

# КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ

Крылова Н.В.<sup>1</sup>, Леонова Г.Н.<sup>1</sup>, Павленко Е.В.<sup>1</sup>,  
Запорожец Т.С.<sup>1</sup>, Смолина Т.П.<sup>1</sup>, Гажа А.К.<sup>1</sup>,  
Новиков Д.В.<sup>2</sup>, Ченцова И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, г. Владивосток

<sup>2</sup> ГУЗ Приморская краевая клиническая больница № 1, г. Владивосток

**Резюме.** Изучено состояние иммунной системы при различных формах клинического течения клещевого энцефалита (КЭ) в остром периоде. Установлено, что в ранней фазе иммунопатогенез КЭ при лихорадочной форме соответствует общеиммунологическим закономерностям развития вирусной инфекции. При очаговой форме с благоприятным исходом выявлен дефицит Т-клеточного звена иммунитета, дисиммуноглобулинемия и низкий уровень продукции Th1-цитокинов. При очаговой форме с летальным исходом отмечалась ранняя гиперпродукция Th1-цитокинов и компонентов комплемента, повышение количества активированных Т-лимфоцитов и снижение содержания цитотоксических лимфоцитов. Полученные показатели мы рассматриваем как ранние прогностические критерии тяжести инфекционного процесса.

**Ключевые слова:** клещевой энцефалит, иммунопатогенез.

*Krylova N.V., Leonova G.N., Pavlenko E.V., Zaporozhets T.S., Smolina T.P., Gazha A.K., Novikov D.V., Chenzova I.V.*

## COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF IMMUNE SYSTEM IN VARIOUS FORMS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN ACUTE PHASE

**Abstract.** Multiple parameters of immune system were studied in patients with various clinical forms of tick-borne encephalitis (TBE). The patients were examined in acute phase of the infection. It is shown that early immunopathogenesis of TBE, in its feverish form, corresponds to general immunological mechanisms of viral infection. Meanwhile, in focal clinical forms of TBE with favorable outcome, we revealed a deficiency of T-cell immunity, disimmunoglobulinemia, and low Th1-cytokine production. In a focal form with fatal outcome, an early hyperproduction of Th1-cytokines and complement components, as well as increased numbers of activated T-lymphocytes have been noted, along with reduced levels of cytotoxic lymphocytes. The changes observed may be considered as early prognostic criteria of a severe infection. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 4-5, pp 313-320)

**Keywords:** tick-borne encephalitis, immunopathogenesis.

## Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) остается одной из самых актуальных природно-очаговых ви-

русных инфекций на Евразийском континенте. В эндемичных регионах Российской Федерации в 1990-х годах был отмечен стремительный рост заболеваемости КЭ, а в 2000-х годах наблюдалась стабилизация эпидемической ситуации [10]. Известно, что для Дальнего Востока характерно тяжелое клиническое течение КЭ. Так, на долю очаговых форм в разные годы приходилось от 30% до 60%, менингеальной – 10-20%,

### Адрес для переписки:

Крылова Наталья Владимировна  
690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1.  
Тел.: (423) 244-26-04.  
E-mail: krylovanatalya@gmail.com

лихорадочной – от 13 до 65% случаев КЭ [8, 12]. В последнее десятилетие преобладает лихорадочная форма (64,5%), число менингеальных форм снизилось до 7,0%. Высокий удельный вес приходится на очаговые формы (25,7%), среди которых в 37,7% случаев зарегистрирован летальный исход.

Очевидно, что многообразие исходов инфицирования вирусом КЭ – от полного выздоровления до развития тяжелых прогрессивных форм заболевания ЦНС – обусловлены не только разной степенью вирулентности штаммов возбудителя, но и индивидуальными вариациями его взаимодействия с иммунной системой хозяина. Ряд исследований был посвящен изучению клинических проявлений КЭ в зависимости от изменений отдельных звеньев иммунной системы организма [3, 13, 15]. Так, Э.А. Кветковой (1984) было показано, что у больных КЭ в остром периоде снижено количество Т-лимфоцитов и повышено содержание В-лимфоцитов. Дисиммуноглобулинемия наиболее четко проявляется у больных с клиническими симптомами поражения ЦНС. Другие авторы [1, 14] наблюдали в остром периоде КЭ у больных менингеальной формой значительное увеличение провоспалительных цитокинов по сравнению с больными лихорадочной формой, но не выявили у них изменений в содержании В-лимфоцитов и сывороточных иммуноглобулинов. В то же время А.Л. Бондаренко с соавт. (2011) отмечают выраженный системный цитокиновый ответ Th1-типа в остром периоде у больных с лихорадочной формой КЭ и его недостаточность при более тяжелых формах инфекции. Противоречивые результаты, полученные авторами [1, 2, 5, 14] в разных географических регионах природных очагов КЭ, могут быть обусловлены как генетически детерминированными факторами макроорганизма, так и вирулентностью возбудителя. В этой связи остается актуальным изучение функциональной активности клеточного, гуморального, цитокинового звеньев иммунной системы при разных клинических проявлениях КЭ.

