

ЗНАЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ОСТРЫХ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ

Миноранская Н.С.¹, Миноранская Е.И.¹

¹ГБОУ ВПО «Красноярский Государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия (660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1), e-mail: bacinfa@mail.ru

Проанализированы взаимосвязи синтеза цитокинов и белков острой фазы как критериев воспалительного процесса при различных клинических формах острой боррелиозной инфекции с учетом органических поражений. Вне зависимости от тех или иных органических поражений установлен повышенный синтез интерлейкина-8 при сочетанном течении иксодового клещевого боррелиоза с клещевым энцефалитом и сниженная его продукция при безэритемной форме острой боррелиозной инфекции. Дефицит γ -глобулинов сыворотки крови выявлен у пациентов с поражением опорно-двигательного аппарата при эритемной форме заболевания и с поражением нервной системы у пациентов с микст-инфекцией иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита. Для дифференциальной диагностики эритемной и безэритемной форм заболевания, а также микст-инфекции иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита наибольшую информативность имеет уровень продукции интерлейкина-8, что доказывает определяющее значение хемотаксиса в патогенетических механизмах различных клинических форм иксодового клещевого боррелиоза.

Ключевые слова: иксодовый клещевой боррелиоз, воспаление, органические поражения, цитокины, белки острой фазы

IMPORTANCE INFLAMMATORY MARKERS FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF DIFFERENT FORMS OF ACUTE IXODES TICK-BORNE BORRELIOSIS

Minoranskaya N.S.¹, Minoranskaya E.I.¹

¹Krasnoyarsk State Medical University n.a. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia (660022, Krasnoyarsk, street Partizan Zheleznyak, 1), e-mail: bacinfa@mail.ru

We have done the analysis the relationship of cytokine synthesis and acute phase proteins as criteria of the inflammatory process in different clinical forms of acute borreliosis infection considering organ lesions. Regardless of one or another set of organ lesions increased synthesis of interleukin-8 in the combined flow of Ixodes tick-borne borreliosis with tick-borne encephalitis and reduced its production in the non-erythemic form of acute Borrelia infection. γ -globulin deficiency of blood serum was detected in patients with lesions of the musculoskeletal system with erythemic form of the disease and damage to the nervous system in patients with mixed infection of Ixodes tick-borne borreliosis and tick-borne encephalitis. For differential diagnosis of erythemic and non-erythemic forms of the disease, as well as mixed infections of Ixodes tick-borne borreliosis and tick-borne encephalitis is the most informative level of interleukin -8, which proves decisive importance of chemotaxis in the pathogenic mechanisms of various clinical forms of Ixodes tick-borne borreliosis.

Keywords: Ixodes tick-borne borreliosis, inflammation, organ damage, cytokines, acute phase proteins

Введение

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) объединяют группу этиологически близких природно-очаговых трансмиссивных заболеваний, представляющих собой самостоятельные нозологические формы, которые характеризуются поражением кожи, нервной и сердечно-сосудистой систем, опорно-двигательного аппарата и склонностью к хроническому течению инфекционного процесса [3, 4, 8].

Широкая вариативность клинических проявлений обусловлена сложностью и многообразием патогенетических механизмов инфекционного процесса при боррелиозной

инфекции. Механизмы развития заболевания непосредственно связаны с воспалительным процессом и специфической сенсibilизацией организма человека. Очевидно, что главную роль в регуляции воспалительного процесса играют клетки иммунной системы. Результатом их кооперативного функционирования является формирование внутренней среды организма, включающей уникальные сочетания факторов воспаления – цитокинов, а также молекул острой фазы воспаления [1, 5].

Цитокины представляют собой высокоспецифичные регуляторные пептиды, продуцируемые клетками иммунной системы и органов и систем, вовлеченных в воспалительный процесс и выполняющие медиаторную функцию, передавая сигналы между взаимодействующими клетками. Основное действие цитокины оказывают на паракринном уровне, обеспечивая локальную межклеточную кооперацию. Увеличение уровня цитокинов в сыворотке крови свидетельствует о генерализованных перестройках иммунного ответа и необходимости регуляции инфекционного воспаления на системном уровне [1, 2, 9].

Основным медиатором развития местного воспаления и острофазных реакций является IL-1 [2, 7, 8]. В регуляции воспаления важную роль играет TNF- α – индуктор синтеза провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-8. Последний, обладая провоспалительным эффектом, активирует и привлекает в очаг воспаления нейтрофилы.

