

ИММУННЫЙ И ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС У ДЕТЕЙ С ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС, ОБУСЛОВЛЕННЫМ ПЕРИНАТАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ. ВОПРОСЫ РЕАБИЛИТАЦИИ

Никогосова О.В.

Областная детская больница, г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Целью исследования являлась верификация этиологических агентов перинатальных поражений ЦНС у детей раннего возраста и изучение особенностей иммунного и цитокинового статуса в процессе патогенетически обоснованной терапии.

Обследовано 618 детей в возрасте от 1 месяца до 3 лет. Детально изучены изменения неврологического статуса и проведено полное стандартное параклиническое обследование, сформированы основные клинические группы. Для идентификации возбудителя и определения степени активности инфекционного процесса использована программа иммунологического обследования, включающая верификацию возбудителя и определение показателей клеточного и гуморального иммунитета. Использовались прямые, позволяющие выявить возбудителя, и непрямые, регистрирующие специфический иммунный ответ, методы исследования. В процессе обследования больные распределены по этиологическому фактору. На основании полученных данных, а также состояния иммунного статуса и, в частности, медиаторов иммунитета, сформирована программа медикаментозного лечения, включающая специфическую противои nhiễmционную терапию и адекватную иммунореабилитацию. Анализ полученных результатов в группах больных, получавших симптоматическую терапию по поводу неврологического заболевания и иммунокорректирующую и противои nhiễmционную терапию в дополнение к стандартному лечению выявил значительное клиническое улучшение, коррелирующее с положительной динамикой лабораторных данных. Нормализация основных показателей иммунного и цитокинового статуса, обеспечивающая формирование противои nhiễmционного иммунитета, привела к наступлению стойкой ремиссии инфекций, значительному улучшению клинического состояния больных и уменьшению их инвалидизации.

Ключевые слова: перинатальные инфекции, неврология, иммунокоррекция.

Nikogosova O.V.

IMMUNE STATUS AND CYTOKINE PROFILE IN CHILDREN WITH PERINATAL DAMAGES OF CNS

Abstract. The aim of the study was to verify etiological agents of CNS perinatal damages in children of early age and to study peculiarities of immune and cytokine statuses during pathogenetically grounded therapy.

618 children aged from 1 month till 3 years were examined. Changes of neurologic status were interrogated and complete standard paraclinical examination was carried out. Basic clinical groups were formed.

Immunoassay program, which included verification of a causative agent and determination of indices of cellular and humoral immunities, was used to identify a causative agent and to determine infectious activity. Direct methods of investigation which reveal a causative agent and indirect methods which register specific immune response were used. Patients were divided into groups on the basis of etiological agent.

The program of pharmacotherapy was based on findings, immune status and in particular immune mediators. This program included specific anti-infectious therapy and adequate immunorehabilitation. Data analysis was made for groups of patients who got symptomatic therapy in neurologic disease and who got immunocorrective and anti-infectious therapy in addition to standard treatment. Comparison of clinical characteristics showed considerable improvement of patients in the latter group, what correlated with laboratorial data. Normalization of principal indices of immune and cytokine statuses which ensure development of anti-infectious immunity resulted in persistent infectious remission, noticeable improvement of clinical state of the invalidity rate. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 4, pp 425-432)

Адрес для переписки:

Никогосова Ольга Викторовна,
344007 г. Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 120, кв. 23
Тел.: 263-13-43.

Введение

За последние годы в мире отмечается рост нарушений нервно-психического развития детей [1]. Их низкая летальность и склонность к длительному течению обуславливают тенденцию накопления заболеваний в популяции [2]. В России, среди причин детской инвалидности патология нервной системы занимает 60%, причем более 70% случаев неврологических нарушений связаны с перинатальным периодом [3]. Активное внедрение передовых медицинских технологий в практику здравоохранения значительно расширило возможности в изучении истоков многих заболеваний [4]. Одно из ведущих мест в перинатальной патологии занимает инфекция, причем наиболее сложна в клиническом плане внутриутробная инфекция [5], распространенность которой за последние пять лет возросла в два раза [6]. В структуре заболеваний нервной системы у детей инфекционные болезни составляют 70%, но отсутствие полноценной регистрации инфекционных агентов приводит к тому, что многие заболевания считаются неинфекционными [7]. Недооценка инфекционной патологии как ведущей причины развития заболевания исключает проведение необходимой целенаправленной этиопатогенетической терапии.

