

КЛЕЩЕВОЙ ЭНЦЕФАЛИТ: ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ И ВАРИАНТАХ ТЕЧЕНИЯ НЕЙРОИНФЕКЦИИ**Лариса Олеговна ЧЕРНИЦЫНА***ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2*

Получены данные по достоверным различиям в напряженности гуморального иммунного ответа у больных с разными клиническими формами и вариантами течения клещевого энцефалита (КЭ). Тяжелое течение заболевания КЭ характеризовалось компенсаторным, более интенсивным синтезом специфических иммуноглобулинов всех классов, а также дизиммуноглобулинемией, проявляющейся непропорционально интенсивным синтезом IgM-антител в острый период болезни, длительным (более 6 месяцев) их выявлением в крови больных в высоком титре ($5,0-5,8 \log_2$ СГТ). Инфекционный процесс при двухволновом течении КЭ характеризовался замедленной антителопродукцией, более низким уровнем специфических антител в остром периоде болезни во время первой волны лихорадки. При двухволновом течении КЭ наиболее выражена дизиммуноглобулинемия, характеризующаяся преимущественным и длительным синтезом IgM-антител с задержкой их переключения на синтез IgG-антител (до 35-го – 42-го дня болезни), особенно при формах КЭ, сопровождающихся поражением оболочек и/или вещества мозга. Кроме того, выявлены различия между формами двухволнового течения КЭ: развитие менингоцеребральных симптомов на высоте второй волны лихорадки отмечается у лиц с замедленным темпом накопления и достоверно более низким уровнем специфических IgG-антител.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, гуморальный иммунный ответ, двухволновое течение КЭ.

Клиника клещевого энцефалита (КЭ) крайне полиморфна и представляет собой спектр разнообразных ответов на вторжение вируса в организм человека. Клинический спектр заболевания располагает как легкими лихорадочными формами инфекции, так и тяжелыми клиническими формами болезни, сопровождающимися поражением оболочек и вещества мозга. Следует отметить, что при трансмиссивном пути заражения, как и при алиментарном, в ряде случаев встречается двухволновое течение инфекции (двухфазное течение острого периода болезни). Двухволновое течение КЭ наблюдается почти во всех очагах его ареала, но соотношение его с одноволновым течением в разных районах и в разные периоды наблюдения различно. По данным Е.Н. Левкович (1963), количество двухволновых форм возрастает по мере движения с Востока на Запад: Дальний Восток – 6–14%, Западная Сибирь – 19–23%, Северо-Запад России, Белоруссия – до 75% [1, 2]. По данным В.А. Борисова с соавт. в последнее время в России наблюдается явное смещение регионов наибольшей распространенности двухволнового КЭ с европейской части в Сибирь: Дальний Восток – 3–4%, Восточная Сибирь – 19–23%, Северо-Западный регион – 12–15% [2–4]. Клиническая форма КЭ при этом определяется особенностями клиники заболевания на второй волне лихорадки [1–3, 5].

До настоящего времени патогенез развития двухволнового течения КЭ изучен недостаточно. Существует мнение, что оно вызывается чаще штаммами, имеющими относительно низкую вирулентность и большую висцеротропность [1]. Но учитывая тот факт, что двухволновое течение КЭ встречается в тех же эпидемиологических очагах, что и одноволновое, можно предположить, что наряду с особенностями вируса КЭ (ВКЭ) для развития двухволнового течения болезни, по-видимому, имеют значение и особенности организма инфицированного через укус клеща человека.

Известно, что патологические изменения, развивающиеся в инфицированном организме, обусловлены не только воздействием вируса на клетки и ткани хозяина, но и участием в формировании иммунопатологических реакций, индуцированных вирусом-возбудителем. Отличительной чертой гуморального иммунного ответа при инфекционных заболеваниях является удивительная гетерогенность популяции синтезирующихся в организме антител [6]. Иммунная система может выполнять различные функции благодаря синтезу антител с одинаковой специфичностью, но принадлежащих к разным классам (изотипам) с разными биологическими свойствами. Учитывая особую роль антител класса М в иммунопатологических процессах, можно предполагать, что степень нарушения как интенсивности синтеза

Черницына Л.О. – канд.м.н., зав. лабораторией клещевых инфекций Отдела региональных проблем инфекционной патологии, e-mail: neuroinf@mail.ru

и катаболизма специфических иммуноглобулинов основных классов (IgM и IgG), так и определенной последовательности их синтеза в течение инфекции, направленной на повышение аффинитета связывающего центра антитела к антигену, должно, по-видимому, тесно коррелировать с особенностями клинического течения инфекции [7].

Целью исследования было определение особенностей гуморального иммунного ответа у больных с КЭ при различных формах и вариантах течения инфекции в остром периоде болезни и при катamnестическом наблюдении.

Материал и методы исследования

257 больных клещевым энцефалитом (КЭ) Советского района г. Новосибирска обследовали в эпидсезоны КЭ 1988–2000 гг. еженедельно в динамике инфекционного процесса, а затем через 6 месяцев (96 больных), 1 год (47 больных), 2–3 года (40 больных). Диагноз КЭ подтверждался на основании эпидемиологических, анамнестических, клинических и лабораторных данных. Верификация диагноза всем обследованным больным проведена по общепринятым критериям с использованием реакции подавления гемагглютинации (РПГА) и иммуноферментного анализа (ИФА) — для выявления противовирусных антител, полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для детекции РНК ВКЭ в крови и ликворе пациентов. Для определения формы КЭ использовали также общепринятую классификацию [1].

