

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ В ЛИКВОРЕ И КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АРАХНОЭНЦЕФАЛИТОМ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Е.Л. Панасюк, В.И. Матяш, О.А. Ярош, А.А. Карловский

Резюме: В статье представлены результаты исследования уровней цитокинов в ликворе и крови у 26 пациентов с диагнозом арахноэнцефалит герпесвирусной этиологии. Выявлен дисбаланс между содержанием про- и противовоспалительных цитокинов. Выявлены корреляции между уровнем цитокинов этиологическим фактором, тяжестью течения и длительностью болезни.

Ключевые слова: про- и противовоспалительные цитокины, арахноэнцефалит, герпесвирусы, нервная система.

Нейроинфекции – чрезвычайно гетерогенная группа распространенных заболеваний центральной и периферической нервной системы инфекционной этиологии, характеризующихся, как правило, тяжелым течением, высокой летальностью и стойкой инвалидизацией [3].

С каждым годом увеличивается доля микст-нейроинфекций (до 20–25%) в структуре инфекционной патологии ЦНС, особенно вирусно-вирусных. По нашим предварительным данным среди вирусных микст-инфекций доминирует ассоциированная герпесвирусная инфекция (до 70%), особенно сочетание HSV+EBV. При анализе нозологических форм поражения ЦНС у пациентов с нейроинфекцией было установлено, что такая клиническая форма, как арахноэнцефалит (АЭ) встречается наиболее часто и составляет около 30%. Течение вирусного АЭ зачастую принимает хронический рецидивирующий характер, несмотря на проведенную противовирусную терапию. По нашему мнению в острый период и период обострения АЭ необходимо исследовать не только этиологические агенты, которые вызывают данный патологический процесс, но и степень церебральных воспалительных реакций с целью адекватной коррекции этиотропной, патогенетической и противорецидивной терапии. Общеизвестно, что классическим показателем, отражающим степень и характер инфекционных воспалительных изменений в ЦНС, является цитоз в ликворе, но как показал наш клинический опыт, даже при наличии выраженного общемозгового синдрома, активной очаговой неврологической симптоматики типичных клеточных воспалительных изменений при АЭ в ликворе может и не быть. В связи с этим в качестве дополнительных маркеров воспалительного процесса АЭ мы выбрали цитокины. Цитокины, представляющие собой группу полипептидов или белковых медиаторов, участвуют в

формировании и регуляции воспаления и иммунного ответа, являются первичными координаторами воспалительного процесса, определяющими направленность иммунного ответа [1, 2, 3]. Иммунная система наряду с центральной нервной системой является одной из важнейших интегрирующих систем, ответственных за поддержание гомеостаза и жизнеспособности организма. Наличие цитокинов в ликворе обусловлено секрецией периваскулярными макрофагами мозга, астроцитами, тканевыми базофилами, клетками микроглии, олигодендроцитами, а также переходом из сыворотки крови при увеличенной проницаемости ГЭБ [4, 5]. Цитокины обладают плейотропным действием, однако некоторые из них (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) преимущественно способствуют развитию воспалительных реакций (провоспалительные цитокины), тогда как другие (ИЛ-4, ИЛ-10) – ингибируют воспаление (противовоспалительные цитокины). Многими авторами предложено их использование в неврологии и нейрохирургии в качестве раннего маркера воспаления и индуктора реакций острой фазы воспаления, скринингового показателя для людей, имеющих воспалительные изменения со стороны ЦНС. Вместе с тем, до настоящего времени практически не исследовано содержание про- и противовоспалительных цитокинов в ликворе и крови пациентов с АЭ герпесвирусной этиологией.

Целью являлось исследование уровней и направленности регуляторного действия цитокинов в крови и ликворе пациентов с АЭ герпесвирусной этиологии

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 26 пациентов с диагнозом АЭ, которые находились на лечении и обследовании в отделении интенсивной терапии и детоксикации. Диагноз устанавливался согласно современным классификациям болезней на основании данных анамнеза, результатов клинического, инструментального и лабораторного обследований. Лабораторная часть исследования проводилась на базе клинической лаборатории ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины».