Целью нашей работы явилась верификация этиологических агентов перинатальных поражений ЦНС у детей и изучение особенностей их иммунного и цитокинового статуса в процессе патогенетически обоснованной терапии.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 618 больных, у которых помимо неврологической патологии от-

мечались патологические процессы в других органах и системах, что послужило поводом предположить наличие единой этиопатогенетической причины. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей. Возраст больных основной и контрольной групп составил от 1 месяца до 3 лет. До 1 года было 81,2% детей, от 1 года до 2 лет - 10,4% детей, от 2 лет до 3 лет - 8,4% детей. Клиническое обследование, включающее сбор анамнеза, изучение неврологического статуса, проведение рео- и электроэнцефалографического исследования, нейросонографии и рентгеновской компьютерной томографии головного мозга, позволило сформировать клинические группы, представленные на рис.1. Для идентификации возбудителя и определения степени активности инфекционного процесса была использована программа иммунологического обследования, включающая верификацию возбудителя и определение показателей клеточного и гуморального иммунитета. Субпопуляции Т- и В-лимфоцитов определяли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител фирмы Becton Dickinson. Th1 и Th2 лимфоциты определяли по коэкспрессии $IFN\gamma$ (Th1) и IL-4 (Th2) у $CD4^+$ лимфоцитов.

Гуморальная составляющая межклеточных взаимодействий в иммунной системе оценивалась путем изучения спонтанных и индуцированных внутриклеточных цитокинов. Определялись молекулы адгезии ICAM-1 ($CD54^+$), а также про- ($TNF\alpha$, IL-1) и противовоспалительные (IL-4) цитокины. Проводилось изучение интерферонового статуса ($IFN\gamma$). Цитокины определяли методом Fast Immune Cytokine System. Оценка результатов исследования проводилась на проточном цитофлуориметре FACS-Calibur фирмы Becton Dickinson (USA). Обработка



Рис. 1. Основные клинические группы

Табл. 1. УРОВЕНЬ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Уровень специфических АТ (о.е.)		Контрол. группа	Больные дети
Токсоплазмоз	IgG (ME)	13,2 ± 0,63	157,88 ± 3,16 *
	IgM	0	0,09 ± 0,002
ВПГИ	IgG	0,28 ± 0,01	2,3 ± 0,05 *
	IgM	0	0,33 ± 0,02
ЦМВИ	IgG	0,21 ± 0,01	2,38 ± 0,08 *
	IgM	0	0,38 ± 0,01
ВПГИ+	IgG	0,28 ± 0,01	2,54 ± 0,08 *
	IgM	0	0,51 ± 0,01
ЦМВИ	IgG	0,21 ± 0,01	2,56 ± 0,08 *
	IgM	0	0,55 ± 0,01
ВЭБИ +	NA-IgG	0,34 ± 0,04	3,16 ± 0,09 *
	VCA-IgM	0	0,37 ± 0,01
Хламидиоз	IgG	0,14 ± 0,001	2,07 ± 0,06 *
	IgM	0	0,35 ± 0,07
Краснуха	IgG	0,1 ± 0,01	1,04 ± 0,02 *
	IgM	0	0,31 ± 0,01 *

Условные обозначения: достоверность различия между показателями здоровых и больных детей: * - P<0,05.