Индикатором активности воспалительного процесса является изменение соотношения белковых фракций сыворотки крови, в частности, синтеза α 1- и α 2-глобулинов. Содержащие неспецифические иммуноглобулины γ -глобулины и отчасти β -глобулины обеспечивают гуморальный иммунный ответ, который, в свою очередь, индуцирует выработку специфических антител [6].

Очевидно, что регуляция воспаления, обусловленного инфекционным процессом, зависит от иммунореактивности организма человека. Гуморальные факторы иммунной защиты включают широкий спектр цитокинов и белков острой фазы, совокупность которых обеспечивает формирование адекватного иммунного ответа. Вероятно, особенности синтеза цитокинов и острофазных белков сопряжены с развитием тех или иных органных поражений при различных клинических формах острой боррелиозной инфекции.

Целью настоящего исследования является определение изменений биохимических маркеров воспаления и цитокинов как критериев дифференциальной диагностики основных клинических форм ИКБ с учетом преобладающих органных поражений.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 408 пациентов с различными клиническими формами острого течения ИКБ. В работе использована клиническая классификация Ю.В. Лобзина с соавт. [4], согласно которой пациенты распределены на следующие исследуемые группы. Первую (I) группу составили 54 (13,2 %) пациента с эритемной формой (ЭФ) ИКБ, во вторую

(II) группу вошли 189 (46,3 %) пациентов с безэритемной формой (БЭФ) заболевания, третья группа (III) представлена 165 (40,4 %) пациентами с сочетанным течением ИКБ с клещевым энцефалитом (КЭ). В каждой группе выделены подгруппы пациентов с учетом преобладающих органических поражений: у пациентов I, II и III групп поражения опорно-двигательного аппарата наблюдалось в 16 (29,6 %), 80 (42,3 %) и 42 (25,5 %) случаях, поражение нервной системы – в 15 (27,8 %), 78 (41,3 %) и 92 (55,7 %) случаях, поражение сердечно-сосудистой системы – в 23 (42,6 %), 31 (16,4 %) и 31 (18,8 %) случаях соответственно. Для контроля сформирована группа здоровых доноров (n=35). Исследуемая и контрольная группы сопоставимы по возрасту ($F=1,36$; $p>0,1$) и полу ($\chi^2=1,42$; $p>0,1$).

Диагноз ИКБ, а также его сочетанного течения с КЭ подтверждали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с определением специфических антител классов IgM и IgG с применением тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Кольцово Новосибирской области).

Совокупность инструментальных методов диагностики соответствовала органическим проявлениям заболевания. При поражении опорно-двигательного аппарата проводили ультразвуковое исследование суставов, где регистрировали наличие выпота в полости сустава, явления бурсита, синовита. При поражении центральной нервной системы определяли ДНК боррелий в ликворе методом полимеразной цепной реакции, на основании клинического осмотра судили о моно- или олигопарезах периферических нервов. Результаты электрокардиографии позволили выявить нарушения ритма и сердечной проводимости; тяжелые воспалительные поражения сердца отсутствовали.

Уровень цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-8, TNF- α) определяли в сыворотке крови методом ИФА с использованием тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест». Белковые фракции определяли методом на универсальном автоматическом биохимическом анализаторе «Hitachi-912» фирмы «Roche Diagnostics» (Швейцария) с использованием адаптированных методик. Лабораторные исследования проводили в период разгара заболевания на 1–4 день болезни.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с применением пакета статистических программ «Statistica for Windows 7.0». Для определения достоверности различий независимых выборок применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Количественную связь признаков оценивали по F-критерию однофакторного дисперсионного анализа. При дисперсионном анализе количественно оценивали силу влияния признака (η^2) на значение показателя, демонстрирующую вклад клинических характеристик в значения клинико-лабораторных индикаторов. Для расчета η^2 использовали формулу: $\eta^2 = D_{\text{факт.}} / (D_{\text{факт.}} + D_{\text{случ.}})$, где η^2 – сила влияния фактора, $D_{\text{факт.}}$ – факторная дисперсия, $D_{\text{случ.}}$ – случайная дисперсия. Критический уровень значимости при проверке

статистических гипотез в исследовании принимали равным 0,05. При $p < 1,0 \cdot 10^{-29}$ (ниже предела измерений достоверности различий «Statistica for Windows 7.0») принимали $p = 0,000$.

