

Иммунологические аспекты менингококковой инфекции

Фомин В. В.¹, Хаманова Ю. Б.¹, Чеснакова О. А.¹, Павленко Т. П.², Бейкин Я. Б.³

¹Кафедра детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава;

²Детское нейроинфекционное отделение МУ "ГКБ № 40";

³Диагностический центр (лабораторной диагностики ВИЧ, инфекционной патологии и болезней матери и ребенка).

Резюме. Обзор посвящен иммунологическим аспектам генерализованной менингококковой инфекции. Особое внимание уделяется комплексному функционированию цитокинов в развитии воспалительного процесса. Обсуждаются наиболее перспективные направления исследований в этой области.

Ключевые слова: менингококковая инфекция, цитокины, дети

Колонизация назофарингеального цилиндрического эпителия менингококком может служить первым шагом в развитии менингококковой инфекции (МИ). Активное и пассивное курение, предшествующие вирусные инфекции, недостаточность секреторного IgA, лизоцима увеличивают риск инфицирования [1-5]. Пили - главные адгезины [6], которые связываются с рецепторами эпителиоцитов. Это нитчатые белковые придатки, исходящие от бактериальной поверхности, пересекающие капсульный полисахарид. Взаимодействие с рецепторами CD66 на фагоцитах и эндотелиоцитах заканчивается фагоцитозом и продукцией

цитокинов - фактора некроза опухоли (ФНО- α), интерлейкина (ИЛ)-6, 8 [7], индуцирующих местный воспалительный процесс - назофарингит. Кроме того, менингококки выделяют фермент - металлопротеиназу, расщепляющий sIgA1 [8-10], что способствует вторжению микробов через орофарингеальный эпителий в лимфоидную ткань, где формируется локальная реакция [11-12]. Проникновению в кровяное русло способствуют адгезия к эндотелию и трансцитоз с помощью Орс-белков [13-15]. В дальнейшем устойчивость менингококка к бактерицидному действию сыворотки крови осуществляется благодаря сialiзации липополисахарида, а к фагоцитозу - за счет капсулы [16-18]. Активное размножение менингококка в крови приводит к эндотоксинемии. Преодоление гематоэнцефалического барьера происходит за счет трансцитоза сквозь эндотелий мозговых капилляров с последующим проникновением в субарахноидальное пространство с участием пилей, Орс-белков и капсулы.

Фомин Виталий Васильевич - Заслуженный деятель науки РФ, докт. мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава;

Хаманова Юлия Борисовна - ассистент кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава;

Чеснакова Ольга Александровна - канд. мед. наук, ассистент кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава;

Павленко Татьяна Павловна - канд. мед. наук, зав. отделением детского нейроинфекционного отделения МУ "ГКБ № 40";

Бейкин Яков Борисович - Заслуженный врач РФ, докт. мед. наук, профессор, главный врач Диагностического центра (лабораторной диагностики ВИЧ, инфекционной патологии и болезней матери и ребенка).

Представляется важным, что в последние годы удалось понять: вирулентный штамм менингококка должен не только обладать определенными свойствами, но и уметь быстро и обратимо изменять спектр и структуру поверхностных белков, полисахаридов. Так, наличие капсулы и сialiрования ЛПС препятствует адгезии, инвазии и переносу менингококков, и способствует их выживанию в кровотоке, снижая бактерицидное действие плазмы крови и фагоцитов [19-21].

В последние 20-25 лет сформировалось представление о ведущей роли цитокинов в

развитии воспалительного ответа [22, 23]. В начале 90-х годов сложились представления о единой цитокиновой системе, обеспечивающей межклеточные взаимодействия, объединяющей интерфероны, колониестимулирующие факторы, интерлейкины и факторы роста [24, 25].

