

Т.Ю. Бедарева, Т.Н. Вахрамеева, Г.Ю. Галиева

ГУЗ Кемеровская областная клиническая больница,

МУЗ Детская клиническая больница № 7,

г. Кемерово

СОСТОЯНИЕ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ С КЛЕЩЕВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ В КУЗБАССЕ

Исследована активность некоторых цитокинов при различных этиологических вариантах и клинических формах клещевых инфекций у детей. Выявленные низкие показатели концентрации IFN- 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.

Ключевые слова: клещевые инфекции, дети, цитокины.

T.Yu. Bedareva, T.N. Vachrameeva, G.Yu. Galieva
CYTOKINE STATUS CONDITION OF CHILDREN
WITH TICK-BORNE INFECTIONS IN KUZBASS

Activity of some cytokines of different etiological variants and clinical forms of tick-borne infection disorders of children nervous system was researched. Revealed low indices of IFN- γ concentration testify about abnormality of cellular link immune protection and typical for nidal forms of tick-borne encephalitis. Severe forms of disease with nervous system affection run with background increase of IL-6 and IL-10 concentration level in serum.

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

Проблема клещевых инфекций в настоящее время придается особое значение в связи с их широким распространением, что соответствует природным очагам обитания клещей семейства Ixodidae, являющихся переносчиками арбовирусов, боррелий, эрлихий, риккетсий, бабезий и т.д. Кемеровская область является одним из основных очагов клещевых нейроинфекций в России. Дети составляют от 20 до 30 % в структуре заболевших. Несмотря на проводимое клиническое и экспериментальное изучение данной проблемы, патогенетические механизмы раскрыты недостаточно. Тяжесть течения, неврологический дефицит после перенесенных очаговых форм [1, 2] обуславливают актуальность данной проблемы. В настоящее время не вызывает сомнений, что восприимчивость организма к инфекции определяется совокупностью нескольких факторов: патогенностью инфекционного агента, факторами окружающей среды и состоянием иммунной системы [3].

Корреспонденцию адресовать:

Бедарева Татьяна Юрьевна, врач-невролог, ГУЗ КОКБ г. Кемерово, 650000, пр. Октябрьский, 22
Тел. раб.: (3842) 52-16-89
bt528320@rambler.ru

Факторы естественной резистентности активируются сразу после проникновения инфекционного агента в организм. Первыми клетками, с которыми происходит взаимодействие, являются макрофаги, они активируются и синтезируют цитокины. Этот тип ответа наиболее эффективен при внеклеточной локализации возбудителя.

Далее происходит активация специфического иммунитета, которая также происходит при участии ряда цитокинов. Цитокинами первой волны являются ФНО- α и ИЛ-1, которые поступают в кровь уже через 3-6 часов после начала тканевой альтерации, а через 8-15 часов их биосинтез может достигать максимальных значений, обуславливая развитие ряда клинических симптомов, таких как лихорадка, миалгия.

Динамика накопления в крови провоспалительного цитокина ИЛ-6 отстает от ИЛ-1 и ФНО на 2-4 часа. Индукция острофазных белков (фибриноген, С-реактивный белок, α_1 -антитрипсин и др.), обладающих опсонизирующим микроорганизмы действием, является ключевой функцией ИЛ-6. ИЛ-10, как и другие противовоспалительные цитокины, продуцируется позднее. Он находится в антагонистических взаимоотношениях с ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-1. ИФН- γ фактор неспецифической резистентности организ-

ма является ключевым цитокином Th-1 типа иммунного ответа. Существует предположение, что синтез ИФН- γ значительно усиливается в присутствии ИЛ-1 [4].

Во многих случаях стратегией развития иммунного ответа является не выбор между двумя крайними вариантами Th-типа ответа, а поиск золотой середины между ними [5]. Работы о роли цитокинов в иммунопатогенезе клещевых нейроинфекций у детей немногочисленны.

