зависимости от давности перенесенной острой стадии инфекции

Современные методы лабораторной диагностики позволяют решить большое количество важных вопросов, таких как проникновение вируса в макроорганизм, включение механизмов защиты от антигенного воздействия данного вируса, его последующую элиминацию и циркуляцию антител для повторной защиты. Так, известно, что проникновение вируса в макроорганизм является сигналом для запуска как неспецифических, так и специфических механизмов самозащиты. Неспецифический иммунный ответ обусловлен повышением уровня интерферонов, обладающих противовирусными свойствами, специфических иммуноглобулинов, активацией системы комплемента и натуральных киллеров [1]. Специфический иммунный ответ направлен непосредственно на элиминацию вируса, а также вирусинфицированных клеток, предотвращая тем самым дальнейшее распространение инфекта в макроорганизме [2]. Регуляция всех реакций в рамках иммунной системы осуществляется цитокиновыми молекулами.

На основании вышеизложенного в рамках данного исследования проведен анализ продукции цитокинов лимфоцитами обследованных больных с острой формой нейроинфекции. Было выявлено статистически значимое повы-

шение уровня IL-12 у пациентов 1-й группы и снижение уровня IL-4 во 2-й группе по сравнению с соответствующими показателями у здоровых доноров (табл. 1).

Таблица 1

Продукция цитокинов лимфоцитами периферической крови у пациентов клещевыми инфекциями ($X \pm s$), пг/мл

Цитокин	Группа обследованных			
	Здоровые доноры (19 человек)	1-я группа (15 человек)	2-я группа (13 человек)	3-я группа (7 человек)
IL-2	43,79 ± 4,56	45,69 ± 3,28 $p_1 > 0,05$	49,46 ± 1,97 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	41,85 ± 1,76 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
IL-4	92,10 ± 8,36	95,32 ± 6,20 $p_1 > 0,05$	80,31 ± 8,22 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	107,45 ± 6,85 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
IL-10	56,68 ± 6,26	57,63 ± 5,98 $p_1 > 0,05$	54,35 ± 5,03 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	69,29 ± 6,22 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
IL-12	62,16 ± 5,13	72,30 ± 3,35 $p_1 < 0,05$	69,26 ± 5,81 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	63,63 ± 3,95 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
TNF- α	65,95 ± 6,73	68,65 ± 5,31 $p_1 > 0,05$	66,70 ± 6,30 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	63,12 ± 7,36 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$

Концентрация других цитокинов практически не отличалась от аналогичных параметров здоровых лиц. Известно, что IL-4 участвует в процессах дифференцировки T-хелперов (T_h) типа 0 в T_{h2} . T_{h2} отвечают за гуморальное звено иммунитета. IL-12, обладая, в свою очередь, провоспалительным эффектом, участвует в дифференцировке T_{h0} в T_{h1} [3]. Поэтому снижение уровня IL-4 наряду с увеличением концентрации IL-12 свидетельствует о поляризации иммунного ответа по T_{h1} -пути и активации наиболее эффективного в случае острой вирусной инфекции T-клеточного звена, что является эффективным в борьбе с острой формой КЭ.

При оценке продукции цитокинов у пациентов 3-й группы были обнаружены разнонаправленные изменения в цитокиновом профиле. Так, у обследованных лиц, отнесенных к 3-й группе, было установлено статистически значимое увеличение уровня IL-4 и IL-10 (табл. 1) по сравнению со здоровыми донорами, а также с пациентами 1-й группы, что может служить доказательством по-

ляризации иммунного ответа по Th2-пути и активации В-звена, что является причиной хронизации процесса.

Таким образом, подобный дисбаланс продукции иммунорегуляторных цитокинов выступает одной из причин хронизации инфекционного процесса, поскольку продуцируемые В-клетками иммуноглобулины способны связывать лишь свободно циркулирующий антиген и не эффективны при проникновении инфекта внутрь клетки [2, 4].

Известно, что IL-2 продуцируется активированными Т-клетками и способствует дальнейшему развитию Т-лимфоцитов. Кроме того, этот интерлейкин стимулирует синтез других цитокинов, в том числе IFN- γ и TNF- α . TNF- α , обладая провоспалительным действием, играет ключевую роль в патогенезе ряда воспалительных заболеваний [6]. Однако обнаружен его и антифлогенный эффект, объясняемый, по-видимому, способностью вызывать апоптоз иммунокомпетентных клеток, что может являться одной из причин иммунологической недостаточности при хронизации инфекционного процесса [5, 7].

