

Иммункоррекция рецидивирующего течения псевдотуберкулеза у детей

С. Н. Бениова¹, Е. В. Маркелова²

¹ Государственный медицинский университет, г. Владивосток, ² Дальневосточный филиал НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Владивосток

С целью установления закономерностей изменения уровня некоторых цитокинов (IL-2, IL-4, IL-8, IFN γ) у детей, больных псевдотуберкулезом, в зависимости от характера течения инфекции, было обследовано 54 пациента. Полученные результаты выявили выраженную гиперцитокинемию с дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов, свидетельствующим о развитии иммунодефицитного состояния клеточного типа. Представлены результаты лечения больных с рецидивирующим течением псевдотуберкулеза Ронколейкином®. (Цитокины и воспаление, 2003, Т. 2, № 3, С. 13-17)

Ключевые слова: иммунитет, цитокины, инфекция, Ронколейкин®

Псевдотуберкулез относится к инфекционным заболеваниям, в лечении которых не достигнута убедительная эффективность. Даже при своевременном назначении адекватной антибактериальной терапии частота рецидивирующего течения болезни может достигать 13,6-43,5 % [1, 2, 18]. Считается, что в ряде случаев возможна хронизация инфекции. Так, по данным различных авторов, хроническое течение псевдотуберкулеза наблюдается в 2,5-7,2% случаев [8, 11, 17]. Более того, доказана триггерная роль возбудителя псевдотуберкулеза в формировании таких состояний, как реактивный артрит, гломерулонефрит, патология щитовидной железы, синдром Рейтера и других хронических системных заболеваний соединительной ткани [9, 16]. И хотя иммунопатогенез псевдотуберкулеза у человека изучен крайне мало, не вызывает сомнения иммуноопосредованность патогенетических механизмов формирования исходов данного заболевания.

Считается, что определяющую роль в исходе псевдотуберкулеза играет дисбаланс, развивающийся на уровне фагоцитирующих клеток [19]. Установлено, что при псевдотуберкулезе фагоцитоз носит незавершенный характер благодаря наличию у вирулентных бактерий псевдотубер-

кулеза антигенных субстанций, угнетающих фагоцитоз [13], а также благодаря способности *U. pseudotuberculosis* связывать опсонизирующие факторы сыворотки крови [11]. Сохранение в течение длительного времени незавершенности фагоцитоза сопровождается тяжелым, длительным течением инфекции с обострениями и рецидивами [2, 11]. Ранее предпринимались попытки использования иммунокорригирующих препаратов, влияющих преимущественно на Т-клеточное звено иммунного ответа — Т-активин, тималин, продигозан [1, 2], но значительного улучшения исходов заболевания получено не было.

Современные достижения в области изучения иммунорегуляторных механизмов инфекционного процесса показали, что ведущую роль в активации и регуляции процессов фагоцитоза играют цитокины [4, 10]. В последние годы широкое применение в качестве средств иммуноориентированной терапии получают рекомбинантные цитокины, поскольку последние обладают не только регуляторными, но и замещающими эффектами [5, 14, 15]. В литературе имеются сведения о применении цитокинов в комплексном лечении больных инфекционными заболеваниями [3, 6, 14, 20], в том числе иерсиниозами [12]; мы посчитали целесообразным представить и результаты собственных независимых исследований.

Бениова Светлана Николаевна, e-mail: bimaH@maH.primorye.ru

Под наблюдением находилось 54 ребенка, больных псевдотуберкулезом, в возрасте от 2 до 14 лет. Диагноз «псевдотуберкулез» был выставлен на основании анамнестических, клинико-эпидемиологических данных и подтвержден результатами бактериологического и/или серологических методов исследования. Учитывая низкую результативность бактериологического метода исследования, использовали комплекс серологических методов диагностики псевдотуберкулеза: РИГА с коммерческим сухим антигенным псевдотуберкулезным эритроцитарным диагностикумом; иммуноферментный метод определения антигена псевдотуберкулезного микроба в биологических субстратах (ИЭМ им. Пастера, С.-Петербург); впервые для диагностики псевдотуберкулеза у детей применили иммуноферментный метод (ИФМ) на основе порина из внешней мембраны *Y. pseudotuberculosis* (Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток) [7]; специфичность полученных результатов оценивали постановкой иммунобло- тов.