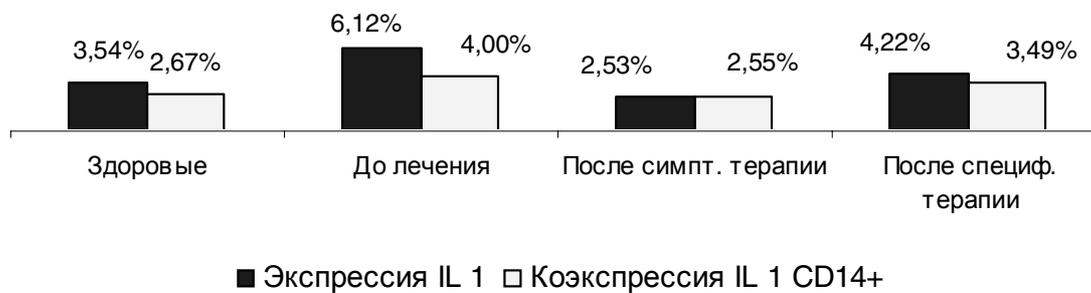


Рис. 2. Динамика экспрессии IL-1 у больных с микст-инфекцией

Рис. 3. Динамика экспрессии TNFα у больных с микст-инфекцией

Табл. 2. НОЗОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

Нозология	Токсоплазмоз	ВПГИ	ЦМВИ	ВПГИ+ЦМВИ	ВЭБИ+хламидиоз	Краснуха	Всего абс./ %
ДЦП абс.	20	6	34	33	18	2	113/ 18,3
%	17,7	5,3	30,1	29,2	15,9	1,8	100,0
Гидроцефалия абс.	19	14	20	27	24	2	106/ 17,2
%	17,9	13,2	18,9	25,5	22,6	1,9	100,0
Микроцефалия абс.	5	1	5	1	3	1	16/ 2,6
%	31,25	6,25	31,25	6,25	18,75	6,25	100,0
Энцефалит абс.	3	10	5	17	8	-	43/6,9
%	7,0	23,3	11,6	39,5	18,6	-	100,0
Эпилепсия абс.	16	35	23	21	20	3	118/19,1
%	13,6	29,7	19,5	17,8	16,9	2,5	100,0
ПЭП. абс.	37	32	47	46	53	7	222/35,9
%	16,7	14,4	21,2	20,7	23,9	3,1	100,0
Всего: абс.	100	98	134	145	126	15	618/100