**Целью настоящей работы** явилась комплексная оценка состояния иммунной системы у пациентов с лихорадочной и очаговыми формами КЭ в остром периоде для установления прогностических иммунопатогенетических маркеров тяжести течения инфекции.

## Материалы и методы

Было обследовано 50 пациентов в возрасте от 18 до 55 лет с лихорадочной и очаговыми формами КЭ, находившихся на стационарном лечении в больницах Приморского края. Диагноз клещевого энцефалита (рубрика А 84.0

по МКБ 10) в остром периоде заболевания (3-9 сутки) верифицировался на основании данных оценки неврологического статуса, определения уровня вирусспецифических антител класса IgM и IgG и обнаружения вирусной РНК в крови методом ПЦР. Все обследованные пациенты были разделены на 3 группы: 1 группа – 28 пациентов с лихорадочной формой КЭ средней степени тяжести; 2 группа – 16 пациентов с очаговыми формами КЭ и благоприятным исходом; 3 группа – 6 пациентов с очаговыми формами КЭ и летальным исходом. Клинически и анамнестически у всех обследованных лиц были исключены инфекционные заболевания и обострения хронических воспалительных процессов другой этиологии. Группа контроля состояла из 25 здоровых доноров.

Методы исследования, план, этические нормы, критерии отбора и исключения из протокола, а также протокол исследования утверждены комитетом по биомедицинской этике НИИЭМ СО РАМН (протокол № 1 от 03.02.2011 г.).

Для иммунологических исследований использовали венозную кровь пациентов, взятую в острый период (первая неделя) заболевания. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии (цитофлуориметр FACScan, Becton Dickinson) с использованием моноклональных антител: CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD56<sup>+</sup>CD16-PE, CD3-FITC/CD19-PE (Becton Dickinson, США), CD3-FITC/CD25-PE, CD3-FITC/CD95-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE (Bekman Coulter, Франция).

Для обнаружения вирусспецифических антител классов IgG и IgM применяли ИФА с использованием тест-системы «Векто-ВКЭ-IgG» и «Векто-ВКЭ-IgM» производства ЗАО «Вектор-Бест».

Концентрацию общих сывороточных иммуноглобулинов классов IgM, IgG, IgA определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Для определения содержания в сыворотке крови подклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) применяли ИФА с использованием тест-систем «Подклассы IgG» производства ЗАО «Вектор-Бест».

Количественное определение компонентов комплемента (C1-инг, C3, C4, C5, C3a, C5a) и цитокинов (IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-6, IL-4, IL-10) в сыворотке крови обследованных лиц проводили в ИФА с применением тест-систем ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Для определения спонтанной и индуцированной продукции цитокинов клетками периферической крови, гепаринизированную (25 ЕД/мл) венозную кровь разводили в 3 раза стерильной средой RPMI 1640 (Sigma), содержащей 0,3 мг/мл L-глутамин (Sigma) и 80 мкг/мл гентамицина.

Подготовленные таким образом образцы крови (по 1 мл) культивировали в круглодонных стерильных пробирках в присутствии конканавалина А (КонаА, Sigma, в конечной концентрации 10 мкг/мл), а также в отсутствие митогенной стимуляции. Культивирование проводили при 37 °С в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 48 часов, после чего отбирали супернатанты, замораживали и хранили до тестирования при -20 °С. Определение концентрации цитокинов в супернатантах проводили в ИФА с помощью тест-систем ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург).

Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом селективной преципитации 3,75% раствором полиэтиленгликоля-6000.

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием прикладного пакета Statistica 6. Проверка нормальности распределения количественных признаков в выборке осуществлялась с помощью W-критерия

Шапиро–Уилка, определение значимости различий между группами – t-критерия Стьюдента (при нормальном распределении признаков), U-критерия Манна–Уитни (при неподтвержденном нормальном распределении признаков).

