

*На правах рукописи*

**Шарифуллина Ленера Дауфитовна**

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО  
БОРРЕЛИОЗА (НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН)**

**14.01.09 – инфекционные болезни**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Уфа – 2019**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук, профессор

**Мурзабаева Расима Тимерьяновна**

**Официальные оппоненты:**

**Аитов Курбан Аитович** - доктор медицинских наук, профессор Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры инфекционных болезней

**Конькова-Рейдман Алена Борисовна** - доктор медицинских наук, доцент Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры инфекционных болезней

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д208.006.07 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450008, г. Уфа, ул. Ленина,3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, [http://bashgmu.ru/science\\_and\\_innovation/dissertatsionnyy-sovet/dissertatsii/sharifullina-lenara-daufitovna/](http://bashgmu.ru/science_and_innovation/dissertatsionnyy-sovet/dissertatsii/sharifullina-lenara-daufitovna/)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук

**Хасанова Гузэль Миргасимовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) является распространенной природно-очаговой инфекцией на территории Российской Федерации (РФ) с достаточно высоким уровнем заболеваемости (Аитов К.А. и соавт., 2004; Скрипченко Н.В., 2008; Конькова-Рейдман А.Б. и соавт., 2011; Бондаренко А.Л. и соавт., 2013; Коренберг Э.И. и соавт., 2013; Сарксян Д.С., 2016).

В настоящее время ИКБ регистрируется в 73 регионах РФ (Рудаков Н.В. и соавт., 2015; Шамсутдинов А.Ф. и соавт., 2015; Полищук М.В. и соавт., 2017; Аитов К.А. и соавт., 2018; Конькова - Рейдман А.Б. и соавт., 2019), при этом количество выявленных случаев заболевания за 2010 - 2016 гг. составило от 5,7 до 9,9 тыс. в год.

Среди инфекций, передаваемых иксодовыми клещами, на территории России с 2000 по 2016 гг. преобладал ИКБ, его удельный вес в среднем равнялся  $64,4 \pm 1,51\%$ . Показатели заболеваемости боррелиозной инфекцией в Республике Башкортостан (РБ) ниже таковых по РФ и в 2015-2017 гг. составили 1,1-0,8 на 100 тыс. населения, и заболевание зарегистрировано на 18 из 63 административных территорий РБ (Рожкова Е.В. и соавт., 2012; Мурзабаева Р.Т. и соавт., 2016).

ИКБ характеризуется полиморфизмом клинических симптомов, определенной склонностью к латентному течению, а при запоздалой диагностике, отсутствии антибактериальной профилактики и терапии может принимать хроническое течение (Васильева Ю.П., 2003; Миноранская Н.С. и соавт., 2014; Сарксян Д.С., 2016; Бондаренко А.Л. и соавт., 2017; Steere A.C., 2001; Murray T.S., 2010; Esposito S. и соавт., 2013; Chomel B., 2015). Особую диагностическую сложность представляют безэритемные, субклинические и серонегативные формы заболевания (Сандугей А.В. и соавт., 2011; Утенкова Е.О., 2015).

В остром периоде ИКБ серологические методы диагностики недостаточно информативны, что обуславливается слабой иммуногенностью боррелий комплекса *Burgdorferi sensu lato*, или тем, что заболевание может быть вызвано другими видами боррелий, в частности, *B.miyamotoi* (Конькова-Рейдман А.Б. и соавт., 2011; Коренберг Э.И., 2012; Сарксян Д.С., 2015 Auwaerter P.G., 2004; Cerar T., 2010). Данное обстоятельство определяет нередко необходимость повторного лабораторного обследования на боррелиозную инфекцию, вызванную *B. Burgdorferi sensu lato*, и при безэритемной форме болезни исключения и боррелиоза, обусловленного *B. miyamotoi*.

Особенности клинического течения ИКБ зависят не только от вида боррелий, но и от состояния иммунной системы макроорганизма (Миноранская Н.С. и соавт., 2014; Воробьева Н.Н. и соавт., 2016; Singh S.K., 2004; Widhe M., 2004; Harel M., 2006; Nau R., 2009). Имеются сведения о роли аутоиммунных механизмов в патогенезе заболевания, которые обуславливают развитие органных поражений (Муравина Т.И., 2001; Бондаренко А.Л. и соавт., 2016; Ravesh E.S., 2005; Ma Y. et al., 2015).

Рядом исследований установлена решающая роль дисбаланса между Th1- и Th2-типами иммунного ответа в патогенезе инфекционных заболеваний, что определяется

изменением продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (Ярилин А.А., 2010; Рожкова Е.Г. и соавт., 2012; Симбирцев А.С. и соавт., 2015). А также показано, что уровень двух групп интерлейкинов, их соотношение отражают интенсивность деструктивно-воспалительных и восстановительных процессов, особенности течения заболевания (Кетлинский С.А., 2002; Симбирцев А.С. и соавт., 2015; Бондаренко А.Л. и соавт., 2017).

Изучение показателей цитокинов в крови, их значения в развитии клинических проявлений острой стадии ИКБ, при длительном сохранении возбудителей в организме и хронизации инфекционного процесса способствуют выявлению дополнительных критериев для оценки степени тяжести и прогноза болезни (Кашкин К.П., 1998; Миноранская Н.С. и соавт., 2014; Бондаренко А.Л. и соавт., 2016).

### **Степень разработанности темы исследования**

В литературе имеются сведения об изучении цитокинового статуса у больных ИКБ, однако полученные результаты нередко противоречивы и не исследованы их взаимосвязи с основными клинико-лабораторными показателями заболевания, с системой гемостаза и недостаточно полно выяснено их патогенетическое значение (Миноранская Н.С. и соавт., 2013; Гордыгина Е.В. и соавт., 2015; Pedra J., 2008).

Поскольку серологическая диагностика ИКБ остается недостаточно информативной, существенно возрастает диагностическое значение клинико-лабораторных данных, позволяющих выявлять патогенетические особенности рассматриваемой группы заболеваний, что необходимо для их своевременной диагностики и эффективной терапии.

Патогенетически значимые компоненты клеточных стенок боррелий в основном представлены поверхностно расположенными белками, например, DbpA и DbpB, взаимодействующими с белковым компонентом протеогликана и, соответственно, повышающими эффективность колонизации боррелиями эпителиальных поверхностей (Guo B.P. et al., 1998). Среди известных у *Borrelia spp.* адгезинов большее значение имеет белок Р66, выступающий как порин и как медиатор взаимодействия *B.burgdorferi* с бета3-цепочечными интегринами, находящийся в мембранах иммунокомпетентных клеток, тромбоцитов и клеток эндотелия, с которым связывают тканевую диссеминацию возбудителя (Carrasco S.E. et al., 2015; Ristow L.C. et al., 2015).

Указанное определяет тот факт, что одним из патогенетически весомых звеньев ИКБ является повреждение эндотелия сосудов с последующим вовлечением в патогенез системы тромбоцитарного и плазменного гемостаза (Козлов А.А. и соавт., 2014; Гордыгина Е.В. и соавт., 2015; Воробьева Н.Н. и соавт., 2016; Bergström S. et al., 2018).

В доступной литературе выявлены сведения о сопричастности медиаторов иммунного ответа – цитокинов - в развитии ДВС-синдрома и других нарушениях гемостаза, об их влиянии на функциональную активность тромбоцитов, на коагуляционное звено гемостаза и фибринолитическую активность крови (Кузник Б.И., 2012; Козлов А.А. и соавт., 2014). И у

больных ИКБ исследование взаимосвязей между показателями свертывающей системы и цитокинов может способствовать более полному изучению особенностей течения болезни.

В связи с этим представляется актуальным комплексное исследование особенностей клинического течения болезни, цитокинового профиля и основных показателей свертывающей системы крови, характера взаимосвязей между показателями системы цитокинов, гемостаза и продолжительностью ведущих клинических синдромов у пациентов с боррелиозной инфекцией.

**Цель работы** - установить клинико-патогенетическое значение цитокинового статуса, параметров гемостаза, их взаимосвязей с основными клиническими синдромами у больных иксодовым клещевым боррелиозом для обоснования дополнительных критериев оценки степени тяжести и прогноза заболевания.