При менингококковой инфекции основным индуктором синтеза цитокинов является эндотоксин, который может выделяться менингококком после разрушения и в процессе жизнедеятельности, в виде везикулярных внешних мембранных структур (пузырьков) [11, 26]. При менингококковой инфекции может быть два варианта воспалительного процесса: 1) менингококковый сепсис без признаков менингита, обусловленный высокими концентрациями эндотоксина и провоспалительных цитокинов в плазме [27, 28]; 2) менингит, сопровождающийся высокими концентрациями эндотоксина и цитокинов в спинномозговой жидкости. У этих же больных бактериологическое исследование крови часто отрицательно [14, 29, 30].

Первоначально было предположено, что пациенты с преимущественным развитием менингококцемии, генетически склонны продуцировать большее количество провоспалительных цитокинов, таких, как $\text{ФНО}\alpha$ [28, 31], но в дальнейшем эта версия была отклонена [32]. Имеются наблюдения, что шок чаще развивается у пациентов высокими концентрациями цитокинов и эндотоксина в крови и низким титром противобактерицидных антител, очевидно беспрепятственный рост и размножение менингококка гораздо более важно, чем непосредственный ответ на эндотоксин [33-38].

На основании последовательных патофизиологических событий некоторые авторы разделяют всех пациентов с ГМИ на 4 основные группы, коррелирующие с продолжительностью болезни до госпитализации: 1) пациенты с бактериемией без шока, 2) пациенты с развитием ИТШ, 3) пациенты с шоком и наличием менингита, 4) пациенты с менингитом [39-45].

Waage впервые в 1987 году выявил, что уровень $\text{ФНО}\alpha$ сыворотки крови коррелирует с летальностью [46], подобные сообщения имеются и для других цитокинов: ИЛ1, 6, 8, ИФН γ , колониестимулирующих факторов [41, 43, 44, 45, 47-49]. Современные исследования подчеркивают важность провоспалительных цитокинов в начальной защите против бактерий. Продукция провоспалительных цитокинов макрофагами в ранней стадии болезни может предотвращать генерализацию процесса [35, 50]. Невысокий уровень ФНО и более высокие показатели противовоспалительного ИЛ10 чаще

регистрировались у родственников пациентов, умерших от МИ, чем родственников пациентов, оставшихся в живых [51]. Кроме того, показано, что плазма, пациентов с инфекционно-токсическим шоком (ИТШ), предотвращает прокоагулирующее и цитокин-стимулирующее действие эндотоксина [52, 53].

Brandtzaeg et al. [52] на основании результатов своей работы заявляют, что ИЛ10 играет главную роль в сдерживании активации моноцитов и, вероятно, других ЛПС-активируемых клеток во время фульминантной МИ. Следует отметить, что ИЛ10, контролируя выработку и действие ранних эффекторов ИТШ (т. е. $\text{ФНО}\alpha$), не способен прямо противодействовать позднему медиаторам [28].

Интересно, что система комплемента продолжает активироваться в течение 12-24 часов после начала антибактериальной терапии [40, 54]. Возможно, иногда возникающее клиническое ухудшение после начала антибактериальной терапии при МИ, обусловлено этим свойством комплемента [55].

Механизмы, позволяющие проникнуть менингококку через гематоэнцефалический барьер, изучены не до конца [11, 56]. Гематогенное вторжение менингококков через ГЭБ происходит в месте, где отсутствует гуморальная и клеточная защита хозяина [32, 58]. Особенностью ЦСЖ является низкое содержание в ней иммуноглобулинов, комплемента и антител. В этих условиях бактерии быстро размножаются, образуя большое количество токсинов. Эндотоксин активирует продукцию провоспалительных цитокинов - $\text{ФНО}\alpha$, ИЛ1, 6, 8, моноцитарного колониестимулирующего фактора; и противовоспалительных цитокинов - ИЛ10, 12, антагонист рецептора ИЛ1 [40, 41, 59]. Среди них $\text{ФНО}\alpha$ и ИЛ-1 увеличивают проницаемость ГЭБ для нейтрофилов и молекул адгезии [60, 61].

Нейтрофилы, попадая из кровотока в чужеродную для них среду, отличаются низкой бактерицидной активностью, и фагоцитоз носит незавершенный характер: менингококки даже внутри нейтрофилов остаются живыми, а при распаде вновь выходят в ликворные пространства [62].