В качестве контрольной группы обследовано 24 практически здоровых ребенка (I и ПА групп здоровья) в возрасте от 2 до 10 лет, не болевших в течение предшествующих обследованию 3-4 мес.

Постановка клинического диагноза проводилась согласно классификации А.В. Гордеев [1]. У всех больных заболевание протекало типично. Деление на легкие, среднетяжелые и тяжелые формы проводили с учетом выраженности токсической и органной симптоматики. В 37 случаях заболевание протекало гладко, у 17 больных (31,5%) развились рецидивы инфекции и/или осложнения.

Стандартное лечение рецидивирующих форм псевдотуберкулеза у детей включало антибиотики, десенсебилизирующие и противовоспалительные препараты, а также средства симптоматической терапии.

Для обоснования иммунокорректирующей терапии мы исследовали цитокиновый спектр у детей, больных псевдотуберкулезом, в динамике болезни. Содержание цитокинов определяли с помощью реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (USA) «сэндвич»-вариант твердофазного ИФМ согласно прилагаемой инструкции. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчеты количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Анализ цитокинового профиля в острый период псевдотуберкулеза (i-2-я нед. болезни) показал, что уровень IL-2 достоверно не отличался от значений, зарегистрированных у здоровых детей, и не зависел от тяжести течения болезни (табл. 1). В то же время количество IFN γ было достоверно ниже контрольных значений во всех исследуемых группах. У всех детей наблюдали системную гиперпродукцию IL-4 и IL-8, многократно превышающую уровень у здоровых детей.

Известно, что патогенетическое значение имеет не столько факт усиления или снижения продукции отдельных цитокинов, сколько соотношение оппозиционных пулов — про- и противовоспалительных цитокинов. В связи с этим мы рассчитали коэффициент соотношения уровней IFN γ и IL-4. В острой фазе болезни наблюдалась явная гиперактивация продуцентов цитокинов Th2-типа с прямой зависимостью от тяжести течения и исходов болезни.

В период ранней реконвалесценции (3-4-я нед. болезни) у больных с гладким течением псевдотуберкулеза наблюдалась нормализация уровня IFN γ и даже достоверное превышение контрольных значений у больных с тяжелой формой (табл. 2). Уровни IL-4 снижались во всех группах, но не достигали показателей здоровых детей. Показатели IL-8 оставались повышенными у больных с тяжелой формой и рецидивирующим течением псевдотуберкулеза. Коэффициент соотношения IFN γ и IL-4 в динамике болезни увеличивался во всех группах, но не достигал нормальных значений.

Таким образом, различные формы и течение псевдотуберкулеза у детей характеризуются экстремально высокими концентрациями в крови цитокина Th2-типа IL-4 на фоне низких значений IFN γ . Однако сохранение достаточно высоких уровней IL-2 свидетельствует, по-видимому, об

Таблица 1

Показатели цитокинового профиля у больных псевдотуберкулезом в острый период болезни (1-2-я нед.)

Группы обследованных больных	IL-2	IFN γ	IL-4	IL-8	IFN γ /IL-4
Больные с гладким течением легкой и среднетяжелой форм псевдотуберкулеза (n = 29)	84,87 ± 18,6	4,34 ± 1,9*	24,88 ± 5,6*	253,85 ± 34,7*	0,1 i: 0,09*
Больные с гладким течением тяжелой формы псевдотуберкулеза (n = 8)	86,26 ± 15,9	3,04 ± 1,5*	50,71 ± 6,8*	789,45 ± 56,9*	0,06 ± 0,05*
Больные с рецидивирующим течением псевдотуберкулеза (n = 17)	89,08 ± 21,7	5,67 ± 2,7*	369,15 ± 54,3*	13,4 ± 5,8*	0,01 ± 0,01*
Контроль (n = 24)	90,14 ± 24,3	13,4 ± 5,7	14,14 ± 0,44	57,0 ± 6,6	4,14 ± 1,3

Примечание. Концентрация всех цитокинов дана в пг/мл; * — достоверность в сравнении с контрольной группой.