### **Задачи исследования**

1. Провести сравнительный анализ особенностей течения иксодового клещевого боррелиоза в зависимости от клинической формы и степени тяжести болезни.

2. Определить динамику концентрации провоспалительных (TNF- $\alpha$ , IFN  $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-18) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов в периферической крови и характер взаимосвязей между ними у больных с эритемной и безэритемной формами боррелиозной инфекции.

3. Сравнить основные показатели гемостаза (количество тромбоцитов, значения фибриногена, активированного частичного тромбинового, протромбинового и тромбинового времени, D-димера в крови) в зависимости от клинической формы, степени тяжести и периода иксодового клещевого боррелиоза.

4. Провести анализ характера взаимосвязей между показателями цитокинового профиля, гемостаза и клинико-лабораторными параметрами у пациентов с боррелиозной инфекцией для оценки степени тяжести и прогноза заболевания.

### **Научная новизна работы**

На основании изучения региональных особенностей ИКБ установлено, что территория РБ является природным очагом болезни с циклическим и сезонным характером заболеваемости.

Дана сравнительная клинико-лабораторная характеристика эритемной и безэритемной форм ИКБ, регистрируемых на территории РБ, в зависимости от степени тяжести и периода заболевания. Впервые на территории республики выявлены случаи ИКБ, вызванные *B.miyamotoi*. Установлено, что у пациентов с безэритемной формой болезни со значительно большей частотой и продолжительностью развиваются интоксикационно-воспалительный синдром и органические поражения.

Показана зависимость изменений в цитокиновом статусе от степени тяжести и клинической формы боррелиозной инфекции. Определены статистически значимо высокие

уровни провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-18) в периоде разгара и противовоспалительных (IL-4, IL-10) и двух провоспалительных (IL-6, IFN- $\gamma$ ) цитокинов в периоде обратного развития симптомов болезни. При этом показатели цитокинового профиля оказываются при ИКБ средней степени тяжести достоверно выше, чем при легкой степени, и при безэритемной форме среднетяжелого течения значимо выше, чем при эритемной форме болезни.

Впервые исследовано содержание провоспалительного цитокина IL-18 в сыворотке крови в динамике боррелиозной инфекции, параллельно и IFN- $\gamma$ , показано его про- и противовоспалительное действие. Установленные корреляции между содержанием в крови провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-18) и продолжительностью лихорадки, артромиалгического синдрома при легкой и среднетяжелой форме ИКБ отражают выраженность ранней воспалительной реакции и степень тяжести заболевания.

В остром периоде ИКБ показано уменьшение количества тромбоцитов, удлинение АЧТВ, ТВ и повышение уровня D-димера в крови, более выраженные при безэритемной форме болезни ( $p < 0,01$ ) среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой и легкой степенью тяжести заболевания, что свидетельствует об активации коагуляционного звена гемостаза и процессов фибринолиза в зависимости от клинического варианта и тяжести течения боррелиозной инфекции.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Выявление подтвержденных случаев ИКБ, обусловленного *B.miyamotoi*, на территории РБ, позволяет рекомендовать комплексное лабораторное обследование на боррелиоз, вызванный *B.miyamotoi*, больных с заболеваниями, сопровождающимися высокой лихорадкой и отсутствием эритемы после присасывания клеща.

Полученные результаты изучения цитокинового профиля в динамике болезни отражают степень выраженности ранней воспалительной реакции, развитие иммунного ответа и могут использоваться для определения степени тяжести и прогнозирования исходов ИКБ.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. На территории Республики Башкортостан существует активный природный очаг ИКБ с циклическим и сезонным характером заболеваемости. Регистрируются эритемные и безэритемные формы боррелиозной инфекции, вызванной боррелиями комплекса *Burgdorferi sensu lato*. Впервые диагностируются случаи ИКБ безэритемной формы, обусловленного *B. miyamotoi*.

2. Выявляются изменения значений основных показателей гемостаза (количества тромбоцитов, содержания фибриногена, активированного частичного тромбинового, протромбинового и тромбинового времени, D-димера в крови), которые зависят от клинической формы, степени тяжести и периода ИКБ.

3. В периоде разгара боррелиозной инфекции значительно возрастает уровень сывороточных провоспалительных (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-18) цитокинов в крови, за исключением IL-6, IFN  $\gamma$ , с тенденцией к нормализации в периоде ранней реконвалесценции. Содержание противовоспалительных (IL-4, IL-10) и двух провоспалительных цитокинов (IL-6, IFN- $\gamma$ ) повышается в периоде обратного развития клинических проявлений и снижается до показателей контрольной группы в периоде поздней реконвалесценции.

4. Установленные корреляционные взаимосвязи между показателями цитокинового профиля крови, гемостаза и рядом клинико-лабораторных параметров у пациентов иксодовым клещевым боррелиозом в остром периоде и в периоде поздней реконвалесценции отражают характер клинического течения болезни и могут служить дополнительным критерием оценки степени тяжести и прогноза течения заболевания.

### **Методология и методы исследования**

В диссертационной работе использован системный подход, который основан на методах доказательной медицины. Согласно цели и задачам исследования, нами составлен план выполнения всех этапов работы, с использованием клинических, серологических, молекулярно-генетических, инструментальных, клинико-статистических методов. Математическая обработка данных осуществлялась параметрическими и непараметрическими методами с использованием программных пакетов статистического анализа.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность полученных результатов обеспечивается необходимым объемом наблюдений, четким учетом критериев включения и исключения из исследования, применением новых методов исследования, статистического анализа для обработки данных. Сформулированные положения, выводы и практические рекомендации аргументированы, являются результатом тщательного изучения полученного фактического материала.

Основные положения диссертации представлены на VII, VIII, IX, X Всероссийском Ежегодном Конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2015, 2016, 2017, 2018), на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы экологии человека» с международным участием (Уфа, 2015), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфектологии» с международным участием (Уфа, 2016), Всероссийской научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты современной инфектологии» с международным участием (Уфа, 2017), Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные болезни: наука, практика, обучение», посвященной 85-летию Башкирского государственного медицинского университета (Уфа, 2017).

Работа апробирована на совместном заседании проблемной комиссии «Проблемы инфектологии» и кафедр фундаментальной и прикладной микробиологии, инфекционных болезней с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Данные, полученные в результате проведенных исследований, дополняют знания об этиологической структуре ИКБ на территории РБ, патогенезе и клинических особенностях эритемной и безэритемной форм боррелиозной инфекции.

Диссертационное исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в октябре 2014 г.

### **Личный вклад автора**

Автором проведен углубленный анализ литературы по теме диссертации, тщательный отбор исследуемых пациентов, заполнение карт клинической разработки историй болезни, сравнительный анализ течения боррелиозной инфекции и лабораторных показателей в зависимости от клинического варианта и степени тяжести заболевания, проводился тщательный статистический анализ полученных данных и оформление текста научно-исследовательской работы.

### **Внедрение результатов в практику**

Полученные нами результаты внедрены в практическую деятельность клинической инфекционной больницы № 4 г. Уфы, инфекционных отделений и КИЗ Янаульской, Татышлинской центральных районных больниц и городских больниц (г.Уфа, г. Нефтекамск) и используются в педагогическом процессе на кафедре инфекционных болезней с курсом ИДПО Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.09 – инфекционные болезни. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, пунктам 1, 2 и 3 паспорта специальности инфекционные болезни.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 4 - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация написана по традиционному плану, изложена на 174 страницах, иллюстрирована 13 таблицами, 29 рисунками. Состоит из введения, 5 глав, обсуждения полученных данных, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 141 отечественных и 108 зарубежных источников.



## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследований

Всего обследовано 116 пациентов с ИКБ за 2014–2017 гг. Условиями включения больных в исследование были наличие у пациентов с эритемной формой болезни мигрирующей эритемы на коже диаметром более 5 см; у пациентов с безэритемной формой иксодового клещевого боррелиоза симптомов интоксикации и органных поражений, выявление антител к антигенам боррелий в крови методами ИФА и иммунного блоттинга, информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критериями исключения были выявление специфических антител к возбудителям клещевого вирусного энцефалита, гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека иммуноферментным методом. Критерием исключения также были наличие хронических заболеваний органов дыхания, сердечно-сосудистой системы и почек в фазе обострения.

