

*На правах рукописи*

Иващенко  
Ирина Александровна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ЛИКВОРО-ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГНОЙНЫХ МЕНИНГИТОВ  
У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА**

14.01.11 – нервные болезни

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

Санкт – Петербург - 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

**Научный руководитель:**

Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
**Скрипченко Наталья Викторовна**

**Официальные оппоненты:**

**Помников Виктор Григорьевич**  
доктор медицинских наук, профессор,  
ФГБУ ДПО «Санкт-Петербургский институт  
усовершенствования врачей-экспертов»  
Министерства труда и социальной защиты РФ,  
ректор, кафедра неврологии, МСЭ и  
реабилитации, заведующий

**Одинак Мирослав Михайлович**  
член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор  
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская  
академия имени С. М. Кирова» Министерства  
обороны РФ, кафедра нервных болезней  
им. М.И. Аствацатурова

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

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 года в \_\_ часов на заседании диссертационного совета Д208.090.06 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Российская Федерация г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, дом 6-8) и на сайте [www.1spbgtmu.ru](http://www.1spbgtmu.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Матвеев С.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность

Бактериальные гнойные менингиты (БГМ) у детей являются частой нейроинфекционной патологией, составляя до 25%, однако, у детей раннего возраста они занимают до 60% в структуре нейроинфекций (Сорокина М.Н., 2003, Ashwal S.2007). БГМ у детей раннего возраста характеризуются высокой летальностью до 37%, частотой осложнений до 85% и большим количеством инвалидизирующих проявлений у реконвалесцентов (Лобзин Ю.В., 2011, Королева И.С., 2013, Kim K.S., 2010, Sáez-Llorens X., 2010), что обусловлено с одной стороны анатомо-физиологическими особенностями нервной системы, с другой - несовершенством иммунного ответа. Причинами осложненного течения острых нейроинфекций являются не только неэффективный иммунный ответ, неспособный предотвратить диссеминацию и обеспечить элиминацию возбудителя, но и особенности становления нейроиммунных процессов у детей раннего возраста, от степени зрелости которых зависит исход заболевания (Пальчик А.Б., 2007, Баранов А.А., 2009, Щеплягина Л.А., 2009, Cassimos D.S., 2010). Известно, что иммунно-патогенетические механизмы реализуются пофазно (Железникова Г.Ф., 2011, Скрипченко Н.В., 2011, Janeway С.А., 2002), причем, первая фаза обеспечивается врождённым иммунитетом, вторая - активацией иммунорегуляторных механизмов, направленных на элиминацию возбудителя, третья - формированием иммунологической памяти и протективного иммунитета. Продолжительность и выраженность отдельных фаз воспаления относительно и зависят от характера повреждения и сопутствующих условий, включая фоновые состояния. В патогенезе БГМ имеют значение признаки выраженного воспаления как в крови, так и в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). Доказано, что тяжесть поражения головного мозга при БГМ также обусловлена и повреждением стенки сосудов с их тромбозом, с чем связано формирование некротических изменений в мозге (Одинак М.М., 2003, Насыров Р.А., 2005, Венгеров Ю.Я., 2013). Известно, что ЦСЖ является основной средой забарьерного пространства, которая каждые 6 часов обновляется, и, следовательно, отражает суть происходящих процессов (Цветанова Е.М., 1986, Скоромец А.А., 2008, Макаров А.Ю., 2009, Tunkel A.R.,2005). Исследование ЦСЖ позволяет не только оценить степень и тяжесть БГМ, но благодаря определению белково-пептидных фракций возможно прогнозирование течения и исходов заболевания (Алексеева Л.А., 1999, Карасев В.В., 2002). Доказано, что анализ клеточного состава ЦСЖ в динамике позволяет также оценить вектор патологического процесса и прогнозировать санацию ликвора (Пафифова А.С., 1994). При благоприятном течении БГМ удаление экссудата ЦСЖ происходит путем ферментативного лизиса и всасывания. В противном случае процесс из экссудативного переходит в продуктивный, что проявляется гистиоцитарной инфильтрацией, развитием соединительной ткани, фиброзированием оболочек, приводящих к нарушению ликвороциркуляции и гидроцефалии (Цинзерлинг В.А. 2011). Общеизвестно, что формирование характера течения заболевания зависит от состояния, степени зрелости иммунной системы, особенностей иммунного

ответа, но каково его патогенетическое значение в потенцировании интратекального воспаления до настоящего времени не уточнено, а у детей раннего возраста практически не изучено. Все вышесказанное обосновывает актуальность проведения данного исследования.