## Результаты

Нами проведено сравнительное изучение функциональной активности клеточного, гуморального, цитокинового звеньев иммунной системы пациентов с различными формами КЭ в острый период этой инфекции. При лихорадочной форме КЭ (1-ая группа) у пациентов в первые дни заболевания общее количество лейкоцитов и лимфоцитов находилось в пределах нормативных значений (табл. 1). В этот же период при очаговых формах КЭ (2-ая и 3-я группы) у пациентов выявлены лейкоцитоз и лимфопения. При этом у лиц 3-ей группы отмечались более значимые изменения по сравнению со 2-ой группой:

**ТАБЛИЦА 1. ОСОБЕННОСТИ ПОВЕРХНОСТНОГО ФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМ ТЕЧЕНИЕМ КЭ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ЗАБОЛЕВАНИЯ (M±σ) [Ме (C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>)]**

Показатели		Контроль (n = 25)	1-ая группа (n = 28)	2-ая группа (n = 16)	3-я группа (n = 6)
Лейкоциты		6370±1100	6160±1195	9660±2800*	11200 (10300-13200)*
Лимфоциты	%	30,2±3,6	32,1±4,6	22,3±5,5*	16,0 (11,0-20,0)*
	кл/мкл	2011±227	1980±345	2107±421	1534 (1250-2270)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup>	%	73,3±5,4	65,8±5,8*	58,4±7,6*	57,0 (54,0-60,0)*
	кл/мкл	1480±118	1317±195*	1230±180*	880 (820-920)*
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup>	%	12,7±3,3	11,8±4,3	25,3±5,1*	26,0 (25,0-29,0)*
	кл/мкл	255±71	230±93	533,0±110*	400 (380-450)*
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	%	46,1±4,1	40,9±6,2*	29,9±6,0*	40,0 (37,0-43,0)*
	кл/мкл	931±89	818±160*	660±130*	630 (560-660)*
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	%	26,2±5,1	26,2±5,3	23,3±6,1	16,0 (13,0-20,0)*
	кл/мкл	507±111	510±97	490±120	245 (200-310)*
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>		1,8±0,5	1,5±0,4	1,3±0,3*	2,6 (2,1-3,0)*
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	%	10,4±4,9	18,3±5,5*	7,1±2,8	6,0 (5,0-9,0)
	кл/мкл	226±106	360±108*	175±65	90 (77-140)*
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	%	4,1±1,2	7,8±1,5*	4,4±1,3	3,0 (2,0-5,0)
	кл/мкл	85±25	150±45*	92±32	49 (30-80)
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	%	7,4±1,9	17,7±2,3*	9,0±2,3	22,0 (15,0-29,0)*
	кл/мкл	150±45	330±107*	140±40	335 (230-445)*
CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup>	%	5,8±1,4	9,8±2,5*	11,1±3,1*	9,0 (7,0-11,0)
	кл/мкл	110±30	196±60*	220±71*	140 (100-170)
CD3 <sup>+</sup> CDHLA-DR <sup>+</sup>	%	3,4±1,0	4,0±1,5	4,5±1,8	3,0 (2,0-4,0)
	кл/мкл	74±30	73±30	95±40	50 (31-62)
CD25 <sup>+</sup> /CD95 <sup>+</sup>		1,3±0,4	1,8±0,5*	0,8±0,3*	2,4 (2,1-2,6)*

**Примечание.** \* – разница с контролем статистически значима.

у них имела место не только относительная, но и абсолютная лимфопения.

При анализе показателей, характеризующих структуру основных субпопуляций лимфоцитов, у пациентов всех трех групп выявлено уменьшение относительного содержания и абсолютного количества лимфоцитов, экспрессирующих CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> антигены (табл. 1). Значимое уменьшение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) обнаружено только у пациентов 3-ей группы. Снижение показателя – CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> при очаговых формах КЭ с благоприятным исходом было обусловлено уменьшением количества CD4<sup>+</sup>Т-клеток, а возрастание этого индекса у пациентов с неблагоприятным исходом происходило за счет резкого снижения содержания CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитов. При фенотипическом анализе особое внимание уделяют NKT-клеткам, экспрессирующим маркеры CD16 и CD56 (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>Т-киллеры) и, также как и CD8<sup>+</sup>Т-лимфоциты, обладающим киллерной и противоопухолевой активностью. В настоящем исследовании было выявлено снижение относительного содержания и абсолютного количества NKT-клеток у пациентов с неблагоприятным исходом заболевания, по сравнению с таковыми показателями у лиц с лихорадочной формой КЭ.

Важным моментом при оценке состояния клеточного иммунитета у пациентов с различными формами КЭ в острый период заболевания является определение количества активированных Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>). У пациентов с лихорадочной формой КЭ относительное содержание и абсолютное количество Т-клеток, экспрессирующих маркеры активации CD25 и CD95, было значимо выше аналогичных показателей у здоровых доноров. При этом индекс активации Т-лимфоцитов (CD25<sup>+</sup>/CD95<sup>+</sup>), будучи выше аналогичного показателя у здоровых доноров, оставался в пределах нормы (1,0-2,0). В то же время при очаговых формах КЭ с благоприятным исходом отмечалось отсутствие увеличения количества CD25<sup>+</sup>Т-лимфоцитов на фоне повышения содержания Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркер апоптоза CD95. В результате индекс активации Т-лимфоцитов у этих пациентов был ниже нормативных значений (< 1,0). У пациентов с летальным исходом в острую фазу заболевания соотношение CD25<sup>+</sup>/CD95<sup>+</sup> выше 2,0, по-видимому, свидетельствовало о том, что процесс накопления активированных лимфоцитов преобладал над процессом их элиминации из периферической крови. Выявленные в настоящем исследовании изменения количества субпопуляций Т-лимфоцитов не только подтверждают наличие дефицита Т-клеточного звена иммунитета у пациентов с разными формами КЭ, но и позво-