Возраст пациентов колебался от 18 до 75 лет, в среднем составил  $47,0 \pm 16,56$  лет. Оценка клинико-лабораторных данных исследуемых больных проводилась с учетом клинической формы и степени тяжести заболевания. Эритемная форма ИКБ регистрировалась у 98 (84,5%) и безэритемная - у 18 (15,5%) пациентов. В 42 случаях (36,2%) наблюдалось легкое и в 74 (63,8%) среднетяжелое течение болезни. Сравнительная характеристика двух клинических вариантов течения болезни проводилась у 56 пациентов (75,7%) с эритемной и у 18 (24,3%) – с безэритемной формой боррелиозной инфекции средней степени тяжести.

Всем больным проводили комплексное обследование: подсчет клеток крови на гематологическом анализаторе Medonic CA-530 фирмы Boule Medical A.B. (Швеция), определение биохимических показателей в сыворотке крови (билирубин, АЛТ, АСТ) на анализаторе Sapphire 400 фирмы Hirose Electronic System (Япония) с применением тест-наборов реактивов фирмы Вектор-Бест (Россия), ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости (ОБП), электрокардиография (ЭКГ). Параметры плазменного гемостаза (фибриноген, активированное частичное тромбопластиновое, протромбиновое и тромбиновое время) определялись на анализаторе АСКa-02 Астра с применением тест-наборов реактивов фирмы Технология-Стандарт (Россия); уровень D-димера - методом микролатексной агглютинации с использованием тест-систем фирмы Ренам (Россия).

Кровь для лабораторных исследований у пациентов забирали до назначения антибактериальной терапии в вакуумные пробирки с цитратом натрия (для исследования гемостаза), с активатором свертывания (для получения сыворотки) и с ЭДТА (для подсчета гематологических показателей).

Этиологическую диагностику осуществляли выявлением специфических IgM и IgG к комплексу *B. Burgdorferi sensu lato* в сыворотке крови в ИФА с использованием тест-систем фирмы Вектор-Бест (Россия) с расчетом коэффициента позитивности (КП) и интерпретацией результатов исследования согласно инструкции производителя. Серологические исследования проводили на 10-12 и 15-20 дни болезни. При отсутствии специфических

антител последующие исследования проводили спустя 1 и 3 месяца после манифестации заболевания. На втором этапе серологическое подтверждение диагноза включало выявление специфических антител к отдельным антигенам боррелий методом иммунного блоттинга с определением КП. Исследование проводилось в ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (лаборатория природно-очаговых инфекций, зав. лабораторией – д.м.н., профессор А.Е. Платонов).

Осуществлялось определение содержания сывороточных провоспалительных (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-18) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) иммуноферментным методом с использованием стандартных тест систем ProCon (ООО «Протеиновый контур», Россия) у 38 больных ИКБ и у 30 человек из группы здоровых лиц. Для этой цели забор крови производился в динамике: на 2-5 дни болезни (период разгара), на 7-11 сутки (период обратного развития симптомов), на 14-19 дни от начала заболевания (ранней реконвалесценции) и через 3 и 6 месяцев после выписки из стационара.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью методов вариационной статистики (Гареев Е.М., 2009), профессионального пакета Statistica 6. Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Вилка. При нормальности распределения вариационного ряда была избрана двухфакторная модель дисперсионного анализа (ДА) по Р. Фишеру (Фишер Р.А., 1918, 1938), где в качестве контролируемых факторов выступали степень тяжести и период ИКБ (Реброва О.Ю., 2002; Зайцев В.И., 2006). Определены числовые характеристики переменных – средние арифметические (M) и стандартные отклонения (SD). В сформированных независимых выборках достоверность различия средних арифметических значений определяли по F-критерию Фишера. При отсутствии нормальности распределения признака использовали непараметрический (ранговый) дисперсионный анализ по Фридману (Холлендер М., 1983), где  $\eta^2$  – критерий Фридмана показывает зависимость измеряемой величины от периода заболевания,  $r^*$ - коэффициент конкордации Кендалла, демонстрирует согласованность профилей изменений у разных пациентов. Для описания групп использованы медиана и межквартильный интервал – Me (P25%; P75%). Различия между группами в каждом периоде оценивались по ранговому критерию Манна-Уитни (U). Анализ характера корреляционных зависимостей признаков осуществляли методом ранговой корреляции Спирмена (r). Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **КЛИНИКО – ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ИКСОДОВЫМ КЛЕЩЕВЫМ БОРРЕЛИОЗОМ**

На первом этапе представлена клинико-лабораторная характеристика 116 пациентов боррелиозной инфекцией легкой (42 чел.) и средней степени тяжести (74 чел.) в совокупности без учета клинических форм болезни. Большинство пациентов с ИКБ отмечали

факт присасывания клеща (96,5%). Максимальное количество случаев заражения зарегистрировано в мае (46,5%) и в июне (38,8%).

В месте присасывания клеща у 98 (84,5%) пациентов определялась эритема в диаметре от 6 до 46 см, у 18 человек (15,5%) была установлена безэритемная форма заболевания. У 53 пациентов (54,1 %) развитие эритемы сопровождалось зудом, жжением. Эритема сохранялась на коже при легкой форме  $3,83 \pm 0,27$  дня, а при среднетяжелом течении статистически значимо продолжительнее  $-5,54 \pm 0,33$  суток ( $p < 0,05$ ). Элементы эритемы угасали бесследно у 57 больных (58,2%), с шелушением у 24 (24,5%) и с пигментацией у 16 (16,3 %) пациентов. Особенности эритемы имеют дифференциально-диагностическое значение при диагностике эритемной форме ИКБ.

В начальном периоде болезни у сравниваемых групп больных развивался синдром интоксикации, который большей частотой регистрировался при среднетяжелом течении болезни. Так, лихорадка наблюдалась у 98,7% больных со среднетяжелой и у 61,9% - легкой формой ИКБ ( $p < 0,0001$ ), головная боль в 83,8% и 33,3% ( $p < 0,0001$ ) и ломота в теле в 90,5% и 4,8% случаев ( $p < 0,0001$ ) соответственно.

В остром периоде боррелиозной инфекции среднетяжелой формы по сравнению с легкой значительно чаще возникали артромиалгический в 51,4% и 9,5% случаев ( $p < 0,0001$ ) и катаральный синдром в 21,6 и 7,1% случаев ( $p < 0,02$ ), соответственно. Синдром цитолиза наблюдался у 6 (8,11%) и патологические отклонения со стороны сердца у 4 (5,4%) больных со среднетяжелым течением ИКБ.

Важным звеном патогенеза в остром периоде ИКБ является поражение эндотелиоцитов сосудов и диссеминация боррелий в органы-мишени с повреждением астроцитов, кардиомиоцитов, гепатоцитов. Разнообразные поражения органов при боррелиозной инфекции связывают с развитием системных васкулитов, нарушениями в системе коагуляционного гемостаза и фибринолиза, развитием воспалительных реакций в организме (Скрипченко Н.В. и соавт., 2012; Воробьева Н.Н. и соавт., 2016).

Нами проводилось определение основных параметров гемостаза у больных боррелиозной инфекцией в зависимости от степени тяжести заболевания. По результатам исследования выявлена активизация тромбоцитарно-прокоагулянтного звена гемостаза с достоверным уменьшением количества тромбоцитов в периферической крови, удлинением АЧТВ и ТВ в разгар болезни среднетяжелого течения по сравнению с легким течением с достижением значений нормы в периоде выздоровления ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  и  $p < 0,05$  соответственно).