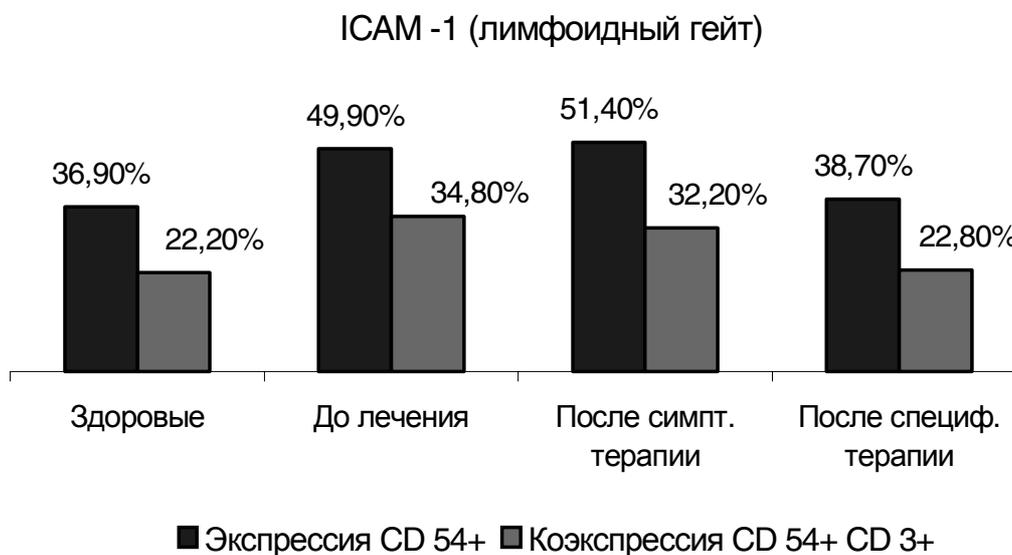
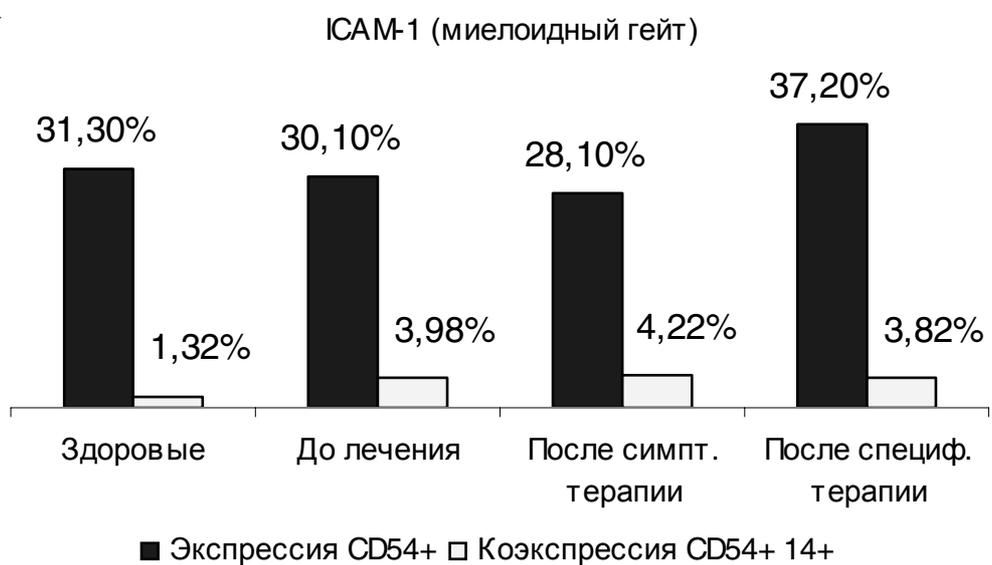