Среди обследованных больных преобладали лица мужского пола (190 человек — 73,9%). Возраст мужчин и женщин составлял в среднем $30,3 \pm 1,2$ и $35,0 \pm 2,4$ лет соответственно. Преобладали лица молодого возраста (от 16 до 50 лет) — 164 человека (63,8%). Среди наблюдавшихся больных было 89 человек (34,6%) с лихорадочной формой КЭ, 132 (51,4%) — с менингеальной, у 36 пациентов (14,0%) заболевание сопровождалось поражением вещества головного и/или спинного мозга. Одноволновое течение КЭ наблюдалось у 173 больных (67,3%), двухволновое — у 84 (32,7%). Путь заражения у наблюдаемых нами пациентов с двухволновым течением КЭ был только трансмиссивным.

У 21 из 89 больных (23,6%) лихорадочной формой КЭ и из 84 больных (25,0%) с двухволновым течением КЭ спустя 6–15 дней после снижения температуры наблюдался рецидив лихорадочного состояния большей продолжительности ($7,8 \pm 0,53$ дней) по сравнению

с длительностью лихорадочного периода на первой волне, которая исчислялась $5,2 \pm 0,28$ днями. У 63 из 132 больных (47,7%) менингеальной формой КЭ и из 84 больных (75,0%) с двухволновым течением КЭ — на высоте второй волны лихорадки (1–2 день) развилось поражение оболочек (54 пациента) и/или вещества мозга (9 больных). Длительность лихорадочного периода составила при одноволновом течении менингеальной формы $7,2 \pm 0,32$, при двухволновом — $7,5 \pm 0,36$ дня. Длительность лихорадки у больных с очаговыми поражениями нервной системы была самой продолжительной и исчислялась $8,7 \pm 0,48$ днями.

Материалом для исследования служила сыворотка крови пациентов, забор которой осуществлялся в строгом соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека».

Специфический иммунный ответ оценивали у больных КЭ по показателям реакции подавления гемагглютинации (РПГА), исходя из данных J. Bellanti с соавт. о том, что эта реакция позволяет наиболее полно выявить антитела к флавивирусам, приуроченным к различным классам иммуноглобулинов. РПГА ставили по методу D. Clarke и J. Casals с 8 АЕ антигена. Антиген для РПГА готовили методом сахарозно-ацетоновой экстракции из мозга инфицированных вирусом КЭ (штамм Софьин) мышей-сосунков по R. Chanock и A. Sabin. Для удаления неспецифических ингибиторов гемагглютинации испытуемые сыворотки обрабатывали ацетоном. Разводящей жидкостью для антигенов и сывороток служил боратный буферный раствор pH 9,0 с 0,4% бычьего альбумина. Реакцию сопровождали контролями рабочей дозы антигена, гусиных эритроцитов, стандартной отрицательной и положительной сыворотками, определяли полноту удаления ингибиторов и освобождения сывороток от неспецифических гемагглютининов. Титр специфических антител выражали обратной величиной разведения, при котором полностью подавлялась гемагглютинация.

Дифференциацию антител по основным классам иммуноглобулинов (IgA, IgM и IgG) осуществляли с помощью метода ионообменной хроматографии в модификации В.П. Кветкова и И.К. Петровской [8]. В качестве «молекулярного сита» при этом использовали ДЭАЭ-целлюлозу ss («Serva»). В основу метода положено фракционирование белков на

колонках с ДЭАЭ-целлюлозой путем ступенчатой элюции фракций фосфатными буферными растворами возрастающей молярности (0,02 М — для IgG, 0,08 М — для IgA, 0,25 М — для IgM). Выход белка определяли в предварительных контрольных опытах визуально по качественной реакции порции элюата с реактивом Фолина, позволяющей установить объемы фракций. Полученные фракции концентрировали до объема 5 мл, что по количеству содержащегося в них иммуноглобулина соответствовало разведению испытуемой сыворотки 1:10. Контроль чистоты фракций осуществляли с помощью иммуноэлектрофореза. С полученными таким путем хроматографическими фракциями проводили серологические реакции, что позволило установить приуроченность специфических антител к трем основным классам иммуноглобулинов. В опыте использовали моноспецифические к отдельным классам иммуноглобулинов сыворотки фирм «Sevac» и «Beringwer-ke». Серологические и иммунохимические исследования проводили в процессе совместной работы на базе лаборатории инфекционной иммунологии (зав. — д.м.н. Э.А. Кветкова) ГУ «Омский НИИ природноочаговых инфекций» Минздрава России.

В качестве средней величины нескольких определений различных показателей титров антител использовали среднюю геометрическую обратного титра (СГТ) антигемагглютининов, которую выражали в виде \log_2 СГТ. Для характеристики варьирования признака вычисляли ошибку средней (m). Достоверность различий между отдельными группами наблюдения в показателях динамики иммунного ответа (по уровню синтеза IgM- и IgG-антител), представленной в виде кривых, в оппозиционных группах, выделенных по форме и варианту течения КЭ, определяли с использованием особого варианта двухфакторного дисперсионного анализа, предложенного Н.А. Плохинским [9]. Сравнение двух процессов (кривых), соответствующих средним значениям показателей иммунологических реакций для сравниваемых групп, проходило по двум показателям — по критерию различия среднего уровня течения процессов (критерий F_1) и по критерию расхождения направления процессов, т.е. по параллельности или непараллельности их течения (критерий F_2).