Далее проводилась сравнительная характеристика двух клинических вариантов болезни у 56 пациентов (75,7%) с эритемной и у 18 (24,3%) – с безэритемной формой боррелиозной инфекции среднетяжелого течения. Инкубационный период при безэритемном варианте ИКБ был существенно дольше и составил  $12,6 \pm 2,03$  суток, при эритемном варианте -  $7,5 \pm 0,79$  дней,  $p < 0,05$ . Более длительный инкубационный период у больных с безэритемной формой болезни (8-45 суток) объясняют с ранним развитием спирохетемии, диссеминацией боррелий.

У пациентов с безэритемной формой ИКБ по сравнению с больными с эритемным вариантом заболевания достоверно чаще развивались лихорадка (в 100% случаев при безэритемной и 67,8% при эритемной форме ИКБ,  $p < 0,0001$ ), головная боль (в 72,3% и 33,3%,  $p < 0,0001$ ), ломота в теле (в 100% и 57,1%;  $p < 0,0001$ ), озноб (77,8% и 58,9% соответственно;  $p < 0,0001$ ).

При анализе данных ЭКГ у 3 больных с безэритемной формой боррелиозной инфекции (16,7%) выявлены нарушения сердечного ритма в виде синусовой тахикардии (5,6%) и замедления внутрисердечной проводимости (11,1%). У одного пациента с эритемой (1,8%) отмечалось нарушение реполяризации миокарда. Больные жаловались на боли в области сердца, сердцебиение, одышку при ходьбе.

Как известно, спирохеты способны связываться с протеогликаном миокарда – декорином, оказывать прямое повреждающее действие на сердечную ткань и индуцировать местные воспалительные процессы (Малинин И.Е. и соавт., 2012; Скрипченко Н.В. и соавт., 2012; Mason L.M. et al., 2015).

Катаральные явления отмечались более чем у половины исследуемых пациентов с безэритемной (55,6%,  $p < 0,0001$ ) и лишь у единичных больных с эритемной формой болезни (7,2%) в виде гиперемии слизистой ротоглотки, ринита, першения в горле, сухого кашля. Со стороны легких патологии не было выявлено.

У 4 пациентов с безэритемной формой болезни (22,2%) наблюдались клинико-лабораторные признаки безжелтушного гепатита с увеличением уровня аминотрансфераз от 1,5 до 3 раз (средние значения АЛТ составили  $89,6 \pm 12,53$  Ед/л, АСТ -  $117,5 \pm 6,79$  Ед/л). При эритемной форме ИКБ синдром цитолиза определялся лишь в 2 (3,6%) случаях.

Патологические изменения в гепатоцитах у больных с ИКБ связаны с наличием живых спирохет и могут варьировать от лимфоцитарной инфильтрации портальных трактов до повреждений клеток печени (Бондаренко А.Л. и соавт., 2009).

У одного больного с безэритемной формой боррелиозной инфекции (5,6%) было зарегистрировано поражение нервной системы (НС) в виде серозного менингита на 10-й день болезни. Клинически проявлялся головной болью, рвотой, гиперакузией, фотофобией и наличием менингеальных симптомов в течение 3-х суток. В ликворе отмечались лимфоцитарный цитоз ( $250$  клеток/ $\text{мм}^3$ , лимфоциты - 78%) и повышенное содержание белка (1,51 г/л). Известно, что раздражение мягких мозговых оболочек у больных с ИКБ обусловлено массивной спирохетемией, токсемией и ранней диссеминацией боррелий и проникновением в ЦНС гематогенным и периневральным путем. В результате в головном мозгу активируются моноциты, макрофаги, дендритные и глиальные клетки, синтезирующие провоспалительные цитокины (Скрипченко Н.В. и соавт., 2012; Dandashi J.A. et al., 2016; Pietikäinen A. et al., 2016).

У 9 пациентов (50%) при безэритемном варианте болезни, в 1,5 раза чаще, чем при эритемной форме (30,3%), регистрировались боли в коленных и голеностопных суставах с первых дней, они были кратковременными, по характеру напоминали реактивный артрит. Поражение суставов при боррелиозной инфекции связывают с тропностью боррелий к

протеогликану - декорину тканей опорно - двигательного аппарата, выделением провоспалительных цитокинов, а также с развитием аутоиммунных реакций (Скрипченко Н.В. и соавт., 2012; Ma Y. et al., 2015).

Полученные нами результаты о сравнительной характеристике эритемной и безэритемной форм ИКБ средней степени тяжести по структуре основных клинических синдромов заболевания в целом соответствуют данным других исследователей, в то же время значительно отличаются по частоте и продолжительности их проявлений.

Более выраженный синдром интоксикации и органные поражения у пациентов с безэритемной формой ИКБ регистрируются в Красноярском, Пермском и Краснодарском крае, в Иркутской и Челябинской областях (Миноранская Н.С. и соавт., 2013; Воробьева Н.Н. и соавт., 2016; Авдеева М.Г. и соавт., 2014; Аитов К.А. и соавт., 2004; Конькова-Рейдман А.Б. и соавт., 2011).

В общем анализе крови в разгар болезни у пациентов с эритемной и безэритемной формами боррелиозной инфекции определяются статистически значимо высокие показатели лейкоцитов, чем у лиц из группы контроля, ( $p < 0,01$  и  $p < 0,01$ , соответственно). При этом у пациентов с безэритемным вариантом болезни средний уровень лейкоцитов оказался выше, чем при эритемной форме ИКБ ( $p < 0,05$ ), что, по-видимому, свидетельствует о развитии более выраженного воспалительного процесса при безэритемной форме болезни. Более высокое содержание моноцитов в крови определялось у пациентов с эритемной формой заболевания ( $p < 0,05$ ), что, по-видимому, указывает на выраженный местный воспалительный процесс при наличии клещевой эритемы.

При безэритемной форме ИКБ среднее число тромбоцитов в периферической крови в период разгара болезни оказалось ниже, чем у пациентов с эритемным вариантом болезни и группы здоровых лиц,  $p < 0,01$  и  $p < 0,01$  соответственно. Среди показателей прокоагулянтного звена гемостаза отмечалось статистически значимое удлинение уровня АЧТВ в остром периоде эритемной и безэритемной форм ИКБ по сравнению с группой здоровых лиц,  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно. При этом у больных с безэритемной формой боррелиозной инфекции по сравнению с пациентами с эритемой показатели АЧТВ были значительно выше,  $p < 0,05$ . Такая же динамика выявлена в показателях ТВ у больных с безэритемным вариантом заболевания по сравнению с группой контроля ( $p < 0,01$ ) и эритемной формой болезни ( $p < 0,01$ ).

Нами выявлено статистически значимое увеличение содержания D-димера в крови в периоде разгара болезни у пациентов с безэритемной формой ИКБ в сравнении с группой контроля ( $p < 0,01$ ) и эритемной формой болезни ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, при безэритемном варианте боррелиозной инфекции среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой болезни наиболее характерными были более длительный инкубационный период ( $12,6 \pm 2,03$  и  $7,5 \pm 0,79$  суток;  $p < 0,0001$ ), высокая продолжительная лихорадка ( $8,1 \pm 1,18$  и  $3,7 \pm 0,25$ ;  $p < 0,0001$ ), органные поражения в виде катарального синдрома (55,6% и 7,2%;  $p < 0,01$ ); артромиалгии (50% и 30,3%;  $p < 0,01$ ), безжелтушного гепатита (22,2% и 3,6%;  $p < 0,001$ ), ЭКГ-изменений (16,7% и 1,8%;  $p < 0,001$ ),

соответственно. Лишь регионарный лимфаденит с большей частотой выявляется у больных с эритемной формой заболевания ( $p \geq 0,05$ ).

Нами представлена клинико-лабораторная характеристика выявленного впервые в РБ случая ИКБ, вызванного *B.miyamotoi*, протекавшего в безэритемной форме. Заболевание характеризовалось острым началом, фебрильной лихорадкой, ознобом, артралгиями, развитием безжелтушного гепатита, выявлением на ЭКГ нарушений процессов реполяризации в миокарде и синусовой брадикардии.