Оценка экспрессии цитокиновых рецепторов (IL2-R, IL4-R, IL10-R, IL12-R, TNF-RI) лимфоцитами у пациентов 1-й и 2-й групп с острой формой клещевых инфекций показала значительное снижение количества клеток, несущих данные рецепторы, по сравнению с контрольной группой (табл. 2), что говорит о поляризации иммунного ответа по Th1-пути и активации наиболее эффективного в случае острой вирусной инфекции Т-клеточного звена, что является эффективным в борьбе с острой формой КЭ.

Снижение экспрессии указанных рецепторов считается одной из основных причин неэффективности действия цитокинов на иммунокомпетентные клетки даже при их нормальной цитокинпродуцирующей способности с дальнейшим развитием иммунодефицитных состояний.

Для больных 1-й группы острый период характеризовался выраженными признаками интоксикации. Ведущим симптомом у большинства обследованных с данной формой КЭ была лихорадка. Так, повышение температуры тела до 38 °С отмечали 84% обследованных, от 38 до

40 °С и выше — 16%. Другими распространенными жалобами у лиц этой группы больных в остром периоде инфекции было наличие головных болей (99,4%), мышечных болей, особенно в мышцах шеи и проксимального отдела плечевого пояса, а также в области поясницы и в икроножных (85,4%).

Таблица 2

Экспрессия цитокиновых рецепторов лимфоцитами периферической крови у пациентов с острой формой клещевых нейроинфекций (X \pm s), %

Показатель	Группа обследованных		
	Здоровые доноры	Пациенты с острой формой КЭ	Пациенты с острой формой микст-инфекции
Экспрессия IL2-R	94,55 \pm 5,41	34,94 \pm 3,24 $p_1 < 0,01$	46,35 \pm 3,15 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
Экспрессия IL4-R	90,28 \pm 5,12	44,43 \pm 2,90 $p_1 < 0,01$	36,24 \pm 2,13 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
Экспрессия IL10-R	96,40 \pm 1,34	36,26 \pm 2,98 $p_1 < 0,01$	41,73 \pm 2,55 $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,05$
Экспрессия IL12-R	94,22 \pm 2,77	34,31 \pm 2,14 $p_1 < 0,01$	46,88 \pm 1,80 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
Экспрессия TNF-RI	5,79 \pm 1,44	2,03 \pm 0,55 $p_1 < 0,01$	2,15 \pm 0,30 $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,05$

Примечание. p_1 – по сравнению с пациентами с острой формой КЭ.

Постоянными спутниками острого периода при этой форме КЭ были разной степени вегетативные нарушения: гиперемия лица и верхней части туловища (64,5%). Кроме того, отмечали инъекцию сосудов склер и конъюнктивы (56,4%). Почти у половины обследованных имело место усиление местного красного дермографизма.

Особенностью неврологических проявлений лихорадочной формы КЭ были непостоянные, преходящие и деликатные органические изменения со стороны различных уровней центральной нервной системы. Чаще всего они регистрировались в виде легкого центрального пареза мимических мышц (38,2%), неравномерности кожных и

глубоких рефлексов (29,4%), нарушения конвергенции и болезненности точек выхода ветвей тройничного нерва (12,2%). У лиц с лихорадочной формой КЭ продолжительность температурной реакции не превышала 5–9 дней. С нормализацией температуры исчезали многие признаки острого периода как субъективного, так и объективного плана. Однако наиболее стойко держались вазомоторные расстройства и общая слабость в виде снижения работоспособности.

У пациентов 2-й группы клинические симптомы проявлялись преимущественно в виде общеинфекционного синдрома и характеризовались острым началом и более тяжелым течением в сравнении с лихорадочной формой КЭ. Отмечался синдром интоксикации в виде головной боли (99,6%), выраженной слабости (98,5%), быстрой утомляемости (97,8%), сонливости и слабости (93,9%), лихорадки — от субфебрильной (89,1%) до 40 °С (10,9%), озноба (75,3%), миалгии и артралгии (67,5%), тошноты (37,6%). Нередко определяли регионарный к месту присасывания клеща лимфаденит (32,1%).