Достоверность различия рядов (среднего уровня течения процессов) контролировалась превышением эмпирических показателей критериев (F_1 , F_2) над теоретическим значением критерия Фишера (F_{st}) для соответствующего

уровня значимости [10]. В использованном нами алгоритме Н.А. Плохинского первый фактор имел 2 градации (A_1 , A_2), соответствующие двум сравниваемым группам (процессам), а второй — несколько градаций (B_1 , B_2 , ..., B_5) по числу организованных во времени точек наблюдения за динамикой гуморального иммунного ответа на ВКЭ. После того, как достоверно устанавливали действие фактора, измеряли силу его влияния на исследуемые процессы. Применяли основной способ измерения силы влияния факторов А и В в общей сумме всех случайных, неорганизованных в исследовании факторов на течение инфекционного процесса в оппозиционных группах путем вычисления квадрата пирсоновского корреляционного отношения [9]. Критерий достоверности влияния — $F_1(a)$ и $F_1(b)$ — получали как отношение показателя силы влияния к его ошибке, сравнивали его с F_{st} для соответствующего уровня значимости [11].

Результаты исследования

Оценка динамики синтеза антител выявила раннее их появление в периферической крови больных вне зависимости от клинической формы заболевания. В первые 4 дня болезни уровень антител в целом по группе обследованных больных составил $6,6 \pm 0,95 \log_2$ СГТ. В последующие сроки наблюдения количество антител повышалось и достигало максимальных значений на 21-й — 28-й день ($9,5 \pm 0,35$ — $9,7 \pm 0,34 \log_2$ СГТ). Позже кривая титра антител плавно снижалась, и через 2—3 года после перенесенного заболевания он составил $6,4 \pm 0,40 \log_2$ СГТ.

Количество IgM- и IgG-антител было также достаточно высоким уже при первом обследовании (первые 4 дня болезни). При этом количество IgM-антител превышало содержание IgG-антител ($5,8 \pm 0,81$ и $3,6 \pm 0,59 \log_2$ СГТ соответственно). Переключение синтеза IgM-антител на синтез IgG-антител отмечено на 28-й день болезни. Однако и после этого уровень IgM-антител оставался высоким до 42-го дня: $7,8 \pm 0,33 \log_2$ СГТ — на 21-й день, когда был зарегистрирован перекрест титров IgM- и IgG-антител, и $6,9 \pm 0,30 \log_2$ СГТ — на 42-й день болезни. Затем титр антител непрерывно снижался на протяжении всего последующего периода наблюдения. Через 1 год после перенесенного КЭ он составил $4,9 \pm 0,30 \log_2$ СГТ, через 2—3 года — $4,1 \pm 0,29 \log_2$ СГТ. Количество IgG-антител увеличивалось с первых дней болезни до 35-го дня болезни, когда достигало $8,1 \pm 0,38 \log_2$ СГТ. Через год отмечено снижение титра антител этого класса до $6,6 \pm 0,30 \log_2$ СГТ и сохранение его затем

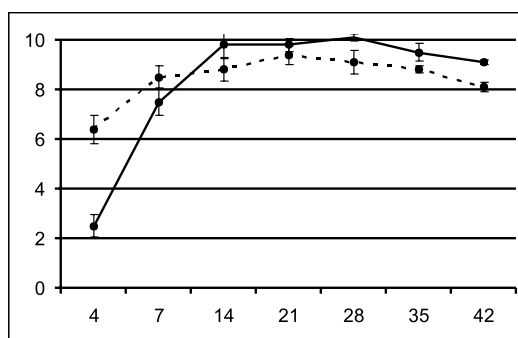
на уровне $5,7 \pm 0,33 \log_2$ СГТ в течение 2–3 лет наблюдения. Динамика изменения содержания IgA-антител характеризовалась появлением их в крови больных в первые 4 дня болезни в титре $2,7 \pm 0,15 \log_2$ СГТ, повышением титров до 28-го дня ($4,1 \pm 0,14 \log_2$ СГТ) и постепенным падением до $3,1 \pm 0,29 \log_2$ СГТ через 2–3 года.

Сравнительная оценка показателей иммунного ответа у больных менингеальной формой КЭ и формами с поражением вещества мозга не выявила достоверных различий в уровне и темпах накопления противовирусных антител между ними, что позволило объединить их для анализа в одну группу. У больных КЭ с поражением вещества мозга отмечалась лишь тенденция к более низкому уровню IgG-антител.

