

*Сабитов А.У.<sup>1</sup>, Фолин В. В.<sup>1</sup>, Овчинникова А. О.<sup>2</sup>, Хаманова Ю. Б.<sup>1</sup>, Чеснакова О. А.<sup>1</sup>, Павленко Т. П.<sup>2</sup>, Лагерева Ю. Г.<sup>3</sup>*

## Клиника, показатели врожденного и адаптивного иммунитета при гемофильном менингите у детей

1 - ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург; 2 - МАУ «Городская клиническая больница № 40», г. Екатеринбург; 3 - Учреждение РАН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

*Sabitov A.U., Fomin V.V., Ovchinnikova A.O., Hamanova Yu.B., Chesnakova O.A., Pavlenko T.P., Lagereva J.G.*

## The clinic, indicators of innate and adaptive immunity in Haemophilus influenzae meningitis in children

### Резюме

Проведены исследования клиники и показателей врожденного и адаптивного иммунитета при гемофильном менингите у детей раннего возраста. Установлено, что для клинической картины начального периода гемофильного менингита, в отличие от менингококкового менингита, чаще наблюдается постепенное начало болезни, катаральный и диспепсический синдромы. Общей иммунологической закономерностью гемофильного и менингококкового менингитов является повышение уровня численности фагоцитарно-активных нейтрофилов и их килинговой активности, натуральные киллеры оставались в норме, цитотоксические лимфоциты - снижены. Низкие показатели провоспалительных и нормальные значения противовоспалительных цитокинов способствовали замедлению развития воспалительного процесса и генерализации инфекции в ЦНС.

**Ключевые слова:** гемофильный менингит, дети, врожденный иммунитет

### Summary

The research and clinical indicators of innate and adaptive immunity in Haemophilus influenzae meningitis in young children. Found that in the initial period of clinical haemophilus meningitis, unlike meningococcal meningitis, usually a gradual onset, and catarrh and dyspeptic syndromes. General immunological regularity haemophilus and meningococcal meningitis, is to increase the number of active neutrophil phagocytic and kilingovoy activity, natural killer cells remained normal, cytotoxic lymphocytes - reduced. Low levels of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines normal values contributed to the slower development of the inflammatory process and the generalization of infection in the CNS.

**Keywords:** hemophilic meningitis, children, innate immunity

### Введение

Изучение клиники, иммунопатогенеза и лечения нейроинфекций является одним из основных научных направлений кафедры детских инфекционных болезней Уральской государственной медицинской академии (1,2,3,4,5,6,7). По данным эпидемиологических исследований гемофильная палочка (Hib) ответственна за 30-55% всех бактериальных гнойных менингитов у детей в возрасте до 5 лет, из них 60% - дети до 2х летнего возраста (6-12мес). Частота осложнений Hib-инфекции в России достигает 40%, летальность - 15%, "здоровое" носительство - 5-25% детей в популяции [10].

В последние годы на фоне высокой заболеваемости энтеровирусными менингитами отмечается спорадическая заболеваемость гемофильными менингитами,

при которых требуется уточнение роли функционально-активных клеток врожденного и адаптивного иммунитета [9,10].

*Целью* работы являлась оценка показателей врожденного и адаптивного иммунитетов при гемофильном менингите у детей раннего возраста.

### Материалы и методы

Под наблюдением находилось 2 группы детей: основная - 30 детей с менингитами гемофильной этиологии и группа сравнения - 21 ребенок с менингитами менингококковой этиологии. Все были госпитализированы в отделение нейроинфекций МАУ «ГКБ № 40». Среди обследованных больных представлены дети в возрасте от 3 месяцев до 3 лет. Из них при гемофиль-

ном менингите 70%, при менингококковом - 86% детей были в возрасте от 1 до 3 лет. Проведено комплексное лабораторно-диагностическое исследование: ОАК, ПЦР ликвора, посев ликвора, посев крови, латекс-тест (на базе МАУ «ГКБ № 40»), иммунный статус (на базе МУ «Клинико-диагностический центр», главный врач д.м.н., профессор Я.Б. Бейкин). Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере при помощи пакета прикладных программ «Statistica 6». Для оценки иммунного статуса содержание лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов определялось с помощью гематологического анализатора Cobas Minos Stex (ABX). Фенотипирование лимфоцитов осуществлялось методом иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител производства ООО «Сорбент» (г. Москва). Регистрация результатов производилась методом лазерной проточной цитометрии на цитофлюомере FACScan (Becton Dickinson). Для оценки внутриклеточного синтеза цитокинов мононуклеары периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фиколл-верографина (1,077 г/см<sup>3</sup>). Спонтанную продукцию CD3+/IL2+, CD3+/IL4+, CD3+/IFN $\gamma$  и CD3+/TNF $\alpha$  Т-лимфоцитами оценивали по истечении 4 часов инкубации в присутствии брэфельдина А при 37 °С, в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. В качестве активатора для стимуляции внутриклеточного синтеза использовали PMA («Sigma», 50ng/ml) плюс иономицин («Sigma», 1ng/ml). Иммунофенотипирование проводили с использованием ФИТЦ-меченых анти-CD3+-моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва) PE-конъюгированных анти-CD3+/

