

Т.Н. Вахрамеева, Т.Ю. Бедарева

Кемеровская государственная медицинская академия,

ГУЗ Кемеровская областная клиническая больница,

МУЗ Детская клиническая больница № 7,

г. Кемерово

ДЕФЕНЗИНЫ КАК МАРКЕР СИСТЕМНОЙ АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ КЛЕЩЕВЫХ НЕЙРОИНФЕКЦИЯХ

Определение дефензинов осуществлялось методом иммуноферментного анализа. Содержание дефензинов коррелировало с тяжестью течения заболевания. Концентрация дефензинов была выше в ликворе при менингитах, что подтверждает преимущественное накопление дефензинов в месте максимального развития воспаления. Анализ бицидности нейтрофилов при менингеальных формах микст-инфекции и моно-инфекций показал максимальную функциональную активность клеток в остром периоде микст-инфекции, что коррелировало закономерно с максимальными значениями концентрации дефензинов при микст-инфекции в отличие от ИКБ и КЭ.

Ключевые слова: дефензины, воспаление, лейкоциты.

T.N. Vachrameeva, T.Yu. Bedareva

DEFENZYNES AS A MARKER OF NEUTROPHILS SISTEM ACTIVATIONS
TICK-BORNE INFECTIONS

The levels of defenzynes were determined by enzyme immunoassay. Their levels well correlated with the severity of the disease. The concentration of defenzynes was higher in the spinal fluid in meningitis and in the suggests that defenzynes predominantly accumulate at the site of maximum inflammation. The analysis of the neutrophils microbicidal activity in meningeal forms of a mixed-infections and mono-infections showed a maximal values of the definsines concentration in the mixed infection in contrast to ixodic tick-borne borreliosis and tick-borne encephalitis.

Key words: defensins, inflammation, leucocyte.

В настоящее время существенно пересмотрен вопрос о значении роли нейтрофилов в противовирусной защите. Нейтрофилы обладают защитным потенциалом. Одним из таких защитных факторов являются и дефензины, которые быстро высвобождаются при активации нейтрофилов [1].

Наряду с этой активностью, дефензины могут проявлять функциональные свойства, важные в реализации защитно-приспособительных реакций организма при инфекции. Дефензины рассматривают в качестве соединений, опсонизирующих микроорганизмы при фагоцитозе и воспалении.

Корреспонденцию адресовать:

Вахрамеева Татьяна Николаевна, врач-невролог,
МУЗ детская клиническая больница № 7
Тел.: раб. (3842) 31-74-24, дом. (3842) 37-87-37

Дефензины обладают противовирусной активностью и являются мощными хемоаттрактантами для моноцитов. При стимуляции нейтрофилов дефензины выделяются во внеклеточное пространство и накапливаются в биологических жидкостях организма. Поэтому эти катионные белки способны оказывать не только защитное, но и повреждающее действие на организм хозяина, обладая цитотоксической активностью [2, 3].

Известна и их провоспалительная способность в повышении проницаемости сосудов микроциркуляторного русла как непосредственно, так и путем дегрануляции тучных клеток, и, следовательно, способность влиять на течение фагоцитарного и воспалительного процессов, выступая в роли регуляторных молекул [4, 5, 6, 7].

Целью настоящего исследования было определение содержания дефензинов в крови и оценка воз-

возможности их использования в качестве критерия системного воспалительного ответа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание дефензинов в плазме крови определяли с помощью иммуноферментного анализа. Контролем служил HNP-1 (human neutrophil peptide-1). Плазму получали путем центрифугирования при 3000 об/мин крови, взятой с консервантом (3,8 % цитрат натрия) в соотношении 9 : 1. Замороженные образцы плазмы до исследования хранили при температуре -20°C .

Для определения цитохимических показателей функциональной активности лейкоцитов периферической крови использовался спонтанный НСТ-тест. Реакция основана на восстановлении нитросинего тетразолия до диформаза. Результат выражался в процентах диформаза-позитивных клеток на 100 нейтрофилов. Для определения функционального резерва нейтрофилов проводился индуцированный НСТ-тест с использованием в качестве индуктора 0,1 % раствора зимозана.

Индекс стимуляции рассчитывался отношением показателей иНСТ и сНСТ-тестов. НСТ-тест определяет итоговую реакцию одной из ключевых ферментативных систем, ответственных за цитотоксический потенциал лейкоцитов, за счет вырабатываемых ими активных форм кислорода, а их дополнительная стимуляция выявляет функциональные резервы биоцидности клеток. Поэтому результаты, получаемые при постановке НСТ-теста, достоверно отражают не только сам процесс повреждения, но и динамику его развития, и исход [8, 9].

