

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОППОЗИЦИОННЫХ ЦИТОКИНОВ (ИЛ-17А, ИЛ-35) СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЭРИТЕМНОЙ И БЕЗЭРИТЕМНОЙ ФОРМАМИ I СТАДИИ ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА

Бондаренко А. А., Сапожникова В. В.
Кировский ГМУ Минздрава России, Киров

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF OPPOSITION CYTOKINES (IL-17A, IL-35), BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ERYTHEMA FORM AND FORM WITHOUT ERYTHEMA I STAGE IXODES TICK BORRELIOSIS

Bondarenko A. L., Sapozhnikova V. V.
Kirov SMU MOH Russia, Kirov, Russian Federation

Иксодовый клещевой боррелиоз (боррелиозная инфекция, Лайм-боррелиоз) – инфекционное трансмиссивное заболевание, вызываемое спирохетами *Borrelia burgdorferi sensu lato*, передающимися через присасывание клещей рода *Ixodes* [1]. Боррелиозная инфекция является актуальной проблемой общественного здравоохранения. Среднероссийские показатели заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом за 2010-2015 годы составляют от 4,00 до 7,02 случаев в год, в среднем $5,2 \pm 0,44$ случаев на 100 000 населения. Заболеваемость боррелиозной инфекцией в Кировской области, расположенной на севере Волго-Вятского региона Российской Федерации, составляет 10,21-35,57 случаев, ежегодно превышая среднероссийские показатели в 2,5-6,6 раз [1,2]. Цитокины (интерлейкины) являются веществами белковой природы, участвующими в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунитета [3]. Цитокины осуществляют межклеточные взаимодействия, играют важную роль в тканевом гомеостазе при воспалении. Взаимодействующие интерлейкины обладают синергическими и антагонистическими свойствами, при этом образуется цитокиновая сеть. Интерлейкины направляют дифференцировку CD4+ клеток в Th1- и Th2-клетки, играют важную роль в реализации типов иммунного ответа [3]. Ряд от-

ечественных и зарубежных научных работ был посвящён вопросам исследования иммунопатогенетических особенностей у пациентов с боррелиозной инфекцией при различных клинических формах и стадиях заболевания [6,7,8,9,10]. Цитокиновый профиль в раннюю стадию заболевания определяет выраженность интоксикационно-воспалительного синдрома, клинические проявления болезни [10]. У пациентов с I стадией иксодового клещевого боррелиоза исследована роль некоторых Th1- и Th2-цитокинов (IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-8, IL-12, IL-22, IL-23, TNF α), противовоспалительных интерлейкинов (IL-10) [6,7,8,9,10]. Однако, до настоящего времени не изучены особенности выработки сывороточных цитокинов, ответственных за аутоиммунные воспалительные процессы (IL-17A), и противовоспалительных интерлейкинов (IL-35) у больных с I стадией клещевого боррелиоза.

Цель исследования. Провести сравнительный анализ уровня цитокинов сыворотки крови (IL-17A, IL-35) у пациентов с эритемной и безэритемной формой I стадии боррелиозной инфекции.

Задачи исследования.

1. Изучить особенности содержания IL-17A, IL-35 при эритемной и безэритемной форме I стадии иксодового клещевого боррелиоза при

госпитализации в инфекционный стационар.

2. Сравнить цитокиновый статус у пациентов с эритемной и безэритемной формой I стадии боррелиозной инфекции.

Материалы и методы исследования. В исследовании с 2011 по 2014 год участвовали 30 пациентов с эритемной формой и 30 пациентов с безэритемной формой I стадии боррелиозной инфекции. В каждой из групп исследования мужчины составляли 53,3% (16 человек), женщины – 46,7% (14 человек). Средний возраст пациентов с эритемной формой составил $48,4 \pm 12,2$ лет, больных с безэритемной формой – $45,5 \pm 15,73$ лет. Больные проходили стационарное лечение в Кировской инфекционной клинической больнице. Пациенты с эритемной формой были госпитализированы на $4,0 \pm 0,72$ день болезни, также как и больные с безэритемной формой (на $4,1 \pm 0,66$ день болезни). Исследование соответствовало законодательству Российской Федерации, было одобрено Локальным этическим комитетом Кировского ГМУ. От участников исследования было получено письменное информированное согласие. Клинический диагноз иксодового клещевого боррелиоза был поставлен с использованием классификации, разработанной Воробьёвой Н.Н. В исследовании не участвовали пациенты с соматической патологией опорно-двигательного аппарата, нервной системы, сердца, печени, почек. В исследование не были включены пациенты с онкологической патологией, острыми и хроническими инфекционными заболеваниями, беременностью, лактацией. Группа контроля состояла из 30 здоровых доноров, сопоставимых по половому и возрастному составу с группой исследуемых пациентов. Диагноз I стадии иксодового клещевого боррелиоза был поставлен на основании эпидемиологических, анамнестических, клинико-лабораторных показателей. Специфическое подтверждение диагноза включало серологические методы исследования с определением IgM и IgG в реакции иммуноферментного анализа в лаборатории Кировской инфекционной клинической больницы или определение антител к возбудителям боррелиозной инфекции методом иммунного блота (иммуночипа) в «Центральном научно-исследовательском институте эпидемиологии» (Москва). Концентрацию интерлейкинов сыворотки крови определяли у 30 пациентов с эритемной формой и 30 больных с безэритемной формой I стадии иксодового клещевого боррели-