Определение содержания цитокинов (а- и g-ИНФ, ФНО-а, ИЛ-1 β , ИЛ-10, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-4) в сыворотке крови и ликворе проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа («сэндвич»-метод) с использованием реагентов ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия. За условную норму был принят уровень цитокинов по данным тест-системы производителя. Сыворотку крови и ликвор хранили в холодильнике при температуре -20°C . В день исследования образцы сыворотки крови и ликвора размораживали при комнатной температуре. Концентрации цитокинов выражали в пг/мл. Забор материала (кровь и ликвор) производили в

момент поступления пациента в стационар до начала терапии. Оценку цитоза и дифференциальный подсчет лейкоцитов проводили при стандартном клиническом анализе ликвора.

Исследование этиологии заболевания проводилось в клинико-диагностической лаборатории ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», лаборатории «Украинского диагностического центра и «ДНК-лаборатории», лаборатории молекулярной биохимии, отделе нейроиммунологии ГУ «Институт нейрохирургии им. А.П. Ромоданова НАМН Украины». Применялись ПЦР для обнаружения ДНК 8 клинически значимых типов ГВ (HSV1/2, CMV, EBV, VZV, HHV6, HHV8) и ИФА (HSV IgG, IgM; CMV IgG, IgM; EBV IgG, IgM; HHV6 IgG; HHV7 IgG; HHV8 IgG) в ликворе и крови. В зависимости от этиологического фактора все пациенты были разделены на две группы: первая группа (18 человек), у которых был выявлен один тип герпесвирусов (моноинфекция), вторая группа (8 человек) – у которых выявлено было одновременно несколько типов герпесвирусов (микстинфекция). При более детальном рассмотрении этиологии заболевания у пациентов с моноинфекцией в 7 случаях выявлен HSV, 5 – EBV, 3 – CMV, по одному случаю – HHV6, HHV7, HHV8. У 5 пациентов с микстинфекцией выявлено сочетание HSV+EBV, по одному случаю HSV1/2+CMV, EBV+ HHV6, HSV1/2+ HHV7.

Статистический анализ клинических данных производился с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 (Stat. Soft, Inc., США) в соответствии с рекомендациями (Реброва О.Ю., 2006).

Результаты исследования и их обсуждение

У пациентов с моно-инфекцией герпесвирусной этиологии при поступлении в стационар в сыворотки крови было выявлено снижение уровня g-ИФН – (1,4±0,3) пг/мл, ИЛ-4 – (10,0±2,1) пг/мл по сравнению со средними нормальными значениями. Параллельно отмечено у всех пациентов повышение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1β – до (19,0±3,5) пг/мл, ИЛ-6 – (29,0±7,2) пг/мл, ФНО-α – до (18,0±4,2) пг/мл, ИЛ-2 – (15,0±4,5) пг/мл, что свидетельствовало об активации противoinфекционной защиты, с развитием воспалительных реакций. У пациентов с микст-инфекцией в целом наблюдалась та же тенденция, но в отличие от первой группы, выявлен более глубокий цитокиновый дисбаланс. Так, уровень α-ИФН достигал уровня (20,0±3,4) пг/мл, при повышении ИЛ-1β (24,0±4,1 пг/мл), ИЛ-6 (54,0±4,2 пг/мл), ФНО-α (26,0±3,7) пг/мл. Выявлена умеренная корреляция (по методу Спирмена, $r=0,21$, $p=0,001$) между уровнем цитокинов и этиологическим агентом. Так, у пациентов с моно-