Проведен анализ 52 клинических случаев клещевых инфекций, обследованных и получивших лечение в клинике неврологии КемГМА. Среди обследованных больных КЭ диагностирован в 19 случаях (37 %), ИКБ — в 7 (14 %), ГАЧ — в 2 (4 %), микст-инфекция КЭ и ИКБ — в 20 (45 %), ИКБ и ГАЧ — в 1 (2 %).

Лихорадочные формы клещевых инфекций составили 34 случая (65 %), менингеальные — 15 (29 %), менингоэнцефалитические — 3 (6 %).

Этиология инфекций подтверждена иммунологическими методами. Определение специфических антител (IgG, IgM) к возбудителю ИКБ в парных сыворотках крови проводили методом ИФА (ELISA) при помощи стандартных диагностических наборов. Антитела к вирусу КЭ определяли в реакции торможения геммагглютинации с антигеном вируса по общепринятой методике. Специфические антитела (IgG, IgM) к МЭЧ и ГАЧ в парных сыворотках крови у всех больных определяли методом ИФА с использованием рекомбинантных тест-систем.

Всем больным проведены общие клинические, биохимические и нейрофизиологические исследования в динамике заболевания.

Статистическая обработка клинического материала и полученных в ходе исследования данных про-

водилась на ПК в операционной среде Windows-XP с использованием программ Excel, Origin. Методом корреляционно анализа определяли сопряженность между разнородными признаками (коэффициент ассоциации g). При математической обработке использовали t -критерий, среднее арифметическое ($\bar{x}$), стандартное отклонение (S_x), коэффициент вариации (CV), ошибку (S_x) средней арифметической и коэффициент точности (CS).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ показателей количества дефензинов и их динамики при соответствующих клинических формах КЭ и ИКБ выявил закономерно максимальные значения при микст-инфекциях в отличие от ИКБ и КЭ. Так, при лихорадочной форме КЭ в остром периоде показатели дефензинов составляли $84 \pm 18,5$, что значительно меньше в сравнении с микст-инфекциями и ИКБ ($p < 0,05$). В период регресса общеинфекционных проявлений количество дефензинов при лихорадочной форме КЭ значительно снижалось ($65 \pm 12,3$), достигая практически нормальных показателей.

При ИКБ в стадии ранней диссеминации в разгар клинических проявлений уровень дефензинов был выше, чем при лихорадочной форме КЭ, составляя в среднем $115 \pm 17,4$ ($p < 0,05$), и несколько ниже, чем при микст-инфекциях — $124 \pm 9,8$. В период регресса общеинфекционного синдрома данный показатель снижался, не достигая нормальных значений, и составлял $82 \pm 7,3$ при ИКБ, что также сопоставимо с данным показателем при микст-инфекциях — $87 \pm 8,7$, и несколько выше, чем при КЭ.

В динамике заболевания уровень дефензинов имел четкую тенденцию к восстановлению и соответствовал клинической выраженности общеинфекционного синдрома в определенные периоды инфекционного процесса. При микст-инфекциях отмечался закономерно более высокий уровень дефензинов в сравнении с моно-инфекциями.

Сравнительный анализ показателей НСТ-теста и их динамики при соответствующих клинических формах КЭ и ИКБ выявил закономерно максимальную мобилизацию биоцидного потенциала при микст-инфекциях в отличие от моно-инфекций. Так, при лихорадочной форме КЭ в остром периоде с-НСТ-тест составлял $5,7 \pm 0,3$ %, что значительно меньше в сравнении с микст-инфекциями ($p < 0,05$). И-НСТ был несколько ниже, чем при микст-инфекциях, составляя в среднем $35,2 \pm 2,6$ % ($p > 0,05$), а индекс стимуляции существенно превышал данный показатель при микст-инфекциях, составляя $6,1 \pm 0,42$ ($p < 0,05$). В период регресса общеинфекционных проявлений с-НСТ-тест при лихорадочной форме КЭ значительно снижался ($5,4 \pm 0,2$ %), не отличаясь от нормы, а и-НСТ-тест повышался до $39,6 \pm 2,6$ %.