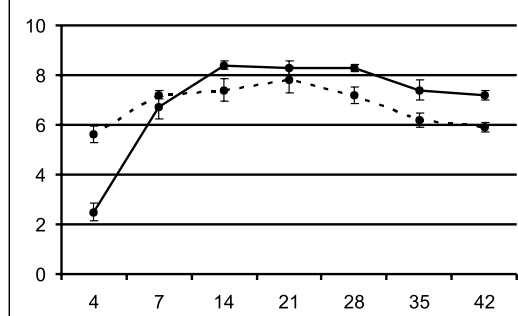
Сравнительный анализ уровня и динамики гуморального иммунного ответа у больных с разными клиническими формами выявил достоверно более высокий уровень противовирусных антител у больных с поражением оболочек и/или вещества мозга в остром периоде болезни, а также через 6 мес., 1 год, 2–3 года после перенесенного заболевания (критерий $F_1 = 23,9$; $p < 0,001$) (табл. 1). Наиболее выраженные различия касались содержания IgM-антител (критерий $F_1 = 36,3$; $p < 0,001$). Уровень последних был выше у больных с поражением оболочек и/или вещества мозга уже с 4-го дня болезни ($6,6 \pm 0,94 \log_2$ СГТ против $5,2 \pm 0,88 \log_2$ СГТ, $p < 0,01$). Разница в количестве IgM-антител у больных лихорадочной формой и формами с поражением оболочек и/или вещества мозга сохранялась на протяжении всего острого периода болезни, особенно выраженной разница была в первые две недели ($p < 0,01$), а также при обследовании через 6 мес. ($5,8 \pm 0,16 \log_2$ СГТ против $5,0 \pm 0,22 \log_2$ СГТ, $p < 0,05$) и через 2–3 года ($4,5 \pm 0,32 \log_2$ СГТ против $3,6 \pm 0,32 \log_2$ СГТ, $p < 0,05$). Более высоким у этих больных был уровень и IgG-антител ($F_1 = 7,6$; $p < 0,01$), за исключением первых 4-х дней болезни. Достоверные различия в уровне IgG-антител сохранялись при обследовании через год ($7,0 \pm 0,31 \log_2$ СГТ против $6,3 \pm 0,32 \log_2$ СГТ, $p < 0,05$) и через 2–3 года ($6,5 \pm 0,32 \log_2$ СГТ против $5,0 \pm 0,35$, $p < 0,01$). Количество IgA-антител у больных с менингоцеребральными синдромами было несколько выше (за исключением первых 4-х дней болезни), чем при лихорадочной форме, но это различие было недостоверным.

Нами было проведено отдельное сравнение двухволнового течения КЭ с одноволновым — без развития менингоцеребральных синдромов и с их развитием на второй волне лихорадки.

а



б



в

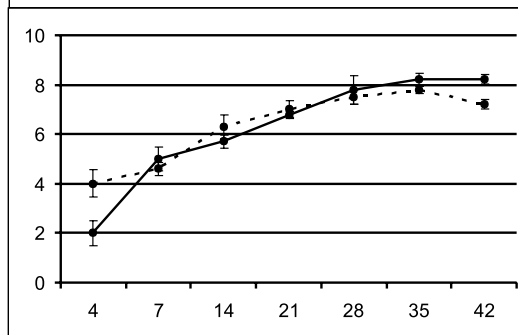


Рис. 1. Динамика синтеза противовирусных антител у больных лихорадочной формой клещевого энцефалита ($M \pm m$).

По оси абсцисс — дни болезни; по оси ординат — \log_2 средней геометрической обратной титра антител; (---) — одноволновое течение, (—) — двухволновое течение; а — общий титр антител в РПГА, б — IgM-антитела, в — IgG-антитела.

Сравнительный анализ динамики антителообразования у больных с одной и двумя волнами лихорадки (без развития менингоцеребральных симптомов во второй фазе) показал (табл. 2), что в целом по среднему уровню течения процесса синтеза противовирусных антител (критерий F_1) различия недостоверны ($F_1 = 0,9$; $p > 0,05$). Но динамика накопления антител в целом и специфических иммуноглобулинов класса М в частности отличалась по критерию F_2 ($F_2 = 3,1$; $p < 0,01$ и $F_2 = 2,3$; $p < 0,05$ соответственно), т.е. кривые накопления антител при двухволновом и одноволновом характере лихорадки имели разнонаправленный характер (рис. 1). В первые дни болезни при двух-

Таблица 1

Сравнительная характеристика синтеза антител у больных с разными клиническими формами клещевого энцефалита в динамике инфекционного процесса