Приведенные особенности клиники безэритемной формы ИКБ можно объяснить особенностями проникновения боррелий из места присасывания клеща в кровеносное русло. В отличие от других бактерий, боррелии не синтезируют ферменты (коллагеназа, эластаза, гиалуронидаза), способствующие преодолению тканевых защитных барьеров. Для этих целей боррелии при помощи белка OspA связываются с плазминогеном/плазмином и активируют металлопротеиназы хозяина, что приводит к иницированию воспалительных реакций в сосудах. Кроме того, боррелии могут связываться с компонентами экстрацеллюлярного матрикса – фибронектином и некоторыми интегринами, а также с протеогликаном - декорином посредством декорин-связывающих белков (DbpA и DbpB), обеспечивая диссеминацию и выживание в тканях, богатых декорином (кожа, суставы и сердечно-сосудистая система), способствуя более выраженной интоксикации и частым органным поражениям (Сапожникова В.В. и соавт., 2017; Kung F. et al., 2016; Moon K.H. et al., 2016; Jenny A.H., 2017; Maccallini S. et al., 2018; Schlachter S. et al., 2018).

Нами проводился клинико-лабораторный мониторинг, включая цитокиновый профиль крови, за исследуемыми пациентами боррелиозной инфекцией в периоде поздней реконвалесценции до 12 месяцев. По данным диспансерного наблюдения у исследуемых 116 пациентов ИКБ наступило полное выздоровление. Полученные результаты можно объяснить включением в исследование пациентов, поступивших в стационар в ранние сроки боррелиозной инфекции, своевременной диагностикой болезни и рациональной, в ряде случаев и провизорной, антибиотикотерапией, что подтверждается данными литературы (Воробьева Н.Н. и соавт., 2016; Vriciu V.T. et al., 2017).

Таким образом, сравнительный анализ частоты и продолжительности основных клинических симптомов, лабораторных показателей при эритемной и безэритемной формах боррелиозной инфекции на примере Республики Башкортостан свидетельствуют о более тяжелом течении безэритемной формы болезни.

## **ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИКСОДОВЫМ КЛЕЩЕВЫМ БОРРЕЛИОЗОМ**

При определении концентрации сывороточных провоспалительных цитокинов у пациентов ИКБ легкого и среднетяжелого течения в динамике болезни выявлены однонаправленные изменения. Наблюдалось значительное повышение синтеза провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, за исключением IL-6 и IFN- $\gamma$ ), в период

разгара болезни и постепенное снижение их уровня к периоду ранней реконвалесценции и нормализацией к 3 месяцу, а IL-18 – к 6 месяцу диспансерного наблюдения. Учитывая однонаправленную, сопоставимую динамику концентрации указанных медиаторов воспаления, приводим описание изменений содержания - TNF- $\alpha$  в динамике боррелиозной инфекции (рисунок 1).

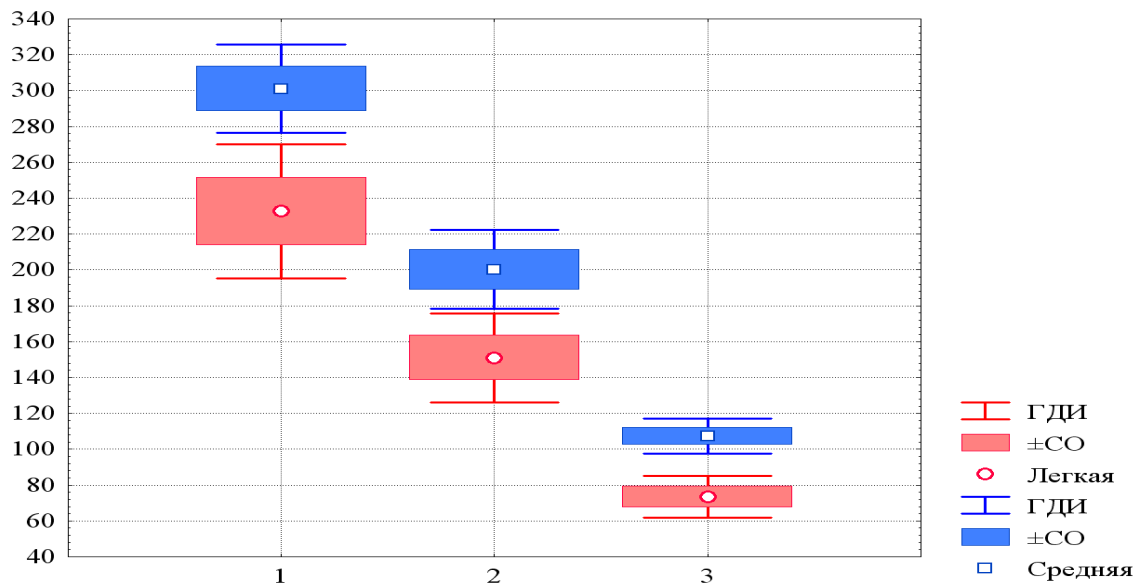


Рисунок 1 - Изменения содержания цитокина TNF- $\alpha$  в сыворотке крови больных ИКБ. По оси абсцисс – периоды заболевания: 1 – разгар болезни, 2 – обратного развития симптомов, 3 – ранней реконвалесценции. По оси ординат – средний уровень TNF- $\alpha$  в пг/мл с указанием границ доверительного интервала (ГДИ) и стандартной ошибки (СО).

При анализе продукции TNF- $\alpha$  в динамике ИКБ выявлено, что последовательные изменения его уровня оказались достаточно жестко ( $\eta^2=61\%$ ,  $F=106,2$ ;  $p<0,0001$ ) зависимыми от периода заболевания. Влияние степени тяжести болезни оказалось многократно слабее ( $\eta^2=7\%$ ,  $F=25,9$ ;  $p<0,0001$ ), а влияние сочетанного действия обоих факторов незначимым ( $F=1,0$ ;  $p>0,36$ ). Полученные данные указывают, что изменения среднего уровня TNF- $\alpha$  в крови в динамике болезни были значимыми, однотипными при обеих степенях тяжести заболевания при постоянной значимой разнице содержания этого цитокина при легкой и средней степени тяжести ИКБ. В периоде разгара боррелиозной инфекции средние уровни концентрации TNF- $\alpha$  максимальны, при легкой степени тяжести ИКБ составили  $232,7 \pm 19,0$  пг/мл, при среднетяжелом течении -  $301,1 \pm 12,5$  пг/мл. В периоде обратного развития симптомов болезни значения TNF- $\alpha$  в обеих группах снизились в полтора раза, а в периоде ранней реконвалесценции уменьшились втрое, до  $73,5 \pm 5,98$  пг/мл при ИКБ легкой и  $107,3 \pm 4,98$  пг/мл при средней степени тяжести болезни.

Нами впервые проводилось изучение продукции IL-18 у пациентов с боррелиозной инфекцией с учетом степени тяжести и клинического варианта заболевания (Рисунок 2).

В разгар болезни средний уровень IL-18 в группе больных со среднетяжелой формой ИКБ повышается в 3,7 раза, при легкой форме - в 2,5 раза. К выписке из стационара уровень IL-18, последовательно и значимо снижаясь, становится в 2 раза ниже исходного показателя.

К 6 месяцу диспансерного наблюдения средний уровень ИЛ-18 статистически значимо ( $p < 0,05$ ) снижается и достигает значений контрольной группы.