ляют рассматривать эти изменения как дополнительные лабораторные критерии, указывающие на прогрессирование заболевания. Наиболее интересным в плане прогноза течения КЭ является выявление изменений относительного содержания и абсолютного количества следующих популяций лимфоцитов: CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, NKT, CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> (табл. 1). Как резкое снижение, так и повышение показателей CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup>/CD95<sup>+</sup> является прогностически неблагоприятным признаком прогрессии заболевания КЭ.

Исследование субпопуляции естественных киллеров (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>), выполняющих цитотоксическую функцию в противовирусном иммунитете, показало, что изменения количества NK-клеток в зависимости от формы заболевания КЭ носили разнонаправленный характер. По сравнению со здоровыми лицами, относительное содержание и абсолютное количество CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> лимфоцитов в остром периоде заболевания у пациентов с лихорадочной формой КЭ увеличивалось (табл. 1). У пациентов с очаговыми формами заболевания наблюдалось снижение числа NK-клеток, наиболее выраженное у лиц 3-ей группы. Количественные изменения субпопуляций естественных киллеров также можно рассматривать как критерии прогрессирования заболевания КЭ.

При изучении В-клеточного звена иммунитета у пациентов 1-ой группы не было обнаружено изменений количества CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> лимфоцитов, а у лиц 2-ой и 3-ей групп регистрировалось значимое увеличение относительного содержания и абсолютного количества этих клеток по сравнению с показателями в группе здоровых доноров.

Функциональную активность В-лимфоцитов выявляли, определяя уровень продуцируемых ими иммуноглобулинов. Для верификации острого КЭ решающее значение имеет обнаружение у больных вирусспецифических антител класса IgM. В наших исследованиях у пациентов с лихорадочной формой КЭ в остром периоде их уровень был невысоким (2,00±0,48 мг/мл). Содержание этих антител в крови пациентов с очаговыми формами КЭ было значимо выше (8,92±0,54 мг/мл), чем у лиц 1-ой группы (p = 0,000). В то же время вирусспецифические антитела класса IgG у пациентов не выявлялись, что указывало на ранний период инфекционного процесса.

Исследование содержания общих сывороточных иммуноглобулинов (IgM, IgA, IgG) у обследованных пациентов показало, что уровень IgM при очаговых формах КЭ был значимо выше, чем таковой у здоровых доноров (табл. 2). При этом отмечалось снижение концентраций общего IgG у пациентов с различными формами КЭ, наиболее выраженное у лиц 3-ей группы. Выявленное изменение содержания IgG определило необ-

ходимость изучения продукции отдельных подклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), имеющих свои особенности в механизмах осуществления защитной реакции [11]. Так, в противовирусном иммунитете общепризнана важная роль Th2-зависимых IgG1-антител и Th1-зависимых IgG3-антител [16, 18]. У всех обследованных пациентов было зафиксировано снижение содержания IgG1 и IgG2. При этом значения концентраций IgG3 и IgG4 не превышали таковые в контрольной группе, и только при лихорадочной форме КЭ отмечалось повышение содержания IgG3. Наиболее значимые изменения уровней подклассов IgG были выявлены при очаговой форме КЭ с летальным исходом. В этой связи, значительное уменьшение уровней IgG1 и IgG2 у пациентов с КЭ может рассматриваться как критерий, характеризующий неблагоприятное течение заболевания. Можно предположить, что снижение концентрации IgG1 происходило за счет связывания его с антигенами вируса КЭ и образования циркулирующих иммунных комплексов. В нашем исследовании наиболее высокое содержание ЦИК отмечалось у пациентов 3-ей группы.

Как известно, антитела IgG3 и IgG1, связываясь с антигеном, способны активировать систему комплемента и, взаимодействуя с Fc-рецепторами (FcγR), экспрессированными на клетках различных типов, стимулировать клеточную активность, в частности фагоцитоз иммунных комплексов, секрецию различных ме-