Цель настоящего исследования – изучение состояния цитокинового статуса у детей с клещевыми инфекциями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведен анализ 67 клинических случаев острых клещевых инфекций у детей, находившихся на лечении в отделении для детей с поражением ЦНС, психики и опорно-двигательного аппарата ГУЗ Кемеровская областная клиническая больница. Средний возраст пациентов составил $10,2 \pm 0,5$ лет (от 1 до 15 лет). Этиологическая структура представлена клещевым энцефалитом (40,3 %), иксодовым клещевым боррелиозом (47,8 %) и их сочетанием (11,9 %). Среди клинических вариантов клещевого энцефалита преобладали лихорадочная форма – 19,4 %, менингеальная – 14,9 %, очаговая форма – 6 %. В структуре иксодового клещевого боррелиоза преобладал общинфекционный синдром (41,8 %), локальные формы встречались в 6 % случаев. Микст-инфекция протекала в виде лихорадочной и менингеальной форм (8,9 % и 3 %, соответственно) (табл. 1). Контрольную группу составили 30 здоровых доноров, отрицавших факт присасывания клеща.

Определение специфических антител (IgG, IgM) к *B. burgdorferi* в парных сыворотках крови проводилось методом ИФА (ELISA) при помощи стандартных диагностических наборов. Антитела к вирусу клещевого энцефалита определялись в реакции РТГА с антигеном вируса и методом ИФА. Определение концентрации цитокинов (ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) в сыворотке крови проводили с использованием коммерческих тест-систем согласно инструкциям, прилагаемым к диагностическим наборам. Учет результатов производили на иммуноферментном анализаторе «Униплан». Количество выражали в пикограммах на миллилитр (pg/ml).

Забор материала (сыворотка и плазма крови, спинномозговая жидкость) осуществлялся в период разгара клинических проявлений (в первые 3 дня болезни) и через 14 дней. Окончательный диагноз подтверждался комплексной экспертной комиссией с учетом эпидемиологического анамнеза, результатов иммунологических реакций, клинических особенностей и данных ликворологического исследования у больных менингеальными формами.

Статистическая обработка клинического материала и полученных в ходе исследования данных проводилась на ПК в операционной среде Windows-XP с использованием программ Excel, Origin. При математической обработке использовали *t*-критерий, среднее арифметическое (\bar{x}), стандартное отклонение (SIx), коэффициент вариации (CV), ошибку (Sx) средней арифметической.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования выявлено, что ИФН- α в сыворотке крови контрольной группы присутствовал в низких концентрациях, в среднем $0,01 \pm 0,001$ pg/ml (табл. 2). При иксодовом клещевом боррелиозе в виде общинфекционного синдрома отмечено значительное повышение данного показателя до $43,3 \pm 13,6$ pg/ml, с тенденцией к последующему снижению в периоде ранней реконвалесценции. При лихорадочной и менингеальной формах клещевого энцефалита данный показатель повышался незначительно, до $1,1 \pm 0,2$ pg/ml, и в динамике достоверно не изменялся. При сочетанной инфекции выявлено наиболее высокое содержание в крови ИФН- α ($15,8 \pm 3,2$ pg/ml, $p < 0,05$) 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 $15,1 \pm 3,2$ pg/ml без достоверных изменений в динамике. В случаях регионарной нейропатии при иксодовом клещевом боррелиозе, несмотря на слабую выраженность общинфекционных проявлений, отмечено повышение содержания ИФН- α до $4,5 \pm 1,1$ pg/ml.