инфекцией более значительное повышение ФНО-а, ИЛ-1 β , ИЛ-6 наблюдалось при EBV- и HHV6-инфекции, у пациентов с микст-инфекцией – ИЛ-1 β , ИЛ-6 при HSV+EBV-инфекции. У пациентов с хроническим рецидивирующим течением АЭ с длительностью болезни более 3 лет выявлено более значительное ($p < 0,05$) повышение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови (до 76 пг/мл, $p < 0,05$), снижение уровня а-ИНФ – до $(8,0 \pm 1,1)$ пг/мл и ИЛ-4 – до $(5,0 \pm 1,2)$ пг/мл по сравнению с больными с острым течением и длительностью болезни до 1 года. Сопоставление уровней отдельных цитокинов между собой выявило наличие отрицательной корреляции (метод Спирмена, $r = -0,32$, $p = 0,03$) между содержанием ИЛ-10 и г-ИНФ. В случаях, где было выявлено повышение уровня ИЛ-10 – до $(42,5 \pm 3,1)$ пг/мл – параллельно наблюдались и наиболее низкие значения г-ИНФ – $(1,1 \pm 0,4)$ пг/мл. Повышение уровня провоспалительных цитокинов у пациентов с АЭ можно объяснить, с одной стороны, как компенсаторный механизм, направленный на стимуляцию противовирусного ответа, с другой стороны – рост провоспалительных цитокинов при стабильно сниженном уровне ИЛ-4, а-ИНФ может свидетельствовать о глубоких нарушениях адаптивного иммунитета и угрозе развития хронического прогрессивного течения нейроинфекции. При исследовании цитокинов в ликворе были выявлены сходные однонаправленные тенденции. Превалировало повышение уровня провоспалительных цитокинов, вместе с тем, следует отметить, что уровень некоторых цитокинов в ликворе был ниже, чем в сыворотке крови. Так, у пациентов первой группы с тяжелым течением было отмечено более значительное повышение ФНО-а – до $(23,0 \pm 2,4)$ пкг/м, ИЛ-1 β – $(24,0 \pm 2,1)$ пкг/мл, ИЛ-6 – $(48,0 \pm 4,5)$ пг/мл, на фоне сниженного уровня ИЛ-4 – $(4,0 \pm 1,2)$ пг/мл. У пациентов второй группы, также доминировали провоспалительные цитокины: ФНО-а – до $(28,0 \pm 2,7)$ пкг/м, ИЛ-1 β – $(25,6 \pm 2,1)$ пкг/мл, ИЛ-6 – $(54,0 \pm 5,1)$ пг/мл, ИЛ-2 – $(11,0 \pm 1,1)$ пг/мл, но статистически значимые отличия между группами были выявлены только по уровню ФНО-а и ИЛ-6.

Была выявлена умеренная корреляция (метод Спирмена, $r = 0,25$, $p = 0,001$) между тяжестью заболевания и уровнем провоспалительных цитокинов в ликворе. В частности, а-ФНО у некоторых пациентов в острый период заболевания в 1,2 раза превысил условную норму, уровень ИЛ-1 β был в 1,3 раза выше, а содержание ИЛ-6 – в 1,8 раза выше условной нормы. Вероятно, причиной этого явления служит активация фагоцитирующих клеток, в том числе и микроглии в ответ на повреждение мозга герпесвирусами. Необходимо отметить, что повышение уровня провоспалительных цитокинов у $(92,31 \pm 5,33)\%$ пациентов с АЭ наблюдалось на фоне нормальных цитологических показателей ликвора. В связи с чем, можно сделать вывод, что интрастекальный цитокиновый статус является более чувствительным и значимым маркером церебрального воспаления, особенно у пациентов с вирусными нейроинфекциями.

Сопоставление концентрации цитокинов со стандартными показателями ликвора выявило положительную корреляционную связь между концентрацией ИЛ-1 β и ИЛ-6 и уровнем общего белка ($r=0,45$, $p=0,01$), ИЛ-1 β ($r=0,6$, $p=0,038$), ИЛ-6 и положительными глобулиновыми реакциями.

Выводы:

1. У пациентов с АЭ герпесвирусной этиологии в острый период болезни или период обострения наблюдается нарастание уровня провоспалительных цитокинов (а-ФНО, ИЛ-1 β , ИЛ-6), что отражает общую ответную компенсаторную реакцию организма, сопровождающуюся развитием и интратекального воспаления, и активацией иммунных реакций в ответ на внедрение инфекционного агента в оболочку и ткань головного мозга.

2. Выявлены корреляции между уровнем цитокинов в сыворотке крови, ликворе и тяжестью болезни, этиологическим фактором, отдельными общеклиническими показателями ликвора.

