

Н.С. Миноранская¹, П.В. Сарап², Е.И. Миноранская¹

¹ Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

² Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н.С. Карповича, Российская Федерация

Механизмы иммуноцитокиновой регуляции в патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов

Цель исследования: установить механизмы иммуноцитокиновой регуляции при различных клинических формах иксодовых клещевых боррелиозов. **Методы:** клинические наблюдения выполнены на 581 пациенте с эритемной ($n=113$), безэритемной ($n=242$) формой иксодового клещевого боррелиоза и сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекцией ($n=226$) в манифестацию заболевания. Обследование включало определение концентрации цитокинов (интерлейкина 1β , 4, 8 и фактора некроза опухоли α), показателей клеточного звена иммунной системы ($CD3+$, $CD4+$, $CD8+$) и фагоцитоза (фагоцитарного индекса, числа фагоцитирующих нейтрофилов) в период разгара заболевания и период реконвалесценции. **Результаты:** установлены корреляции между продукцией цитокинов, субпопуляциями лимфоцитов и показателями фагоцитоза. Показаны разнонаправленные иммуноопосредованные механизмы патогенеза в зависимости от клинических форм иксодового клещевого боррелиоза и периода заболевания, свидетельствующие о сложности и многогранности перестроек иммунной системы. Цитокиновая регуляция иммунного ответа в основном заключается в синтезе хемоаттрактанта интерлейкина 8, продукция которого обратно коррелирует с числом фагоцитирующих нейтрофилов ($r=-0,440$, $p<0,001$) при эритемной форме болезни, прямо коррелирует с концентрацией интерлейкина 4 ($r=0,313$, $p<0,001$) при безэритемной форме боррелиоза, с продукцией интерлейкина 1β ($r=0,367$, $p<0,001$) и интерлейкина 4 ($r=0,348$, $p<0,001$) — при сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекции. **Заключение:** в манифестацию острой боррелиозной инфекции вне зависимости от клинической формы был характерен T_H1/T_H2 тип иммунного ответа с последующим переключением в период реконвалесценции на T_H1 (клеточный) иммунный ответ при эритемной форме иксодового клещевого боррелиоза и сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекции, а T_H2 (гуморальный) иммунный ответ — при безэритемной форме заболевания.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, цитокиновая регуляция, иммунный ответ. (Вестник РАМН. 2014; 9–10: 110–116)

110

Обоснование

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) представляют собой группу этиологически сходных природно-очаговых трансмиссивных заболеваний, характеризующихся полиморфизмом клинической симптоматики

и склонностью к затяжному хроническому течению [1, 2]. Экспоненциальный рост исследований патогенеза заболевания расширил представления о заинтересованности иммунной системы в развитии клинических форм ИКБ, однако до настоящего времени остается открытым вопрос о клинико-иммунологических особенностях те-

N.S. Mynoranskaya¹, P.V. Sarap², E.I. Mynoranskaya¹

¹ Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation

² Karpovich Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Emergency Hospital, Russian Federation

Mechanisms of Immune and Cytokine Regulation in Pathogenesis of Ixodes Tick-Borne Borreliosis

Background: Our aim was to identify the mechanisms of immune and cytokine regulation in different clinical forms of Ixodes tick-borne borreliosis. **Methods:** The clinical observations performed on 581 patients with erythemic (113 patients), non-erythemic (242 patients) forms of Ixodes tick-borne borreliosis and Borrelia co-infection tick-borne encephalitis (226 patients) in the manifestation of the disease. The examination included the determination of the levels of cytokines (interleukin 1β , 4, 8, and tumor necrosis factor α), indicators of cell immunity ($CD3+$, $CD4+$, $CD8+$) and phagocytosis (phagocytic index, the number of phagocytic neutrophils) during the height of the disease and during convalescence. **Results:** We established the correlations of cytokine production, lymphocyte subpopulations and phagocytosis. Revealed divergent immune-mediated mechanisms of pathogenesis, depending on the clinical forms of Ixodes tick-borne borreliosis and period of the disease, indicating the complexity and diversity of the immune system rearrangements. Cytokine regulation of immune response, mainly consists in the synthesis of the chemoattractant interleukin 8 production which is inversely correlated with the number of phagocytic neutrophils ($r=-0,440$, $p<0,001$) with erythemic form of the disease, is directly correlated with the level of interleukin 4 ($r=0,313$, $p<0,001$) at non-erythemic form borreliosis, with the production of interleukin 1β ($r=0,367$, $p<0,001$) and interleukin 4 ($r=0,348$, $p<0,001$) in Borrelia co-infection tick-borne encephalitis. **Conclusion:** In the manifestation of acute Borrelia infection, regardless of the clinical form was typical Th_1/Th_2 type of immune response and then switches to the period of convalescence for Th_1 (cellular) immune response in the form of erythemic Ixodes tick-borne borreliosis and Borrelia co-encephalitic tick-borne infection, and Th_2 (humoral) immune response when non-erythemic form of the disease.

Key words: Ixodes tick-borne borreliosis, cytokine regulation of immune response.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 9–10: 110–116)

чения безэритемных форм и сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекции, трудности диагностики которых сопряжены с невозможностью дифференцированного подхода к тем или иным клиническим проявлениям болезни [1, 3].