В 32,8% случаев на месте присасывания клеща обнаруживали кольцевидную эритему (10 см и более) — основной клинический признак ИКБ.

Третью группу составили пациенты с различной степенью выраженности признаков психовегетативного синдрома и наличием в крови антигена вируса КЭ.

Ведущей жалобой у больных, перенесших ранее нейроинфекцию, выступает выраженный психовегетативный симптомокомплекс. Основным симптомом у всех обследованных данной группы (100%) — быстрая утомляемость в виде снижения работоспособности и физической выносливости, общей вялости. Большинство пациентов (94,2%) отмечали повышенную раздражительность, вследствие которой у пациентов была рассеянность внимания (97,3%), что приводило к конфликтам на работе и проблемам в семье. У 98,8% больных были жалобы на упорные головные боли, особенно к концу рабочего дня и после эмоционального напряжения. Головные боли имели диффузный и ноющий характер, периодически усиливающиеся, без четкой локализации, плохо купирующиеся анальгетиками.

Практически половина (51,7%) пациентов имели жалобы на бессонницу. Больные испытывали трудности при засыпании и отмечали, что сон поверхностный, беспокойный, не приносящий чувства отдыха.

Наиболее редко (2,8%) встречающимся проявлением инфекции у больных 3-й группы являлись мышечные боли с преимущественной локализацией в конечностях и мышцах плечевого пояса. Боли носили разлитой, ноющий характер и не были связаны с физической нагрузкой.

Со стороны нервной системы основным признаком была бледность кожных покровов, которая встречалась у 94,1% лиц. На втором (89,9%) месте — повышенная общая потливость, на третьем (80,5%) — гипергидроз дистальных отделов конечностей. Далее по убыванию — быстрая истощаемость брюшных рефлексов (46,4%) и лабильность сердечно-сосудистой системы с склонностью к гипотонии (31,5%). Наиболее редко встречающимися симптомами были синдром Горнера (22,4%) и слабость конвергенции (19,9%). Следует подчеркнуть, что у лиц с длительным антигеноносительством перегрузки на работе, в быту, различные чрезмерные температурные факторы (перегревание или переохлаждение) провоцируют развитие цереброгенной астении, которая может привести в дальнейшем к стойкой потере трудоспособности.

Заключение

Таким образом, проведенный клинко-иммунологический анализ больных с различными формами КЭ показал, что в последние годы установлена тенденция к росту числа больных с длительным антигеноносительством вируса КЭ с преобладанием среди них лиц женского пола преимущественно среднего и старшего возраста. Установленный цитокиновый дисбаланс наряду с нарушением экспрессии цитокиновых рецепторов лимфоцитарными клетками может являться одной из главных причин неэффективности иммунного ответа при внедрении инфекционного агента в организм и формирования хронической формы инфекционной патологии, в частности длительного антигеноносительства вируса КЭ.

Литература

1. Жукова О.Б., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Вирусная персистенция: иммунологические и молекулярно-генетические аспекты // Бюл. сиб. медицины. 2003. № 4. С. 113—119.
2. Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А. Клиническая иммунология. СПб., 2001. 576 с.
3. Кердей Е.Г. Иммунология. Иркутск, 2000. 232 с.
4. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Иммунология. 2002. № 2. С. 77—79.
5. Маянский А.Н. Микробиология для врачей (очерки патогенетической микробиологии). Н. Новгород: Изд-во НГМА, 1999. 335 с.
6. Маянский А.Н., Буков А.Н., Астафьев Д.Г., Рассанов С.П. Персистенция вирусов: иммунологические и патогенетические аспекты // Клинич. медицина. 1998. № 2. С. 19—25.
7. Погодина В.В., Фролова М.П., Ерман Б.А. Хронический клещевой энцефалит. Новосибирск: Наука, 1986. 232 с.
8. Хаитов Р.М. Современные представления о защите организма от инфекции // Иммунология. 2000. № 1 С. 61—64.
9. Черницына Л.О., Коненков В.И., Прокофьев В.Ф. Клиническая иммуногенетика клещевого энцефалита: взгляд с позиции невролога-клинициста на современное состояние проблемы эффективности терапии клещевых нейроинфекций // Нейроиммунология. 2005. Т. 3. № 2. С. 19—20.