### **Степень разработанности темы исследования**

Основанием для проведения диссертационного исследования послужили результаты научных открытий в области изучения иммуно-патогенетических механизмов бактериальных гнойных менингитов и необходимость прогнозирования течения заболевания на ранних сроках. Много работ посвящено изучению цитологии цереброспинальной жидкости, но практически отсутствуют исследования, касающиеся фенотипирования клеточного состава цереброспинальной жидкости у детей при бактериальных гнойных менингитах, его диагностической и прогностической значимости, что обуславливает актуальность данной темы.

### **Цель исследования**

Охарактеризовать клинико-морфологические и ликворо-цитологические особенности бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста для совершенствования диагностики и прогноза течения заболевания.

### **Задачи исследования:**

1. Уточнить структуру и особенности клинических проявлений бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста в зависимости от возраста, этиологии, тяжести течения и преморбидного фона.
2. Представить цитологическую характеристику ликвора при бактериальных гнойных менингитах у детей раннего возраста с учетом этиологии, сроков заболевания и тяжести течения заболевания.
3. Охарактеризовать морфологические особенности бактериальных гнойных менингитов с неблагоприятным исходом у детей раннего возраста в зависимости от этиологии и сроков заболевания.
4. Определить прогностические критерии течения бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста.

### **Научная новизна исследования**

Установлено, что в структуре бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста преобладают пациенты до 1 года - 44,9%, по сравнению с детьми с 1 до 2 лет - 29,4% и 2 - 3 лет - 25,7%. В этиологической структуре бактериальных гнойных менингитов у детей преобладающей является менингококковая этиология заболевания, которая составляет до 40,8% у детей до года, до 65,6% - у детей с 1 до 2 лет, до 50% - у детей в возрасте с 2 до 3 лет. Выявлено, что при бактериальных гнойных менингитах у детей раннего возраста степень интратекального клеточного иммунного ответа определяется этиологией патологического процесса. Установлено патогенетическое значение уровня CD31 и S100-позитивных клеток в цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных менингитах у детей, отражающих степень повреждения сосудов микроциркуляторного русла и ткани головного мозга. Определен характер и динамика изменения плеоцитоза и содержания CD3, CD68-позитивных клеток в

цереброспинальной жидкости, доказана их прогностическая и патогенетическая роль в формировании тяжести течения, осложнений и исходов заболевания. Выявлено, что морфологическими особенностями при менингококковых менингитах у детей раннего возраста являются отек, полнокровие, кровоизлияния и распространенная полиморфная клеточная инфильтрация мягких мозговых оболочек, тогда как при пневмококковых менингитах – гнойно-фибринозный характер и интратекальная деструкция сосудов микроциркуляторного русла с отложением фибрина, наличие очагов инфарктов в коре, что определяет тяжесть заболевания. Отработаны прогностические критерии течения бактериальных гнойных менингитов, основанные на определении уровня содержания CD31 и S100-позитивных клеток в цереброспинальной жидкости.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Фенотипирование клеточного состава цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных менингитах у детей позволяет не только уточнить патогенез заболевания, но и прогнозировать неблагоприятное течение заболевания. Уточнение морфологических особенностей при бактериальных гнойных менингитах разной этиологии у детей раннего возраста позволило уточнить патогенетические механизмы поражения головного мозга и определить пути совершенствования тактики ведения.