Резерв биоцидности нейтрофильных гранулоцитов существенно повышался в динамике, что прояв-

лялось ростом индекса стимуляции до $7,78 \pm 0,45$ ($p < 0,05$). При ИКБ в стадии ранней диссеминации в разгар клинических проявлений с-НСТ-тест был выше, чем при лихорадочной форме КЭ, составляя в среднем $7,3 \pm 0,9 \%$ ($p < 0,05$), но несколько ниже, чем при микст-инфекциях ($p > 0,05$). В период регресса общинфекционного синдрома данный показатель приближался к нормальным значениям ($6,05 \pm 0,32$). Показатели и-НСТ существенно не отличались от таковых при лихорадочной форме КЭ в соответствующие периоды, но были несколько ниже, чем при микст-инфекциях, составляя в среднем $37,2 \pm 2,6 \%$ в первые дни и $42,3 \pm 2,4 \%$ в период ранней реконвалесценции.

Индекс стимуляции в остром периоде составлял $6,7 \pm 0,42$, что значительно больше в сравнении с микст-инфекциями ($p < 0,01$) и сопоставимо с данным показателем при лихорадочной форме КЭ. В период регресса общинфекционных проявлений индекс стимуляции при ИКБ повышался до $7,9 \pm 0,59$, что также сопоставимо с данным показателем при КЭ и выше, чем при микст-инфекциях ($p < 0,05$) [10].

Сравнительный анализ показателей количества дефензинов и их динамики при менингеальной форме КЭ и ИКБ выявил закономерно максимальные значения при микст-инфекциях, в отличие от ИКБ и КЭ. Так, при менингеальной форме КЭ в остром периоде показатели дефензинов составляли $80 \pm 8,5$, что значительно меньше, чем при микст-инфекциях ($110 \pm 6,3$), и несколько выше, чем при ИКБ в стадии ранней диссеминации в разгар клинических проявлений ($65 \pm 9,3$).

В период регресса общинфекционных проявлений количество дефензинов при менингеальной форме КЭ значительно снижалось до $62 \pm 8,3$, достигая практически нормальных показателей. При микст-инфекциях уровень дефензинов был выше, чем при менингеальной форме КЭ, и составлял в среднем $90 \pm 7,4$ ($p < 0,05$), значительно превышая таковые значения при ИКБ — $50 \pm 6,8$ ($p < 0,05$), колебания которых граничили с нормальными показателями уровня дефензинов.

Отмечено что развивающиеся воспалительные изменения в ликворе коррелируют с ростом уровня дефензинов, а длительно сохраняющееся повышение свидетельствует о затяжном течении менингита, что хорошо характеризует продолжающийся воспалительный процесс и может способствовать объективизации тяжести течения инфекции, несмотря на регресс общинфекционных и менингеальных симптомов и нормализацию лейкоцитарной формулы.

При анализе клинических проявлений менингеальной формы отмечено значительное возрастание биоцидности нейтрофильных гранулоцитов при микст-инфекциях, что проявлялось увеличением показателей с-НСТ-теста до $13,8 \pm 0,9 \%$, что в 1,7 раз больше, чем при лихорадочной форме. Выраженное увеличение биоцидности нейтрофилов в остром периоде менингеальной формы микст-инфекций коррелировало со среднемаксимальной температурой тела ($r =$

$0,67$; $p < 0,05$) и воспалительными изменениями СМЖ ($r = 0,5$; $p < 0,05$). Индуцированный НСТ-тест возрастал до $48,8 \pm 2,7 \%$ ($p < 0,05$) в сравнении с лихорадочной формой, однако индекс стимуляции при этом значительно снижался (до $3,18 \pm 0,36$), что в 1,5 раз ниже, чем при лихорадочной форме ($p < 0,01$).

При повторном исследовании, которое проводилось при купированном общинфекционном синдроме и в условиях нормального состава СМЖ, в большинстве случаев с-НСТ-тест снижался до $10,8 \pm 0,5 \%$ ($p < 0,05$), превышая данный показатель при лихорадочной форме в 1,76 раз. Индуцированный НСТ-тест при повторном исследовании возрастал незначительно — до $53,8 \pm 2,6 \%$. Однако, существенное возрастание показателей индекса стимуляции до $5,8 \pm 0,34$, что в 1,8 раз больше в сравнении с острым периодом, характеризовало закономерное повышение биоцидного потенциала нейтрофилов и соответствовало регрессу клинических симптомов. При этом индекс стимуляции не достигал значений, выявленных при лихорадочной форме.