Рис. 4. Динамика экспрессии ICAM-1 у больных с микст-инфекцией

Рис. 5. Динамика показателей иммунного статуса у больных с микст-инфекцией

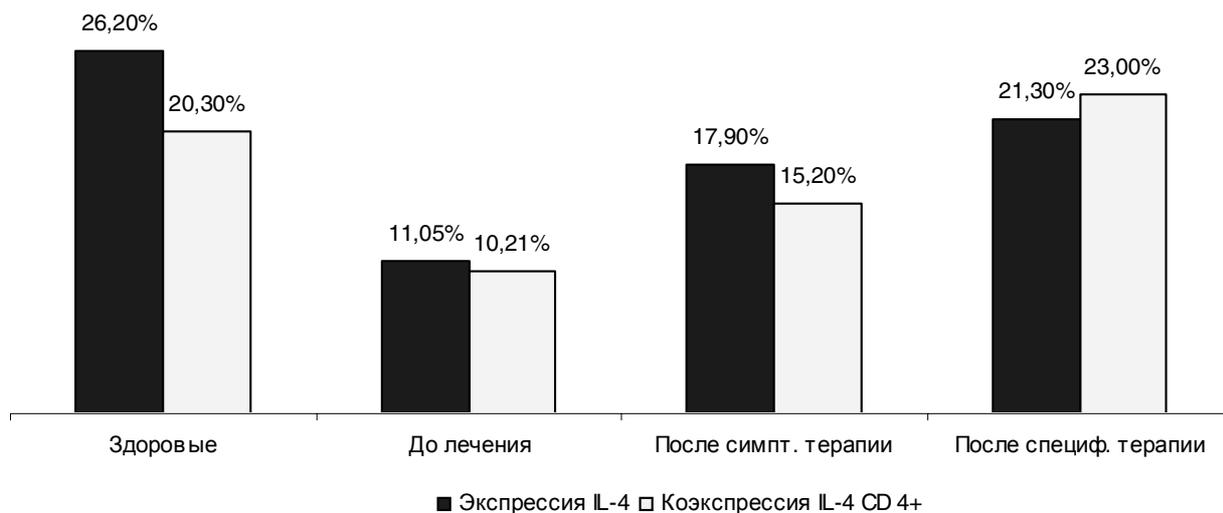


Рис. 6. Динамика экспрессии IL-4 и IFN γ у детей с микст-инфекцией

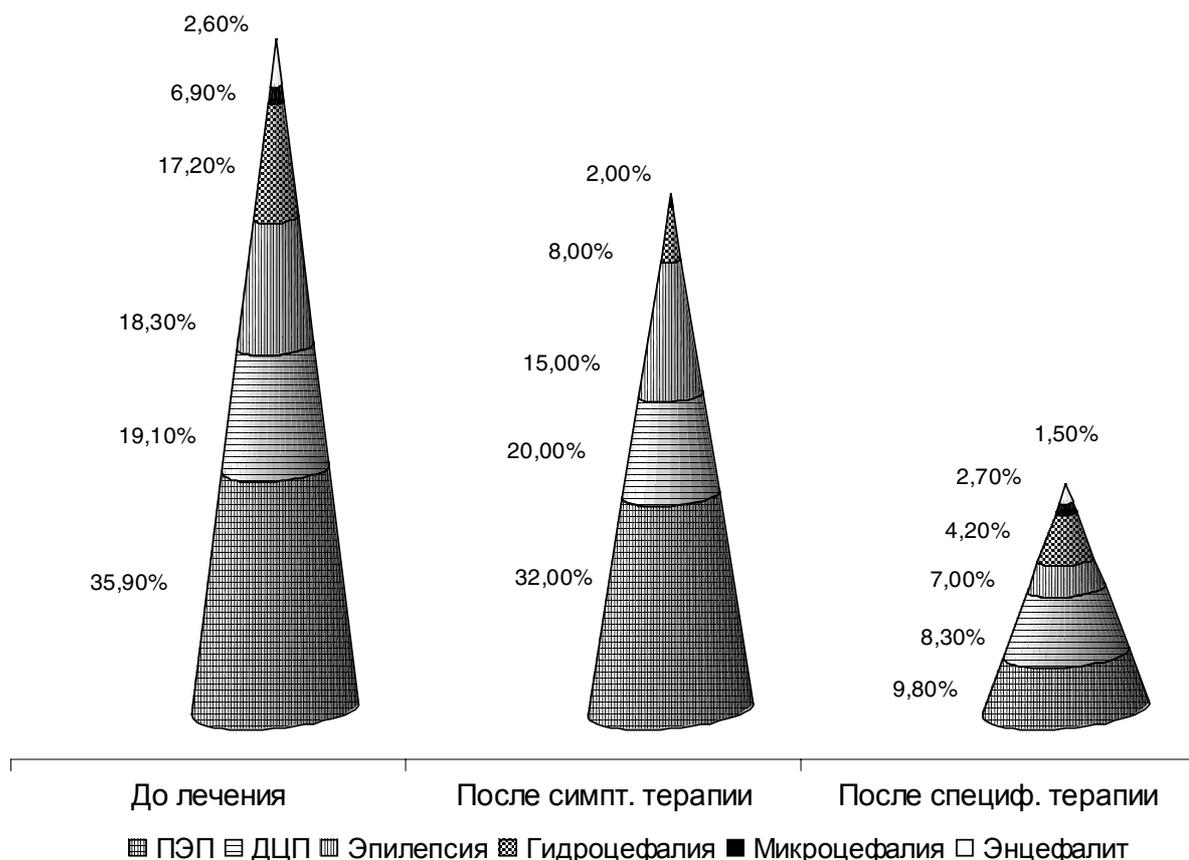


Рис. 7. Динамика структуры неврологической патологии

данных проводилась на Macintosh Quadra 650 в программе Cell Quest.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по содержанию сывороточных IgG, IgA, IgM, определяемых методом радиальной иммунодиффузии по J. Mancini с соавторами (1965). Циркулирующие иммунные комплексы определяли методом V. Naskova с соавторами (1977). Поглотительную способность нейтрофилов (ФА) оценивали по поглощению ими частиц латекса (Петров Р.В. и др., 1989).