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

1. Бактериальные гнойные менингиты у детей раннего возраста в 61% случаев имеют крайне тяжелое течение заболевания, обусловленное развитием осложнений у детей в возрасте до года в 63,4% случаев, в 46,6% - у детей 1-2 лет и в 67,9% - у детей 2-3 лет с преобладанием отека головного мозга до 31% по сравнению с септическим шоком - 19%, максимальная частота которого до 32,1% имела место у детей 2-3 лет.
2. Течение бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста определяется состоянием интратекального клеточного иммунного ответа, морфологическими особенностями повреждения мозговой оболочки, вещества и сосудов головного мозга, характер и выраженность которых зависят от этиологии заболевания.
3. Прогнозирование степени тяжести бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста базируется на определении в цереброспинальной жидкости иммуноцитохимическим методом клеточных популяций CD31 и S100-позитивных клеток в острый период и в динамике заболевания, что позволяет своевременно корректировать тактику ведения.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Степень достоверности результатов исследования определяется обследованием 109 пациентов раннего возраста, больных бактериальными гнойными менингитами, применением современных методов клиничко-лабораторной диагностики и адекватной статистической обработкой полученных данных с применением пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 7 для Windows.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на III Российской НПК «Актуальные проблемы бактериальных и вирусных менингитов» (Москва, 2012г); XXXV итоговой научно - практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей» (Санкт - Петербург, 2013); X Конгрессе детских инфекционистов России (Москва, 2013); VII Научно-практической конференции с международным участием «Воронцовские чтения», Санкт – Петербург - 2014, на заседании Ассоциации детских неврологов (Санкт-Петербург, 2015); XXXVIII итоговой научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей - 2016» (Санкт-Петербург, 2016).

### **Внедрение результатов научных исследований в практику**

Результаты исследований внедрены в практику работы отделения реанимации и интенсивной терапии и отделения нейроинфекций и органической патологии нервной системы ФГБУ НИИДИ ФМБА России, МБУЗ «Городская больница №2» г. Пскова, ОГБУЗ «Усть-Илимская городская больница», ФГБУЗ КБ №172 ФМБА России г. Димитровграда, ФГБУЗ ЦМСЧ №1 ФМБА России (Больница №1) г. Байконур.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано: 13 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 3 статьи в журналах, не входящих в перечень ВАК, 3 – в материалах научно - практических конференций. Патент на изобретение № 2526177 от 25.06.2014г.

### **Личный вклад автора**

Автором сформулированы цель и задачи исследования, разработана методология проведения и дизайн комплексного научного исследования, выполнен сбор, статистическая обработка результатов исследования, сделаны выводы. Автором осуществлялся клинико-диагностический и терапевтический мониторинг больных. Автор принимал участие в выполнении цитологических методов исследования. Полученные результаты проанализированы и обобщены.

### **Структура диссертации**

Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 36 таблицами, 21 рисунком. Список литературы включает 137 источников: 94 отечественных и 43 иностранных авторов.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы**

Под наблюдением находилось 109 пациентов в возрасте от 1 месяца до 3 лет, находившихся на лечении в отделении нейроинфекций и органической патологии нервной системы и отделении реанимации и интенсивной терапии ФГБУ НИИДИ ФМБА России г. Санкт-Петербурга за период с 2010 по 2013 год (таблица1).

Таблица 1 - Этиологическая и возрастная структура бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста, n=109 (абс. / %)

| Возраст              | Возраст      |      |                     |      |          |      |                     |     |          |      |                     |   | Всего |      |                     |      |
|----------------------|--------------|------|---------------------|------|----------|------|---------------------|-----|----------|------|---------------------|---|-------|------|---------------------|------|
|                      | 1-12 месяцев |      |                     |      | 1-2 года |      |                     |     | 2-3 года |      |                     |   |       |      |                     |      |
|                      | всего        |      | летальные<br>исходы |      | всего    |      | летальные<br>исходы |     | всего    |      | летальные<br>исходы |   | всего |      | летальные<br>исходы |      |
| Этиология менингитов | п            | %    | п                   | %    | п        | %    | п                   | %   | п        | %    | п                   | % | п     | %    | п                   | %    |
| Менингококковая      | 20           | 40,8 | 3                   | 15   | 21       | 65,6 | 2                   | 9,5 | 14       | 50   | 0                   | 0 | 55    | 50,5 | 5                   | 9,1  |
| Гемофильная          | 15           | 30,6 | 0                   | 0    | 10       | 31,3 | 0                   | 0   | 11       | 39,3 | 0                   | 0 | 36    | 33   | 0                   | 0    |
| Пневмококковая       | 10           | 20,4 | 5                   | 50   | 0        | 0    | 0                   | 0   | 2        | 7,1  | 0                   | 0 | 12    | 11   | 5                   | 41,7 |
| Неустановленная      | 4            | 8,2  | 0                   | 0    | 1        | 3,1  | 0                   | 0   | 1        | 3,6  | 0                   | 0 | 6     | 5,5  | 0                   | 0    |
| Всего                | 49           | 44,9 | 8                   | 16,3 | 32       | 29,4 | 2                   | 6,3 | 28       | 25,7 | 0                   | 0 | 109   | 100  | 10                  | 9,2  |

