

# ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ОСТРЫХ НЕЙРОИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ

**Е.А. Богайчук, Р.К. Бабик**  
ЧелГМА, г. Челябинск

Установлена наибольшая значимость в этиологической структуре гнойных бактериальных менингитов у детей раннего возраста трех возбудителей: менингококков, пневмококков, гемофильных палочек. На фоне вторичных иммунодефицитов возрастает роль вируса простого герпеса I и II типов (ВПГ), цитомегаловируса (ЦМВ) в сочетанной бактериальной патологии нервной системы. Высокая фагоцитарная активность нейтрофилов отмечалась преимущественно у детей с неосложненными формами гнойных менингитов. Неблагоприятным фактором течения бактериальных менингитов у детей, наряду с выявлением вируса простого герпеса (ВПГ) I и II типа и ЦМВ, являлось низкое значение интерферона – гамма (IFN- $\gamma$ ). Кроме того, коррелировалось с тяжестью инфекционного процесса увеличение содержания метаболитов оксида азота (NO) в периферической крови больных.

*Ключевые слова:* иммунитет, менингиты, дети.

Инфекции центральной нервной системы (ЦНС) у детей раннего возраста относятся к одним из наиболее тяжелых и неблагоприятных по своим последствиям заболеваний [1, 2]. Этиологическая расшифровка нейроинфекций имеет важное практическое значение, поскольку позволяет не только оценить эпидемиологическую ситуацию по отдельным нозологическим формам в регионе, но и определиться с выбором адекватной этиотропной и патогенетической терапии. Общепризнано, что в патогенезе неблагоприятного течения инфекций особое значение играют иммунные механизмы [2–6]. В этой связи мониторинг таких полиэтиологичных заболеваний у детей, как менингиты и менингоэнцефалиты, с оценкой иммунного статуса больных, представляется чрезвычайно актуальным. Особое внимание вызывают микст-инфекции ЦНС как менее изученный патологический процесс у детей. Вместе с тем при уточнении факторов вторичных иммунодефицитов в многочисленных отечественных и зарубежных исследованиях в последние годы значительно возросла роль вируса простого герпеса I и II типов (ВПГ I-II), цитомегаловирусов (ЦМВ). В связи с этим представляет особый интерес установление вклада герпетических вирусов в инфекционную патологию центральной нервной системы.

Недостаточно изучена роль оксида азота (NO) при ряде инфекционных заболеваний, особенно в педиатрии. Обладая свободнорадикальными свойствами, NO контролирует многие биохимические процессы и функции организма [7–10]. С тех позиций, что NO является не только вазодилататором, но и медиатором воспаления и иммуногенеза,

вызывает наибольший интерес изучение его значения при инфекционном поражении ЦНС.

**Цель работы.** Уточнить эпидемиологические и иммунологические особенности бактериальных и вирусных нейроинфекций у детей и с учетом различий при этом значений показателей иммунного ответа и нитроксидергических процессов, прогнозировать течение заболевания и развитие осложнений.

**Материал и методы исследования.** В работе представлены данные этиологического, иммунологического анализа обследования 89 детей раннего возраста с гнойными менингитами и менингоэнцефалитами, из которых 30 пациентов были герпесинфицированными, и 15 пациентов с герпетическими энцефалитами. Обследование больных и наблюдение за ними проводились на базе отделений нейроинфекций и инфекционной реанимации МУЗ «Детская клиническая больница № 8» г. Челябинска, за период с 2005 по 2011 год. План нашего обследования детей соответствовал дизайну «случай-контроль». Критерии включения пациентов в исследование: наличие синдромов гнойного менингита, менингоэнцефалита или энцефалита, особенно у герпесинфицированных ВПГ и/или ЦМВ.

Всем больным выполнялись клиническое обследование, оценка эпидемиологического анамнеза и объективного статуса. Лабораторные исследования включали общие и биохимические анализы крови, мочи, спинномозговой жидкости. Кроме того, проводился мониторинг уровней электролитов, мочевины, креатинина, показателей билирубина, АСТ, АЛТ, протеинограммы, гемостаза, кислотно-щелочного состояния организма больных.