Анти- тела	Клиническая форма	Дни болезни							Месяцы, годы			F1
		4	7	14	21	28	35	42	6 мес.	1 год	2-3 года	
Сум- мар- ные	Лихорадочная	6,0 ± 0,98	8,1 ± 0,67	8,9 ± 0,47	9,5 ± 0,42	9,4 ± 0,47	9,1 ± 0,55	8,5 ± 0,42	7,5 ± 0,22	6,7 ± 0,29	5,8 ± 0,33	23,9***
	Менингеальная + очаговая	7,2 ± 0,92	9,1 ± 0,45	9,7 ± 0,28	9,9 ± 0,25	9,7 ± 0,24	9,6 ± 0,26	9,2 ± 0,31	8,0 ± 0,20	7,2 ± 0,26	7,3 ± 0,37	
	p	< 0,01	< 0,01	< 0,01	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,01	
IgA	Лихорадочная	2,8 ± 0,17	3,3 ± 0,17	3,6 ± 0,14	3,8 ± 0,13	4,0 ± 0,17	3,9 ± 0,27	3,7 ± 0,23	3,7 ± 0,19	3,5 ± 0,26	2,8 ± 0,26	1,8
	Менингеальная + очаговая	2,6 ± 0,14	3,5 ± 0,11	3,8 ± 0,16	4,1 ± 0,09	4,2 ± 0,10	4,1 ± 0,12	4,0 ± 0,14	3,8 ± 0,13	3,6 ± 0,20	3,5 ± 0,28	
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
IgM	Лихорадочная	5,2 ± 0,88	7,1 ± 0,50	7,5 ± 0,51	7,9 ± 0,45	7,6 ± 0,42	6,9 ± 0,46	6,5 ± 0,33	5,0 ± 0,22	4,5 ± 0,29	3,6 ± 0,32	36,3***
	Менингеальная + очаговая	6,6 ± 0,94	8,1 ± 0,44	8,5 ± 0,29	8,4 ± 0,22	8,1 ± 0,22	7,7 ± 0,28	7,3 ± 0,32	5,8 ± 0,16	5,0 ± 0,25	4,5 ± 0,32	
	p	< 0,01	< 0,01	< 0,01	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	
IgG	Лихорадочная	3,7 ± 0,63	4,6 ± 0,46	6,2 ± 0,42	7,0 ± 0,38	7,6 ± 0,41	8,0 ± 0,46	7,6 ± 0,45	6,6 ± 0,20	6,3 ± 0,32	5,0 ± 0,35	7,6**
	Менингеальная + очаговая	3,4 ± 0,63	5,2 ± 0,44	6,5 ± 0,32	7,5 ± 0,29	8,0 ± 0,22	8,2 ± 0,31	8,0 ± 0,28	7,1 ± 0,18	7,0 ± 0,31	6,5 ± 0,32	
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,01	

Примечания: Значения содержания противовирусных антител ($M \pm m$) в нативной сыворотке и специфических иммуноглобулинов (Ig) класса M и G даны в виде \log_2 средней геометрической обратной титра антигеммаглобулинов; p – достоверность различий: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; F₁ – критерий сравнения среднего уровня течения процессов (синтеза антител).

Таблица 2

Сравнительная характеристика синтеза противовирусных антител у больных с различными вариантами течения лихорадочной и менингеальной формы клещевого энцефалита

Форма болезни	Вариант течения	Антитела	Дни болезни								Критерий	
			4	7	14	21	28	35	42		F ₁	F ₂
Лихорадочная	Одноволновой	Суммарные	6,4 ± 0,57	8,5 ± 0,47	8,8 ± 0,49	9,4 ± 0,38	9,1 ± 0,48	8,8 ± 0,14	8,1 ± 0,19		0,9	3,1**
	Двухволновой		2,5 ± 0,46	7,5 ± 0,56	9,8 ± 0,54	9,8 ± 0,27	10,1 ± 0,14	9,5 ± 0,37	9,1 ± 0,10			
		p	< 0,001	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05			
	Одноволновой	IgM	5,6 ± 0,33	7,2 ± 0,16	7,4 ± 0,47	7,8 ± 0,52	7,2 ± 0,34	6,2 ± 0,28	5,9 ± 0,19		2,5	2,3*
	Двухволновой		2,5 ± 0,36	6,7 ± 0,46	8,4 ± 0,17	8,3 ± 0,28	8,3 ± 0,14	7,4 ± 0,42	7,2 ± 0,18			
		p	< 0,01	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05			
	Одноволновой	IgG	4,0 ± 0,55	4,6 ± 0,27	6,3 ± 0,49	7,0 ± 0,37	7,5 ± 0,31	7,8 ± 0,14	7,2 ± 0,18		0,03	1,4
	Двухволновой		2,0 ± 0,49	5,0 ± 0,46	5,7 ± 0,25	6,8 ± 0,14	7,8 ± 0,57	8,2 ± 0,28	8,2 ± 0,19			
Менингеальная		p	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05			
	Одноволновой	Суммарные	8,2 ± 0,57	9,4 ± 0,36	9,8 ± 0,21	9,8 ± 0,37	9,6 ± 0,15	9,4 ± 0,28	9,2 ± 0,24		8,7**	16,7***
	Двухволновой		2,4 ± 0,42	6,6 ± 0,36	9,1 ± 0,38	9,9 ± 0,21	9,9 ± 0,31	9,9 ± 0,39	9,6 ± 0,43			
		p	< 0,001	< 0,001	< 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05			
	Одноволновой	IgM	7,5 ± 0,41	8,3 ± 0,42	8,4 ± 0,27	8,2 ± 0,29	7,8 ± 0,11	7,4 ± 0,46	7,2 ± 0,22		0,4	13,3***
	Двухволновой		2,4 ± 0,28	6,1 ± 0,19	8,2 ± 0,25	8,8 ± 0,26	8,4 ± 0,21	8,3 ± 0,27	7,5 ± 0,19			
		p	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05			
	Одноволновой	IgG	3,9 ± 0,36	5,8 ± 0,46	6,9 ± 0,27	7,8 ± 0,25	8,1 ± 0,36	8,2 ± 0,30	8,1 ± 0,11		20,4***	4,1***
	Двухволновой		2,0 ± 0,39	3,5 ± 0,45	5,7 ± 0,35	7,1 ± 0,42	8,1 ± 0,31	8,1 ± 0,18	8,1 ± 0,24			
		p	< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05			

Примечание: Значения содержания противовирусных антител ($M \pm m$) в нативной сыворотке и специфических иммуноглобулинов (Ig) класса M и G даны в виде \log , средней геометрической обратной титра антигемагглютининов; p – достоверность различий: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; F₁ – критерий сравнения среднего уровня течения процессов (синтеза антител), F₂ – критерий расхождения направления процессов (синтеза антител).

