

Состояние иммунной системы у больных с серозным менингитом и менингитом в сочетании с миокардитом, вызванными вирусами Коксаки В3 и В5

А.А.Новрузова, З.О.Караев

Азербайджанский медицинский университет, Детская клиническая больница им. А.Караева
Баку, Азербайджан

В статье представлены результаты клинико-иммунологического изучения 85 больных, страдающих серозным менингитом и менингитом в ассоциации с миокардитом, вызванными вирусами Коксаки В3 и В5. Возраст больных составил 14-18 лет. Выявлена системная иммунная ответная реакция, характеризующаяся активацией Th1 и Th2 клеток у больных с серозным менингитом. При этом у больных менингитом преобладает активация иммунного ответа по типу Th2, тогда как при менингите, осложненном миокардитом, по типу Th1. Гуморальный иммунный ответ характеризуется повышением титров антител к первичному агенту, но снижением их avidности.

Ключевые слова: серозный менингит, миокардит, вирусы Коксаки В3 и В5, Th1 и Th2 тип иммунного ответа, avidность.

ВВЕДЕНИЕ

Серозный вирусный менингит является наиболее частой патологией среди инфекционных заболеваний нервной системы. В 60-90% случаев заболевание обуславливается неполиомиелитными энтеровирусами [1, 2]. При этом более чем у 50% больных с энтеровирусным серозным менингитом определяются комбинированные формы инфекции с вовлечением в процесс других органов и систем. В структуре комбинированных форм наиболее часто (29,1%) встречаются миокардиты. Поражение других органов и систем составляет от 18,2% до 1,8% случаев [7].

Наиболее частыми этиологическими агентами, провоцирующими развитие миокардита, признают вирусы Коксаки В3 и В5 [4], у которых в последние годы отмечена активизация их циркуляции [2]. Энтеровирусный миокардит может стать причиной дилатационной кардиомиопатии, приводящей к инвалидизации пациента и раннему летальному исходу, а в ряде случаев — стать причиной внезапной смерти [5]. Показано, что вирус Коксаки В3 обладает тропизмом к ткани миокарда. *In vitro* совместная инкубация Коксаки В3 с мышинными кардиомиоцитами в течение 16 ч вызывала некроз последних, в то время как на фибробласты вирус влияния не оказывает [5, 7]. В биоптатном материале сердца в острый период заболевания определяется лимфоцитарная инфильтрация, а методом полимеразной цепной реакции более чем в 70% случаев выявляется вирусная РНК.

Развитие вирусных инфекций в организме имеет свои особенности. С одной стороны, энтеровирус как антигенный раздражитель стимулирует развитие иммунной реактивности, с другой, как внутриклеточный паразит подавляет функциональную активность иммунокомпетентных клеток и превращает их в мишень для действия цитотоксических клеток [6].

Причины распространения инфекции при энтеровирусном менингите остаются не ясны. Некоторые авторы основное значение в элиминации энтеровирусов отводят гуморальному иммунитету. Так, на практически здоровых волонтерах проводились исследования по пероральному и назофарингиальному заражению высокими дозами вируса Коксаки А-21.

Выяснилось, что через 7-10 дней от начала эксперимента вирус обнаруживался в экскретах всех людей с исходно низкими титрами антител и только у 45% обследованных — с повы-

ТАБЛИЦА 1

Т-лимфоциты крови и их субпопуляции у больных с серозным менингитом (M±m)

Группы пациентов	Количество клеток, %			
	CD3+	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+per
1 группа — практически здоровые лица (30 чел.)	72,9±3,97	42,3±4,17	25,6±2,24	4,2±1,14
2 группа — 20 пациентов-вирусоносителей	72,4±3,89	42,1±4,27	24,4±2,39	4,2±1,19
3 группа — 31 больных с менингитом легкой или среднетяжелой формы	68,9±4,15	41,1±4,03	22,4±2,46	4,5±1,23
4 группа — 30 больных с менингитом тяжелой формы	65,7±3,98	38,3±3,98	20,2±2,06	4,7±1,47
5 группа — 24 больных с менингитом, у которых был выявлен миокардит	70,7±4,11	38,7±3,74	27,9±3,02	2,1±0,49*

Примечание: * $P < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с показателями контрольной группы.