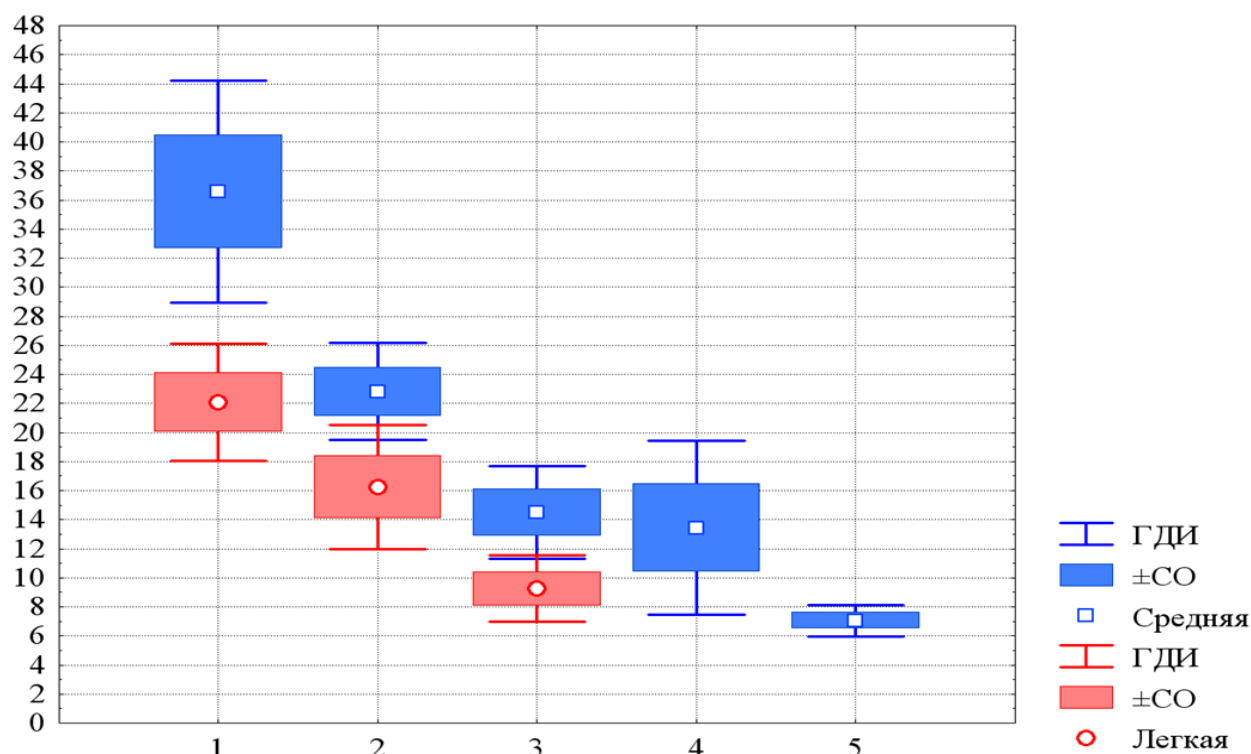


Рисунок 2 - Изменения содержания цитокина ИЛ-18 в сыворотке крови больных ИКБ. По оси абсцисс – периоды заболевания: 1 – разгар болезни, 2 – обратного развития симптомов, 3 – ранней реконвалесценции, 4 – через 3 месяца и 5 – через 6 месяцев диспансерного наблюдения. По оси ординат – средний уровень ИЛ-18 в пг/мл с указанием границ доверительного интервала (ГДИ) и стандартной ошибки (СО).

При безэритемной форме ИКБ динамика содержания ИЛ-18 отличалась, максимальный уровень продукции цитокина регистрировался в разгар болезни, далее наблюдалось постепенное снижение его концентрации в периоде обратного развития симптомов и нормализация в стадии ранней реконвалесценции, т.е. в остром периоде инфекции наблюдалась более активная продукция данного цитокина.

При оценке сывороточного уровня IFN- $\gamma$  и ИЛ-6 в зависимости от клинической формы ИКБ выявлены сходные закономерности в их концентрации в динамике болезни. Изменения их уровня при эритемной форме ИКБ носили двухфазный характер. В разгар болезни отмечено незначительное повышение среднего уровня данных цитокинов, в стадии обратного развития симптомов болезни продукция медиаторов воспаления достигла своего пикового уровня. В дальнейшем содержание в крови IFN- $\gamma$ , ИЛ-6 постепенно снижалось и достигло значений контрольной группы к трем (ИЛ-6) и к шести (IFN- $\gamma$ ) месяцам диспансерного наблюдения.

Изменения уровня IFN- $\gamma$  при безэритемной форме ИКБ носили также двухфазный характер. Фаза подъема с  $4,3 \pm 2,2$  пг/мл в период разгара болезни, до  $8,2 \pm 3,9$  пг/мл в стадии



обратного развития симптомов и снижение до  $2,7 \pm 1,9$  пг/мл в периоде ранней реконвалесценции. Эти изменения оказались достаточно тесно связанными с этапами наблюдения –  $\eta^2=41\%$ ,  $F=17,8$ ,  $p<0,0001$ . Ранговый дисперсионный анализ по Фридману показал, что отмеченные тенденции являются статистически значимыми ( $\chi^2=29,6$ ,  $p<0,0001$ ), а индивидуальные траектории изменения содержания оказались в высокой степени согласованными (коэффициент конкордации Кендала 0,82). При безэритемной форме ИКБ концентрация исследуемых цитокинов в крови оказалась значительно выше по сравнению с эритемной формой болезни.

Известно, что индуктором продукции IFN- $\gamma$  является IL-18 (Кетлинский С.А., 2002; Симбирцев А.С. и соавт., 2015), однако корреляционные связи между этими цитокинами по периодам болезни не выявлены.

Содействуя формированию клеточного иммунитета, исследуемые провоспалительные цитокины повышают активность нейтрофилов, естественных киллеров (ЕК), цитотоксических (ЦТЛ) и В-лимфоцитов, усиливают их миграцию в очаги воспаления и фагоцитоз (Кетлинский С.А., 2002; Миноранская Н.С. и соавт., 2013; Симбирцев А.С. и соавт., 2015; Мошкова Д.Ю. и соавт., 2016; Бондаренко А.Л. и соавт., 2017; Stanek G., 2012; Petzke M. et al., 2015). Статистически значимо высокие показатели провоспалительных цитокинов крови одинаковой направленности при безэритемной форме ИКБ, по-видимому, определяют развитие более выраженной интоксикации и частых органных поражений.

У пациентов с боррелиозной инфекцией содержание противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), постепенно повышаясь, достигало своих максимальных значений к периоду обратного развития симптомов и в дальнейшем снижалось медленными темпами и оставалось статистически значимо высоким через 3 месяца и достигало вариаций нормы к концу шестого месяца диспансерного наблюдения. При безэритемном варианте ИКБ в остром периоде болезни наблюдалась более активная продукция исследованного нами цитокина IL-4.

Противовоспалительный цитокин IL-10, продуцируемый макрофагами и Th2-лимфоцитами, ингибирует активность макрофагов, подавляет гиперчувствительный ответ замедленного типа Th1-хелперами и стимулирует ответ Th2-клеток, что опосредует повышение продукции антител класса IgG (Кетлинский С.А., 2002; Мошкова Д.Ю. и соавт., 2016; Tang K.S. et al., 2015).

При изучении роли цитокинов в развитии клинических симптомов ИКБ выявлены прямые корреляционные связи средней силы между содержанием в крови TNF- $\alpha$  и IL-18 в остром периоде ИКБ и продолжительностью основных клинических синдромов (интоксикационного, артромиалгического), что указывает на выраженность ранней воспалительной реакции и отражает степень тяжести болезни. Отсутствие корреляции между IL-4 и клиническими проявлениями в разгар ИКБ, вероятнее всего, связано с достижением пика продукции данного цитокина только в периоде спада основных клинических синдромов заболевания.

Полученные нами результаты по изучению цитокинового статуса при ИКБ в определенной степени согласуются с данными литературы. Так, Н.С. Миноранская с соавт. (2013, 2015) выявили, что в период разгара при эритемной форме болезни усилен синтез IL-4, при безэритемной форме усилен синтез IL-8. Исследование Д.Ю. Мошковой с соавт. (2016) выявило достоверное повышение уровня IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  и IL-4 в сыворотке крови в остром периоде эритемной формы ИКБ и сохранение у большинства больных нормальных значений IL-2 и низких - IL-10. Исследование Н.В. Мандраковой с соавт. (2007) установило усиление синтеза IFN- $\gamma$  в периоде разгара эритемной формы болезни и повышенную продукцию IFN- $\gamma$  на второй неделе безэритемной формы боррелиозной инфекции, и достижением вариаций нормы в периоде реконвалесценции.