Роль иммунной системы неоспорима в патогенезе ИКБ. В последние годы имеет место повышенный интерес к изучению функций цитокинов в формировании и регуляции защитно-приспособительных реакций организма при инфекционных процессах [4–6]. Начальные фазы иммунного ответа на боррелиозную инфекцию протекают с высвобождением провоспалительных цитокинов. Фазность цитокиновой регуляции проявляется закономерным компенсаторным увеличением продукции противовоспалительных цитокинов, способствующих купированию воспалительных процессов [4, 7]. Активность синтеза цитокинов, экспрессии рецепторов к ним на клетках-мишенях определяют характер течения заболевания [6, 7]. Сложность иммунопатогенетических механизмов и многогранность путей их регуляции до настоящего времени не позволяют составить целостное восприятие ключевых факторов, определяющих развитие тех или иных клинических форм ИКБ. Имеющиеся сведения об иммунопатогенезе различных клинических форм ИКБ и его сочетанного течения с клещевым энцефалитом (КЭ) весьма противоречивы. Ряд исследований свидетельствует о преобладании T_{H2} (гуморального) типа иммунного ответа при остром течении заболевания [8–11]. В то же время существуют доказательства значимого участия в иммунопатогенезе T_{H1} (клеточного) типа иммунного ответа, в результате которого происходит непосредственное стимулирующее действие на фагоцитоз и цитотоксические лимфоциты [4, 12–14].

Целью настоящего исследования было определить механизмы иммуноцитоклиновой регуляции при различных клинических формах исходных клещевых боррелиозов.

Методы

Исследование проводилось методом репрезентативной выборки из числа пациентов с различными клиническими формами ИКБ, госпитализированных в острый период заболевания.

Дизайн исследования

В работе применена общенаучная методология, основанная на системном подходе с применением формально-логических, общенаучных и специфических методов. Исследование представляет собой когортный проспективный анализ течения клинических форм ИКБ с применением методов эмпирического уровня с последующим математическим процессингом данных, на основе которых установлены факты, послужившие основанием для выдвижения гипотезы о клинко-иммунологических параллелях в патогенезе ИКБ, и построения теоретических предпосылок возможности определения ведущих патогенетических механизмов развития заболевания.

Работа выполнена в дизайне сравнительного когортного открытого контролируемого исследования с применением клинических, иммунологических, лабораторных, статистических методов. Использованы методы описательной, сравнительной и аналитической статистики с определением выраженности взаимосвязей изучаемых факторов.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование являлись:

- возраст от 18 до 65 лет;
- наличие в сыворотке крови специфических антител к *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s. l.);
- наличие в сыворотке крови специфических антител к вирусу КЭ;
- наличие патогномичной мигрирующей эритемы после присасывания клеща при отсутствии в сыворотке крови специфических антител к *B. burgdorferi* s. l. Критериями невключения были:
- другие клещевые инфекции (моноцитарный эрлихиоз человека, гранулоцитарный анаплазмоз человека, клещевой риккетсиоз);
- соматические синдромосходные заболевания в анамнезе, способные повлиять на чистоту эксперимента (сахарный диабет и другие эндокринные заболевания, онкологические заболевания, нарушения ритма сердца и сердечной проводимости, гипертоническая болезнь III ст., дерматологические, аутоиммунные заболевания);
- наличие сопутствующей патологии центральной нервной системы;
- сочетание с другими острыми и хроническими инфекционными заболеваниями.

К критериям исключения из исследования отнесены: отказ пациента, беременность, лактация.

111

Условия проведения

Клинко-лабораторное обследование пациентов проводилось в течение 6 эпидемических сезонов (2007–2012 гг.) в условиях инфекционного стационара при КГБУ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н. С. Карповича», являющегося клинической базой кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого. Результаты исследования учитывали при поступлении в стационар (D_0) в период разгара заболевания, и на 21–25-й день болезни (D_{21-25}) в период ранней реконвалесценции.

Исходы исследования

В результате исследования на основе изучения особенностей корреляционных взаимосвязей продукции цитокинов и показателей иммунного статуса выявлены механизмы цитокиновой регуляции иммунного ответа в манифестацию различных клинических форм ИКБ. Совокупность полученных результатов настоящего исследования существенно расширяет и дополняет имеющиеся представления об иммуноопосредованных механизмах патогенеза заболевания.

При эритемной форме ИКБ в период разгара заболевания цитокиновая регуляция иммунного ответа заключалась в усиленном синтезе интерлейкина (ИЛ) 1 β , обуславливающим повышенную продукцию ИЛ 4, дефицит CD3+ лимфоцитов и угнетение продукции ИЛ 8, а провоспалительное влияние фактора некроза опухоли (ФНО) α сопровождалось увеличением числа цитотоксических CD8+ лимфоцитов. К периоду реконвалесценции напряженность функционирования иммунной системы снижалась: сохраняющийся повышенным синтез ИЛ 1 β , напротив, обуславливал увеличение числа CD3+ лимфоцитов. На фоне сохраняющейся высокой концентрации ФНО α , обладающего проапоптотическим действием, снижался уровень ИЛ 4.

При безэритемной форме заболевания в период разгара выявлено два механизма иммунорегуляции. Первый

механизм заключается в синергичном действии ИЛ 1β и ФНО α, усиливающих продукцию ИЛ 4 — активатора гуморального иммунитета. Вторым механизмом характеризуется снижением количества CD4+ лимфоцитов и продукции ИЛ 8, что свидетельствует об угнетении хемотаксиса. В период реконвалесценции сохраняющаяся повышенная продукция ИЛ 4 сопровождается увеличением синтеза ИЛ 8 на фоне снижения содержания цитотоксических CD8+ лимфоцитов.

При сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекции в период разгара заболевания установлена повышенная продукция ИЛ 1β, ИЛ 8, ФНО α и ИЛ 4, сопровождавшаяся увеличением числа CD8+ лимфоцитов, что свидетельствует о напряженности как клеточного, так и гуморального звена иммунитета. В период реконвалесценции повышение потенциала клеточного звена иммунитета характеризуется увеличением пула CD3+ и CD4+ лимфоцитов на фоне усиленной продукции ИЛ 1β и ФНО α. При повышенном синтезе ИЛ 8 уменьшается продукция ИЛ 4, что свидетельствует о снижении функциональной нагрузки на гуморальное звено иммунитета при возрастании роли хемотаксиса и местных воспалительных реакций в патогенезе заболевания.

112 Методы регистрации исходов

Заболевание диагностировали на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждали выявлением в сыворотке крови специфических иммуноглобулинов классов М и G к возбудителям комплекса *B. burgdorferi s. l.* и вирусу КЭ методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Оценивали содержание цитокинов (ИЛ 1β, 4, 8 и ФНО α) в крови в период разгара болезни (D₀) и через 3 нед, в период реконвалесценции (D_{21–25}). Исследуемые цитокины определяли методом ИФА с применением реагентов моноклональных антител ЗАО «Вектор-Бест». Согласно инструкциям к наборам реагентов для определения уровня исследуемых цитокинов, референсными значениями считали для ИЛ 1β — до 5 пг/мл, для ИЛ 4 — до 6 пг/мл, для ИЛ 8 — до 62 пг/мл, для ФНО α — до 8,21 пг/мл.

Для оценки иммунного статуса наблюдаемых пациентов изучали клеточное и фагоцитарное звено иммунной системы. Периодичность исследования иммунного статуса была идентична периодичности исследования цитокинов. Уровень CD3+, CD4+, CD8+ определяли методом иммунопреципитации в геле. Оценку фагоцитарной активности нейтрофилов проводили при помощи латекстеста с определением фагоцитарного индекса. Число фагоцитирующих нейтрофилов (ЧФН) рассчитывали по формуле:

$$\text{ЧФН} = (\text{Л} \times \text{ФИ} \times \text{СЯ}) / 10,$$

где Л — лейкоциты периферической крови, ФИ — фагоцитарный индекс, СЯ — сегментоядерные нейтрофилы периферической крови.

Этическая экспертиза

В соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации 2000 г., в результате проведения этической экспертизы локальным Этическим комитетом при КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого получено положительное решение на проведение данного исследования: «Исследование не противоречит этическим

нормам, выполнено с информированного согласия пациентов, направлено на защиту здоровья пациента и улучшение результатов диагностики ИКБ. В полном объеме соблюдаются права пациентов на самоопределение и конфиденциальность персональных данных пациентов. Деонтологической основой исследования является уважение к пациенту и защита его здоровья и прав. Врачебные решения принимаются в интересах пациента и улучшения его здоровья. Оценка безопасности, эффективности, адекватности клинических решений проводится ежедневно по мере осуществления лечебных мероприятий с целью своевременной их коррекции. Медицинские исследования соответствуют современным научным принципам и основываются на глубоком знании особенностей иммунопатогенеза ИКБ и результатов исследований, выполненных в достаточном объеме» (протокол № 51/2013 от 28.10.2013 г.).

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением пакета статистических программ STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Описательные статистики для количественных, нормально распределенных (W-критерий Шапиро–Уилка) данных представлены в виде средней ± ошибки средней (M±m). Количественные данные представлены в зависимости от характера распределения переменных в виде медианы (Me) и квартилей [Q25; Q75]. Для определения достоверности различий независимых выборок применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Для определения достоверности различий зависимых выборок (в периоды разгара и реконвалесценции) применяли T-критерий Вилкоксона. Описательные статистики для качественных признаков представлены абсолютными значениями и процентными долями. Сравнение групп проводили с использованием критерия χ². Силу и направленность связи признаков оценивали по г-критерию корреляционной зависимости Спирмена. Влияние одного или нескольких независимых факторов на зависимую переменную определяли при помощи F-критерия однофакторного дисперсионного анализа. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

Участники исследования

Клинико-лабораторные наблюдения выполнены на 581 пациенте с различными формами ИКБ. В соответствии с клинической классификацией Ю.В. Лобзина и соавт. (2000) [2], были сформированы три исследуемые группы. Первую (I) группу составили 113 (19,4%) пациентов с эритемной формой острого ИКБ, из них мужчин 54 (47,8%), женщин 59 (52,2%), средний возраст — 47,9±1,0 лет. Во вторую (II) группу вошли 242 (41,7%) пациента с безэритемной формой заболевания, из них мужчин 122 (50,4%), женщин 120 (49,6%), средний возраст — 44,8±0,9 лет. Третья (III) группа была представлена 226 (38,9%) пациентами с сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекцией, из них 129 (57,1%) мужчин и 97 (42,9%) женщин, средний возраст — 44,7±1,0 лет. Для сравнительной характеристики сформирована контрольная группа (K) здоровых доноров численностью 35 человек. Контрольная и исследуемые группы были сопоставимы по возрасту (F = 2,357; p = 0,096) и полу (χ² = 2,136; p = 0,344).