По показаниям проведены инструментальные исследования, такие как: ЭЭГ, Эхо-ЭГ, КТ, МРТ головного мозга.

Этиология заболевания уточнялась исследованиями ликвора следующими методами: бактериологическими, вирусологическими, ПЦР. Экспресс исследования ликвора и крови проводили реакцией латекс-агглютинации с использованием латекс-диагностических препаратов. Герпетическая инфекция ВПГ и/или ЦМВ этиологии подтверждена исследованиями крови, мочи, ликвора методом ПЦР и ИФА сыворотки крови с определением специфических антител.

Иммунологическое обследование проводилось в НИИ иммунологии ГОУ ВПО ЧелГМА Росздрава. Определение субпопуляций циркулирующих лимфоцитов в периферической крови обследованных детей проводилось по методике иммунофенотипирования в модификации Сибирица С.В. с соавторами (1997). Использовались при этом моноклональные антитела серии ИКО (НПЦ «МедБиоСпектр», Москва): анти-CD3, анти-CD4, анти-CD8, анти-CD10, анти-CD11b, анти-CD16, анти-CD20, анти-CD25, анти-CD34, анти-CD56, анти-CD95, анти-HLA-DR. Фагоцитарную функцию нейтрофилов изучали на модели поглощения частиц полистирольного латекса, параллельно определяли лизосомальную активность по показателям интенсивности люминисценции лизосом в цитоплазме фагоцитов, окрашенных акридиновым оранжевым (Фрейдлин И.С., 1988). Кислородзависимый метаболизм исследовали с помощью спонтанного и индуцированного латексом НСТ-теста. Всем пациентам также определяли в сыворотке крови количество иммуноглобулинов классов А, М, G (Manchini G.), исследовали уровни комплемента CH50 и его компонентов (C1, C2, C3, C4, C5).

Определение оксида азота в сыворотке крови проводили по количеству его метаболитов нитритов ( $\text{NO}_2$ ) и нитратов ( $\text{NO}_3$ ). Сумму конечных продуктов метаболизма NO определяли в сыворотке крови по L.C. Green с соавторами, с учетом рекомендаций О.М. Драпкиной, Н.В. Кулаковой. Поскольку  $\text{NO}_2$  является неустойчивым анионом и легко окисляется до  $\text{NO}_3$ , для определения суммы метаболитов NO нитрат-ион восстанавливали с помощью металлического кадмия, импрегнированного медью, до нитрит-иона, содержание которого определяли с помощью реактива Грейса. Уровень суммы метаболитов NO в сыворотке крови определяли количественно спектрофотометрически при длине волны 540 нм после построения калибровочной кривой для оптической плотности стандартных растворов.

Группу сравнения составили 39 здоровых детей в возрасте от 1 мес. до 3 лет, обследованных с информированного согласия родителей и официальных представителей.

Статистический анализ полученных данных

проводили с использованием пакетов прикладных программ "SPSS 13.0", "Biostatistica 4.03" и приложения Excel из пакета MS Office XP. Межгрупповое сопоставление проводилось с помощью критерия Крускала-Уолиса, с последующим уточнением характера различий по критерию Манна-Уитни. Сравнение параметрических величин проводили с использованием t-критерия Стьюдента, непараметрических величин – точным методом Фишера, методом хи-квадрат. Результаты сравнений считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Проверку статистических гипотез проводили при критическом уровне значимости  $p = 0,05$  [11].