Определение специфических антител классов IgG и IgM к вирусам простого герпеса, Эпштейна-Барр, ЦМВ, токсоплазмам и хламидиям проводилось иммуноферментным методом на иммуноферментном анализаторе ELISA Supply Unit фирмы Behring (Германия) с использованием стандартных наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест».

По методу K.V. Mullis et al. (1987) проводилось определение ДНК-вирусов. Были использованы тест-наборы фирмы «Внедрение систем в медицину». Амплификация специфического фрагмента ДНК вирусов осуществлялась на амплификаторе «PCR EXPRESS» производства фирмы NYBAYD (UK). Учет результатов проводился методом электрофореза в 2% агарозном геле с регистрацией и до-

кументированием видеосистемы BioDocAnalyze производства фирмы Biometra - Whatman (Германия).

Лечение осуществлялось в два этапа. Первый этап лечения проводился в стационаре. Медикаментозная терапия помимо стандартного симптоматического курса включала в себя иммунокоррекцию: цитокиновые (лейкинферон, ронколейкин) препараты, производные интерферона-α (виферон), иммуномодуляторы (тималин, тимоген, тактивин). Выбор препаратов зависел от состояния цитокинового статуса. Также назначались специфические противoinфекционные средства (аномальные нуклеозиды, тинидазол, дараприм и др.). Второй этап лечения обычно осуществлялся в амбулаторных условиях или дневном стационаре ОДБ. Больные также получали симптоматическую терапию. Активно использовались также физические методы и психолого-педагогическая коррекция.

Для изучения корреляционных взаимосвязей между исходными показателями больных и результатами, полученными в процессе исследования, при сравнении клинических групп использовалось 72 клиничко-лабораторных показателя у 618 пациентов. Применялись методы вариационных расчетов (SPSS for Windows: v. 10.07, Standard Version, Copyright@ SPSS Inc., 1989-2001, Contract GS-35F-

5899Н) рекомендованные для обработки численных результатов экспериментов в медицине [8]. Статистическую обработку материалов проводили с вычислением средней (M), ошибки средней (m). Достоверность различий средних величин оценивалась с использованием критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $P < 0,05$. Использовали параметрический корреляционный анализ Пирсона и непараметрический метод Спирмена.

Результаты и обсуждение

В процессе исследования, после определения уровня специфических антител (табл.1), дети с перинатальными инфекциями были распределены по этиопатогенетическому фактору (табл. 2).

При исследовании иммунного статуса и оценке медиаторов иммунитета, регулирующих выраженность и направленность иммунологических реакций, были получены данные, свидетельствующие о повышении экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF α , молекулы межклеточного взаимодействия ICAM-1, снижении экспрессии IFN γ и IL-4. Констатировано снижение зрелых форм Т-лимфоцитов, повышение цитотоксических и естественных киллерных клеток, снижении числа CD4⁺ (Th1 и Th2) лимфоцитов, дисгаммаглобулинемия.

Выделены 2 группы больных: получавших симптоматическую терапию по поводу неврологического заболевания ($n=100$) и получавших иммунокорректирующую и противoinфекционную терапию в дополнение к стандартному лечению ($n=518$). Выбор препаратов зависел от вида возбудителя, степени активности инфекционного процесса и состояния иммунного и цитокинового статуса.