Основные результаты исследования

Динамические изменения показателей иммунного и цитокинового статуса представлены в табл. Выявлены дефекты клеточного звена иммунной системы у пациентов с различными клиническими формами ИКБ, характеризующиеся снижением экспрессии субпопуляций лимфоцитов в сочетании с перераспределением CD4+ клеток и CD8+ клеток в сторону уменьшения числа CD4+ клеток при сочетанном течении ИКБ с КЭ (III группа). Основными различиями показателей клеточного иммунитета у больных с безэритемной формой ИКБ (II группа) в сравнении с больными с эритемной формой заболевания (I группа) были сниженное процентное число CD3+ клеток ($p < 0,001$) в разгар заболевания и сниженное число цитотоксических CD8+ клеток ($p < 0,05$) в период реконвалесценции. Состоятельность фагоцитарного звена иммунной системы во многом предопределяло исход заболевания. В разгар эритемной формы ИКБ (I группа) отмечалось статистически значимое повышение ЧФН в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). В период реконвалесценции показатели фагоцитоза в I группе пациентов были сопоставимы с контролем. При эритемной форме ИКБ к периоду реконвалесценции отмечено

снижение ФИ ($p < 0,001$) и ЧФН ($p < 0,05$) относительно исходных значений в группе (см. табл.). Таким образом, можно предположить быструю активацию фагоцитоза при эритемной и микст-формах болезни и его несостоятельность при безэритемной форме ИКБ.

Результаты корреляционного анализа продемонстрировали наличие положительных и отрицательных взаимосвязей субпопуляций лимфоцитов, ЧФН и изучаемых цитокинов, имеющих важное значение в иммунопатогенезе различных клинических форм ИКБ. Необходимо отметить, что степень взаимосвязей между большинством показателей была слабой ($r = 0,0 \pm 0,299$). Как известно, сила корреляционных связей между показателями отражает напряженность адаптационных реакций организма [15]: чем выше тяжесть состояния пациента и чем в более жестких условиях организм вынужден поддерживать основные биологические процессы, тем ниже резервы функциональных систем и выше значения коэффициентов корреляции. В нашем случае адаптационные нагрузки у пациентов соответствовали стадии «спокойной активации» (индекс стресса по Л.Х. Гаркави в исследованных группах от $0,55 \pm 0,03$ до $0,71 \pm 0,02$) [16], что в целом свидетельствовало об умеренном уровне адаптационных

Таблица. Показатели иммунного и цитокинового статуса у обследованных пациентов при различных формах иксодового клещевого боррелиоза (Me [Q25; Q75])

| Показатели | Группа | D ₀ | D ₂₁₋₂₅ | p | p (D ₀ /D ₂₁₋₂₅) | | |
|------------------------|--------|---------------------------|---------------------------|--------|---|---------|----------|
| | | | | | (I-II) | (I-III) | (II-III) |
| CD3+, % | К | 62,9 [56,0; 68,0] | | — | | | |
| | I | 55,4 [36,0; 80,0] | 63,0 [45,0; 84,0] | <0,05 | <0,001 | <0,001 | <0,05 |
| | II | 36,1 [28,0; 42,0]** | 61,0 [42,0; 82,0] | <0,001 | >0,1 | <0,001 | <0,001 |
| | III | 33,2 [27,0; 38,0]** | 50,3 [34,0; 64,0]** | <0,001 | | | |
| CD4+, % | К | 38,0 [29,0; 46,0] | | — | | | |
| | I | 31,8 [20,0; 40,0]* | 38,4 [32,0; 46,0] | <0,001 | ≥0,1 | <0,001 | <0,001 |
| | II | 33,4 [26,0; 42,0] | 36,8 [29,0; 45,0] | <0,001 | >0,1 | <0,05 | >0,1 |
| | III | 23,8 [19,0; 28,0]** | 35,6 [28,0; 43,0] | <0,001 | | | |
| CD8+, % | К | 28,5 [26,0; 33,0] | | — | | | |
| | I | 25,4 [18,0; 32,0]* | 30,8 [22,0; 38,0] | <0,001 | ≥0,1 | <0,001 | <0,001 |
| | II | 25,5 [18,0; 32,0]* | 28,7 [22,0; 35,0] | <0,001 | <0,05 | <0,001 | <0,05 |
| | III | 20,8 [16,0; 25,0]** | 26,8 [20,0; 32,0] | <0,001 | | | |
| ЧФН, мкл ⁻¹ | К | 1680,9 [902,9; 2 265,5] | | — | | | |
| | I | 2454,2 [1349,8; 3123,9]* | 1873,0 [1049,2; 2477,5] | >0,1 | ≥0,1 | ≥0,05 | <0,05 |
| | II | 1904,3 [1038,5; 2342,5] | 2009,9 [1 162,9; 2 387,9] | >0,1 | >0,1 | <0,05 | <0,05 |
| | III | 2343,8 [1231,9; 2951,2]** | 1610,2 [903,6; 2 045,2] | >0,1 | | | |
| ИЛ 1β, пг/мл | К | 83,8 [48,8; 115,2] | | — | | | |
| | I | 651,3 [496,7; 758,5]** | 504,5 [345,5; 645,5]** | <0,05 | ≥0,1 | <0,05 | ≥0,05 |
| | II | 708,2 [452,2; 955,0]** | 385,6 [223,3; 522,5]** | <0,001 | <0,001 | <0,05 | <0,05 |
| | III | 764,1 [540,9; 966,2]** | 432,2 [244,5; 622,3]** | <0,001 | | | |
| ИЛ 4, пг/мл | К | 47,6 [31,5; 61,8] | | — | | | |
| | I | 72,1 [53,6; 83,2]** | 67,7 [47,7; 85,4]** | >0,1 | <0,05 | <0,001 | ≥0,05 |
| | II | 78,4 [55,2; 95,6]** | 73,4 [45,6; 90,8]** | <0,05 | >0,1 | >0,1 | >0,1 |
| | III | 83,6 [59,4; 98,0]** | 69,5 [45,8; 85,4]** | <0,001 | | | |
| ИЛ 8, пг/мл | К | 72,9 [36,4; 102,4] | | — | | | |
| | I | 98,6 [56,5; 152,4]* | 68,2 [36,8; 84,5] | <0,001 | <0,001 | <0,05 | <0,001 |
| | II | 64,0 [45,5; 81,2] | 94,4 [67,4; 116,3]* | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| | III | 120,2 [64,5; 163,9]** | 83,3 [57,7; 96,7] | <0,001 | | | |
| ФНО α, пг/мл | К | 6,9 [4,6; 8,4] | | — | | | |
| | I | 45,0 [28,5; 61,8]** | 36,8 [22,4; 45,5]** | <0,05 | ≥0,1 | ≥0,1 | ≥0,1 |
| | II | 46,0 [28,5; 60,9]** | 28,0 [16,2; 35,7]** | <0,001 | <0,001 | >0,1 | <0,001 |
| | III | 45,2 [26,3; 62,5]** | 39,0 [23,2; 52,4]** | <0,001 | | | |