Известно, что вирусы обладают способностью самостоятельно индуцировать систему ИФН, играю-

Таблица 1
Структура исследуемых больных по этиологическим вариантам и клиническим формам (%)

| Этиология | Количество больных по этиологическим вариантам | Клинические формы | |
|----------------|--|--|------|
| | | Количество больных по клиническим формам | |
| КЭ | 40,3 | менингоэнцефалитические | 6 |
| | | менингеальные | 14,9 |
| | | лихорадочные | 19,4 |
| ИКБ | 47,8 | общинфекционный синдром | 41,8 |
| | | локальные | 6 |
| | | менингеальные | 3 |
| Микст-инфекция | 11,9 | лихорадочные | 8,9 |

Таблица 2
Концентрация некоторых цитокинов в сыворотке крови
больных клещевыми инфекциями в динамике заболевания (pg/ml)

| Клинические формы | Период болезни | ИЛ-6 | ИЛ-8 | ИЛ-10 | ИФН- α | ИФН- γ |
|-------------------------------|----------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|
| Клещевой энцефалит | | | | | | |
| Лихорадочная форма | I | 253,2 \pm 1,5 | 40,6 \pm 4,3* | 2,7 \pm 0,4 | 1,1 \pm 0,2* | 55,6 \pm 9,2 |
| | II | 251,2 \pm 1,3 | 53,9 \pm 2,1 | 2,3 \pm 0,7 | 1,0 \pm 0,1* | 52,1 \pm 8,4 |
| Менингеальная форма | I | 260,2 \pm 9,4 | 54,2 \pm 5,6 | 3,6 \pm 0,7 | 1,4 \pm 0,3* | 237,5 \pm 13,2* |
| | II | 251,2 \pm 1,0 | 58,7 \pm 3,2 | 1,9 \pm 0,9 | 1,1 \pm 0,2* | 89,4 \pm 15,4 |
| Менингоэнцефалитическая форма | I | 252,0 \pm 0,6 | 48,5 \pm 3,2* | 2,4 \pm 0,5 | 15,1 \pm 3,2* | 87,9 \pm 22,1 |
| | II | 281,3 \pm 1,4* | 51,4 \pm 5,6 | 15,8 \pm 1,7* | 13,7 \pm 2,3* | 76,5 \pm 15,2 |
| Клещевой боррелиоз | | | | | | |
| Общеинфекционный синдром | I | 305,4 \pm 15,9* | 180,3 \pm 47,5 | 16,5 \pm 3,7* | 43,3 \pm 13,6* | 194,0 \pm 35,4* |
| | II | 251,8 \pm 0,5 | 99,6 \pm 9,4 | 2,0 \pm 0,1 | 28,6 \pm 11,5* | 135 \pm 24,6* |
| Локальные формы | I | 296,7 \pm 15,2 | 102,5 \pm 38,4 | 9,6 \pm 1,4* | 4,5 \pm 1,1* | 463,6 \pm 25,8* |
| | II | 252,8 \pm 3,5 | 82,2 \pm 9,2 | 6,8 \pm 1,2* | 3,2 \pm 1,1* | 65 \pm 16,8* |
| Микст-инфекция | | | | | | |
| Лихорадочная форма | I | 311,4 \pm 16,7* | 128,3 \pm 37,2 | 10,8 \pm 2,7* | 15,8 \pm 3,2* | 237,5 \pm 13,6* |
| | II | 267,5 \pm 11,1 | 96,6 \pm 8,4 | 5,2 \pm 0,5* | 12,8 \pm 2,6* | 108,6 \pm 15,4 |
| Менингеальная форма | I | 302,8 \pm 12,3 | 152,3 \pm 47,5 | 12,6 \pm 3,1* | 12,5 \pm 3,2* | 235,2 \pm 12,8* |
| | II | 281,5 \pm 8,5 | 92,6 \pm 7,2 | 6,8 \pm 1,3* | 10,4 \pm 3,2* | 106,7 \pm 11,7 |
| Контроль | | 251,3 \pm 0,5 | 99,8 \pm 22,7 | 1,4 \pm 0,4 | 0,01 \pm 0,001 | 37,3 \pm 6,4 |

Примечание: I - период разгара клинических проявлений (первые 3 дня болезни), II - через 14 дней.