Антибиотики не сразу останавливают воспаление мягких мозговых оболочек [63]. Аналогично высоким концентрациям эндотоксина, $\text{ФНО}\alpha$, ИЛ1, 6 в плазме пациентов с менингококковым сепсисом, уровень этих же цитокинов в ЦСЖ у пациентов с менингитом увеличен.

Главное различие между менингитом и сепсисом при МИ заключается в том, что при менингите воспаление локализовано в интра-

краниальном пространстве, лишенном зимогена, принадлежащего системам комплемента и коагуляции [64, 65].

Лейкоцитоз часто наблюдается у больных с генерализованной МИ, а высвобождение ПМЯЛ из костномозговых резервов происходит под воздействием эндотоксина, цитокинов и комплемента [66]. Считается также, что определенную роль в этом процессе играют колониестимулирующие факторы гранулоцитов [20]. Однако у некоторых больных первоначально развивается транзиторная нейтропения, через несколько часов после которой наблюдают повышение количества периферических ПМЯЛ. Хотя такая транзиторная нейтропения может отражать неадекватную функцию костного мозга, или повышенную деструкцию, или потребление циркулирующих ПМЯЛ, более вероятным объяснением является активация цитокинами лейкоцитарно-эндотелиальных рецепторов адгезии, способствующих маргинации (краевому стоянию) и прилипанию нейтрофилов к эндотелиальным клеткам, причем их стаз в микроциркуляторном русле сопровождается изначальной нейтропенией [67].

Не случайно поэтому, в шкале педиатрического риска смертности для фульминантной формы МИ в качестве основного фактора риска смертности наряду с сосудистым коллапсом и активацией коагуляционной системы предложена относительная нейтропения (количество нейтрофилов периферической крови менее 10000 в 1 мм³) [68]. Кроме адгезии, стимулируются и другие свойства ПМЯЛ, включая хемотаксис, фагоцитоз и постфагоцитарные внутриклеточные явления, направленные на уничтожение поглощенного микроорганизма. Среди медиаторов, стимулирующих эти процессы, можно выделить цитокины (ФНО_α, IL1, IL8), эндотелиальные факторы, эйкозаноиды (лейкотриены, простагландины) и компоненты комплемента (C5a). IL1, напротив, стимулирует лейкоцитарную адгезию, индуцируя синтез или повышенную экспрессию адгезивных белков на эндотелиальных клетках, а ФНО- α способен индуцировать одновременно и лейкоцитарные, и эндотелиальные адгезивные молекулы [23, 62].

После описанных явлений нейтрофилы приступают к фагоцитозу и уничтожению микробов посредством дегрануляции и высвобождения ряда протеолитически; ферментов и токсических радикалов кислорода. Этот процесс может также приводить к повреждению близлежащих тканей. И, наконец, вызванное нейтрофилами повреждение окружающих тканей способствует разделению прочных сочленений эндотелиальных клеток и развитию

синдрома капиллярной утечки (повышенной проницаемости капиллярной стенки). E. S. Yi и T. R. Ulich исследуя влияние цитокинов и эндотоксина на реализацию действия нейтрофилов, обнаружили, что сосудистое повреждение и повышенная проницаемость посткапиллярных венул не развиваются у крыс с нейтропенией. Согласно воззрениям некоторых исследователей, именно нейтрофилы являются главными эффекторами ИТШ, особенно ранних его фаз [21, 22, 34].

Общеизвестно, что менингококковый липополисахарид является тимуснезависимым антигеном и формирование иммунного ответа возможно без участия Т-лимфоцитов: многократное повторение генных детерминант ведет к появлению у этих антигенов способности вовлекать В-лимфоциты в продукцию специфических антител без помощи Т-хелперов [62, 69, 70].

Имеются экспериментальные данные, что у мышей, переболевших менингококковым менингитом, появляется популяция Т-лимфоцитов со свойствами Т-клеток памяти, способная к антигензависимому пролиферативному ответу [71].