шенными титрами. В части случаев при низких уровнях антител отмечалось развитие инфекционного процесса, сопровождавшегося соответствующим клиническим симптомокомплексом [6, 8]. По всей вероятности, антитела, оказывая протективное действие, препятствовали развитию инфекции в организме. При экспериментальном миокардите, вызванном вирусом Коксаки, введение животным гамма-интерферона (IFN- γ) или антител к IL-4 вызывало усиление инфицирования вирусом лимфоцитов CD4+ и развитие тяжелого миокардита [6, 9].

Другие авторы основное значение в защите от энтеровирусов отводят функции клеточного иммунитета [6]. Имеются данные, что вирусы Коксаки В3 и В5 препятствуют экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) I типа на антигенпредставляющих клетках и, таким образом, угнетают клеточный иммунный ответ. Вместе с тем относительно реакции иммунной системы при энтеровирусном серозном менингите нет единой точки зрения. Показана как активация клеточного иммунитета, так и преимущественно гуморального [6, 8].

Целью исследования изучить особенности изменения функции иммунной системы у больных серозным менингитом и менингитом в сочетании с миокардитом, вызванными вирусами Коксаки В3 и В5.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было обследовано 30 практически здоровых доноров (1 группа), 29 вирусоносителей, у которых из назофарингиальной области или фекалий выделялись вирусы Коксаки В3 или В5 (2 группа) и 85 больных с серозным менингитом, вызванным теми же вирусами. Среди больных у 31 человека менингит протекал в легкой или среднетяжелой форме (3 группа), у 30 пациен-

тов наблюдалось тяжелое течение заболевания (4 группа), у 24 больных менингит сопровождался развитием миокардита (5 группа). Возраст обследованных составлял от 14 до 18 лет.

Определяли количество лимфоцитов CD3+ (Т-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-цитотоксические), провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ , противовоспалительных интерлейкинов IL-4 и IL-10, а также титры антител к вирусам Коксаки В3 и В5 и их avidность. Определение в крови субпопуляций лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD8+ проводили путем иммунофенотипирования клеток периферической крови методом лазерной проточной непрямой цитофлюориметрии с использованием набора моноклональных антител мыши к CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы) и CD8 (Т-цитотоксические) и F (aB')₂-фрагментов антител к иммуноглобулинам мыши, меченных флуоресцеинизо-тиоцианатом (ООО «Сорбент», Россия).

Определение титров антител к энтеровирусам проводили методом нейтрализации инфекционности [6]. Avidность антител исследовали по описанной ранее методике путем определения титров противовирусных антител в реакции непрямой иммунофлуоресценции до и после обработки исследуемых образцов различными концентрациями тиоцианата аммония (15).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием компьютерной программы EXCEL. Вычисляли средние арифметические величины (M), средние квадратичные отклонения (m). Для оценки статистической значимости различий между соответствующими показателями вычисляли критерий Стьюдента. Достоверными считали значимость различий $P < 0,05$. Для определения связи между отдельными показателями был использован корреляционный анализ по Пирсону.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сначала было исследовано состояние клеточного иммунитета у больных с серозным вирусным менингитом и менингитом, осложненным вирусным миокардитом. Исследования были проведены через 10-12 дней после развития вирусного менингита. Было изучено количество лимфоцитов CD3+ (Т-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-цитотоксические) и содержание Т-регуляторных с маркерами CD4+/CD8+ (табл. 1).