щую роль естественных индукторов. По существующим на сегодняшний день представлениям, активация специфического противовирусного иммунного ответа с участием ИФН- γ как важного иммунорегуляторного цитокина с последующим уничтожением инфицированных клеток с помощью активированных Т-лимфоцитов является ключевым моментом противовирусной защиты макроорганизма [3]. 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 \pm 35,4 pg/ml против 37,3 \pm 6,4 pg/ml) со снижением в динамике до 135 \pm 24,6 pg/ml. При лихорадочной форме клещевого энцефалита концентрация ИФН- γ достоверно не отличалась от нормы и составляла в среднем 55,6 \pm 9,2 pg/ml, 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 pg/ml. Повышение концентрации ИФН- γ выявлено также при сочетанной инфекции, протекавшей в виде лихорадочной и менингеальной форм, и в случае серозного менингита вирусной этиологии (237,5 \pm 13,6 pg/ml), со снижением данных показателей в динамике до нормальных значений. Выявленные высокие значения концентрации ИФН- γ в период разгара заболевания являются прогностически благоприятными. При оча-

говой форме клещевого энцефалита повышение концентрации ИФН- γ было менее выраженным – 87,9 \pm 22,1 pg/ml.

Выявлено, что при иксодовом клещевом боррелиозе в виде общеинфекционного синдрома уровень концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови составлял 305,4 \pm 15,9 pg/ml, что свидетельствует о повышении данного показателя относительно нормы (251,3 \pm 0,5), и снижался по мере регресса симптомов общей интоксикации, составив 281,5 \pm 0,5 pg/ml в динамике заболевания. При лихорадочной форме клещевого энцефалита уровень ИЛ-6 не отличался от данного показателя в контрольной группе на всем протяжении болезни ($p > 0,05$). При клещевом энцефалите, протекающем в виде менингеальной формы, выявлено повышение уровня ИЛ-6 до 260,2 \pm 9,4 pg/ml ($p > 0,05$), со снижением данного показателя в динамике до нормальных значений. Менингоэнцефалитическая форма клещевого энцефалита протекала на фоне нормальных показателей содержания ИЛ-6 (252,0 \pm 0,6 pg/ml). Отличительной чертой очаговой формы клещевого энцефалита явилось увеличение концентрации данного цитокина в динамике до 281,3 \pm 1,4 pg/ml ($p < 0,05$). При лихорадочной форме сочетанной инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза уровень ИЛ-6 повышался более значительно и составлял 311,4 \pm 16,7 pg/ml ($p < 0,05$) и впоследствии снижался до 267,5 \pm 11,1 pg/ml, не достигая нормальных значений ($p > 0,05$).

Лихорадочная форма клещевого энцефалита в разгар болезни характеризовалась снижением концентрации ИЛ-8, в сравнении с группой контроля (99,8 \pm 22,7 pg/ml), и составляла 40,6 \pm 4,3 pg/ml, с нез-

начительным ($p > 0,05$) повышением в динамике до $53,9 \pm 2,1$ pg/ml. Подобные результаты получены в группе больных менингеальной и очаговой формами клещевого энцефалита. В группе больных иксодовым клещевым боррелиозом в виде общеинфекционного синдрома в первые дни болезни отмечено повышение данного показателя до $180,3 \pm 47,5$ pg/ml. В динамике заболевания у большинства больных концентрация ИЛ-8 увеличивалась, обратно коррелируя с выраженностью клинических проявлений общеинфекционного синдрома ($r = 0,7$, $p < 0,05$). При сочетанной инфекции концентрация ИЛ-8 в динамике снижалась. Однако статистически значимой разницы показателей обнаружено не было ($p > 0,05$).