IL2+, CD3+/IL4+, CD3+/IFN $\gamma$  и CD3+/TNF $\alpha$ -антител (Caltag). Для оценки бактерицидной активности лейкоцитов и поглотительной активности нейтрофилов и моноцитов использовался метод, разработанный в лаборатории клинической иммунологии института иммунологии Минздрава РФ.

### Результаты и обсуждение

В г. Екатеринбурге за 2009-2012 гг. наблюдалась спорадическая заболеваемость гемофильными менингитами среди детей в возрасте от 2 месяцев до 3 лет (2009 г. – 5, 2010 г. – 7, 2011 г. – 13, 2012 г. – 3 детей). Установлено, что для клинической картины начального периода гемофильного менингита было характерно постепенное начало болезни (33,3%): повышение температуры тела от субфебрильных цифр (18,5%) первые 1-2 дня, а затем она достигала фебрильных (81,5%), появление общемозговых (рвота 100%, головная боль 77,8%), менингеальных симптомов (ригидность затылочных мышц 96%, симптом Кернига 74%, Брудзинского 55,6%), очаговой симптоматики (18,5%), катаральных (44%) и диспепсических (18%) явлений. При менингококковом менингите отмечено более острое начало с резким подъемом температуры тела до высоких фебрильных цифр (90%), а также наличие общемозговых, и менингеальных симптомов, реже – катаральных (14%), и отсутствие диспепсических расстройств (рис. 1). Осложнениями гемофильного менингита были нейросенсорная тугоухость (23,3%), слепота (7%), чего не отмечено при менингококковом менингите.

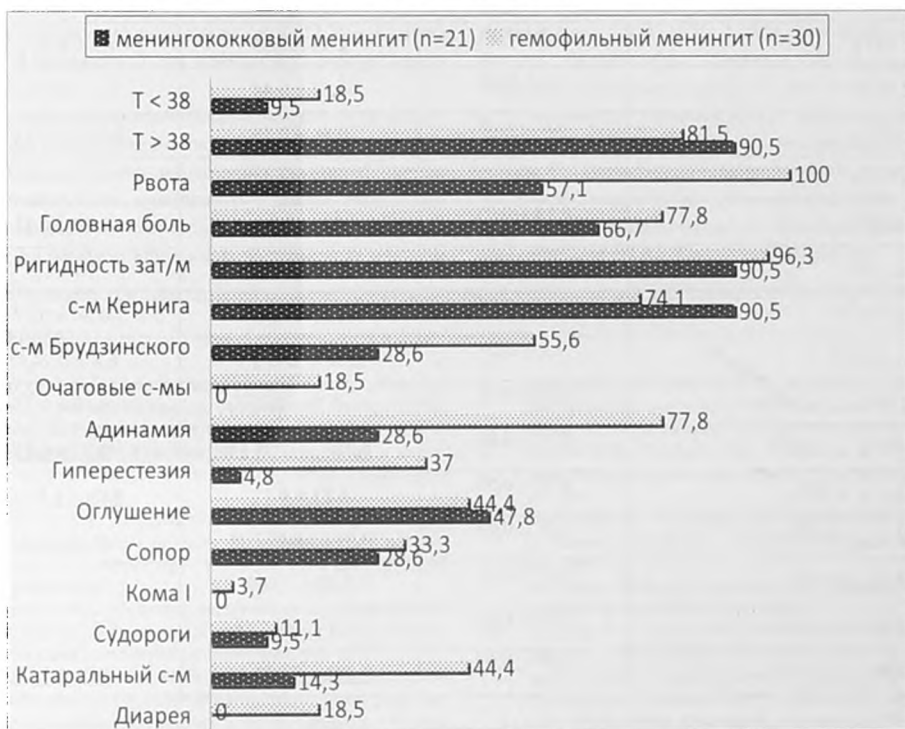


Рис. 1. Клиническая характеристика бактериальных менингитов у детей

Таблица 1. Показатели спинномозговой жидкости при менингитах (M±m)