При динамическом обследовании иммунного и цитокинового статуса у группы больных, получавших симптоматическую терапию сохранялась высокая спонтанная экспрессия IL-1, TNF α и ICAM-1, в то время как индуцированная экспрессия оказалась ниже. У больных, получивших комплексную специфическую терапию, спонтанная экспрессия внутриклеточных цитокинов снизилась, однако показателей контрольной группы здоровых детей не достигла. Констатировано повышение индуцированной экспрессии IL-1, TNF α и ICAM-1, которое свидетельствует о восстановлении функциональной активности лимфоцитов и моноцитов у больных детей. Вышеуказанные изменения наглядно отражены на рис. 2, 3, 4. При оценке показателей клеточного иммунитета у больных, получавших симптоматическую терапию, отмечено увеличение числа CD3⁺ лимфоцитов, возможно за счет их функциональной незрелости. После проведения курса специфического лечения констатирована нормализация данного показателя. Практически не измени-

лись после симптоматического лечения субпопуляции Т-лимфоцитов, в то время как у другой группы больных Th2 достоверно ($p < 0,05$) приблизились к норме. Низкое содержание Th1 лимфоцитов, по видимому, связано с дефектом выработки IFN γ у детей с перинатальными инфекциями. При оценке показателей гуморального иммунитета отмечена нормализация IgG, IgA, IgM и ЦИК после проведения специфического лечения, в то время как имевшая место до лечения дисгаммаглобулинемия у детей другой группы сохранялась. Визуальное отображение приведенных данных представлено на рис. 5, 6 (на примере больных с микст-инфекцией). Определение в динамике уровней специфических антител у больных с перинатальными инфекциями выявило улучшение исследуемых показателей после проведения курса иммунокорректирующей и противoinфекционной терапии.

Анализ полученных результатов исследования при сравнении клинических характеристик выявил значительное улучшение в последней группе больных (рис. 7).

Так, у детей, получивших специфическую терапию, неврологическая симптоматика сохранилась в 33,5%, в то время как при получении симптоматической терапии патология ЦНС регистрировалась у 77,0% больных.

Таким образом, анализируя вышеприведенные данные, необходимо отметить, что улучшение клинического состояния детей, своевременно получивших адекватную иммунореабилитацию и специфическую противoinфекционную терапию, коррелирует с улучшением лабораторных данных. Нормализация основных показателей иммунного и цитокинового статуса, обеспечивающих формирование противoinфекционного иммунитета, привела к наступлению стойкой ремиссии инфекций, значительно улучшению клинического состояния больных и уменьшению их инвалидизации, значительно улучшив качество жизни не только самих пациентов, но и членов их семей.

Работа поддержана Российским Фондом фундаментальных исследований. Проект № 05-04-48649-а.

Список литературы

1. Кулакова Т.П. Динамика состояния нервно-психического здоровья детей и подростков в школьный период жизни. //Сб. «Здоровье, развитие, личность». -М., Медицина. -1990. -С.27-54.
2. Сердюкова Г.Н., Ключинпетер У. Охрана здоровья детей и подростков // Сборник «Здоровье, развитие, личность». -М., Медицина. -1990. - С.14-26.
3. Пузин С.Н., Дементьева Н.Ф. Социально-медицинская реабилитация детей-инвалидов. //Мед-соц. экспертиза и реабилитация. -2002. -№2. -С.3-6.

4. Володин Н.Н., Петрухин А.С., Буркльва А.С., Журба Л.Т., Рогаткин С.О., Тимонина О.В. Классификация перинатальных поражений у новорожденных.//Мед. консультация.-2000.-№2.-С.12-26.

5. Федорова М.В., Тареева Т.Г. Диагностика и терапия внутриутробных инфекций.//Рос. мед. журнал.-1997.-№1.-С.20-22.

6. Царегородцев А.Д., Рюмина И.И. Заболеваемость

новорожденных внутриутробными инфекциями и задачи по ее снижению в Российской Федерации.//Рос. вест. перинатол. и педиатрии.-2001.-№2.-С.4-7.

7. Шарапова О.В., Корсунский А.А. XXI век-инфекционные заболевания у детей отстают, но не сдаются.//Педиатрия.-2003.-№3.-С.4-10.

8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных.-М., Медиа-Сфера, 2002. -305с.

поступила в редакцию 25.02.2005

отправлена на доработку 05.03.2005

принята к печати 17.03.2005