Комплексное клинико-неврологическое обследование всех пациентов проводилось с момента госпитализации больных в клинику ФГБУ НИИДИ ФМБА России с последующим ежедневным динамическим осмотром в стационаре в течение всего периода госпитализации и амбулаторно после выписки через 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев, далее 1 раз в 6 месяцев в течение 2 лет.

Проводилась оценка степени тяжести БГМ по совокупности выраженности клинических проявлений:

- тяжёлая степень тяжести БГМ характеризовалась наличием выраженных общеинфекционных, общемозговых и менингеальных симптомов, нарушением сознания до 9 баллов по шкале Глазго.
- крайне тяжёлая степень тяжести БГМ характеризовалась выраженностью общеинфекционных, общемозговых и менингеальных симптомов, наличием судорожно-коматозного статуса, очаговой симптоматики и осложнений, нарушением сознания ниже 9 баллов по шкале Глазго, что требовало перевода на ИВЛ.

Методы клинической лабораторной диагностики осуществлялись в лаборатории отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ НИИДИ ФМБА России (руководитель отдела – ведущий научный сотрудник, д.б.н. Л.А. Алексеева) и включали выполнение клинического анализа крови с анализом гематологических показателей, биохимическое исследование крови и ЦСЖ у всех детей при поступлении и в динамике заболевания. Всем больным проводилось стандартное исследование ЦСЖ, включавшее определение общего белка и цитоза с дифференциацией клеток на моно- и полинуклеары. Исследование ЦСЖ методом иммуноцитохимии (ИЦХ) проводилось в лаборатории патоморфологии ФГБУ НИИДИ ФМБА России (руководитель лаборатории – старший научный сотрудник, к.м.н. В.Е. Карев). Фенотипирование популяций CD3-, CD68-, CD31- и S100-позитивных клеток проводилось в ЦСЖ в аппарате для иммуноцитохимических и иммуногистохимических исследований Autostainer A360 (Thermo) с использованием мышиных моноклональных антител к CD3 (в разведении 1/100), к CD68 (в разведении 1/100), к CD31 (в разведении 1/80) и к S100 (в разведении 1/100) производства Novocastra Lab (Великобритания), а также с использованием высокочувствительной и высокоспецифичной полимерной иммуногистохимической системы EnVision (DAKO, Дания). Исследование проводилось в острый период (на 1-2 сутки лечения) и в динамике на 7-9 сутки лечения. Этиологическая диагностика включала исследование сыворотки крови и ЦСЖ на бактериальные агенты в лаборатории отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии ФГБУ НИИДИ ФМБА России (руководитель отдела – ведущий научный сотрудник, д.м.н., проф. С.В. Сидоренко). Бактериологическая диагностика проводилась методами выделения возбудителей из крови и ЦСЖ, выявления бактериальных антигенов методом латекс-агглютинации из биологических сред (руководитель лаборатории микрорэкологии человека ФГБУ НИИДИ ФМБА России д.м.н., проф. А.С. Кветная).