Показатели	Гемофильный менингит (n = 30)			Менингококковый менингит (n= 21)		
	1-3 дн.	8-15 дн.	25 - 35 дн.	1 - 3 дн.	8 -15 дн.	25-35 дн.
Цитоз, 10 <sup>6</sup> /л	6634,9 ± 1007,5	70,4± 8,3	56,1± 4,1	4271,4 ± 720,6	7,9± 1,5	--
Нейтрофилы, %	87 ± 3,1	18,2± 2,5	15,1± 3,0	82± 5,3	17,3± 2,8	--
Лимфоциты, %	13 ± 1,2	81,8± 3,3	84,9± 3,8	18± 2,7	82,7± 4,4	--
Белок, мг/л	1763,6 ± 352,9	346,8± 44,1	389,1± 74,8	1296,1 ± 208,9	294,6± 41,9	--

Таблица 2. Иммунологические показатели при менингитах у детей, M ± m

Показатель	Нормативные показатели (n=8)	Гемофильный менингит (n=30)	Менингококковый менингит (n=21)
Лейкоциты x 10 <sup>9</sup> /л	9,6 ± 0,5	16,43 ± 1,32 ↑*	13,0 ± 4,14 ↑*
Лимфоциты x 10 <sup>9</sup> /л	4,7 ± 0,44	3,56 ± 0,39	3,41 ± 0,32 ↓*
Гранулоциты x 10 <sup>9</sup> /л	4,1 ± 0,36	11,83 ± 1,38 ↑*	9,9 ± 1,3 ↑*
Моноциты x 10 <sup>9</sup> /л	0,74 ± 0,07	1,01 ± 0,18	0,94 ± 0,2
IgA г/л	0,31 ± 0,02	0,67 ± 0,14 ↑*	0,6 ± 0,15
IgM г/л	1,5 ± 0,09	1,31 ± 0,23	1,6 ± 0,2
IgG г/л	8,2 ± 0,63	5,51 ± 1,22	6,5 ± 1,2
ЦИК ед	83,0 ± 8,2	63,71 ± 14,0	85 ± 20,1
TNK x 10 <sup>9</sup> /л		0,5 ± 0,16	
CD20 x 10 <sup>9</sup> /л	1,0 ± 0,14	1,08 ± 0,2	1,35 ± 0,8
CD3 x 10 <sup>9</sup> /л	3,2 ± 0,39	2,41 ± 0,65	1,9 ± 0,25 ↓*
CD4 x 10 <sup>9</sup> /л	1,9 ± 0,25	1,51 ± 0,44	1,1 ± 0,14 ↓*
CD8 x 10 <sup>9</sup> /л	1,0 ± 0,15	0,64 ± 0,16	0,59 ± 0,09 ↓*
HLA x 10 <sup>9</sup> /л		0,58 ± 0,22	
CD16 x 10 <sup>9</sup> /л	0,18 ± 0,03	0,2 ± 0,04	0,24 ± 0,22
HCT <sub>спин</sub> %	15,8 ± 2,0	22,86 ± 4,49	16 ± 8,8
AФ <sub>мон</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,54 ± 0,05	0,38 ± 0,08	0,54 ± 0,07
AФ <sub>нейтр</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	3,3 ± 0,29	8,52 ± 2,45 ↑*	6,8 ± 0,74 ↑*
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /TNFα <sup>+</sup> <sub>ст.</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,79 ± 0,15	0,74 ± 0,2	0,48 ± 0,14
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /TNFα <sup>+</sup> <sub>сп</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,15 ± 0,05	<b>0,015 ± 0,005 ↓*</b>	<b>0,07 ± 0,01</b>
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /IL <sub>2</sub> <sup>+</sup> <sub>ст.</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,35 ± 0,05	<b>0,51 ± 0,11</b>	<b>0,08 ± 0,02 ↓*</b>
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /IL <sub>2</sub> <sup>+</sup> <sub>сп</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,05 ± 0,01	<b>0,014 ± 0,007 ↓*</b>	<b>0,25 ± 0,1</b>
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /IL <sub>4</sub> <sup>+</sup> <sub>ст.</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,009	0,08 ± 0,02
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /IFNγ <sup>+</sup> <sub>ст.</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,82 ± 0,12	0,19 ± 0,006 ↓*	0,31 ± 0,1 ↓*
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> /IFNγ <sup>+</sup> <sub>сп</sub> x 10 <sup>9</sup> /л	0,09 ± 0,02	<b>0,006 ± 0,003 ↓*</b>	<b>0,06 ± 0,01</b>

Примечание:

\* - p &lt; 0,05 – статистическая значимость отличий от возрастной нормы

Цереброспинальная жидкость независимо от вида менингита характеризовалась четырехзначным цитозом нейтрофильного характера и значительным повышением белка. При гемофильном менингите цитоз был выше ( $p < 0,05$ ), а также более высокий уровень белка ( $p > 0,05$ ). При менингококковом менингите санация ликвора наступала к 15 дню болезни, в то время как при гемофильном менингите даже к 35 дню болезни не наблюдалось полной санации ликвора (таблица 1).