Показатели цитокинового профиля у больных псевдотуберкулезом на 3-4-й нед. болезни

Группы обследованных больных	IL-2	IFN-γ	IL-4	IL-8	IFNγ/IL-4
Больные с гладким течением легкой и среднетяжелой форм псевдотуберкулеза (n = 29)	92,41 ± 36,8	17,59 ± 1,9*	28,12 ± 5,8*	33,64 ± 8,4*	0,62 ± 0,07*
Больные с гладким течением тяжелой формы псевдотуберкулеза (n = 8)	85,72 ± 27,3	30,96 ± 8,6*	49,36 ± 11,9*	61,54 ± 14,6*	0,63 ± 0,05*
Больные с рецидивирующим течением псевдотуберкулеза (n = 17)	72,36 ± 29,4	7,19 ± 4,2*	211,06 ± 41,7*	276,14 ± 36,8*	0,03 ± 0,02*
Контроль (n = 24)	90,14 ± 24,3	13,4 ± 5,7	14,14 ± 0,44	57,0 ± 6,6	4,14 ± 1,3

Примечание. Концентрация всех цитокинов дана в пг/мл; * — достоверность в сравнении с контрольной группой.

одновременной генерации Th1-типа, что характерно для инфекций с двойной локализацией бактерий в организме: внутри- и внеклеточной, к которым относится псевдотуберкулез. Низкие концентрации в острый период болезни IL-8, одного из основных хемокинов, определяющих стимуляцию направленной миграции и увеличивающих бактерицидные свойства нейтрофилов, вероятно, в какой-то степени определяют длительность незавершенного фагоцитоза и приводят к рецидивирующему течению болезни. Подтверждением роли IL-8 в формировании воспалительных органных поражений является, на наш взгляд, многократное увеличение уровня этого цитокина накануне рецидива. Усугубляющим фактором, несомненно, является дисбаланс Th1/Th2 на протяжении всего заболевания.

Учитывая, что одним из основных механизмов нарушения иммунореактивности, определяющим неблагоприятное течение псевдотуберкулеза, является гиперпродукция противовоспалительных цитокинов (IL-4) с угнетением синтеза провоспалительных фракций (IL-2, IFNγ), мы посчитали целесообразным включение в комплексную терапию рецидивирующих форм псевдотуберкулеза рекомбинантного интерлейкина 2 человека — препарата Ронколейкина®.

Ронколейкин® использовали у 12 больных с рецидивирующим течением инфекции: у 9 больных в дозе 500 тыс. МЕ детям до 5 лет, 1 млн. МЕ — детям старше 5 лет двукратно с интервалом в 48 ч внутрь; 3 больным Ронколейкин® применяли подкожно в половинной дозе. Контрольную группу составили 20 больных с рецидивирующим течением болезни и получавших стандартную терапию.

Анализ полученных результатов показал (табл. 3), что у больных, получавших Ронколейкин®, достоверно сокращались длительность периода интоксикации, быстрее исчезала сыпь, явления кардиопатии. Хотя сравнение остальных показателей не показало достоверного преимущества Ронколейкина®, клинический эффект был ощутимым. Отмечена хорошая переносимость препарата детьми, побочных эффектов мы не на-

Таблица 3

Продолжительность клинических симптомов псевдотуберкулеза у детей на фоне стандартной терапии и с использованием в комплексном лечении Ронколейкина®