Результаты и обсуждение

При ЭФ ИКБ отмечалась повышенная продукция $\alpha 1$ -глобулинов сыворотки крови, а также усиленный синтез цитокинов в сравнении с контролем. У пациентов с БЭФ ИКБ регистрировалось снижение уровня альбуминов, а также повышенный синтез $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -глобулинов, IL-1 β , IL-4 и TNF- α . При сочетанном течении ИКБ с КЭ наблюдался дефицит γ -глобулинов и повышенные содержания $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -глобулинов сыворотки крови, IL-1 β , IL-8 и TNF- α (Табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика белковых фракций сыворотки крови и цитокинов при различных клинических формах иксодового клещевого боррелиоза

К (n=35)	I (n=54)	II (n=189)	III (n=165)	p (I-II)	p (I-III)	p (II-III)	F	(p)	η^2
альбумины (%)									
59,0 $\pm$ 1,0	59,2 $\pm$ 0,6	56,6 $\pm$ 0,3*	57,6 $\pm$ 0,5	0,000	0,048	—	8,221	0,000	0,04
$\alpha 1$ -глобулины (%)									
4,0 $\pm$ 0,3	5,7 $\pm$ 0,2**	5,9 $\pm$ 0,1**	6,6 $\pm$ 0,2**	—	0,002	0,005	5,087	0,006	0,03
$\alpha 2$ -глобулины (%)									
6,7 $\pm$ 0,3	7,5 $\pm$ 0,3	7,7 $\pm$ 0,2*	8,2 $\pm$ 0,2**	—	0,041	—	—	—	—
β -глобулины (%)									
11,1 $\pm$ 0,8	9,7 $\pm$ 0,3	10,6 $\pm$ 0,1	10,3 $\pm$ 0,2	0,001	—	—	4,894	0,008	0,02
γ -глобулины (%)									
19,1 $\pm$ 0,7	17,9 $\pm$ 0,5	19,1 $\pm$ 0,2	17,3 $\pm$ 0,3*	0,007	—	0,000	11,540	0,000	0,06
IL-8 (pg/ml)									
72,9 $\pm$ 7,2	94,9 $\pm$ 5,9*	65,1 $\pm$ 1,9	111,7 $\pm$ 5,3**	0,000	0,044	0,000	48,783	0,000	0,23

Примечание: В таблице указаны достоверные значения при $p < 0,05$; * - $p < 0,05$ в сравнении с контролем, ** - $p < 0,001$ в сравнении с контролем

При ЭФ ИКБ, в отличие от БЭФ заболевания, установлен повышенный уровень альбуминов сыворотки крови, активная продукция IL-8, а также снижение синтеза и β - и γ -глобулинов. У пациентов с сочетанным течением ИКБ с КЭ наблюдался дефицит γ -глобулинов сыворотки крови, повышенные концентрации $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -глобулинов и IL-8 в сравнении с показателями в I и II группах пациентов (Табл. 1).

Дисперсионный анализ позволил численно определить информативность тех или иных лабораторных показателей в дифференциальной диагностике различных клинических форм ИКБ, согласно которым, наибольшую информативность имеет уровень продукции IL-8

($\eta^2=0,23$), наименьшую – уровень белковых фракций сыворотки крови: альбуминов ($\eta^2=0,04$), $\alpha 1$ -глобулинов ($\eta^2=0,03$), $\alpha 2$ -глобулинов ($\eta^2=0,02$), β -глобулинов ($\eta^2=0,02$), и γ -глобулинов ($\eta^2=0,06$; табл. 1). Определяющее значение для клинической формы острой боррелиозной инфекции имеет состояние хемотаксиса, основным маркером которого является уровень IL-8. Следовательно, регуляция воспалительного процесса и дифференцировка вариантов клинического течения боррелиозной инфекции происходят на уровне цитокиновой регуляции. Дифференциальная диагностика эритемной, безэритемной форм болезни и сочетанного течения ИКБ с КЭ по уровню белковых фракций сыворотки крови, доступных для широкого клинического использования, на практике является малоинформативной. Учитывая слабую выраженность патофизиологических различий, вероятно, целесообразно проводить патогенетическую терапию, направленную на купирование воспалительного процесса, с использованием сходных схем лечения.

Описанные изменения в соотношениях белковых фракций сыворотки крови и исследуемых цитокинов у пациентов с различными клиническими формами ИКБ согласуются с полученными при статистическом анализе результатами в зависимости от органических поражений у пациентов I, II и III групп (Табл. 2). У пациентов с поражением опорно-двигательного аппарата при ЭФ ИКБ наблюдалось более высокое содержание альбуминов, сниженная концентрация γ -глобулинов и усиленная продукция IL-8 в сравнении с показателями при БЭФ заболевания. При сочетанном течении ИКБ с КЭ отмечалось угнетение синтеза γ -глобулинов и повышенная продукция IL-8 по сравнению с показателями пациентов с БЭФ болезни.