оза в первые сутки госпитализации, а также у 30 человек из контрольной группы. Образцы венозной крови отбирали в объеме 10 мл, центрифугировали 10 минут при 200 оборотах в минуту. Полученную сыворотку крови замораживали и хранили при температуре -20°C . Определение цитокинового профиля сыворотки крови проводили в лаборатории направленного регулирования межмикробных взаимодействий в экзо- и эндоэкологических системах ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ» Минздрава России. В работе применялся автоматический иммуноферментный анализатор «Personal Lab», фирмы «Adaltis» (Италия) и диагностикумы «Bender MedSystems» (Австрия), «Uscscn Life Science Ins. Wuhan» (Китай). Содержание цитокинов определяли по построенной стандартной калибровочной кривой зависимости оптической плотности от концентрации для стандартного антигена в пикограммах на миллилитр (пг/мл). Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием «StatSoft Statistica v 8.0» и «Microsoft Excel 2002». Минимальный объем выборок был оценен с помощью метода power analysis (stat soft), определена достаточность взятых объемов выборок для мощности критерия (0,95). Распределение количественных данных (уровней интерлейкинов) было определено путём построения гистограмм и вычисления критерия Шапиро-Уилка. При оценке распределения количественных данных (уровней цитокинов) выявлено отличное от нормального распределение. При статистической обработке результатов вычислялись медиана (Me), нижний (Q 25,00) и верхний (Q 75,00) квартили. Для определения достоверности различий независимых выборок использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия значений являлись достоверными при критическом уровне значимости более 95% ($P < 0,05$).

Результаты. В ходе исследования определено содержание провоспалительного IL-17A в сыворотке крови пациентов с эритемной формой I стадии иксодового клещевого боррелиоза при госпитализации, составившее $0,74 (0,22; 3,19)$ пг/мл. В сыворотке крови здоровых доноров концентрация данного цитокина меньше в 3,9 раза — $0,19 (0,00; 0,64)$ пг/мл. При сравнении результатов профиля сывороточного IL-17A в группах пациентов с эритемной формой и здоровых доноров получены достоверные различия ($p = 0,002$, $p < 0,01$). Содержание IL-17A в сыворотке крови больных