3. Из провоспалительных цитокинов наиболее значимыми маркерами церебрального воспаления у пациентов АЭ являются ИЛ-6 и ФНО-а

Литература

1. Железникова, Г.Ф. Цитокины в диагностике и прогнозе течения инфекций / Г.Ф. Железникова // Нейроиммунология. – 2008. – Т. 6, № 3–4. – С. 4–1.

2. Кетлинский, С.А. Цитокины : монография / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб. : Фолиант, 2008. – 552 с

3. Нартов, П.В. Цитокиновый профиль у больных острыми менингитами бактериальной и вирусной этиологии / П.В.Нартов // Международный медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 103–105.

4. Скрипченко, Н.В. Цереброспинальная жидкость и перспективы ее изучения / Н.В. Скрипченко [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2011. – № 6. – С. 88–97.

5. Sprenger, H. Chemokines in the cerebrospinal fluid of patients with meningitis / H. Sprenger, A. Rosle, H.J. Braunr // Clin. Immunol.Immunopathol. – 1996.– Aug. – P. 155–161.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РІВНІВ ЦИТОКІНІВ У ЛІКВОРІ Й КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З АРАХНОЕНЦЕФАЛІТОМ ГЕРПЕСВІРУСНОЮ ЕТІОЛОГІЇ

О.Л. Панасюк, В.І. Матяш, О.О. Ярош, А.А. Карлівський

Резюме: У статті наведено результати досліджень рівнів цитокинів у лікворі й крові у 26 пацієнтів з діагнозом арахноенцефаліт герпесвірусної етіології. Виявлено дисбаланс між рівнями про- та протизапальних цитокинів. Визначені кореляції між рівнем цитокинів, етіологічним фактором, тяжкістю та тривалістю хвороби.

Ключові слова: про- та протизапальні цитокини, арахноенцефаліт, герпесвіруси, нервова система.

COMPARATIVE EVALUATION LEVEL OF CYTOKINES IN CEREBROSPINAL FLUID AND BLOOD IN PATIENTS WITH HERPESVIRAL ARACHNOENCEPHALITIS

E. Panasyuk, V. Matyash, A. Jarosh, A. Karlovsky

Summary. *Investigational results of cytokines levels in liquor and blood of 26 patients with Herpes virus arachnoencephalitis are shown in the article. Disbalance between levels of pro- and anti-inflammation cytokines is discovered. Correlations between levels of cytokines, etiological factor, grade and duration of disease are evaluated.*

Keywords: *pro- and anti-inflammation cytokines, arachnoencephalitis, Herpes viruses, nervous system.*

УДК 616-036.22+616.986.7(477)

ОКРЕМІ АСПЕКТИ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ЛЕПТОСПІРОЗУ НА ТЕРИТОРІЇ ТЕРНОПІЛЬСЬКОЇ ОБЛАСТІ В 2009–2013 РОКАХ

В.О. Паничев, Н.В. Цяпа, М.М. Павельсва,
Н.І. Годована, І.В. Кулачковська, С.В. Маціпура

Резюме: *У статті узагальнено епідеміологічні особливості лептоспірозу в Тернопільській області, проведено аналіз захворюваності лептоспірозом населення в 2009–2013 роках та описано умови, які сприяють поширенню інфекції в регіоні.*

Ключові слова : *лептоспіроз, ензоотична територія, захворюваність, чисельність мишовидних гризунів, циркуляція збудника.*

У Тернопільській області лептоспіроз являється однією з най розповсюдженіших природно-вогнищевих зооантропонозних інфекцій з вираженим епізоотологічним та епідеміологічним потенціалом.

Актуальність лептоспірозої інфекції обумовлена ензоотичністю територій, стабільно високим рівнем захворюваності, що перевищує загальнодержавний показник, існуванням пропорційної залежності рівнів захворюваності людей та чисельності, інфікованості мишовидних гризунів, незадовільним проведенням дератизаційних заходів.

Мета: встановити зв'язок між рівнем захворюваності лептоспірозом населення області, чисельністю популяції мишовидних гризунів, циркуляцією збудників серед них та сприятливими клімато-географічними умовами регіону.

Матеріали та методи

Ретроспективний епідеміологічний аналіз захворюваності лептоспірозом населення області за 2009–2013 роки, дані чисельності та інфікова-