У пациентов с поражением нервной системы повышенный синтез IL-8 наблюдался при микст-инфекции ИКБ с КЭ и при ЭФ ИКБ в сравнении с БЭФ заболевания. Сочетанное течение ИКБ с КЭ сопровождалось дефицитом γ -глобулинов сыворотки крови в сравнении с показателями при ЭФ и при БЭФ заболевания (Табл. 2).

При поражении сердечно-сосудистой системы течение БЭФ ИКБ (II) сопровождалось угнетением продукции IL-8, о чем свидетельствовала достоверность различий в его уровнях в сравнении со значениями при ЭФ болезни и при микст-инфекции ИКБ с КЭ. При сочетанном течении ИКБ с КЭ отмечалось снижение фракции альбуминов сыворотки крови по сравнению с ЭФ и БЭФ заболевания (Табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная характеристика воспалительных маркеров в зависимости от органических поражений при различных клинических формах иксодового клещевого боррелиоза

Показатели	Органные поражения	I группа (n=54)	II группа (n=189)	III группа (n=165)	p (I-II)	p (I-III)	p (II-III)
Альбумины (%)	ОДА	59,3±1,5	56,7±0,5	57,3±0,8	0,028	—	—
	НС	56,9±1,3	56,3±0,5	58,2±1,1	—	—	—
	ССС	59,8±0,7	60,0±0,8	57,5±0,7	—	0,043	0,034
γ-глобулины (%)	ОДА	16,8±1,1	19,4±0,4	17,8±0,7	0,012	—	0,036
	НС	20,1±1,5	19,3±0,4	16,9±0,7	—	0,032	0,002
	ССС	17,7±0,6	17,7±0,6	17,2±0,5	—	—	—
IL-8 (pg/ml)	ОДА	97,5±12,3	67,5±3,3	118,3±10,6	0,001	—	0,000
	НС	86,8±13,4	64,7±3,7	118,1±11,9	0,033	—	0,000
	ССС	96,2±7,8	63,5±2,8	105,7±7,1	0,000	—	0,000

Примечание: Указаны достоверные различия результатов; ОДА – опорно-двигательный аппарат, НС – нервная система, ССС – сердечно-сосудистая система

Однофакторный дисперсионный анализ показал наименьшую продукцию IL-8 у пациентов с БЭФ ИКБ, а наибольшую – при сочетанном течении ИКБ с КЭ вне зависимости от определенных органических поражений (Рис. 1). Наибольший дефицит γ-глобулинов сыворотки крови наблюдался у пациентов с поражением опорно-двигательного аппарата при ЭФ заболевания и с поражением нервной системы при микст-инфекции ИКБ с КЭ (Рис. 2).

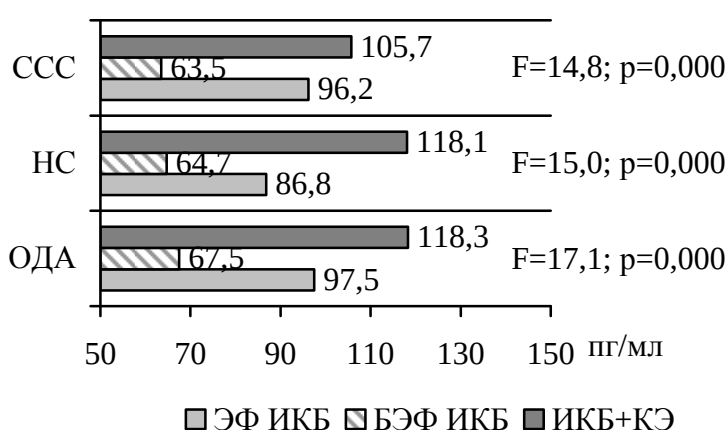


Рис. 1. Информативность показателей продукции IL-8 для дифференциальной диагностики органических поражений при различных клинических формах иксодового клещевого боррелиоза