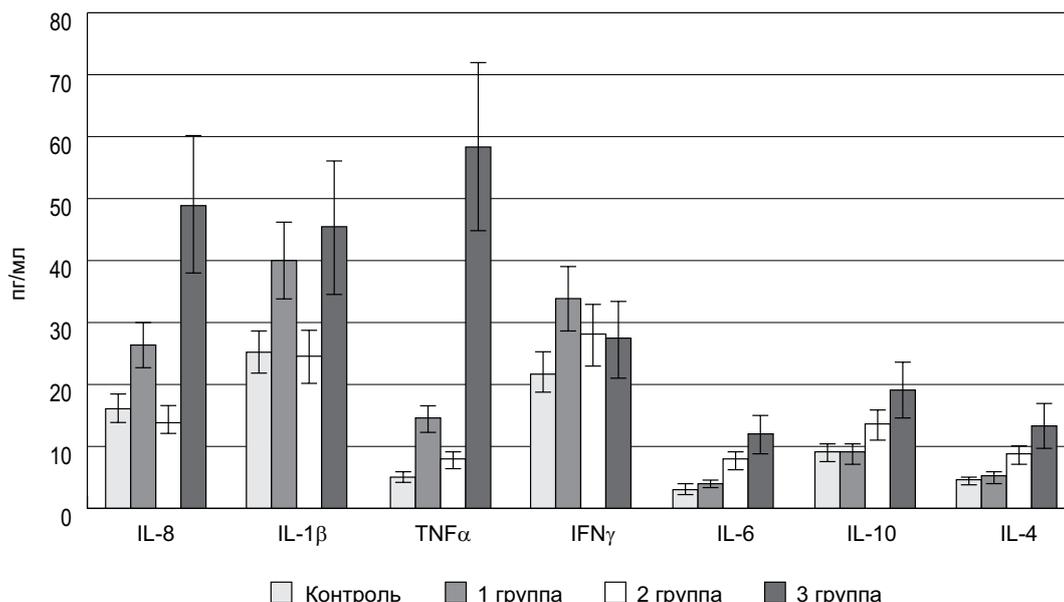
диаторов, в том числе и цитокинов [9]. Однако антитела класса IgM более эффективно активируют систему комплемента по сравнению с антителами IgG [9]. В наших исследованиях при очаговых формах КЭ зафиксировано значимое повышение уровней компонентов комплемента (табл. 2). Это может быть обусловлено тем, что у пациентов этих групп, несмотря на низкое содержание IgG1 и IgG2, отмечался высокий уровень общих сывороточных IgM и вирусспецифических антител класса IgM, а также повышенное содержание ЦИК, что способствовало чрезмерной активации системы комплемента. Гиперактивность системы комплемента в целом и отдельных ее компонентов указывает на тяжелое течение инфекционного процесса.

Проведенный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови обследованных пациентов позволил выявить различный уровень провоспалительных цитокинов – основных участников регуляторной сети при развитии острого воспаления (рис. 1). У пациентов с лихорадочной формой КЭ уровень цитокинов IL-8, IL-1β, TNFα в 1,5-2,5 раза превышал аналогичные показатели у здоровых лиц (p < 0,05). В то же время у пациентов 2-ой группы содержание этих провоспалительных цитокинов не повышалось, находясь на уровне контрольных значений. У лиц 3-ей группы отмечалась гиперпродукция вышеуказанных цитокинов: их уровень в сыворотке крови был в 3-10 раз выше, чем таковой в контрольной группе.

**ТАБЛИЦА 2. ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМ ТЕЧЕНИЕМ КЭ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД ЗАБОЛЕВАНИЯ (M±σ) [Me (C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>)]**

Показатели	Контроль (n = 25)	1-ая группа (n = 28)	2-ая группа (n = 16)	3-я группа (n = 6)
Содержание иммуноглобулинов, мг/мл				
IgM	1,3±0,21	1,44±0,33	2,3±0,69*	1,96 (1,90-2,15)*
IgA	1,82±0,34	1,80±0,46	2,11±0,59	1,91 (1,70-2,30)
IgG	11,68±1,92	9,19±2,84*	8,48±2,11*	7,60 (5,80-9,10)*
IgG1	6,73±0,97	5,30±1,17*	4,84±1,08*	4,22 (3,19-4,95)*
IgG2	3,84±0,44	2,70±0,69*	2,55±0,77*	2,34 (1,8-3,2)*
IgG3	0,74±0,15	0,90±0,19*	0,78±0,25	0,75 (0,61-0,91)
IgG4	0,37±0,07	0,29±0,09	0,30±0,10	0,28 (0,22-0,39)
Содержание компонентов комплемента				
C1-инг, мкг/мл	250±66	290±74	316±95*	345 (285-410)*
C3, мкг/мл	940±180	1090±310	1193±351*	1290 (1030-1600)*
C3a, нг/мл	110±25	126±32	139±40*	155 (121-193)*
C4, мкг/мл	320±85	370±94	406±111*	442 (380-503)*
C5, мкг/мл	84±14	97±24	111±29*	138 (119 -178)*
C5a, нг/мл	6,9±1,9	8,0±2,3	8,9±2,7*	10,0 (8,5-15,7)*
Содержание ЦИК, у.е.	72,4±16,5	128,8±38,4*	173±57,1*	194 (158-230)*

**Примечание.** \* – разница с контролем статистически значима.



**Рисунок 1. Уровни содержания сывороточных цитокинов у пациентов с различным течением КЭ в острый период заболевания (пг/мл)**

**Примечание.** Контроль – здоровые доноры.

1-я группа – пациенты с лихорадочной формой КЭ.