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой (К); ** — $p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой (К); коэффициент достоверности p в числителе — в период разгара заболевания (D₀), в знаменателе — в период реконвалесценции (D₂₁₋₂₅). I — группа пациентов с эритемной формой иксодового клещевого боррелиоза, II — пациенты с безэритемной формой заболевания, III — больные с сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекцией. ЧФН — число фагоцитирующих нейтрофилов

нагрузок и относительно достаточном потенциале функциональных систем [17]. Основываясь на принципах системного подхода к организации сложных биологических систем, мы полагаем, что выявленные особенности организации иммунной системы сохраняют постоянную направленность даже при увеличении адаптивных нагрузок вплоть до их критических уровней (стадии «стресса» по Л.Х. Гаркави), которые сопровождаются перестройками функциональных связей внутри изучаемых живых систем. Это позволило нам оценивать направленность взаимосвязей между показателями иммунной системы и сравнивать особенности иммунопатогенеза у пациентов изучаемых клинических групп.

Так, в период разгара эритемной формы ИКБ (I группа) выявлена прямая корреляция между уровнями ИЛ 1β и ИЛ 4 ($r = 0,187$; $p < 0,05$) и обратная — между уровнями ИЛ 4 и ФНО α ($r = -0,192$; $p < 0,05$) в период реконвалесценции. Также установлены обратные взаимосвязи между числом CD3+ клеток и ИЛ 1β ($r = -0,194$; $p < 0,05$), числом CD3+ клеток и ИЛ 4 ($r = -0,190$; $p < 0,05$), концентрацией ИЛ 8 и ЧФН ($r = -0,440$; $p < 0,001$). При этом отмечены прямые корреляции между уровнем ИЛ 4 и ЧФН ($r = 0,324$; $p < 0,001$), концентрацией ФНО α и CD8+ клеток ($r = 0,201$; $p < 0,05$). В период реконвалесценции эритемной формы ИКБ выявлены положительные взаимосвязи между содержанием ИЛ 1β и числом CD3+ клеток ($r = 0,222$; $p < 0,05$), уровнем ФНО α и ЧФН ($r = 0,265$; $p < 0,05$; рис. 1).

В период разгара безэритемной формы ИКБ (II группа) корреляционный анализ определил прямые взаимосвязи между уровнями ИЛ 1β и ИЛ 4 ($r = 0,195$; $p < 0,05$), ИЛ 1β и ФНО α ($r = 0,168$; $p < 0,05$), ИЛ 4 и ФНО α ($r = 0,192$; $p < 0,05$), числом CD4+ клеток и концентрацией ИЛ 8 ($r = 0,190$; $p < 0,05$). В период реконвалесценции отмечены прямая корреляция между уровнями ИЛ 4 и ИЛ 8 ($r = 0,313$; $p < 0,001$) и обратные — между концентрацией ИЛ 4 и числом CD8+ клеток ($r = -0,206$; $p < 0,05$), ИЛ 8 и CD3+ клеток ($r = -0,159$; $p < 0,05$), ИЛ 8 и CD8+ клеток ($r = -0,149$; $p < 0,05$), ИЛ 8 и ЧФН ($r = -0,135$; $p < 0,05$; рис. 2).