В группе практически здоровых доноров (1 группа) общее количество CD3+ составило $72,9 \pm 3,97\%$. У больных менингитом 3 и 4 групп и при осложненной форме инфекции (5 группа) общее количество CD3+ было снижено по сравнению с группами здоровых доноров и вирусносителей до $65,7-70,7\%$. Во всех группах пациентов с серозным менингитом отмечалось снижение численности субпопуляций CD4+ и CD8+, в особенности CD8+ клеток. У больных 5 группы (с менингитом в сочетании с миокардитом) выявлялось повышение количества Т-клеток цитотоксических по сравнению с контролем.

Чтобы выяснить причину количественных изменений в субпопуляционном составе Т-лимфоцитов, мы исследовали регуляторные клетки с маркерами CD4+/CD8+ (Т рег.). Ранее считалось, что супрессорной активностью обладают преимущественно CD8+ Т-лимфоциты. В последнее время считается доказанным, что основная роль в регуляции иммунного ответа принадлежит клеткам CD4+CD8+ субпопуляций. В клетках последних содержатся перфорины и гранзимы, посредством которых Трег. могут при непосредственном контакте оказывать цитотоксический эффект на эффекторные Т-лимфоциты CD8+ и CD4+ (феномен контактной супрессии). Кроме того, CD4+/CD25+ Т рег.-клетки секретируют противовоспалительный цитокин ИЛ-10. Антитела к ИЛ-10 отменяют супрессивный эффект этих клеток.

При исследовании клеток CD4+/CD8+ Т рег. (табл. 1) выяснилось, что их количество при серозном менингите нарастало пропорционально тяжести заболевания. В контрольной группе число CD4+/CD8+ составляло $4,2 \pm 1,14\%$, у больных 3 и 4 групп — $4,5 \pm 1,23\%$ и $4,7 \pm 1,47\%$ соответственно. У больных 5 группы с сочетанной патологией количество Т рег. было в 2 раза ниже по сравнению с практически здоровыми донорами. Известно, что снижение количества Т рег. характерно для иммунопатологических состояний и аутоиммунных заболеваний.

Для установления этиологической роли энтеровирусов при энтеровирусном серозном менингите решающее значение придают серологическим исследованиям и при возрастании титров антител результат рассматривают как положительный. У всех обследованных больных было установлено повышение титров нейтрализующих антител в динамике по сравнению с первичным обследованием не менее чем в 4 раза, что свидетельствовало о наличии активной инфекции в организме.

Изучены титры антител у обследованных нами больных при повторном обследовании. Как видно из приведенных данных, титры антител у всех групп больных значительно превышали данный показатель практически здоровых доноров (1 группа) и вирусносителей (2 группа). При этом наиболее высокие уровни антител обнаруживались у больных 4 группы. Если уровень антител здоровых составлял $-\log_2 2,6 \pm 0,27$, а у больных 3 группы с легким и среднетяжелым течением серозного менингита $-\log_2 8,3 \pm 0,64$, то у больных 4 группы уровень антител составлял $-\log_2 9,6 \pm 0,85$. У пациентов с комбинированным поражением мозговых оболочек и миокарда (5 группа), несмотря на наиболее высокую антигенную нагрузку, титры антител были ниже, чем у больных IV группы ($-\log_2 8,5 \pm 0,73$). Это могло быть связано с преимущественной стимуляцией Т-клеточного звена иммунитета и снижением активности Th2.

Важную информацию дает анализ сыворотки крови пациента на авидность (или так называемую «функциональную аффинность») IgG-антител, образующихся в организме в ответ на проникновение возбудителя. Мы провели определение авидности антител в сыворотке крови у вирусносителей и больных менингитом (табл. 2). Исследования выявили значительные различия этого показателя у отдельных групп обследованных. Наиболее вы-

ТАБЛИЦА 2

Авидность IgG- антител у больных энтеровирусным серозным менингитом

Группы пациентов	Авидность IgG-антител (у.ед.)
2 группа	$836,7 \pm 65,12$
3 группа	$267,2 \pm 31,43$ *
4 группа	$125,6 \pm 19,57$ **
5 группа	$59,4 \pm 6,15$ ***

Примечание: значимость различий $P < 0,05$: * — по сравнению с группой носителей; ** — по сравнению с больными 3 группы; *** — по сравнению с 4 группой больных.