2-я группа – пациенты с благоприятным исходом очаговой формы КЭ.

3-я группа – пациенты с летальным исходом очаговой формы КЭ.

Содержание противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 в сыворотке крови пациентов с лихорадочной формой КЭ не отличалось от такового у здоровых людей (рис. 1). В то же время у пациентов с очаговыми формами заболевания концентрация IL-4 и IL-10 была значимо выше, чем у лиц контрольной группы ( $p = 0,003$ ). При этом показатель  $TNF\alpha/IL-4$ , характеризующий соотношение про- и противовоспалительных цитокинов, был наиболее высок в 3-ей группе ( $4,3 \pm 0,7$ ) по сравнению с таковым в контрольной группе ( $1,1 \pm 0,3$ ,  $p = 0,035$ ).

Известно, что IL-6 в высоких концентрациях оказывает патологическое действие на ЦНС [6, 4]. В ходе проведенного исследования установлено, что при лихорадочной форме КЭ уровень IL-6 не отличался от данного показателя в контрольной группе ( $4,3 \pm 0,4$  пг/мл и  $3,3 \pm 0,5$  пг/мл,  $p = 0,256$ ). При очаговых формах КЭ содержание IL-6 значимо повышалось: у лиц 2-ой группы –  $7,9 \pm 1,7$  пг/мл, у пациентов 3-ей группы –  $12,2 \pm 2,6$  пг/мл. Таким образом, повышение содержания IL-6 в крови может быть расценено как прогностически неблагоприятный признак, соответствующий наиболее тяжелому течению болезни с поражением нервной системы.

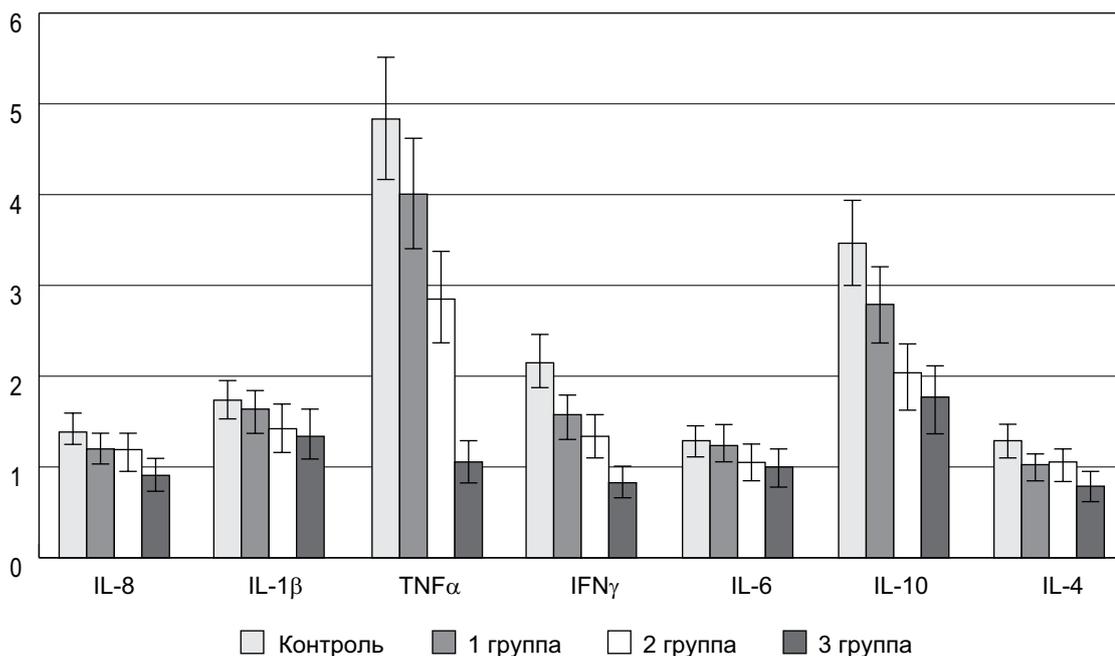
Нами было установлено, что содержание иммунорегуляторного цитокина –  $IFN\gamma$  в сыворотке крови всех обследованных пациентов было выше, чем у здоровых доноров. Однако отношение  $IFN\gamma/IL-4$ , свидетельствующее об уровне цитокинового дисбаланса, у пациентов разли-

чалось. Так, при лихорадочной форме КЭ этот показатель составил  $6,4 \pm 1,9$  (при его значении у здоровых лиц –  $4,5 \pm 1,2$ ), а при очаговых формах КЭ –  $3,2 \pm 0,9$  и  $2,0 \pm 0,6$  (2-ая и 3-я группа соответственно).