### Результаты исследований и обсуждение.

Этиологию бактериального поражения ЦНС удалось установить у 69 пациентов: у 50 (56,2 %) детей диагностирован менингококковый, у 13 (14,6 %) – гемофильный, у 6 (6,7 %) – пневмококковый возбудители. В 20 (22,5 %) наблюдениях этиология гнойного процесса осталась неуточненной. В 30 % случаев менингококковой инфекции установлено инфицирование детей герпесвирусами, из них, микст ВПГ и ЦМВ (в 53,3 %). Иммунологический статус детей с гнойными менингитами менингококковой и гемофильной этиологии в сравнении с аналогичными показателями пациентов с герпетическими энцефалитами представлен в таблице. Группы сравнения были сопоставимы по возрастным и гендерным признакам. К настоящему времени, по данным ряда исследований, сложилось довольно полное представление о роли отдельных цитокинов при воспалительных процессах в ЦНС, включая их прямое воздействие на иммунопатологические и клинические проявления заболевания [1, 3, 5]. В своей работе мы выявили обратную взаимосвязь концентрации интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ) в сыворотке крови больных и тяжести у них нейроинфекций, что, особенно, проявилось при герпетических энцефалитах и сочетанных вирусно-бактериальных инфекциях. Кроме того, с тяжестью течения нейроинфекций у детей коррелировала избыточная продукция метаболитов оксида азота, что использовалось в наблюдениях в качестве диагностического и прогностического критерия.

Установлено, что проявления иммунной недостаточности при нейроинфекциях отмечались как в острый период заболевания, так и в период реконвалесценции. Регистрировались низкие показатели активности фагоцитирующих клеток, дефицит Т-клеточного звена иммунитета, натуральных киллеров (NK) и наиболее выраженные изменения этих показателей выявили у детей в миксте с герпетическими инфекциями.

Содержание  $\text{CD3}^+$  Т-лимфоцитов было достоверно ниже в группах больных с герпетической и менингококковой нейроинфекциями, в отличие от здоровых лиц и больных гемофильными гнойными менингитами. Количество  $\text{CD4}^+$  Т-лимфоцитов

## Показатели иммунофенотипирования лимфоцитов у детей с вирусными и гнойными поражениями ЦНС

Показатели, %	Больные с герпетическим энцефалитом, n = 15	Больные Ниб, n = 8	Больные МИ, n = 35	Больные МИ+ВПГ и ЦМВ, n = 15	Здоровые дети, n = 39
CD3	<b>29,77 ± 2,44*</b>	40,00 ± 6,25	<b>21,82 ± 2,90*</b>	<b>24,0 ± 2,55*</b>	38,87 ± 2,54
CD4	22,22 ± 1,62	29,00 ± 2,95	26,46 ± 1,32	<b>20 ± 1,8*</b>	25,12 ± 1,41
CD8	21,44 ± 2,91	22,85 ± 0,76	21,22 ± 1,05	19 ± 2,12	22,97 ± 1,90
CD4/ CD8	1,14 ± 0,10	1,27 ± 0,12	1,25 ± 0,08	1,04 ± 0,06	1,25 ± 0,07
CD11b	<b>13,77 ± 1,41*</b>	17,6 ± 3,05	15,86 ± 1,11	<b>11,62 ± 2,26*</b>	19,79 ± 1,77
CD16	14,33 ± 1,75	17,6 ± 3,18	16,10 ± 1,29	<b>7,0 ± 0,57*</b>	17,33 ± 2,25
CD25	12,66 ± 1,64	15,00 ± 3,74	16,03 ± 1,57	16,25 ± 2,03	14,28 ± 1,15
CD34	<b>5,66 ± 2,17*</b>	<b>9,40 ± 1,72</b>	12,25 ± 0,98	<b>8,1 ± 2,12*</b>	13,69 ± 1,56
CD56	12,33 ± 2,24	16,6 ± 2,03	13,93 ± 1,23	<b>6 ± 1,35*</b>	14,10 ± 0,89
CD95	<b>8,22 ± 1,12*</b>	<b>15,80 ± 2,10</b>	<b>14,62 ± 1,12*</b>	<b>12,5 ± 2,06*</b>	21,53 ± 1,92
HLA-DR	<b>13,55 ± 2,44</b>	<b>13,50 ± 4,11</b>	18,17 ± 1,23	<b>7,5 ± 1,25*</b>	16,30 ± 1,00

Примечание. Ниб – гемофильная инфекция, МИ – менингококковая инфекция, ВПГ – вирус простого герпеса, ЦМВ – цитомегаловирусная инфекция. Различия показателей значимы при \*  $p < 0,05$  в сравнении с показателями контрольной группы здоровых детей.