сокие значения avidности антител определены у бессимптомных носителей энтеровирусов ($836,7 \pm 65,12$ у.ед.).

У больных менингитом avidность антител к соответствующим вирусам была ниже по сравнению с группой носителей. При легкой и средней тяжести течения серозного менингита (3 группа) и тяжелом течении заболевания (4 группа) avidность антител оказалась снижена до $267,2 \pm 31,43$ у.ед. и $125,6 \pm 19,57$ у.ед. соответственно. Наименее avidные антитела ($59,4 \pm 6,15$ у.ед.) выявлены в 5 группе пациентов.

Известно, что на avidность антител, помимо сроков инфицирования, влияет доза антигена, его качественные характеристики, а также индивидуальный уровень мутаций. Низкие дозы антигена приводят к более быстрому возрастанию avidности, высокие дозы — к замедленному. Надо полагать, что у 5 группы больных с сочетанной энтеровирусной патологией уровень вирусной нагрузки был выше по сравнению с больными 3 и 4 групп. Отмечено снижение avidности антител при повышенной вирусной нагрузке. Важной причиной, вызывающей снижение avidности при серозном менингите, могла служить и способность вирусов колонизировать клетки белой крови человека, в частности лимфоциты. Показано, например, снижение avidности антител при инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, размножающегося в В-лимфоцитах.

К тому же отличительной особенностью энтеровирусов является выраженная генетическая вариабельность и изменчивость. Для них характерна гетерогенность популяций, высокая вероятность образования разнообразных мутантов и генетических рекомбинантов. Возможно, что вирусы, обуславливающие развитие миокардита, обладают повышенным уровнем мутагенной активности, что может отражаться на их антигенных свойствах и, соответственно, на avidности антител.

Не исключено, также, что вирусы Коксаки В3 и В5 либо их внутримолекулярные рекомбинанты проявляют свойства суперантигенов и, таким образом, стимулируют синтез поликлональных антител [3, 4]. Учитывая многофункциональное действие последних, снижение avidности антител считают проявлением иммунодефицита, что может поддерживать инфекционный процесс в организме.

ВЫВОДЫ

Результаты проведенного исследования показали, что у больных с серозным менингитом имеет место системный иммунный ответ на ин-