Сравнительный анализ спонтанной и индуцированной Кона продукции цитокинов клетками крови пациентов с различными формами КЭ показал, что характер изменений продукции вышеуказанных цитокинов *ex vivo* (в цельной крови) идентичен таковому в сыворотке крови (*in vivo*) этих пациентов. Поэтому в настоящем исследовании представлены данные по ИС – индексу стимуляции (отношение индуцированной продукции цитокинов к спонтанной продукции), отражающие функциональный резерв клеток пациентов с различными формами КЭ (рис. 2). Следует отметить, что ИС во всех группах пациентов был ниже, чем у здоровых доноров. Значимое снижение этого показателя зарегистрировано у пациентов только с очаговой симптоматикой КЭ при исследовании продукции  $TNF\alpha$ ,  $IFN\gamma$ , IL-4 и IL-10. Так, например, ИС продукции  $TNF\alpha$  у здоровых доноров составлял  $4,83 \pm 1,5$ , у пациентов с лихорадочной формой КЭ –  $4,0 \pm 1,6$ , у лиц 2-ой группы –  $2,9 \pm 0,9$ , у пациентов 3-ей группы –  $1,1 \pm 0,4$ .

## Обсуждение

Настоящие исследования были направлены на поиск предполагаемых различий в клеточном, гуморальном и цитокиновом звеньях иммунной



**Рисунок 2.** Индекс стимуляции продукции (индуцированная/спонтанная) цитокинов у пациентов с различным течением КЭ в острый период заболевания

**Примечание.** Контроль – здоровые доноры.

1-я группа – пациенты с лихорадочной формой КЭ.

2-я группа – пациенты с благоприятным исходом очаговой формы КЭ.

3-я группа – пациенты с летальным исходом очаговой формы КЭ.

системы пациентов с лихорадочной и очаговыми формами КЭ в острый период заболевания.

Установлено, что при лихорадочной форме КЭ в остром периоде изменения параметров клеточного иммунитета носили компенсаторный характер: снижение относительного содержания и абсолютного количества  $CD3^+$  и  $CD4^+$  клеток сопровождалось увеличением количества НК-клеток и усилением экспрессии активационных антигенов ( $CD25$ ,  $CD95/Fas$ ). Значимых изменений в гуморальном звене у них не выявлено. У пациентов данной группы отмечалась умеренная активация системного цитокинового ответа Th1-типа. Результаты исследований показали, что иммунологическая реактивность при лихорадочной форме КЭ соответствует общеиммунологическим закономерностям и может рассматриваться как адекватный иммунный ответ на инфекцию.

При очаговых формах КЭ параллельно развиваются противовирусные и иммунопатологические компоненты иммунного ответа, и их суммарное действие влияет как на течение инфекции, так и на ее исход [14]. У пациентов с очаговой формой КЭ с благоприятным исходом в начальной стадии заболевания наблюдался глубокий дефицит Т-клеточного звена иммунитета, наиболее эффективного в отношении вирусов. Несмотря на активацию гуморального звена иммунной системы, сопровождающуюся повышенным синтезом антител класса IgM, у этих пациентов

отмечалось снижение содержания общего сывороточного IgG и его подклассов IgG1 и IgG2. Ряд авторов считает, что низкие концентрации одного или нескольких подклассов IgG могут служить индикаторами дисфункции Т- и В-клеток, либо могут возникнуть в результате нарушения продукции цитокинов [11, 17]. Известно, что дефект в продукции  $IFN\gamma$  замедляет переключение синтеза антител с IgM на IgG1 и IgG3 [9]. У пациентов этой группы в острый период заболевания отмечался дефицит продукции Th1-цитокинов на фоне повышения уровня IL-6 и противовоспалительных цитокинов. С одной стороны, полученные данные свидетельствуют о своевременной активации противовоспалительных механизмов защиты у этих больных, а с другой стороны, характеризуют недостаточность их клеточного иммунного ответа на фоне низких значений Th1-цитокинов. Таким образом, выявленный в начальной стадии заболевания дефицит Т-клеточного звена, дисфункция гуморального и цитокинового звеньев иммунной системы могут служить маркерами тяжелого течения КЭ.