Таким образом, в периоде разгара боррелиозной инфекции наблюдается активная продукция провоспалительных цитокинов, что обеспечивает раннюю воспалительную реакцию и развитие Th1 типа иммунного ответа. Постепенное повышение в крови содержания противовоспалительных (IL-4 и IL-10) и двух провоспалительных цитокинов (IL-6, IFN- $\gamma$ ) с достижением максимальной концентрации в периоде обратного развития симптомов ИКБ и снижением до вариаций нормы к 3-6 месяцу диспансерного наблюдения способствует формированию Th1/Th2 типа с последующим переходом на Th2-тип иммунного ответов. Более активная продукция и статистически значимо высокие показатели цитокинового профиля крови одинаковой направленности при безэритемной форме ИКБ, по-видимому, свидетельствуют об ускоренном формировании смешанного Th1/Th2 типа иммунного ответа.

Предполагают, что смешанный Th1/Th2- ответ предотвращает хронизацию процесса и обеспечивает благоприятный исход боррелиозной инфекции (Симбирцев А.С. и соавт., 2015; Мошкова Д.Ю. и соавт., 2016; Бондаренко А.Л. и соавт., 2017; Kung F. et al., 2016).

Результат факторного анализа отражает наличие сильных положительных корреляций между последовательными изменениями уровня каждого из цитокинов: 0,77  $\div$  0,95 для IL-4; 0,67  $\div$  0,91 для IL-18 и 0,56  $\div$  0,64 для TNF- $\alpha$  при легком течении ИКБ и корреляции между последовательными значениями их варьировали в пределах от 0,61 до 0,86 у пациентов со средней степенью тяжести боррелиозной инфекции.

При безэритемной форме ИКБ последовательные изменения уровня каждого из цитокинов жестко связаны, 0,67 - 0,82 для IFN- $\gamma$ ; 0,66 - 0,71 для IL-4, но не влияют на изменения уровня другого цитокина.

Нами также проводился анализ структуры связей между изменением содержания трех цитокинов (IL-18, TNF- $\alpha$  и IL-4) и свертывающей системы (число тромбоцитов и АЧТВ). При легком течении ИКБ уровни IL-18, TNF- $\alpha$  и числа тромбоцитов меняются независимо от прочих параметров, однако повышению или снижению уровня АЧТВ достаточно часто соответствует изменение концентрации IL-4, что, по-видимому, свидетельствует о согласованном функционировании механизмов, определяющих колебания уровня АЧТВ и IL-4. Выявлена статистически значимая ( $p < 0,05$ ) положительная корреляция между продолжительностью артромиалгического синдрома и числом тромбоцитов при

среднетяжелом течении ИКБ в периоде ранней реконвалесценции. Указанная взаимосвязь, по-видимому, свидетельствует о сохранении артромиалгического синдрома, обусловленного циркуляцией боррелий и иммунных комплексов, и тромбоцитопении, связанной с повреждением этими микробными факторами эндотелия сосудов и агрегацией тромбоцитов в микроциркуляторном русле. В регуляции функционирования свертывающей системы принимают участие клетки, продуцирующие различные цитокины: макрофаги, моноциты, лимфоциты, гранулоциты, эндотелиоциты и др. В литературе также имеются сведения, доказывающие взаимодействие цитокинов с тромбоцитами и различными факторами, участвующими в свертывании крови и фибринолизе (Малеев В.В. и соавт., 2005; Coleman J.L., 1997).

При изучении некоторых параметров гемостаза (количества тромбоцитов, значений АЧТВ, ПВ и ТВ, D-димера в крови) у больных ИКБ выявлены изменения в остром периоде заболевания, свидетельствующие об активации коагуляционного звена гемостаза и фибринолиза, более значимые при безэритемной форме боррелиозной инфекции средней тяжести, что согласуется с данными литературы.

Молекулярные механизмы изменений показателей гемостаза у больных ИКБ могут быть связаны с наличием у *Borrelia spp.* значительных количеств мембранных липопротеидов, способных инициировать адгезию микроорганизмов к эндотелиальным клеткам. Адгезия *Borrelia spp.* может сопровождаться частичной нейтрализацией нормального отрицательного заряда неповрежденного эндотелия, в результате чего появляется возможность вторичной адгезии тромбоцитов и других клеток крови к эндотелию, их последующей активации и агрегации на внутренней поверхности сосудистой стенки. Указанное в известной степени объясняет снижение количества тромбоцитов в крови обследованных при безэритемной форме боррелиозной инфекции (Козлов А.А. и соавт., 2014; Bergström S. et al., 2018).

При развитии васкулита вследствие повреждения эндотелия сосудов боррелиями, иммунными комплексами, провоспалительными цитокинами и тромбином, кроме гиперагрегации тромбоцитов, в кровь высвобождаются тромбопластические субстанции, которые запускают каскад патологического микросвертывания. Активируются фибринообразование и, одновременно фибринолиз, в результате чего происходит накопление продуктов деградации фибрина и фибриногена, в том числе D-димера (Mascallini P. et al., 2018). Активация коагуляционного звена гемостаза и процессов фибринолиза при ИКБ подтверждается выявленными изменениями в основных параметрах гемостаза в динамике болезни, более выраженными при безэритемной форме заболевания.

Можно полагать, что степень тяжести инфекционного процесса, выраженности и распространенности воспалительной реакции при внедрении боррелий в организм, во многом определяется количеством агента и скоростью его попадания в общий кровоток (что зависит от состояния местных защитных барьеров), а также реактивностью организма. При более массивной и быстрой инвазии микробов развивается системный воспалительный процесс с неизбежным повреждением эндотелия – как первичным, связанным с боррелиями,

так и вторичным, вызванным действием цитокинов, реактантов острой фазы и др. Последующие сдвиги параметров тромбоцитарного и плазменного гемостаза зависят от степени повреждения эндотелия, выраженности системной воспалительной реакции и могут отражать степень тяжести инфекционного процесса.

Таким образом, выявленные клинические особенности различных вариантов течения ИКБ на примере Республики Башкортостан, изменения в цитокиновом профиле крови, показателях коагуляционного звена гемостаза и фибринолиза установленные корреляционные взаимосвязи между параметрами цитокинов и клиническими синдромами, некоторыми показателями свертывающей системы у пациентов эритемной и безэритемной формой боррелиозной инфекции отражают характер клинического течения болезни и могут служить дополнительным критерием диагностики, оценки степени тяжести, прогноза заболевания и обоснования своевременной антибактериальной терапии.

## ВЫВОДЫ

1. На территории Республики Башкортостан регистрируются эритемные (84,5%) и безэритемные (15,5%) формы боррелиозной инфекции, вызванной боррелиями комплекса *Burgdorferi sensu lato*. Впервые диагностируются единичные случаи безэритемного варианта иксодового клещевого боррелиоза, обусловленного *B.miyamotoi*.

2. При иксодовом клещевом боррелиозе выраженность основных клинических синдромов зависит от степени тяжести и клинической формы заболевания. При среднетяжелом течении болезни по сравнению с легким с большей частотой и продолжительностью наблюдаются интоксикационно-воспалительный синдром ( $p < 0,01$ ), эритема ( $p < 0,05$ ) и органные поражения. У пациентов с безэритемной формой боррелиозной инфекции средней степени тяжести в сравнении с больными с эритемной формой выявляются более длительный инкубационный период ( $p < 0,05$ ), высокая продолжительная лихорадка ( $p < 0,01$ ), статистически значимо чаще развиваются органные поражения в виде катарального (55,6% и 7,2%, соответственно), артромиалгического (50,0% и 30,3%), цитолитического синдромов (22,2% и 3,6%), поражения миокарда (16,7% и 1,8%), нервной системы (5,6% и 0%) и значимый лейкоцитоз ( $p < 0,05$ ). У пациентов с эритемной формой болезни чаще отмечается регионарный лимфаденит ( $p \geq 0,05$ ) и более высокое содержание моноцитов в крови ( $p < 0,05$ ).