Исследование лимфоцитарного ответа при смешанной форме МИ выявило достоверное снижение количества Т и В-лимфоцитов в острой фазе заболевания IgG, IgA, комплемента, пропердина при одновременном возрастании иммунных комплексов IgM [14, 62, 69, 71-73].

Более поздние исследования субпопуляционного состава лимфоцитов с использованием расширенной панели моноклональных антител показали, что в первые 1-3 дня МИ имел место дефицит клеток, экспрессирующих CD3⁺- и CD7⁺- рецепторы, выполняющих функции Т-лимфоцитов, а также CD8⁺- цитотоксических и CD16⁺- киллеров. Отмечена высокая активность В-звена иммунитета с увеличением CD20⁺-, CD54⁺-, CD23⁺- клеток [74].

Резюмируя вышеизложенное, следует еще раз отметить малочисленность исследований, посвященных роли иммунокомпетентных клеток при ГМИ, нередкую противоречивость публикуемых результатов. Требуется дальнейшее изучение тонких механизмов нарушений иммунной регуляции для понимания причин и механизмов развития иммунопатологических состояний у детей с ГМИ.

В настоящее время, благодаря используемому в научных целях методу внутриклеточного определения цитокинов путем точной цитофлуориметрии, появилась возможность фенотипически характеризовать популяцию клеток-продуцентов цитокинов и/

или определять спектр продуцируемых цитокинов отдельными клетками. Нами впервые была предпринята попытка исследования CD3-лимфоцитов, содержащих в цитоплазме провоспалительные (ИЛ2, ИФН γ , ФНО α) и противовоспалительный (ИЛ4) цитокины, при генерализованной менингококковой инфекции у детей. Полученные данные позволили установить, что при ГМИ у детей до года в острый период в периферической крови уменьшалось количество CD3 $^+$ /ИФН γ $^-$, CD3 $^+$ /ФНО α $^-$, CD3 $^+$ /ИЛ2 $^-$ -клеток; у детей от года до трех лет - имела тенденция к увеличению количества этих же клеток; у детей старше трех лет наблюдалось повышение спонтанной цитокинпродуцирующей способности Th-1 типа.

Общей закономерностью иммунологической перестройки CD3 $^+$ -клеток было увеличение числа CD3 $^+$ /ИЛ4 $^-$ -лимфоцитов с активацией этих клеток в ответ на стимуляцию *in vitro*. При этом функциональная активность CD3 $^+$ /ИФН γ $^-$, CD3 $^+$ /ФНО α $^-$, CD3 $^+$ /ИЛ2 $^-$ -лимфоцитов была снижена, коэффициент стимуляции был ниже в 2-3 раза по сравнению со здоровыми детьми ($p < 0,05$).

От сбалансированности цитокиновой регуляции зависит состояние иммунной системы, так как цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и клеточным иммунитетом, действуя в обоих направлениях. Учитывая регуляторную функцию эндоплазматических цитокинов и, возможно, их влияние на иммунологическую перестройку, проведено исследование иммунологических показателей в зависимости от числа клеток у двух групп больных: 1-я группа - больные с преимущественно высоким содержанием провоспалительных эндоплазматических цитокинов, участвующих в формировании клеточного иммунитета (CD3 $^+$ /ИФН γ $^-$, CD3 $^+$ /ИЛ2 $^-$, CD3 $^+$ /ФНО α $^-$ -клеток (более $0,1 \times 10^9$ /л); 2-я группа - больные с низкими стартовыми показателями этих же цитокинов (менее $0,1 \times 10^9$ /л). При этом было установлено два типа иммунного реагирования.

При первом типе реагирования, когда число CD3 $^+$ -клеток, содержащих ИФН γ , ИЛ2, ФНО α , было больше $0,1 \times 10^9$ /л, отмечались более высокие показатели клеточного иммунитета и низкие показатели АФ нейтрофилов и IgG, активация клеточного звена иммунитета выражалась содружественными реакциями между Т-клетками и поглотительной активностью нейтрофилов и моноцитов ($r = 0,6$, $p < 0,05$), увеличение числа Th 2 типа сопровождалось ростом поглотительной активности нейтрофилов ($r = 0,6$, $p < 0,01$).