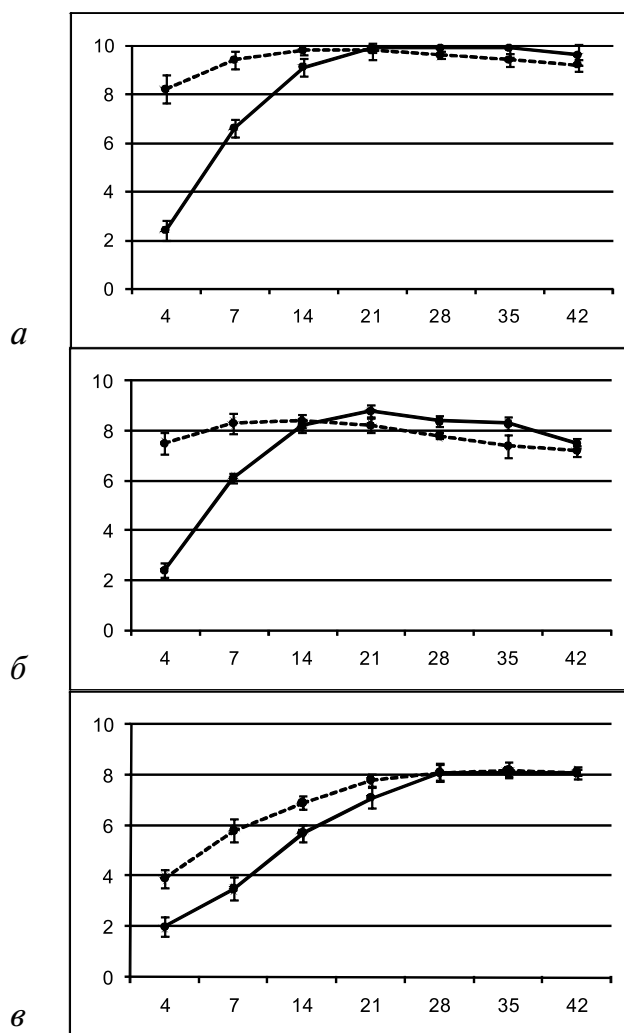


Рис. 2. Динамика синтеза противовирусных антител у больных менингеальной формой клещевого энцефалита ($M \pm m$). По оси абсцисс — дни болезни; по оси ординат — \log_2 средней геометрической обратной титра антител; (---) — одноволновое течение, (—) — двухволновое течение; а — общий титр антител в РПГА, б — IgM-антитела, в — IgG-антитела.

волновом течении лихорадки наблюдались достоверно более низкий общий титр антител ($2,5 \pm 0,46 \log_2$ СГТ против $6,4 \pm 0,57 \log_2$ СГТ, $p < 0,001$), IgM- ($2,5 \pm 0,36 \log_2$ СГТ против $5,6 \pm 0,33 \log_2$ СГТ, $p < 0,01$) и IgG-антител ($2,0 \pm 0,49 \log_2$ СГТ против $4,0 \pm 0,55 \log_2$ СГТ, $p < 0,05$). В дальнейшем идет более медленное (по сравнению с одноволновым течением) накопление суммарных и IgM-антител, но с 14-го дня болезни синтез суммарных и IgM-антител начинал превалировать над синтезом антител в группе с одноволновым течением КЭ: $8,4 \pm 0,17 \log_2$ СГТ против $7,4 \pm 0,47 \log_2$ СГТ, $p < 0,05$ (14-й день) и $8,3 \pm 0,14 \log_2$ СГТ против $7,2 \pm 0,34 \log_2$ СГТ, $p < 0,05$ (28-й день болезни).

Подобного не отмечалось при синтезе специфических IgG-антител. При двухволновой лихорадке переключение с синтеза IgM-антител на синтез IgG-антител происходило с задержкой на 1 неделю, после 35-го дня болезни; титры IgM-антител держались на стабильно высоком уровне ($8,3-8,4 \log_2$ СГТ) с 14-го по 28-й день болезни.

Развитие менингоцеребральных синдромов на высоте второй волны лихорадки отмечалось у лиц с замедленным темпом накопления и достоверно более низким уровнем IgG-антител (критерий $F_1 = 20,4$, $p < 0,001$ и $F_1 = 7,8$, $p < 0,01$), особенно в первые три недели от начала болезни (табл. 2).

При развитии менингеальных синдромов на второй волне лихорадки, так же как и при двухволновом течении лихорадочной формы КЭ, отмечалось более медленное накопление IgM-антител, достижение ими максимального уровня лишь к 21-му дню болезни ($8,8 \pm 0,26 \log_2$ СГТ) с последующим преимущественным и более длительным синтезом IgM-антител, а также с задержкой переключения с синтеза IgM- на синтез IgG-антител до 42-го дня болезни. Кривые, характеризующие накопление суммарных антител и специфических иммуноглобулинов класса М и G у больных с различными вариантами течения менингеальной формы КЭ, имели разнонаправленный характер, т.е. достоверно различались по критерию F_2 (рис. 2).

Уровень специфических антител (его количественное разнообразие) на 55,0–57,9% зависел от фазы инфекционного процесса, который имел при двухволновом течении своеобразные черты, описанные выше (табл. 3).