Учитывая вариабельность исходной концентрации цитокина (от 16,2 до 251,4 pg/ml), диагностически и прогностически значимой представляется определение его продукции в динамике заболевания. Таким образом, полученные нами данные также свидетельствуют об угнетении продукции ИЛ-8 при клещевом энцефалите и более сохранной провоспалительной активности при иксодовом клещевом боррелиозе, что согласуется с исследованиями, проведенными Н.В. Крыловой с соавт. [6]. При микст-инфекции отмечается иммунный дисбаланс, причем направленность иммунопатологических изменений аналогична таковой при клещевом энцефалите.

Концентрация ИЛ-10 в контрольной группе составила $1,4 \pm 0,4$ pg/ml. При лихорадочной и менингеальной формах клещевого энцефалита уровень ИЛ-10 повышался незначительно, составляя $2,7 \pm 0,4$ pg/ml и $3,6 \pm 0,7$ pg/ml, соответственно, и в динамике несколько снижался ($2,3 \pm 0,7$ и $1,9 \pm 0,9$ pg/ml, соответственно, $p > 0,05$). Острый период иксодового клещевого боррелиоза протекал на фоне повышения уровня ИЛ-10 до $16,5 \pm 3,7$ pg/ml ($p < 0,05$), снижаясь в динамике заболевания до $2,0 \pm 0,1$ pg/ml, приближаясь к нормальным значениям. Микст-инфекции также отличались увеличением концентрации ИЛ-10 в первые дни болезни ($10,8 \pm 2,7$ pg/ml, $p < 0,05$), с последующим снижением до $5,2 \pm 0,5$ pg/ml, не достигая нормальных значений ($p < 0,05$). В случаях менингоэнцефалитической формы клещевого энцефалита в первые дни болезни уровень ИЛ-10 превышал норму незначительно ($2,4 \pm 0,5$ pg/ml, $p > 0,05$), однако с увеличением его концентрации в динамике болезни до $15,8 \pm 1,7$ pg/ml.

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 нами 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.

ВЫВОДЫ:

1. Максимальная концентрация ИФН- α выявлена в остром периоде клещевых инфекций, протекавших с поражением нервной системы, что можно использовать при прогнозировании течения заболевания.
2. Выявленные низкие показатели концентрации ИФН- γ в разгар болезни, а также снижение данного показателя в динамике характерны для очаговой формы клещевого энцефалита.
3. Повышение уровня концентрации цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10 в динамике заболевания свидетельствует о недостаточной и несвоевременной активации противовоспалительных медиаторов воспаления и может служить маркером возможного развития тяжелых форм заболевания с поражением нервной системы.
4. При клещевом энцефалите происходит угнетение синтеза ИЛ-8 в большей степени, по сравнению с иксодовым клещевым боррелиозом.
5. Выявленные 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.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Васильева, Ю.П. Клинико-иммунологические критерии хронизации иксодового клещевого боррелиоза у детей /Ю.П. Васильева: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2003. – С. 22.
2. Сравнительный анализ вирулентности сибирского и дальневосточного подтипов вируса клещевого энцефалита /В.В. Погодина, Н.Г. Бочкова, Л.С. Карань и др. //Вопросы вирусологии. – 2004. – № 6. – С. 24-30.
3. Молекулярные и клеточные основы патогенеза клещевого энцефалита /Р.Ф. Насырова, Н.В. Рязанцева, Н.Г. Жукова и др. //Вопросы вирусологии. – 2003. – № 5. – С. 20-23.
4. Brown, C.R. Experimental Lyme arthritis in the absence of interleukin-4 or gamma interferon /C.R. Brown, S. Reiner //Infect. Immun. – 1999. – V. 71, N 67. – P. 3329-3333.
5. Черешнев, В.А. Иммунология воспаления: роль цитокинов /А.В. Черешнев, Е.Ю. Гусев //Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 361-368.
6. Крылова, Н.В. Продукция цитокинов лейкоцитами крови, инфицированной дальневосточными штаммами вируса клещевого энцефалита /Н.В. Крылова, Г.Н. Леонова, О.С. Майстровская //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. – № 3. – С. 95-99.

* * *