Второй тип реагирования характеризовался невысокими значениями клеточного иммунитета и высокими показателями АФ нейтрофилов, гранулоцитов. Низкие показатели CD3 $^+$ /ИФН γ $^-$, CD3 $^+$ /ИЛ2 $^-$ и CD3 $^+$ /ФНО α $^-$ -клеток (менее $0,1 \times 10^9$ /л) компенсировались высокими показателями фагоцитарного звена иммунитета: на фоне кооперации субпопуляций Т-лимфоцитов ($r = 0,8$, $p < 0,01$) выявлены обратные связи между фагоцитарной и клеточной системами иммунитета ($r = -0,6$, $p < 0,05$).

Резюмируя литературные и собственные данные, можно предположить, что под действием менингококкового липополисахарида нарастал нейтрофилез, происходила активация фагоцитоза, развивалась Т-лимфопения с угнетением функциональной активности Th1-типа и наступал дисбаланс между соотношением фагоцитарного и клеточного звеньев иммунитета, которой приводил к нарушению гомеостаза. Активация противовоспалительных цитокинов способствовала формированию иммунного ответа по гуморальному звену.

В период реconvalesценции показатели фагоцитарного звена нормализовались, наблюдалась лимфопения и сохранялись высокий уровень IgM и G, увеличивалось число CD3 $^+$ /ИЛ4 $^-$ -лимфоцитов, что отражало направленность иммунного ответа по Th2-типу.

Новые знания в иммунопатогенезе инфекции способствуют совершенствованию методов терапии. В конце прошлого века были предприняты попытки применения моноклональных антител и ингибиторов цитокинов при ГМИ [75, 76].

Анаферон детский - новый отечественный препарат, предназначенный для лечения и профилактики гриппа и других ОРВИ, представляет собой сверхмалые дозы антител к ИФН γ человека. Показано, что при курсовом пероральном введении антитела к ИФН γ в сверхмалых дозах стимулируют гуморальный иммунный ответ, в том числе на фоне иммуносупрессии и в условиях введения минимальных доз антигена повышают функциональную активность антителообразующих клеток в селезенке и титры гемоглобулинов в сыворотке; активизируют функцию Т-эффекторов, что выражается в усилении реакции гиперчувствительности замедленного типа; повышают фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов перитонеального экссудата за счет увеличения процента активных фагоцитов. *In vitro* в культуре человеческих мононуклеарных клеток антитела к ИФН γ в сверхмалых дозах: обладают комитогенным эффектом на Т- и В-лимфоциты; стимулируют выработку лимфоцитами ИЛ1 (в

присутствии ЛПС); повышают функциональную активность НК-клеток [77, 78].

С целью коррекции иммунологических нарушений при ГМИ (угнетение функционального состояния Th1-типа) нами предложено назначение препаратов, стимулирующих образование интерферона. Детям в на фоне общепринятой схемы лечения со 2-4-го дня

болезни назначался анаферон детский в течение 7 дней ежедневно перорально по 1 таблетке три раза в день. Клинический эффект анаферона детского при ГМИ проявлялся в уменьшении лихорадочного периода и сроков санации ликвора ($p < 0,05$). Иммунологический эффект наблюдался в виде увеличения числа CD3⁺/ИФНг⁺-клеток и CD8-, НК-клеток ($p < 0,05$).