Анализ доли влияния фактора времени на динамику гуморального иммунитета у больных с различными формами и вариантами течения КЭ показал, что наибольшие изменения во временном аспекте происходили с уровнем антител при двухволновом течении КЭ, особенно это касалось уровня IgM- (на 43,9–48,9%) и IgG-антител (на 41,8–55,4%) в зависимости от формы КЭ. При одноволновом же течении КЭ уровень специфических антител лишь на 5,9–39,7% зависел от фазы инфекционного процесса, наиболее значительно при этом варианте течения КЭ был подвержен фактору времени уровень IgG-антител (на 36,7–39,7%).

Закключение

Нами получены данные по достоверным различиям в напряженности гуморального иммунного ответа у больных с разными клиническими формами и вариантами течения КЭ.

Таблица 3

Достоверность и доля влияния фактора времени на динамику гуморального иммунитета у больных с клещевым энцефалитом с различными формами и вариантами течения (%)

Форма болезни	Вариант течения	Антитела		
		Суммарные	IgM	IgG
Лихорадочная	Одноволновой	15,9***	39,7***	9,8**
	Двухволновой	55,0*	41,8***	43,9***
Менингеальная	Одноволновой	5,9**	38,2***	6,2**
	Двухволновой	57,9***	55,4***	48,9***
Очаговая	Одноволновой	> 0,05	36,7***	22,3*
	Двухволновой	> 0,05	54,4**	> 0,05

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; > 0,05 – фактор времени не влияет достоверно на процесс накопления специфических антигемагглютининов в динамике инфекционного процесса.

Тяжелое течение заболевания КЭ характеризовалось компенсаторным, более интенсивным синтезом специфических иммуноглобулинов всех классов, а также дизиммуноглобулинемией, проявляющейся непропорционально интенсивным синтезом IgM-антител в острый период болезни, длительным (более 6 месяцев) их выявлением в крови больных в высоком титре ($5,0-5,8 \log_2$ СГТ).

Инфекционный процесс при двухволновом течении КЭ характеризовался замедленной антителопродукцией, более низким уровнем специфических антител в остром периоде болезни во время первой волны лихорадки, когда происходит гематогенное распространение вируса по организму, что, по-видимому, не способствует элиминации ВКЭ из организма и не препятствует его контакту с чувствительными клетками. При двухволновом течении КЭ наиболее выражена дизиммуноглобулинемия, характеризующаяся преимущественным и длительным синтезом IgM-антител с задержкой их переключения на синтез IgG-антител (до 35-го – 42-го дня болезни), особенно при формах КЭ, сопровождающихся поражением оболочек и/или вещества мозга.

Кроме того, выявлены различия между формами двухволнового течения КЭ: развитие менингоцеребральных симптомов на высоте второй волны лихорадки отмечается у лиц с замедленным темпом накопления и достоверно более низким уровнем специфических IgG-антител, обладающих большим сродством к антигену по сравнению с IgM-антителами. По-видимому, выявленные дефекты гуморального иммунитета, наравне с другими [12-15], и способствуют развитию второй волны заболевания, протекающей, как правило, более тяжело, чем первая.

На основании данных, анализируемых в данной статье, а также опубликованных ранее [12-15], прогностическим критерием развития второй волны КЭ с менингоцеребральными синдромами может служить высокий уровень специфических IgM-антител, сочетающийся с низким уровнем IgG-антител в РПГА и ИФА, коррелирующий с задержкой переключения с синтеза IgM- на синтез IgG-антител, с выявлением РНК вируса КЭ методом ОТ-ПЦР в межлихорадочный период на 14-й – 21-й день болезни [12,13] и антител к неструктурному белку NS1 ВКЭ методом ИФА в первые дни заболевания [14]. Таким образом, патогенез двухволнового течения КЭ сложен, многокомпонентен, тесно связан, по-видимому, в каждом конкретном случае не только с генетически детерминированными свойствами вируса, но и с иммуногенетическими особенностями инфицированного организма человека, определяющими иммунобиологическую реактивность макроорганизма на внедрение патогена [15].

Литература

1. Иерусалимский А.П. Кleshевой энцефалит. Новосибирск, 2001. 360.
2. Аммосов А.Д. Кleshевой энцефалит. Кольцово, 2004. 115.
3. Борисов В.А., Ющук Н.Д., Малов И.В., Аитов К.А. Особенности клещевого энцефалита в различных регионах // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2000. № 1. 43-47.
4. Злобин В.И., Борисов В.А., Верхожина М.М., Малов И.В., Холмогорова Г.Н. Кleshевой энцефалит в Восточной Сибири. Иркутск: РИО ВСНЦ СО РАМН, 2002. 184.