Тенденция к максимальной мобилизации биоцидного потенциала отмечалась и при менингеальных формах моно-инфекций, но выраженность этих значений была меньше, чем при микст-инфекциях. Так, при менингеальной форме КЭ в остром периоде с-НСТ-тест был значительно ниже, чем при микст-инфекциях ($p < 0,01$), в динамике прослеживалась тенденция к нормализации данного показателя, который снижался до $8,0 \pm 0,8 \%$. Индекс стимуляции в остром периоде был выше уровня, отмеченного при микст-инфекциях ($p < 0,05$), и возрастал в динамике до $6,4 \pm 0,62$, характеризуя восстановление биоцидного потенциала и соответствуя нормализации общего состояния, коррелируя при этом с регрессом воспалительных изменений СМЖ ($r = 0,6$; $p < 0,05$).

При ИКБ с-НСТ-тест повышался до $7,7 \pm 0,8 \%$, что в 1,8 раз меньше, чем при микст-инфекциях ($p < 0,01$), и снижался в динамике заболевания. Индекс стимуляции составлял $5,9 \pm 0,4$ и впоследствии повышался до $7,04 \pm 0,37$. Данный показатель, как в остром периоде, так и в период ранней реконвалесценции, превышал таковой при менингеальной форме микст-инфекций и КЭ, что свидетельствует о наименее выраженной кислородзависимой биоцидности нейтрофильных гранулоцитов и максимальной сохранности биоцидного потенциала при ИКБ.

Анализ биоцидности нейтрофилов при менингеальных формах микст-инфекций и моно-инфекций показал максимальную функциональную активность клеток в остром периоде микст-инфекций. При моно-инфекциях биоцидная активность нейтрофильных гранулоцитов менее выражена, а ее резервы существенно не отличались от нормы [9, 10].

При менингоэнцефалитической форме течения инфекции отмечались и наибольшие темпы нарастания концентрации дефензинов, в отличие от лихорадочных и менингеальных форм. Анализ показателей количества дефензинов и их динамика при соответствующих клинических формах КЭ и микст-инфек-

ции выявил закономерно максимальные значения при микст-инфекции в отличие от КЭ.

Показатели с-НСТ-теста при менингоэнцефалите смешанной этиологии варьировали от 2,6 % до 12,7 %, что меньше, чем при менингите. Отмечались низкие показатели и-НСТ-теста — $28 \pm 2,6$ %, что в 1,7 раз ниже в сравнении с менингитом ($p < 0,01$). Индекс стимуляции снижался до $2,1 \pm 0,2$, что в 2,7 раза ниже в сравнении с менингеальной формой и в 3,1 раза ниже в сравнении с лихорадочной формой. Снижение показателей индекса стимуляции в сочетании с нарастанием значений с-НСТ-теста в динамике соответствовало неблагоприятному течению болезни. Угнетение биоцидной активности нейтрофилов при менингоэнцефалите в сравнении с менингитом наблюдалось и при КЭ.

Показатель с-НСТ-теста в первые дни болезни составлял $6,9 \pm 1,2$ % ($p < 0,05$), но в динамике, в отличие от менингоэнцефалита при микст-инфекциях, несколько снижался, составляя в среднем $6,2 \pm 0,3$ %. Индуцированная биоцидная активность клеток была сопоставима с данным показателем при микст-инфекциях, составляя $39,7 \pm 1,7$ % в остром периоде и $38,2 \pm 2,5$ % период регресса общеинфекционных проявлений, соответственно. Индекс стимуляции был существенно выше, чем при микст-инфекциях, и составлял $5,03 \pm 0,33$ ($p < 0,05$), но в последующем снижался до $4,48 \pm 0,58$, характеризуя тенденцию к истощению биоцидного потенциала нейтрофилов, но оставаясь в 2 раза выше, чем при микст-инфекциях. При менингоэнцефалитической форме КЭ, несмотря на тенденцию к угнетению биоцидности нейтрофилов, отмечен более высокий уровень биоцидного потенциала клеток, что характеризует относительную сохранность репаративных способностей организма и соответствует менее тяжелому течению болезни при КЭ в сравнении с микст-инфекциями.

ВЫВОДЫ:

В динамике заболевания уровень дефензинов имел четкую тенденцию к восстановлению и соответствовал клинической выраженности общеинфекционного синдрома в определенные периоды инфекционного процесса. При микст-инфекции отмечался закономерно более высокий уровень дефензинов в сравнении с моно-инфекциями. Выше изложенное позволяет рассматривать дефензины в качестве острофазных показателей воспаления, характеризующих степень участия нейтрофилов в этой реакции. Полученные данные свидетельствуют о том, что нейтрофилы участвуют в антимикробной защите не только в качестве фагоцитов, но и как клетки, продуцирующие биологически активные продукты с регуляторными свойствами.