Литература

1. Cartwright K. A. V., Jones D. M., Smith A. J., Stuart J. M., Kaczmarski E. B., Palmer S. R. Influenza A and meningococcal disease. *Lancet* 1991; 338: 554-7.
2. Haneberg B., Tonjum T., Rodahl K., Gedde Dahl T. W. Factors preceding the onset of meningococcal disease, with special emphasis on passive smoking, stressful events, physical fitness and general symptoms of ill health. *NIPH Ann* 1983; 6: 169-73.
3. Stanwell-Smith R. E., Stuart J. M., Hughes A. O., Robinson P., Griffin M. B., Cartwright K. Smoking, the environment and meningococcal disease: a case control study. *Epidemiol Infect* 1994; 112: 315-28.
4. Raza M. W., Ahmer O. R. E., Ogilvie M. M., Blackwell C. C., Saadi A. T., Elton R. A. et al. Infection with respiratory syncytial virus enhances expression of native receptors for non-pilate *Neisseria meningitidis* on HEp-2 cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 23: 115-24.
5. Moore P. S., Hierholzer J., DeWitt W., Gouan K., Djore D., Lippeveld T. et al. Respiratory viruses and mycoplasma as cofactors for epidemic group A meningococcal meningitis. *JAMA* 1990; 264: 1271-5.
6. Rayner C. F., Dewar A., Moxon E. R., Virji M., Wilson R. The effect of variations in the expression of pili on the interaction of *Neisseria meningitidis* with human nasopharyngeal epithelium. *J Infect Dis* 1995; 171: 113-21.
7. Meyer T. F. Pathogenic neisseriae: complexity of pathogen-host cell interplay. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 433-41.
8. Pettersson A., Poolman J. T., van der Ley P., Tommassen J. Response of *Neisseria meningitidis* to iron limitation. *Antonie Leeuwenhoek* 1997; 71: 129-36.
9. Schryvers A. B., Gonzalez G. C. Receptors for transferrin in pathogenic bacteria are specific for the host's protein. *Can J Microbiol* 1990; 36: 145-7.
10. Mulks M. H., Plaut A. G. IgA protease production as a characteristic distinguishing pathogenic from harmless neisseriaceae. *N Engl J Med* 1978; 299: 973-6.
11. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Современные представления о механизмах патогенного действия менингококка. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2005; 3: 40-3.
12. Read R. C., Fox A. J., Miller K. et al. Experimental infection of human nasal mucosal explants with *Neisseria meningitidis*. *J Med Microbiol* 1995; 42: 353-61.
13. McGee Z. A., Stephens D. S., Hoffman L. H., Schlech W. F. d., Horn R. G. Mechanisms of mucosal invasion by pathogenic *Neisseria*. *Rev Infect Dis* 1983; 5(Suppl. 4): S708-S714.
14. Nassif X., M. So. Interaction of pathogenic neisseriae with nonphagocytic cells. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 376-88.
15. Read R. C., Fox A. J., Miller K., Gray T., Jones N., Borrows R. et al. Experimental infection of human nasal mucosal explants with *Neisseria meningitidis*. *J Med Microbiol* 1995; 42: 353-61.
16. Klein N. J., Ison C. A., Peakman M., Levin M., Hammerschmidt S., Frosch M. et al. The influence of capsulation and lipooligosaccharide structure on neutrophil adhesion molecule expression and endothelial injury by *Neisseria meningitidis*. *J Infect Dis* 1996; 173: 172-9.
17. Stephens D. S., Spellman P. A., Swartley J. S. Effect of the (alpha 28)-linked polysialic acid capsule on adherence of *Neisseria meningitidis* to human mucosal cells. *J Infect Dis* 1993; 167: 475-9.
18. Virji M., Makepeace K., Peak I. R., Ferguson D. J., Jennings M. P., Moxon E. R. Op- and pilus-dependent interactions of meningococci with human endothelial cells: molecular mechanisms and modulation by surface polysaccharides. *Mol Microbiol* 1995; 18: 741-54.
19. Vogel U., Claus H., Heinze G., Frosch M. Role of lipopolysaccharide sialylation in serum resistance of serogroup B and C meningococcal disease isolates. *Infect Immun* 1999; 67: 954-7.
20. Kahler C. M., Martin L. E., Shih G. C., Rahman M. M., Carlson R. W., Stephens D. S. The (alpha28)-linked polysialic acid capsule and lipooligosaccharide structure both contribute to the ability of serogroup B *Neisseria meningitidis* to resist the bactericidal activity of normal human serum. *Infect Immun* 1998; 66: 5939-47.

Полный список литературы (78 источников) смотрите по адресу: <http://www.urmj.ru>