- Zlobin V.I., Borisov V.A., Verkhozina M.M., Malov I.V., Kholmogorova G.N. Tick-borne encephalitis in Western Siberia. Irkutsk: RIO VCNTs SO RAMN, 2002. 184.
5. Жукова Н.Г., Команденко Н.И., Подоплека Л.Е. Кleshchевой энцефалит в Томской области (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение). Томск: STT, 2002. 256.
- Zhukova N.G., Komandenko N.I., Podoplekina L.E. Tick-borne encephalitis in Tomsk district (etiology, epidemiology, clinics, diagnostics, treatment). Tomsk: STT, 2002. 256.
6. Иммунология инфекционного процесса / Под ред. В.И.Покровского, С.П. Гордиенко, В.И.Литвинова. М., 1994. 306.
- Immunology of infectious process // Edited by V.I. Pokrovski, S.P. Gordienko, V.I. Litvinova. M., 1994. 306.
7. Кветкова Э.А. Иммунопатогенез и морфогенез инфекционного и вакцинного процессов при клещевом энцефалите. Омск: «ЦИО», 2004. 32.
- Kvetkova E.A. Immunopathogenesis and morphogenesis of infectious and vaccinal processes at tick-borne encephalitis. Omsk: «TsIO», 2004. 32.
8. Кветков В.П., Петровская А.К. Хроматографические методы диагностической дифференциации специфических антител на уровне иммуноглобулинов: Методические рекомендации. Омск, 1972. 30.
- Kvetkov V.P., Petrovskaya A.K. Chromatographic methods of diagnostic differentiation of specific antibodies at level of immunoglobulines: Methodical recommendations. Omsk, 1972. 30.
9. Плехинский Н.А. Достоверность различия двух процессов // Биометрические методы. Москва, 1975. 48-76.
- Plokhinski N.A. Reliability of two processes difference // Biometricheskie metody. 1975. 48-76.
10. Гублер Е.В. Информатика в патологии, клинической медицине и педиатрии. Л.: Медицина, 1990. 176.
- Gubler E.V. Informatics in pathology, clinical medicine and pediatrics. L.: Meditsina, 1990. 176.
11. Лакин Б.Ф. Биометрия. М., 1990. 352.
- Lakin B.F. Biometry. Moskva, 1990. 352.
12. Черницына Л.О., Епихина Т.И., Липатникова С.В. и др. Использование в клинической практике выявления РНК вируса клещевого энцефалита (КЭ) методом ПЦР для диагностики острых и хронических форм КЭ // Актуальные проблемы природноочаговых инфекций. Ижевск, 1998. 224-227.
- Chernitsyna L.O., Epikhina T.I., Lipatnikova S.V. etc. Using of revelation of RNA of tick-borne encephalitis virus by PCR method in clinical practice for diagnostics of acute and chronic form of tick-borne encephalitis // Actual problems of feral herd infections. Izhevsk, 1998. 224-227.
13. Черницына Л.О., Мычка Н.В., Епихина Т.И. и др. Использование амплификационных тест-систем для выявления РНК вируса клещевого энцефалита у больных с различными клиническими формами и вариантами течения болезни // Генодиагностика в современной медицине. М., 2000. 237-241.
- Chernitsyna L.O., Mychka N.V., Epikhina T.I., etc. Using of amplification test-systems for revelation of RNA of tick-borne encephalitis virus in patients with different clinical forms and variants of the disease course. // Genediagnosics in modern medicine. M., 2000. 237-241.
14. Черницына Л.О., Караванов А.С. Гуморальный иммунный ответ к структурным и неструктурным белкам вируса клещевого энцефалита в динамике заболевания: клинические и диагностические аспекты // Вопр. вирусологии. 2008. № 4. 27-30.
- Chernitsyna L.O., Karavanov A.S. Humoral immune response to structural and none structural protein of tick-borne encephalitis virus in dynamic of disease: clinical and diagnostic aspects // Vopr.virusologii. 2008. № 4. 27-30.
15. Черницына Л.О., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Иерусалимский А.П. Иммуногенетические методы в прогнозе клинического течения клещевого энцефалита // Журн. невропатол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1990. №11. 38-43.
- Chernitsyna L.O., Prokofev V.F., Konenkov V.I., Ierusalimski A.P. Immunogenetic methods in prognosis for clinical course of tick-borne encephalitis // Zhurn. nevropatol. psikiatr. Im S.S. Korsakova. 1990. V. 90. № 11. 38-43.

TICK-BORNE ENCEPHALITIS: HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN DIFFERENT FORMS AND VARIANTS OF NEUROINFECTION COURSE

Larisa Olegovna CHERNITSYNA

SI RI for regional pathology and pathomorphology of SB RAMS
2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117

Data on significant difference in humoral immune response intensity in patients with different clinical forms and variants of tick-borne encephalitis courses have been received. Tick-borne encephalitis heavy course have been defined by compensatory, more intensive synthesis of all-classes immunoglobulines, displaying disproportionately intensive IgM synthesis in acute period of disease, lingering (more 6 months) their revelation in patients' blood in high titre ($5,0 - 5,8 \log_2$). Infectious process under two-wave course of tick-borne encephalitis have been defined by slowed antibody production, lower level of specific antibodies in acute period of disease during the first wave of fever. Disimmunoglobulinemia characterized by preferred and prolonged synthesis of IgM-antibodies with delay of switching to IgG-antibodies synthesis under two-wave course is more evident (especially under the forms following by damage of brain lining and/or cineria). Moreover, meningocerebral symptoms development on high of the fever second wave was revealed in patients with slowed pace of accumulation and significantly lower level of IgG-antibodies.

Key words: tick-borne encephalitis, humoral immune response, two-wave course of tick-borne encephalitis.

Chernitsyna L.O. – candidate of Medical Sciences, head of laboratory of tick-borne infections od department of regional problems of infectious pathologies, e-mail: neuroinf@mail.ru