также имело тенденцию к снижению у пациентов с герпетической, особенно сочетанной с менингококковой инфекцией, чем в контрольной группе. Известно, что уменьшение количества лимфоцитов является одним из проявлений сниженной иммунореактивности. Воздействие герпесвирусов на детей – повреждающий фактор, что приводит, как правило, к изменению количества клеток, обеспечивающих иммунореактивность, прежде всего субпопуляций Т-лимфоцитов. Однонаправленные изменения с тенденцией к уменьшению CD16+, CD56+, CD11b и достоверное их снижение выявляли дефицит естественных киллеров (NK-клеток), прежде всего, у детей с сочетанными формами менингококковой и герпетических инфекций. Известно, что NK-клетки оказывают важную роль в регуляции инфекционного процесса и являются главными противовирусными защитниками. В то же время не отмечено у этих пациентов изменение значений маркеров ранней (CD25) активации Т-клеток. У пациентов с сочетанными формами менингококковой и герпетической нейроинфекций были отмечены выраженные изменения функциональной активности нейтрофилов. Кроме того, по сравнению с показателями условно здоровых детей выявили снижение маркеров поздней активации. Угнетение Т-клеточного звена проявилось статистически значимыми снижениями содержания в периферической крови CD3+, CD4+ клеток, маркеров апоптоза CD95 и дефицитом CD56+ маркеров NK-клеток, играющих важную роль в регуляции воспалительного процесса.

Нарушения показателей респираторного взрыва с увеличением спонтанного НСТ-теста и уменьшение чувствительности циркулирующих нейтрофилов к стимулирующему эффекту *in vitro*, вероятно, было обусловлено бактериемией и/или

эндотоксинемией, что и определило снижение этих клеток к стимуляции. Поскольку NK-клетки являются носителями двух функций: во-первых, лизиса инфицированных вирусами клеток, во-вторых, регуляции врожденного и адаптивного иммунитетов, мы обратили внимание на отличие соотношения маркеров NK-клеток (CD16+ и CD56+) при герпетических, в том числе и сочетанных, их формах с менингококковой инфекцией и при гемофильных гнойных менингитах. Не исключается, что существенное снижение CD56+ маркеров NK-клеток при сочетанных инфекциях отражает вероятность низкой секреции интерферона гамма и других цитокинов, участвующих в регуляции врожденного и адаптивного иммунитетов. Сочетанные варианты нейроинфекций у детей усугублялись затяжным течением и тяжелыми формами болезни. Учитывая, что иммунологический статус детей с сочетанными формами нейроинфекций, что нередко усугублялись затяжным течением и тяжестью, отражал более выраженный дисбаланс содержания в их периферической крови Т-хелперов и изменение показателей функциональной активности нейтрофилов, проведена оценка значений показателей метаболитов оксида азота.

Установлено, что содержание метаболитов оксида азота (NO) у больных гнойными менингитами, не осложненными гемодинамическими нарушениями, в сумме было незначительно выше, чем у здоровых детей, за счет повышения концентрации в сыворотке крови нитритов (NO<sub>2</sub>) и снижения уровня нитратов (NO<sub>3</sub>). При тяжелых формах менингита, в частности, осложненных шоком, у больных отмечали в 1,5–2 раза повышение содержания как NO<sub>2</sub>, так и NO<sub>3</sub>. Декомпенсация гемодинамики отмечалась при более интенсивном