У больных с сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекцией (III группа) выявлены прямые взаимосвязи между концентрациями ИЛ 1β и ИЛ 4 ($r = 0,144$; $p < 0,05$), ИЛ 1β и ИЛ 8 ($r = 0,367$; $p < 0,001$), ИЛ 1β и ФНО α ($r = 0,165$; $p < 0,05$), ИЛ 4 и ИЛ 8 ($r = 0,348$; $p < 0,001$), ИЛ 4 и TNF-α ($r = 0,225$; $p < 0,001$), ИЛ 8 и ФНО α ($r = 0,243$; $p < 0,001$); между ЧФН и ИЛ 4 ($r = 0,143$; $p < 0,05$), ИЛ 8 ($r = 0,220$; $p < 0,001$) и ФНО α ($r = 0,212$; $p < 0,05$); числом CD8+ клеток и концентрацией ИЛ 8 ($r = 0,148$; $p < 0,05$), TNF-α ($r = 0,143$; $p < 0,05$), а также обратные корреляции между числом CD4+ клеток и уровнями ИЛ 1β ($r = -0,145$; $p < 0,05$) и ИЛ 8 ($r = 0,134$; $p < 0,05$). В период реконвалесценции выявлены прямые корреляции между уровнями ИЛ 1β и ФНО α ($r = 0,243$; $p < 0,05$), уровнями ИЛ 4 и ИЛ 8 ($r = 0,138$; $p < 0,05$; рис. 3).

114

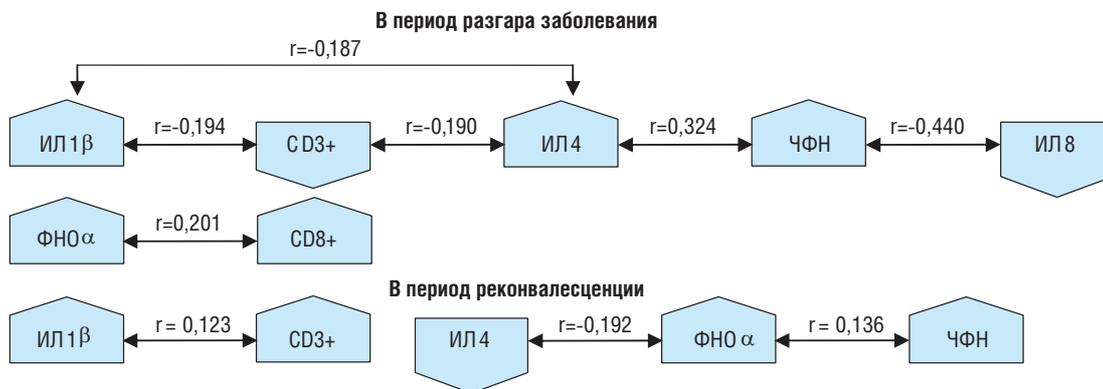


Рис. 1. Механизмы иммуноцитокинной регуляции при эритемной форме иксодового клещевого боррелиоза.

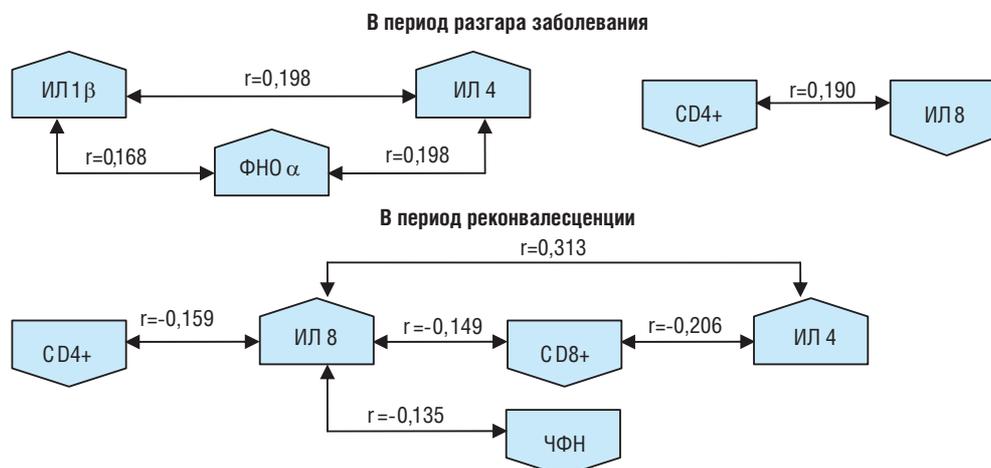


Рис. 2. Механизмы иммуноцитокинной регуляции при безэритемной форме иксодового клещевого боррелиоза.