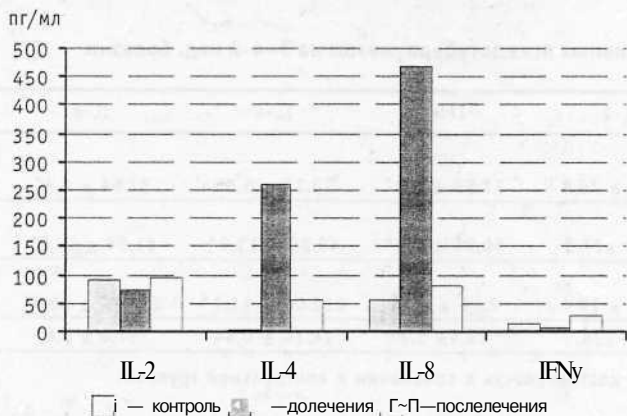
Клинические синдромы	Продолжительность синдрома (в днях)		p
	на фоне применения Ронколейкина®	на фоне стандартной терапии	
Интоксикационный синдром	7,6 ± 1,8	14,3 ± 2,1	< 0,05
Гастроэнтерит	5,1 ± 1,8	7,2 ± 2,6	> 0,05
Экзантема	4,7 ± 1,1	10,6 ± 2,7	< 0,05
Артралгии	6,4 ± 1,3	13,7 ± 3,2	< 0,05
Нодозная эритема	3,1 ± 1,7	11,4 ± 2,1	< 0,01
Полимифаденопатия	9,4 ± 4,1	12,9 ± 3,8	> 0,05
Гепатомегалия	21,7 ± 5,8	28,6 ± 5,4	> 0,05
Изменения со стороны почек	7,3 ± 2,4	11,8 ± 3,6	> 0,05
Кардиопатия	21,5 ± 4,3	36,4 ± 5,2	< 0,05
Абдоминальный синдром	5,4 ± 1,9	7,2 ± 2,3	> 0,05

Примечание, p — достоверность сравниваемых значений.

блюдали. Ни у одного больного, получавшего Ронколейкин®, повторных рецидивов не развилось, тогда как в контрольной группе повторная рецидивная волна зарегистрирована у 2 больных через 15 и 21 день после отмены антибактериальной терапии.

Исследование цитокинового спектра после проведенной терапии Ронколейкином® было проведено у 6 больных. Малочисленность группы не позволила нам сделать обобщающие статистически обоснованные выводы, однако в качестве примера приводим один из наблюдавшихся нами случаев динамики цитокинового профиля у больного с рецидивирующим течением инфекции и получившим в комплексной терапии Ронколейкин®.

Саша Ч., 9 лет (история болезни № 2354), поступил в клинику детских инфекционных болезней ВГМУ на третий день болезни с выраженными симптомами интоксикации, мелкоочечной сыпью ярко-розового цвета со сгущением в подмышечных, паховых областях, вокруг коленных и голеностопных суставов, признаками кардиомиопатии, гепатомегалии, энте-



Динамика цитокинов у больного Саши Ч., 9 лет, накануне рецидива псевдотуберкулеза и после лечения Ронколейкином.

роколита. Периодически у больного возникали боли в коленных и голеностопных суставах. Из анамнеза: ребенок заболел остро, с повышения температуры тела, появления на второй день болезни сыпи, жидкого стула до 3-4 раз в сутки.

В результате комплексного клинико-лабораторного обследования больному был поставлены диагнозы: «псевдотуберкулез, типичный, средней тяжести», «вторичная кардиомиопатия», «пиелонефрит вторичный, на фоне дисметаболических нарушений, активная фаза», «хронический антральный гастрит в стадии обострения». Назначено лечение левомецетином, кардиотрофиками, десенсибилизирующими и жаропонижающими средствами в возрастных дозировках.

В течение последующих двух дней у ребенка сохранялась гипертермия, но на 6-й день заболевания температура тела снизилась до субфебрильных значений, а с 8-го — нормализовалась, улучшилось общее состояние. Однако на 12-й день болезни развился рецидив заболевания: вновь повысилась температура тела, появились элементы узловатой эритемы на голенях, летучие артралгии в суставах рук и ног, участился стул до 3-4 раз в сутки.