течении нитроксидагических процессов. Нарастающий при этом уровень NO был сопряжен с метаболическими изменениями и нарушениями свертываемости крови. Однако увеличение содержания метаболитов NO в периферической крови больных, коррелирующее с тяжестью процесса, не сопровождалось усилением продукции провоспалительных цитокинов. Это противоречие может быть объяснено активирующим влиянием разных NO-синтетаз. Повышение содержания NO в периферической крови детей может быть обусловлено либо активацией индуцибельной формы синтазы (iNOS) под влиянием цитокинов, либо за счет конститутивной формы изофермента (cNOS). Известно, в сосудистой эндотелии, нервной ткани и тромбоцитах преобладает cNOS. Учитывая современные данные литературы, позволяющие рассматривать оксид азота в качестве медиатора, способствующего расширению сосудов и одновременно препятствующего их констрикции, поддержание гомеостаза NO является важной защитно-приспособительной функцией организма при развитии осложненной патологии ЦНС. Индуцибельная форма синтазы, как известно, содержащаяся в макрофагах, нейтрофилах, является кальцийнезависимой, активируется IFN- $\gamma$ . У наших пациентов с гладким течением гнойных менингитов более поздняя активация оксида азота, сопряженная увеличением провоспалительных цитокинов, вероятно, имела значимость иммуногенного действия. О чем свидетельствовали и отличия значений адаптивного иммунного ответа, в сравнении аналогичных показателей пациентов с гладкими и негладкими течениями нейтроинфекций.

Таким образом, наиболее распространенными возбудителями бактериальных менингитов являются менингококк, среди серовариантов которого преобладает тип В, пневмококк, гемофильная палочка. Способность герпесвирусов (ВПГ и ЦМВ) у детей с внутриутробным инфицированием вызывать некротическое поражение мозга и васкулиты, имеющие в большинстве случаев неблагоприятный исход, обосновывает необходимость учета этих инфекций в структуре менингитов и менингоэнцефалитов. Определение роли оксида азота при воспалительных поражениях ЦНС, с мониторингом уровня его метаболитов, являются значимыми в прогнозировании течения инфекционного процесса. Вторичный иммунодефицит у пациентов с менингитами и менингоэнцефалитами является высоким фактором риска возникновения микстинфекций. К ранним прогностическим критериям тяжести независимо от этиологии нейтроинфекции

относятся низкое содержание в сыворотке крови IFN- $\gamma$  на фоне повышенных концентраций метаболитов оксида азота.

### Литература

1. Сорокина, М.Н. Бактериальные менингиты у детей / М.Н. Сорокина, В.В. Иванова, Н.В. Скрипченко. – М.: Медицина, 2003. – 314 с.
2. Симбирцев, А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9–16.
3. Клинико-эпидемиологические и иммунологические особенности острых нейроинфекций у детей в современных условиях / Н.П. Куприна, С.С. Афанасьев, О.А. Панина и др. // Журнал теоретической и практической медицины. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 23–26.
4. Мозговая кома при бактериальных гнойных менингитах у детей: диагностика, патогенез и тактика терапии: пособие для врачей / М.Н. Сорокина, Н.В. Скрипченко, М.В. Иванова и др. – СПб.: НИИДИ, 2003. – 34 с.
5. Иммунопатогенез генерализованных форм менингококковой инфекции у детей раннего возраста / О.А. Рычкова, Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова и др. // Вестник Уральской государственной медицинской академии. – 2010. – Вып. 21. – С. 270–279.
6. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот, А. Ройт. – М., 2007. – 556 с.
7. Покровский, В.И. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства / В.И. Покровский, Н.А. Виноградов // Тер. арх. – 2005. – № 1. – С. 82–87.
8. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ / О.Ю. Реброва. – М., 2006. – 312 с.
9. Титов, В.Н. Оксид азота в реакции эндотелий зависимой вазодилатации. Основы единения эндотелия и гладкомышечных клеток в паракринной регуляции метаболизма / В.Н. Титов // Клин. лабор. диагностика. – 2007. – № 2. – С. 23–39.
10. Evaluating the role of inducible nitric oxide synthase using a novel and selective inducible nitric oxide synthase inhibitor in septic lung injury produced by cecal ligation and puncture / I. Okamoto, M. Abe, K. Shibata et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – Vol. 162, № 2. – P. 716–722.
11. Novel mechanism of vasodilation in inflammatory bowel disease / O.A. Hatoum, K.M. Gauthier, D.G. Binion et al. // Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. – 2005. – Vol. 25, № 11. – P. 2355–2361.

Поступила в редакцию 19 января 2011 г.