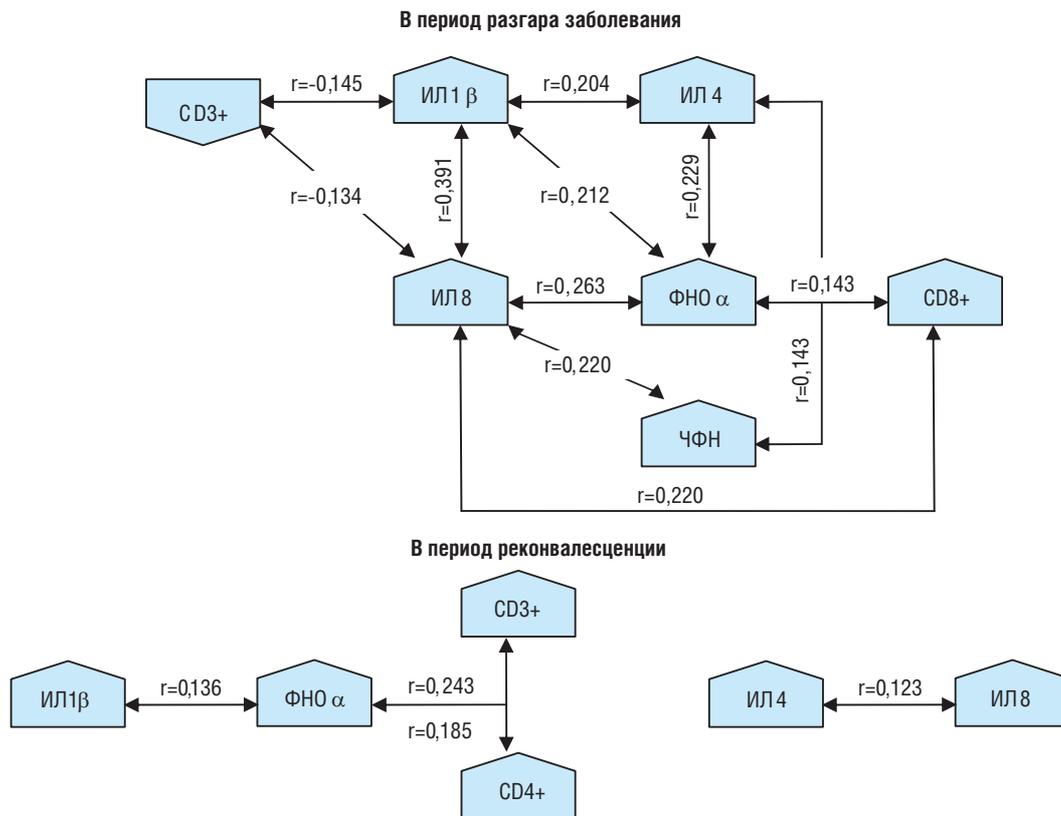


Рис. 3 Механизмы иммуноцитоклиновой регуляции при сочетанной боррелиозно-энцефалитной инфекции.

Обсуждение

Иммуноопосредованные механизмы играют важную роль в патогенезе ИКБ [6, 9, 11]. Актуальной задачей прикладных клинических исследований в области клещевых инфекций является поиск ключевых факторов иммунорегуляции, определяющих развитие тех или иных клинических форм ИКБ [4, 8, 10, 13].

Настоящее исследование было проведено с целью определения механизмов иммуноцитоклиновой регуляции при различных клинических формах иксодовых клещевых боррелиозов.

Сложность и многогранность перестроек иммунной системы заключается в различных механизмах взаимосвязи между элементами иммунной системы, зависящих от сочетания инфекционных факторов и клинических форм заболевания [8, 10, 13]. Особенности иммунорегуляции необходимо рассматривать как фундаментальную основу развития клинической формы заболевания [7]. Для достижения поставленной цели были использованы методы корреляционного анализа и описательной статистики, позволившие установить закономерности взаимосвязей между показателями иммунной системы у пациентов и установить варианты иммунорегуляции, характерные для различных клинических форм ИКБ.

Согласно результатам исследования, основной эффект ФНО α заключался в активации цитотоксических CD8+ клеток и увеличении ЧФН при эритемной форме ИКБ, активации субпопуляций лимфоцитов и увеличении ЧФН при микст-инфекции ИКБ с КЭ. Повышенный синтез ФНО α активировал выработку ИЛ1β и ИЛ8 при микст-инфекции и ИЛ1β при безэритемной форме ИКБ.

Повышенный синтез ИЛ1β сочетался со снижением продукции CD3+ клеток в разгар эритемной формы ИКБ. Напротив, в период реконвалесценции продукция ИЛ1β коррелировала с увеличением числа CD3+ клеток. При микст-инфекции ИКБ с КЭ усиленный синтез ИЛ1β сочетался с уменьшением числа CD4+ клеток.

Активация продукции ИЛ1β при различных формах болезни, повышенная продукция ИЛ8 и ФНО α при безэритемной форме и микст-инфекции, угнетение синтеза ФНО α при эритемном ИКБ связаны с продукцией противовоспалительного ИЛ4, который, в свою очередь, индуцировал снижение содержания CD3+ лимфоцитов и увеличение ЧФН при эритемной форме ИКБ, уменьшение числа цитотоксических CD8+ лимфоцитов, увеличение ЧФН при сочетанном течении боррелиоза с КЭ.

Следовательно, в период разгара вне зависимости от клинической формы ИКБ, согласно результатам исследования, был характерен T_{x1}/T_{x2} тип иммунного ответа с последующим переключением в период реконвалесценции на T_{x1} (клеточный) иммунный ответ при эритемной форме ИКБ и сочетанном течении боррелиоза с КЭ и T_{x2} (гуморальный) иммунный ответ при безэритемной форме заболевания.

Основным дифференциальным и прогностическим критерием являлся уровень ИЛ8. В очаге воспаления местное действие ИЛ8 усиливает адгезию и дегрануляцию нейтрофилов, стимулирует выброс свободных радикалов и фагоцитоз, а также способствует ускорению завершения воспалительного процесса [6, 7]. Повышенный синтез ИЛ8 сопровождался различными перестройками иммунной системы в зависимости от клинической формы заболевания: при моноинфекции ИКБ снижалось ЧФН; при безэритемной форме уменьшалось число CD3+ кле-

ток и цитотоксических CD8+ клеток, увеличивалось число CD4+ клеток. При смешанном течении ИКБ с КЭ снижалось содержание CD4+ и цитотоксических CD8+ клеток и увеличивалось ЧФН. Вероятно, сочетанная бактериально-вирусная инфекция приводит к меньшим сдвигам соотношения T_{H1}/T_{H2} механизмов иммунного ответа [3, 7].