Учитывая нарастание клинической симптоматики, в схему лечения был добавлен Ронколейкин®. На второй день после введения Ронколейкина® уменьшились симптомы интоксикации, интенсивность сыпи, артралгии. Нормализацию температуры тела и полное исчезновение сыпи регистрировали после второго введения Ронколейкина. Симптомы гастроэнтерита, которые сохранялись даже в межрецидивный период, купированы на 5-й день от начала лечения; явления кардиопатии, выявленные на 3-й день острого периода болезни, сохранялись до 14-го дня от момента развития рецидива (26-й день болезни).

Результаты дополнительных методов исследования, полученных после проведенной терапии Ронколейкином®, показали значительное улучшение морфо-функциональных характеристик пациента. В клиническом анализе крови (17-й день болезни) уменьшился лейкоцитоз до 7,8 тыс. в 1 мкл, нейтрофилез — до 56 %, снизилась СОЭ до 12 мм/час. В общем анализе мочи (17-й день болезни) выявляли только слабую лейкоцитурию до 3-5 клеток в поле зрения. На ЭКГ (26-й день) патологии не выявлено. Контрольная фиброзофагодуоденос-

копия (25-й день) показала ликвидацию видимых воспалительных изменений слизистой оболочки желудка. При гистологическом исследовании биоптатов слизистой был выявлен поверхностный антральный гастрит в стадии ремиссии.

При исследовании цитокинового статуса у больного, проведенного накануне рецидива и после лечения Ронколейкином® (рисунок), отмечена положительная динамика субпопуляционного баланса Th1 и Th2 хелперных клеток с увеличением коэффициента соотношения более чем в 10 раз (21-й день болезни). Уровень IL-8, превышавший нормальные показатели накануне рецидива почти в 100 раз, хотя и не достиг значения здоровых детей, но достоверно снизился (124,6 пг/мл). Снижение концентрации IL-4 (до 84,9 пг/мл) сопровождалось усилением активации Th1-лимфоцитов с повышением количества IL-2 до 92,6 пг/мл и IFNγ до 24,5 пг/мл.

Таким образом, полученные нами результаты изучения динамики некоторых показателей цитокинового спектра изменяют причинно-следственные представления о неэффективности эффекторного звена иммунитета у больных с неблагоприятным течением инфекции. Одна из причин фагоцитарного иммунодефицита, несомненно, обусловлена функциональным дисбалансом системы цитокинов, нарушающим дистантные межклеточные взаимодействия как внутри самой иммунной системы, так и между основными интегративными системами организма — иммунной, нервной, эндокринной. Попытки повлиять на конечный этап цитокин-опосредованного механизма элиминации патогена из организма с использованием традиционных иммуномодуляторов на фоне истощения компенсаторных возможностей иммунной системы оказались несостоятельными.

Выводы

1. У больных псевдотуберкулезом регистрируется резко выраженная гиперцитокинемия с дисбалансом провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, свидетельствующим о развитии иммунодефицитного состояния клеточного типа.
2. Прогностическими признаками негладкого течения псевдотуберкулеза у детей служат увеличение в динамике патологического процесса уровня IL-4 с резким падением IFNγ и IL-2 на фоне низких значений IL-8 на первой неделе болезни.
3. Полученные нами результаты подтверждают эффективность применения Ронколейкина® в комплексном лечении рецидивирующего течения псевдотуберкулеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бениова С.Н., Гордеев А.В., Малащенко В.Г., Седулина О.Ф. Иммунопатологические аспекты иерсиниозных инфекций у детей // Педиатрия. — 2001. — № 2. — С. 111-112.
2. Беседнова Н.Н., Сомов Г.П. Рецидивы псевдотуберкулеза и их прогнозирование

// Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2000. — № 2. — С. 52-55.