Отмечено, что уровни концентрации дефензинов при менингеальной форме заболевания менее выражены, чем при лихорадочной, что обусловлено их накоплением в очаге преимущественного действия микроба. При этом воспалительные изменения в ликворе коррелировали с ростом уровня дефензинов, но длительно сохраняющееся повышение свидетельствовало о затяжном течении менингита, что характеризовало продолжавшийся воспалительный процесс, и может способствовать объективизации тяжести течения инфекции, несмотря на регресс общеинфекционных и менингеальных симптомов, а также нормализацию лейкоцитарной формулы.

Анализ биоцидности нейтрофилов при менингеальных формах микст-инфекции и моно-инфекций показал максимальную функциональную активность клеток в остром периоде микст-инфекции, что закономерно коррелировало с максимальными значениями концентрации дефензинов при микст-инфекции в отличие от ИКБ и КЭ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Долгушин, И.И. Роль нейтрофилов в регуляции антимикробной резистентности /И.И. Долгушин //Вестник РАМН. – 2002. – № 3. – С. 16-21.
2. Феномен внеклеточной бактерицидности нейтрофилов и механизмы защиты бактерий от действия лейкоцитарной эластазы /А.Л. Кравцов, Т.П. Шмельников, Е.Ю. Лоцманова и др. //Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – № 1. – С. 49-52.
3. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета: мультифункциональность /В.Н. Кокряков, Л.В. Ковальчук, Г.М. Алешина, О.В. Шамова //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2006. – № 2. – С. 98-105.
4. Кокряков, В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения /В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука, 1999.
5. Кудин, А.П. Содержание дефензинов у детей с генерализованными формами менингококковой инфекции /А.П. Кудин //Российский педиатрический журнал. – 2001. – № 5. – С. 9-11.
6. Ganz, T. Antimicrobial peptides. J. Leukoc. /T. Ganz. //Biol. – 2004. – V. 75. – P. 34-38.
7. Yang, D. Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense /D. Yang, A. Biragyn, D.M. Hoover //Annu. Rev. Immunol. – 2004. – V. 22. – P. 170-175.
8. Маянский, А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: метод. реком. /А.Н. Маянский, М.Е. Вишневский. – Казань, 1979.

9. Попонникова, Т.В. Современные особенности клещевых микст-инфекций у детей /Т.В. Попонникова, О.С. Пиневич //Сибирский консилиум. Медико-фармацевтический журнал. – 2006. – № 4. – С. 39-43.
10. Попонникова, Т.В. Изменения кислородзависимой биоцидности и морфологических особенностей лейкоцитов крови при микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза у детей /Т.В. Попонникова Т.В., Т.Н. Вахрамеева, Г.Ю. Галиева //Медицина в Кузбассе: Спецвыпуск № 5-2008: Актуальные проблемы клещевых нейроинфекций. – С. 121-125.



АВСТРАЛИЙСКИЕ ОФТАЛЬМОЛОГИ НАШЛИ НЕОЖИДАННЫЕ ПРИЧИНЫ РАЗВИТИЯ ГЛАУКОМЫ

Австралийские офтальмологи выявили неожиданные причины и факторы риска высокого внутриглазного давления – по словам медиков, глаукому может вызвать и сильное трение глаз, и сон лицом на подушке. Помимо этого, давление может увеличиваться, если стоять на голове при занятиях йогой, играть на трубе, плавать, заниматься тяжелой атлетикой или на тренажерах.

Врачи заметили, что одно прикосновение к векам в 3–5 раз повышает глазное давление. Даже простое удаление макияжа глаз при помощи ватного тампона увеличивает давление до очень опасного уровня, максимально повышая его в 10 раз.

Если часто совершать вышеперечисленные действия, существует опасность не только развить глаукому, но и другие серьезные глазные болезни, включая близорукость, кератоконус и слепоту, предупреждают окулисты Университета Нового Южного Уэльса. Особенно медики рекомендуют избегать сна лицом вниз и не надевать на ночь маску для глаз – это намного поможет замедлить прогрессирование давления и снизить чувствительность глаз. Кроме того, для глаз вредно чтение лежа и вытирание слез бумажными салфетками.

Источник: Ami-tass.ru