3. Период разгара боррелиозной инфекции характеризуется усиленной продукцией провоспалительных цитокинов: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-18, с постепенным уменьшением их уровня в динамике болезни. Концентрация IFN- $\gamma$  и IL-6 достигает своего пикового уровня в периоде обратного развития симптомов болезни. У больных иксодовым клещевым боррелиозом содержание противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) повышается до максимальных значений к периоду обратного развития симптомов и снижается до уровня нормы в периоде поздней реконвалесценции. Показатели цитокинового профиля оказываются статистически значимо выше при безэритемной форме боррелиозной

инфекции среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой и легкой степенью тяжести заболевания. Между уровнем исследуемых цитокинов по периодам болезни корреляционные связи не прослеживаются.

4. В остром периоде иксодового клещевого боррелиоза происходит активация коагуляционного звена гемостаза и процессов фибринолиза в зависимости от степени тяжести и клинической формы болезни. При безэритемной форме боррелиозной инфекции среднетяжелого течения по сравнению с эритемной формой и легкой степенью тяжести болезни наблюдаются статистически значимые различия ( $p < 0,01$ ): низкие показатели тромбоцитов, удлинение тромбинового и активированного частичного тромбинового времени, повышение уровня Д-димера в крови.

5. В остром периоде иксодового клещевого боррелиоза легкой и средней степени тяжести установлены прямые средней силы корреляционные взаимосвязи между уровнем провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-18) в крови и продолжительностью лихорадки и артромиалгического синдрома ( $p < 0,05$ ). Между значениями противовоспалительного IL-4 и длительностью основных клинических синдромов при боррелиозной инфекции значимые корреляционные связи не прослеживаются ( $p > 0,14$ ). При среднетяжелом течении болезни выявлена сильная отрицательная корреляция между показателями АЧТВ и IL-4 ( $r_1$ ), а также между АЧТВ и IL-18 ( $r_2$ ) в периоде разгара и обратного развития симптомов:  $r_1 = -0,53$  и  $r_1 = -0,44$  и  $r_2 = -0,52$  и  $r_2 = -0,63$  соответственно.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки степени тяжести и прогнозирования особенностей течения эритемной и безэритемной форм иксодового клещевого боррелиоза рекомендуется определение значений сывороточных провоспалительных (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ , IL-18) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов в остром периоде болезни и в периоде поздней реконвалесценции.

2. Выявленные изменения со стороны основных показателей гемостаза при боррелиозной инфекции рекомендуется использовать в качестве дополнительного критерия оценки степени тяжести и для дифференциальной диагностики безэритемной формы заболевания.

3. Выявленные корреляционные взаимосвязи между содержанием провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-18) и продолжительностью интоксикационно-воспалительного и артромиалгического синдромов отражают выраженность системной воспалительной реакции и тяжесть состояния больных иксодовым клещевым боррелиозом и могут быть рекомендованы для оценки степени тяжести и прогноза заболевания.

4. В виду недостаточной информативности серологических методов диагностики в остром периоде боррелиозной инфекции при получении отрицательного результата анализа крови для подтверждения диагноза рекомендуется проведение повторного лабораторного исследования в динамике: через 2 недели, 1 и 3 месяца.

5. Для верификации этиологии безэритемных форм иксодового клещевого боррелиоза рекомендуется внедрить в клиническую практику дополнительное исследование крови в иммунном блоттинге на боррелиоз, вызванный *B. miyamotoi*. Учитывая групповую специфичность и низкую чувствительность метода иммуноферментного анализа, для подтверждения диагноза иксодового клещевого боррелиоза, обусловленного боррелиями комплекса *Burgdorferi sensu lato*, и исключения хронизации процесса рекомендуется применение метода иммунного блоттинга.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы исследования**

1. Проведение дальнейших исследований по изучению распространенности различных геновидов боррелий на территории Республики Башкортостан, особенностей клиники, прогноза боррелиозной инфекции, вызванной отдельными видами возбудителя.

2. Изучить хронические формы ИКБ, их распространенность, особенностей клиники, диагностики, дифференциальной диагностики, терапии и профилактики.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Клинико-эпидемиологическая характеристика иксодового клещевого боррелиоза / Р.Т. Мурзабаева, **Л.Д. Шарифуллина**, Д.А. Валишин [и др.] // Инфекционные болезни. - 2015. - Т. 13, S1: Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. - С. 237.
2. **Шарифуллина, Л.Д.** Случай редкой локализации мигрирующей эритемы при иксодовых клещевых боррелиозах / **Л.Д. Шарифуллина**, Т.М. Аминев, Р.Т. Мурзабаева // Актуальные вопросы экологии человека: сборник научных статей участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 3-х т. / отв. ред. Г.М. Хасанова. – Уфа, 2015. - С. 249-252.
3. Клинико-лабораторные особенности иксодовых клещевых боррелиозов в Республике Башкортостан / **Л.Д. Шарифуллина**, Р.Т. Мурзабаева, Д.А. Валишин [и др.] // Инфекционные болезни. - 2016. - Т. 14, S1: Материалы VIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. - С. 312.
4. Эпидемиологическая характеристика иксодовых клещевых боррелиозов в Республике Башкортостан / Р.Т. Мурзабаева, **Л.Д. Шарифуллина**, Д.А. Валишин [и др.] // Фундаментальные и прикладные аспекты современной инфектологии: сборник научных статей участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2-х т. / отв. ред. Г.М. Хасанова. – Уфа, 2016. - С. 180-184.
5. Клинико-эпидемиологические особенности иксодовых клещевых боррелиозов в Республике Башкортостан / Р.Т. Мурзабаева, **Л.Д. Шарифуллина**, Д.А. Валишин, Е.В. Рожкова, Т.В. Кайданек // **Медицинский вестник Башкортостана**. – 2016. -Т.11, № 3 (63). - С.16-19.

6. **Шарифуллина, Л.Д.** Значение иммуноцитоклиновых нарушений в патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов / **Л.Д. Шарифуллина, Р.Т. Мурзабаева** // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2017. -Т.12, № 1 (67). - С.99-104.
7. **Шарифуллина, Л.Д.** Сложный случай диагностики иксодового клещевого боррелиоза /**Л.Д. Шарифуллина, Р.Т. Мурзабаева** // **Фундаментальные и прикладные аспекты современной инфектологии: сборник научных статей участников Всероссийской научно-практической конференции.** – Уфа, 2017. - С. 121-124.
8. **Шарифуллина, Л.Д.** Особенности продукции цитокинов в остром периоде иксодовых клещевых боррелиозов /**Л.Д. Шарифуллина, Р.Т. Мурзабаева** // **Инфекционные болезни: наука, практика, обучение: сборник научных статей участников Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 85-летию ФГБОУ ВО "Башкирский государственный медицинский университет"** Минздрава России / отв. ред. Г.М. Хасанова. – Уфа, 2017. - С. 97-102.
9. **Шарифуллина, Л.Д.** Иммунологические особенности воспалительного процесса в остром периоде иксодовых клещевых боррелиозов / **Л.Д. Шарифуллина, Р.Т. Мурзабаева, Е.М. Гареев** // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2017. - Т.12, № 5 (71). - С.69-74.
10. Цитокиновый профиль у больных иксодовыми клещевыми боррелиозами / Р.Т. Мурзабаева, **Л.Д. Шарифуллина, Е.В. Рожкова, А.П. Мамон** // **Материалы X Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием.** - М., 2018. – С. 152.
11. Иксодовый клещевой боррелиоз: клинико-лабораторные особенности / Р.Т. Мурзабаева, **Л.Д. Шарифуллина, А.Р. Мавзютов** [и др.] // **Клиническая лабораторная диагностика.** – 2018. – Т. 63, № 11. – С. 711-716.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время  
 ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание  
 ИБ – иммунный блоттинг  
 ИКБ – иксодовый клещевой боррелиоз  
 ИФА – иммуноферментный анализ  
 КМЭ – клещевая мигрирующая эритема  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 ТВ – тромбиновое время  
 DbpA, DbpB – декорин-связывающие белки боррелий  
 Osp A, B, C, D, E, F – протеины поверхностной мембраны боррелий  
 Ig M, G – иммуноглобулины класса M, G,  
 IL-1, 2, 4, 6, 8, 10, 18 - интерлейкины 1, 2, 4, 6, 8, 10, 18  
 TNF-α – фактор некроза опухоли-альфа