фекцию, характеризующийся активацией как Th1, так и Th2. У больных менингитом 3 и 4 групп преобладает активация иммунного ответа по Th2 типу, в то время как при менингите, осложненном миокардитом, — по Th1 типу. Гуморальный иммунный ответ характеризуется повышением титров антител к причинному вирусу, но снижением их avidности, что может препятствовать элиминации вируса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куприна Н.П. Рабочий протокол ведения больных энтеровирусными менингитами / Н.П.Куприна // Детские инфекции. — 2005. — №2. — С. 53-56.
2. Иванова О.Е. Наблюдение за циркуляцией неполиомиелитных энтеровирусов в Российской Федерации в 1999-2007 гг. / О.Е.Иванова, Т.П.Еремеева, А.Н.Лукашев и др. // Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П.Чумакова. — Т. XXV. — С. 11-23.
3. Бейкин Я.Б. Особенности иммунного статуса при Коксаки- и ЕСНО-менингитах у детей 3-6 лет / Я.Б.Бейкин, Н.Н.Сбитнева, Н.С.Субботина и др // Инфекционные болезни. — 2010. — №1. — С. 29-33.
4. Нартов П.В. Цитокиновый профиль у больных острыми менингитами бактериальной и вирусной этиологии / П.В.Нартов // Международный мед. журнал. — 2011. — №1. — С. 103-105.
5. Fairweather D. Viruses as adjuvants for autoimmunity: evidence from Cocksackievirus-induced myocarditis / D.Fairweather, S.Frisancho-Kiss, N.R.Rose // Rev. Med. Virol. — 2005. — №15. — P. 17-27.
6. Протасеня И.В. Энтеровирусная инфекция у детей (на примере Хабаровского края): Автореф. д.мед.н. — М., 2010. — 34 с.
7. Энтеровирусные заболевания: клиника, лабораторная диагностика, эпидемиология, профилактика: метод. указания. — МУ 3.1.1.2130-06. — 2006. — 124 с.
8. Baboonian C. Meta-analysis of the association of enteroviruses with human heart disease / C.Baboonian, T.Treasure // Heart. — 1997. — №78. — P. 539-543.
9. Huber S.A. Enteroviruses and myocarditis: Viral pathogenesis through replication, cytokine induction and immunopathogenicity / S.A.Huber, C.J.Gauntt, P.Sakkinen // Adv Virus Res. — 1998. — Vol. 51. — P. 35-80.
10. Martino T.A. The coxsackie-adenovirus receptor (CAR) is used by reference strains and clinical isolates representing all six serotypes of coxsackievirus group B, and by swine vesicular disease virus / T.A.Martino, M.Petric, H.Weingartl et al. // Virology. — 2000. — Vol. 271. — P. 99-108.
11. Choe S.S. Inhibition of cellular protein secretion by picornaviral 3A proteins / S.S.Cho, D.A.Dodd, K.Kirkegaard // Virology. — 2005. — №337. — P. 18-29.
12. Dodd D.A. Poliovirus 3A protein limits interleukin-6 (IL-6), IL-8, and beta interferon secretion during viral infection / D.A.Dodd, T.H.Giddings, K.Kirkegaard // J.Virol. — 2001. — №75. — P. 8158-8165.

А.А.Новрузова, З.О.Караєв. Стан імунної системи у хворих на серозний менингіт та менингіт, пов'язаний з міокардитом, що викликані вірусами Коксакі В3 і В5. Баку, Азербайджан.

Ключові слова: серозний менингіт, міокардит, віруси Коксакі В3 і В5, імунна відповідь за Th1 і Th2 типом, авідність.

Метою дослідження було вивчити стан імунної системи у пацієнтів на серозний менингіт та менингіт, пов'язаний з міокардитом, що викликані вірусами Коксакі В3 і В5. Вік хворих — 14-18 років. Виявлено, що у пацієнтів ьз серозним менингітом формується системна імунна відповідь, яка характеризується активацією як Th1, так і Th2 лімфоцитів. У пацієнтів з менингітом переважає активація імунної відповіді Th2 типу, тоді як у пацієнтів з менингітом, ускладненим міокардитом, — Th1 типу. Гуморальна імунна відповідь характеризується збільшенням титрів антитіл до первинних агентів, але зменшенням їх авідності.

A.A.Novruzova, Z.O.Karayev. The state of immune system of patients with serous meningitis and meningitis, associated with myocarditis, caused by Cocksackie B₃ and B₅ viruses. Baku, Azerbaijan.

Key words: serous meningitis, myocarditis, Cocksackie B₃ and B₅ viruses, Th1 and Th2 type's immune responses, avidity.

The aim of investigation was to study the state of immune system in patients with serous meningitides and meningitides associated with myocarditis caused by Cocksackie viruses B₃ and B₅. With this aim totally 85 patients with meningitides and practicality healthy donors sat the age of 14-18 years were introduced into investigation by using complex. A clinic-immunological method the results of study were revealed, that in patients with serous meningitides is formed systemic immune response, characterized with activation both Th1 and Th2 lymphocytes. In patients with meningitides predominate the activation of immune response in Th2 type, whereas in patients with meningitides, complicated with myocarditis — Th1 type. Humoral immune response was characterized the increasing titers of antibodies to causal antigen, but decreasing their avidity, that can prevent the elimination of virus.

Надійшла до редакції 19.11.2012 р.