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о разнонаправленности механизмов иммуноцитокриновой регуляции в зависимости от клинической формы острой боррелиозной инфекции и периода заболевания (см. рис. 1–3). В качестве критически важного критерия для прогноза и дифференциальной диагностики различных форм ИКБ следует учитывать уровень продукции важнейшего фактора хемотаксиса — ИЛ 8.

Заключение

Особенности иммуноцитокриновой регуляции необходимо принимать во внимание при выработке дифференцированных подходов для выбора оптимальных схем лечения различных форм ИКБ. Показатели иммунного статуса при ИКБ целесообразно использовать для мониторинга состояния пациентов, определения прогноза заболевания и оценки эффективности лечебных воздействий.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коренберг Э.И. Изучение и профилактика микст-инфекций, передающихся иксодовыми клещами. *Вестник РАМН*. 2001; 1: 41–45.
2. Лобзин Ю.В., Усков А.Н., Козлов С.С. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы). *СПб.: Фолиант*. 2000. 160 с.
3. Усков А.Н., Байгеленов К.Д., Бургасова О.А., Гринченко Н.Е. Современные представления о диагностике клещевых инфекций. *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 82 (7): 148–152.
4. Widhe M., Grusell M., Ekerfelt C., Vrethem M., Forsberg P., Ernerudh J. Cytokines in Lyme borreliosis: lack of early tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta responses are associated with chronic neuroborreliosis. *Immunology*. 2002; 107 (1): 46–55.
5. McSweeney E. Anti-tumor necrosis factor-alpha treatment for Lyme borreliosis. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(12): 1866–1867.
6. Усков А.Н., Бургасова О.А., Гринченко Н.Е., Байгеленов К.Д. Особенности иммуноцитокринового ответа у больных иксодовыми боррелиозами с различными клиническими проявлениями. Инфекционные болезни: современные проблемы диагностики и лечения. Мат-лы Росс. науч.-практ. конф. *СПб.* 2008. 237 с.
7. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология: руководство. М: *Медицинская литература*. 2009. 464 с.
8. Мандракова Н.В., Мадич Е.А. Некоторые аспекты иммунопатогенеза острых иксодовых клещевых боррелиозов в Приморском крае. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2007; 11: 91–98.
9. Бейкин Я.Б., Лагерева Ю.Г., Топоркова М.Г., Беседина Л.Г., Дружинина А.Ю. Особенности цитокриновой регуляции при клещевом энцефалите и Лайм-боррелиозе. *Вестник РАМН*. 2007; 9: 16–19.
10. Симакова А.И., Мандракова Н.В., Маркелова Е.В., Иванис В.А. Цитокриновый профиль у больных с иксодовыми клещевыми боррелиозами. *Цитокины и воспаление*. 2004; 3 (4): 21–24.
11. Poljak A., Comstedt P., Hanner M., Schüler W., Meinke A., Witzel B., Lundberg U. Identification and characterization of Borrelia antigens as potential vaccine candidates against Lyme borreliosis. *Vaccine*. 2012; 30 (29): 4398–4406.
12. Lünemann J. D., Gelderblom H., Sospedra M., Quandt J. A., Pinilla C., Marques A., Martin R. Cerebrospinal fluid-infiltrating CD4+ T cells recognize Borrelia burgdorferi lysine-enriched protein domains and central nervous system autoantigens in early Lyme encephalitis. *Infect. Immun.* 2007; 75 (1): 243–251.
13. Frey A. B., Rao T. D. Single exposure of mice to Borrelia burgdorferi elicits immunoglobulin G antibodies characteristic of secondary immune response without production of interleukin-4 by immune T cells. *Infect. Immun.* 1995; 63 (7): 2596–2603.
14. Ekdahl K.N., Henningson A.J., Sandholm K., Forsberg P., Ernerudh J., Ekerfelt C. Immunity in borreliosis with special emphasis on the role of complement. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 598: 198–213.
15. Gorban A.N., Smirnova E.V., Tyukina T.A. Correlations, risk and crisis: from physiology to finance. *Physica A*. 2010; 389: 3193–3217.
16. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. *Ростов-на-Дону*. 1990. 100 с.
17. Миноранская Н.С. Клиническое течение и адаптационные реакции при остром течении иксодовых клещевых боррелиозов в Красноярском крае. *Инфекционные болезни*. 2014; 12 (1): 39–44.

116

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Миноранская Наталья Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** +7 (391) 246-93-75, **e-mail:** bacinf@mail.ru
Сарап Павел Владимирович, кандидат медицинских наук, врач-иммунолог, заведующий отделением переливания крови Красноярской межрайонной клинической больницы скорой медицинской помощи им. Н.С. Карповича
Адрес: 660062, Красноярск, ул. Курчатова, д. 17, **тел.:** +7 (391) 246-94-22, **e-mail:** mssgbox@mail.ru
Миноранская Елена Игоревна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** +7 (391) 246-93-75, **e-mail:** elen_minor@mail.ru