Особого внимания заслуживает группа пациентов с очаговой формой КЭ с летальным исходом. Изменения показателей клеточного иммунитета у этих пациентов в остром периоде характеризовались повышением количества В-лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов на фоне значительного снижения содержания зрелых Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ). У них отмечалась

депрессия киллерных механизмов цитотоксической активности (снижение количества CD8<sup>+</sup>, NK-, NKT-клеток). В гуморальном звене иммунитета выявлена чрезмерная активация системы комплемента, в цитокиновом – ранняя гиперпродукция про- и противовоспалительных цитокинов. Таким образом, у пациентов этой группы наблюдалась дисфункция различных звеньев иммунной системы активационного типа. Указанные выше изменения в иммунной системе характерны для системного воспалительного ответа, который может рассматриваться как избыточный ответ острой фазы [7]. Но неадекватность ответа в острой фазе является серьезной предпосылкой формирования общей иммунодепрессии и может явиться важным патогенетическим звеном неблагоприятного течения и прогноза заболевания, что и подтвердилось в наших исследованиях.

Таким образом, комплексная оценка состояния различных звеньев иммунной системы позволяет установить иммунологические особенности клинических форм КЭ, которые могут быть использованы в качестве ранних прогностических критериев развития заболевания. Разнообразие типов иммунного ответа у пациентов с разными формами КЭ обусловлено исходным уровнем иммунокомпетентности организма, степенью вирулентности возбудителя, а также дозой антигена, что является важным фактором регуляции силы и профиля иммунного ответа.

Работа выполнена при поддержке гранта МНТЦ № 4006.

## Список литературы

1. Байгеленов К.Ж. Клинико-иммунологическая характеристика менингеальных форм иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – СПб., 2009. – 22 с.
2. Бондаренко А.Л., Контякова Е.Л., Тихомолова Е.Г., Зыкова И.В., Зянчурина Г.М. Прогностическое значение иммунорегуляторных Th1- и Th2-цитокинов при клещевом энцефалите // Инфекционные болезни. – 2011. – Т. 9, № 1. – С. 28-32.
3. Железникова Г.Ф., Скрипченко Н.В., Моргацкий Н.В., Монахова Н.Е., Керимова Л.В. Иммунопатогенетические особенности клещевого энцефалита у детей и эффект терапии // Нейроиммунология. – 2008. – Т. VI, № 1-2. – С. 13-21.
4. Игнатъев Г.М., Отрашевская Е.В., Воробьева М.С. Продукция некоторых цитокинов при экспериментальной инфекции вирусом клещевого энцефалита у мышей // Вопр. вирусол. – 2003. – № 1. – С. 18-21.
5. Кветкова Э.А. Вирусологические и иммунологические аспекты патогенеза клещевого энцефалита: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – Л., 1984. – 35 с.
6. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.
7. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. – СПб.: Диалект, 2006. – 304 с.
8. Леонова Г.Н., Павленко Е.В., Крылова Н.В. Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита. – Владивосток: Приморский полиграфкомбинат, 2006. – 100 с.
9. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д.Б., Ройтт А. Иммунология. – М.: Логосфера, 2007. – 568 с.
10. Онищенко Г.Г., Федоров Ю.М., Пакскина Н.Д. Организация надзора за клещевым вирусным энцефалитом и меры по его профилактике в Российской Федерации // Вопр. вирусол. – 2007. – № 5. – С. 8-10.
11. Офицеров В.И. Подклассы иммуноглобулина G: возможности использования в диагностической практике. – Кольцово, 2005. – 35 с.
12. Павленко Е.В., Леонова Г.Н., Радченко Л.П., Борисова О.Н. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита в Приморском крае // Тихоокеанский мед. журн. – 2010. – № 3. – С. 31-33.
13. Пирогова Н.П. Механизмы нарушений клеточного звена резистентности при клещевых природно-очаговых инфекциях: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – Томск, 2003. – 46 с.
14. Тер-Багдасарян Л.В. Прогностическое значение иммунологических показателей в ранней дифференциальной диагностике клинических форм клещевого энцефалита: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 2002. – 22 с.
15. Черницына Л.О. Клещевой энцефалит: гуморальный иммунный ответ при различных формах и вариантах течения нейроинфекции // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – № 6 (134). – С. 52-60.
16. McGowan J.P., Shah S.S., Small C.B., Klein R.S., Schnipper S.M., Chang C.J., Rosenstreich D.L. Relationship of serum immunoglobulin and IgG subclass levels to race, ethnicity and behavioral characteristics in HIV infection Med Sci Monit. – 2006. – Vol. 12 (1). – P. 11-16.
17. Pan Q., Hammarstrom L. Molecular basis of IgG subclass deficiency // Immunol Rev. – 2000. – N 178 (1). – P. 99-110.
18. Yang Y.Y., Huang C.F., Wei J.C., Ho M.S., Wang L.N., Lin S.J., Tsai W.Y., Lin C.C., Xu F., Yang C.C. The study of IgG subclass profiles of anti-hbc in populations with different status of HBV infection Cell Mol. Immunol. – 2005. – Vol. 2 (5). – P. 393-398.

поступила в редакцию 23.09.2011

отправлена на доработку 09.10.2011

принята к печати 13.10.2011