с безэритемной формой при госпитализации составило 0,54 (0,26; 0,63) пг/мл, что в 2,8 раза выше уровня здоровых доноров. Концентрация ИЛ-17А сыворотки крови у пациентов с эритемной формой превышает в 1,4 раза показатели больных с безэритемной формой, полученные различия не достоверны ($p=0,158$, $p>0,05$). Известно, что ИЛ-17А представляет собой гомодимер, цитокин с молекулярной массой 32 kDa [4]. ИЛ-17А вырабатывается активированными Th17-лимфоцитами-памяти. ИЛ-17А стимулирует врожденный иммунитет и иммунную защиту организма. Данный цитокин мобилизует нейтрофилы через гранулопоэз, способствует их локальному выживанию. Продукция ИЛ-17А Т-лимфоцитами регулируется активацией ИЛ-23-рецептора. Цитокин ИЛ-17А характеризуется выраженными воспалительными свойствами и способностью инициировать тяжелые аутоиммунные патологии [4]. ИЛ-17А вызывает развитие воспалительных процессов в тканях головного мозга, суставных хрящей, костей, менисков, кожи [4]. В ходе нашей работы определено содержание противовоспалительного ИЛ-35 в сыворотке крови пациентов с эритемной формой при госпитализации, составившее 22,99 (5,12; 50,62) пг/мл. Концентрации сывороточного ИЛ-35 здоровых доноров ниже уровня пациентов с эритемной формой а – 17,16 (5,12; 28,67) пг/мл ($p=0,425$, $p>0,05$). Уровень ИЛ-35 в сыворотке больных с безэритемной формой при госпитализации составил 12,07 (2,03; 19,92) пг/мл, что достоверно ниже значений контрольной группы в 1,4 раза ($p=0,006$, $p<0,01$). Содержание ИЛ-35 в сыворотке крови больных с эритемной формой в 1,9 раз выше, чем у больных с безэритемной формой ($p=0,009$, $p<0,01$). Известно, что ИЛ-35 принадлежит семейству ИЛ-12 и выделяется дендритными клетками, регуляторными Т-лимфоцитами супрессорами (Treg (Foxp3+)) [3,5]. ИЛ-35 состоит из двух субъединиц (Ebi3 и ИЛ-12p35). ИЛ-35 является регуляторным супрессорным фактором. Данный цитокин стимулирует наработку регуляторных Т-лимфоцитов супрессоров (Treg), приводящих к снижению дифференцировки Th17 и подавлению продукции ИЛ-17А [3,5].

Выводы.

1. У пациентов с эритемной формой иксодового клещевого боррелиоза в периоде разгара выраженное повышение активности ИЛ-17А сочетается с высокой выработкой ИЛ-35, что свидетельствует об уравниваемости аутоиммунных и

противовоспалительных процессов. 2. У больных с безэритемной формой боррелиозной инфекции в разгар заболевания повышение сывороточных уровней ИЛ-17А сопровождается недостаточной активностью ИЛ-35, что подтверждает преобладание аутоиммунных воспалительных процессов над иммуносупрессивными реакциями.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бондаренко, А. Л. Лайм-боррелиоз / А. Л. Бондаренко, О. Н. Любезнова. - Киров. – 2009. – С. 185.
2. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека // 2010-2015 гг.
3. Ярилин, А. А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
4. Human IL-17A ELISA. Bender MedSystems. 2015; ЗАО «БиоХимМак»:1-6.
5. Interleukin 35. Uscscn Life Science Inc. Wuhan. 2015. «БиоХимМак»: 1-7.
6. Симакова, А. И. Цитокиновый профиль у больных с иксодовым клещевым боррелиозом / А. И. Симакова, Н. В. Мандракова, Е. В. Маркелова, В. А. Иванис // Цитокины и воспаление. – 2004. – с 21-24
7. Миноранская, Н. С. Значение воспалительных маркеров для дифференциальной диагностики различных форм острых иксодовых клещевых боррелиозов / Н. С. Миноранская, Е. И. Миноранская // Современные проблемы науки и образования. 2014. - №1. - URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=12124> (дата обращения: 25.01.2017).
8. Strle, K. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-Lyme disease symptoms following Erythema migrans / K. Strle, D. Stupica, E. E. Drouin, A. S. Steere, F. Strle // Clin Infect Dis. – 2014. - №58 (3). – P. 372-380.
9. Shemenski, J. Cimetidine as a novel adjunctive treatment for early stage Lyme disease / J. Shemenski // Med Hypotheses. - 2016. S0306-9877(16)30007-X. doi: 10.1016/j.mehy.2016.03.015.
10. Bachmann, M. Early Production of IL-22 but Not IL-17 by Peripheral Blood Mononuclear Cells Exposed to live Borrelia burgdorferi: The Role of Monocytes and Interleukin-1 / M. Bachmann, K. Horn, I. Rudloff, I. Goren, M. Holdener, U. Christen, et all // PLoS Pathog, 2010. Vol. 6(10), available at: PMID: PMC2954834.

Информация об авторах:

Бондаренко Алла Львовна, доктор медицинских наук, профессор. Место работы: ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России. Должность: заведующая кафедрой инфекционных болезней. Почтовый адрес: 610008, г. Киров, ул. Ленина, 207, кафедра инфекционных болезней ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, номер телефона: 33-03-98. E-mail: al.bond@mail.ru.

Сапожникова Вера Викторовна. Место работы: ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России. Должность: очный аспирант кафедры инфекционных болезней. Почтовый адрес: 610004, г. Киров, ул. Советская, д.33, кв.196. номер телефона: 8-909-721-57-77. E-mail: v_v_sapozhnikova@mail.ru.