При анализе показателей иммунограмм установлено, что для гемофильного и менингококкового менингитов, как для генерализованных бактериальных инфекций, характерны лейкоцитоз, нейтрофилия, моноцитоз, высокая функциональная активность нейтрофилов ( $p < 0,05$ ). При менингококковом менингите: наряду с этим отмечалась лимфопения, снижение CD3, CD4, CD8 лимфоцитов ( $p < 0,05$ ). Отличительной особенностью гемофильного менингита было снижение лимфоцитов, содержащих эндоплазматические цитокины, обладающих провоспалительным действием: CD3+/IFN +, CD3+/TNF $\alpha$ +, CD3+/IL2 ( $p < 0,05$ ) (таблица 2).

## Заключение

Клиническая картина гемофильного и менингококкового менингитов в начальном периоде болезни была сходна, однако при гемофильной инфекции в 2 раза чаще наблюдалось постепенное начало болезни, субфебрильная температура тела первые 1-2 дня, затем она достигала фебрильных цифр, катаральный синдром со стороны носоглотки и в 3 раза чаще наблюдался диарейный синдром. Осложнениями гемофильного менингита были нейросенсорная тугоухость (23,3%), слепота (7%), чего не отмечено при менингококковом менингите.

Стартовые иммунологические показатели не влияли на характер начала болезни: острое или постепенное. Общей иммунологической закономерностью гемофильного и менингококкового менингитов является повышение уровня численности фагоцитарно-активных нейтрофилов и их киллинговой активности, натуральные киллеры

оставались в норме, цитотоксические лимфоциты - снижены. Низкие показатели провоспалительных и нормальные показатели противовоспалительных цитокинов способствовали замедлению развития воспалительного процесса и генерализации инфекции в ЦНС.

Таким образом, полученные нами данные дают представление о роли врожденного и адаптивного иммунитета при гемофильной инфекции и отражают ведущую роль врожденного иммунитета. В литературе имеются сведения о слабом иммунном ответе на капсулярный полисахарид гемофильной палочки у детей раннего возраста, что подтверждается низкой продукцией лимфоцитов, содержащих провоспалительные цитокины и, вероятно, является причиной замедленной выработки адаптивного иммунитета, и более длительного тяжелого течения болезни при данной инфекции. ■

*Сабитов А.У. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России г. Екатеринбург; Фомин В.В. – заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России г. Екатеринбург; Овчинникова А.О. – врач инфекционист детского инфекционного отделения № 6 МАУ «ГКБ № 40» г. Екатеринбург; Хаманова Ю.Б. – к.м.н., доцент кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России г. Екатеринбург; Чеснакова О.А. – к.м.н., ассистент кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России г. Екатеринбург; Павленко Т.П. – к.м.н., зав. детским инфекционным отделением № 6 МАУ «ГКБ № 40» г. Екатеринбург; Лагерева Ю.Г. – к.б.н., зав. лабораторией иммунологии МУ «Клинико-диагностический центр города Екатеринбурга» г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку – Овчинникова Анна Олеговна, 620102, г. Екатеринбург, ул. Волгоградская, д. 189/8, тел.: (343)266-97-81, E-mail: armine@el.ru*

## Литература:

1. Ковтун О.П. Клиника, патогенетические закономерности, пути оптимизации, лечения КЭ. Автореферат докторской диссертации. Свердловск 1997
2. Ольховиков А.И. Коксаки В3 и В5 инфекции у детей. Автореферат кандидатской диссертации. Свердловск 1979
3. Сабитов А.У. Дифференциальный диагноз легких спинальных форм острого полиомиелита у привитых детей. Автореферат кандидатской диссертации. Свердловск 1982
4. Хаманова Ю.Б. Клиника, иммунология и оптимизация лечения энтеровирусных менингитов. Автореферат докторской диссертации. Екатеринбург 2013
5. Фомин В.В., Козлова С.Н., Князев Ю.А. Гипоталамо-гипофизарная система и иммунный ответ при инфекционных заболеваниях у детей. Свердловск, изд. Уральского Университета 1991, стр.230
6. Фомин В.В., Чеснакова О.А., Ерман Б.А., Бейкин Я.Б. Энтеровирусные нейроинфекции у детей. Екатеринбург, изд. Уральского Университета 1991, стр. 170
7. Фомин В.В., Кашуба Э.А., Сабитов А.У. Вторичные иммунодефицитные состояния. Екатеринбург 1997, стр.340
8. Лобзин Ю.В., Жданова К.В. Руководство по инфекционным болезням 1. Санкт-Петербург 2011, стр. 499-501
9. Семенова В.М. Руководство по инфекционным болезням. Москва 2009, стр. 84-85
10. Демина А.А. Эпидемиология инвазивных форм заболеваний, обусловленных *H. influenzae* тип в. Сборник трудов научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологии, клиники, диагностики и профилактики инфекций, вызванных *H. influenzae* тип в». 1998