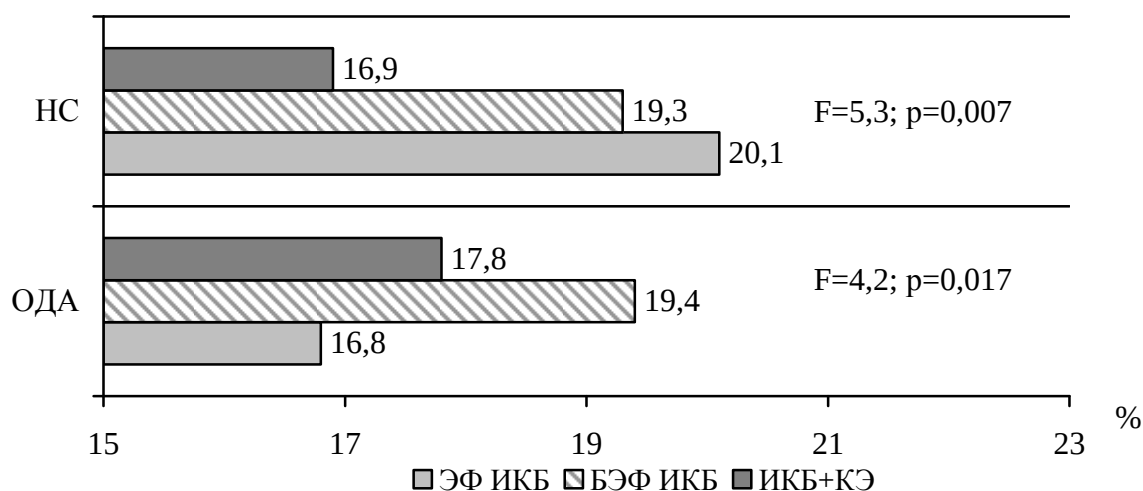


Рис. 2. Информативность уровней γ -глобулинов сыворотки крови для дифференциальной диагностики органических поражений при различных клинических формах иксодового клещевого боррелиоза

Заключение

Усиленная продукция IL-8 при ЭФ ИКБ, в отличие от БЭФ заболевания, может являться дифференциальным критерием, т.к. в очаге воспаления местное действие IL-8 усиливает адгезию и дегрануляцию нейтрофилов, стимулирует выброс свободных радикалов и фагоцитоз, а также способствует ускорению завершения воспалительного процесса [2, 8]. При поражении опорно-двигательного аппарата дифференциальными критериями ЭФ заболевания следует считать повышенный синтез альбуминов и дефицит γ -глобулинов сыворотки крови. Особенности состава белковых фракций свидетельствуют о преобладании острой фазы воспалительного процесса при ЭФ ИКБ.

Выявлено несколько отличительных признаков сочетанного течения ИКБ с КЭ от моноинфекции боррелиоза. Повышенный уровень продукции IL-8 при микст-инфекции вне зависимости от органических поражений можно объяснить тем, что тяжесть клинической картины заболевания складывалась из влияний бактериальной и вирусной инфекции, что, вероятно, привело к меньшим сдвигам соотношения Th1/Th2 механизмов иммунного ответа. Сниженный уровень альбуминов при поражении сердечно-сосудистой системы можно объяснить менее острым течением воспалительного процесса при микст-инфекции ИКБ. Напротив, дефицит γ -глобулинов при поражении опорно-двигательного аппарата и нервной системы может быть связан с востребованностью механизмов цитотоксического иммунитета для иммунного ответа на вирусный компонент микст-инфекции.

Список литературы

1. Бедарева Т.Ю., Попонникова Т.В., Вахрамеева Т.Н. Изменения цитокинового статуса и уровня антимикробных пептидов при клещевых нейроинфекциях у детей // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - № 7. – С. 22-25.
2. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследований уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2. - № 3. – С. 20-35.
3. Коренберг Э.И. Инфекции группы Лайм-боррелиоза – иксодовые клещевые боррелиозы в России // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1996. - № 3. – С. 3-10.
4. Лобзин Ю.В. Усков А.Н., Козлов С.С. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы). – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2000. – 160 с.
5. Скрипченко Н.В., Балинова А.А. Современные представления о патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов // Журнал инфектологии. – 2012. – Т. 4. - № 2. – С. 5-14.
6. Ткачук В. А. Клиническая биохимия. – М.: Издательство ГЭОТАР-Медиа, 2004. – 515 с.
7. Müllegger R. R., Means T. K., Shin J. J. et al. Chemokine signatures in the skin disorders of Lyme borreliosis in Europe: predominance of CXCL9 and CXCL10 in erythema migrans and acrodermatitis and CXCL13 in lymphocytoma // Infect. Immun. – 2007. – Vol. 75. - № 9. – P. 4621-4628.
8. Stanek G., Wormser G. P., Gray J., Strle F. Lyme borreliosis // Lancet. – 2012. – Vol. 379, № 9814. – P. 461-473.
9. Widhe M., Grusell M., Ekerfelt C. et al. Cytokines in Lyme borreliosis: lack of early tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta1 responses are associated with chronic neuroborreliosis // Immunology. – 2002. – Vol. 107. - № 1. – P. 46-55.

Рецензенты:

Аитов К.А., д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней Иркутского государственного медицинского университета, г. Иркутск.

Тихонова Е.П., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.