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
4. Гордеев А.Б. Псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз у детей (клиника, ди-

- агностика, вопросы патогенеза, лечение): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Москва, 1986. — 46 с.
5. Гриневич Ю.А., Алферова А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. — 1981. — № 8. — С. 493-496.
 6. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Васякина Л.И. и др. Иммунный ответ при остром псевдотуберкулезе у детей // Мед. иммунология. — 2002. — Т. 4, № 1. — С. 45-58.
 7. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунологическая активность // Клинич. лаб. диагностика. — 1998. — N- I. — С. 21-32.
 8. Портнягина О.Ю., Вострикова О.П., Хоменко В.А. и др. Апробация иммуноферментной тест-системы на основе белка порина из *Yersinia pseudotuberculosis* для диагностики псевдотуберкулеза (экстраинтестинального иерсиниоза) у детей // Иммунология. — 2000. — № 2. — С. 59-61.
 9. Рябчук Ф.Н., Пирогова З.И. Рецидивы иерсиниозной инфекции как фактор формирования хронической гастроэнтерологической патологии у детей // Гастроэнтерология. — 2000. — № 1-2. — С. 81.
 10. Симбирцев А.С. Интерлейкин 8 и другие хемокины // Иммунология. — 1999. — № 4. — С. 9-14.
 11. Симбирцев А.С. Цитокины — новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т. 1, № 1. — С. 9-16.
 12. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез. — М.: Медицина, 2001. — 256 с.
 13. Стручков П.В., Константинова А.А., Лаврентьева В.В., Чучалин А.Г. Скрининг-тест для оценки патогенных свойств иммунных комплексов // Лаб. дело. — 1985. — № 7. — С. 410-412.
 14. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. — СПб.: Наука, 2000. — 231 с.
 15. Фрейдлин И.С., Кузнецова С.А. Иммунные комплексы и цитокины // Мед. иммунология. — 1999. — Т. 1, № 1-2. — С. 27-36.
 16. Beuscher H.U., Rodel F., Forsberg A., Rollinghoff M. Bacterial evasion of host immune defense: *Yersinia enterocolitica* encodes a suppressor for tumor necrosis factor alpha expression // Infect. Immun. — 1995. — Vol. 63, №4. — P. 1270-1277.
 17. Carnoy C, Mullet C, Muller-Alouf H. et al Superantigen YPMa exacerbates the virulence of *Yersinia pseudotuberculosis* in mice // Infect. Immun. — 2000. — Vol. 68, № 5. — P. 2553-2559.
 18. DiPiro J.T. Cytokine networks with infections: mycobacterial infections, leishmaniasis, human immunodeficiency virus infection, and sepsis // Pharmacotherapy. — 1997. — Vol. 17, № 2. — P. 205-223.
 19. Eitel J., Dersch P. The YadA protein of *Yersinia pseudotuberculosis* mediates high-efficiency uptake into human cells under environmental conditions in which invasion is repressed // Infect. Immun. — 2002. — Vol. 70, № 9. — P. 4880-4891.
 20. Gaston H.J.S., Cox C, Granfors K. Clinical and experimental evidence for persistent *Yersinia* infection in reactive arthritis // Arthritis Rheum. — 1999. — Vol. 42, № 10. — P. 2239-2242.

Immunocorrection in recurrent *Yersinia pseudotuberculosis* infection in children

S.N. Beniova¹, E.V. Marketova²

Vladivostok State Medical University; ² Far-East Branch of Institute of Clinical Immunology, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, Vladivostok

In order to investigate the changes in cytokines levels (IL-2, IL-4, IL-8, IFN γ) during *Y. pseudotuberculosis* infection in children, 54 patients with this infection were examined. The results revealed the hypercytokinemia with disorders in pro- and anti-inflammatory pools ratio, which proved the presence of cell-mediated immunodeficiency. The results of treatment of patients with recurrent infection using recombinant interleukin-2 (Roncoleukin®) are discussed. (Cytokines and Inflammation, 2003, Vol. 2, № 3, P. 13-17)

Key words: immunity, cytokines, infection, Roncoleukin®