Статистический анализ полученных результатов осуществлялся с применением пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 7 for Windows



с использованием непараметрических (U-критерий Манна-Уитни) методов вариационной статистики, метода дисперсионного анализа. Проводился расчет средних величин и их доверительных интервалов, вычисление средней стандартной ошибки. Различия сравниваемых клинических и лабораторных показателей считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Клинико-этиологическая характеристика бактериальных гнойных менингитов у детей в зависимости от возраста и этиологии**

В ходе проведенного исследования установлено, что у детей раннего возраста БГМ выявлялись с различной частотой. Так у детей до года БГМ имели место в 44,9% случаев, тогда как в возрасте 1-2 лет – 29,4%, а 2-3 лет – 25,7%. В этиологической структуре БГМ во всех возрастных группах преобладали менингиты менингококковой этиологии: в 40,8% у детей до года, 65,6% – у детей с 1 до 2 лет и в 50% у детей с 2 до 3 лет в отличие от гемофильных – 30,6%, 31,3% и 39,3% соответственно и пневмококковых менингитов – 20,4% у детей до года и 7,1% у детей с 2 до 3 лет.

В ходе исследования установлена зависимость клинических проявлений бактериальных гнойных менингитов от возраста пациентов. Установлено, что у всех детей до года и в возрасте с 1 года до 2 лет имели место выраженные общеинфекционные и общемозговые симптомы, преобладающие над менингеальными симптомами, которые выявлялись в 75,5% и 63,3% пациентов соответственно. Тогда как у детей в возрасте 2 – 3 лет был наиболее выражен менингеальный симптомокомплекс в 94,6% случаев на фоне умеренных общеинфекционных и общемозговых симптомов. Особенностью клинических проявлений БГМ у детей раннего возраста является тяжесть течения заболевания. Тяжелое течение у детей до года имело место в 36,5% случаев, у детей от 1 до 2 лет в 53,3% случаев и в 32,1% случаев у детей в возрасте с 2 до 3 лет, тогда как крайне тяжелое течение у детей до года определялось в 63,4% случаев, у детей 2-3 лет – в 67,9% и у детей 1-2 лет – в 46,6% случаев. Причем, при менингококковых менингитах (ММ) наиболее неблагоприятное течение с наибольшим количеством осложнений отмечалось у детей в возрасте с 2 до 3 лет за счет превалирования внечерепных осложнений в 71,4% случаев, тогда как у детей в возрасте до 1 года преобладали внутричерепные осложнения – у 41,1%. При гемофильных менингитах (ГМ) наиболее неблагоприятное течение отмечалось у детей до года за счет внутричерепных осложнений у 66,6%. При пневмококковых менингитах (ПМ) у детей до года во всех случаях имело место крайне тяжелое осложненное течение за счет внутричерепных осложнений. В ходе исследования установлено, что наиболее высокая летальность имела место у детей до года – 16,3% по сравнению с детьми в возрасте от 1 до 2 лет – 6,3%, причем в 50% при ПМ и в 15% при ММ. Благодаря исследованию установлено, что БГМ у детей раннего возраста в 55% протекали на неблагоприятном преморбидном фоне.

### Сравнительная характеристика клеточного состава цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных менингитах у детей в зависимости от этиологии и сроков заболевания

Благодаря комплексному анализу состава ЦСЖ при БГМ выявлена зависимость между количеством клеточных элементов, содержащихся в ЦСЖ и этиологией БГМ. Так, при ММ в остром периоде заболевания имело место нарастание плеоцитоза до  $2199 \pm 1541$  кл. в 1 мкл на фоне снижения содержания CD3-позитивных лимфоцитов до  $9,81 \pm 54,08\%$  и содержания CD68-позитивных макрофагов до  $3,9 \pm 2,83\%$ . Тогда как при ГМ в остром периоде заболевания определялась более выраженная степень плеоцитоза до  $8463 \pm 8424$  кл. в 1 мкл при выраженном снижении CD3-позитивных клеток до  $2,41 \pm 1,27\%$  и низком содержании CD68-позитивных макрофагов до  $3,46 \pm 3,81\%$ . В отличие от ММ и ГМ при ПМ определялся плеоцитоз в дебюте заболевания до  $999,6 \pm 570,9$  кл. в 1 мкл, на фоне возрастания содержания в ЦСЖ Т-лимфоцитов до  $18,8 \pm 8,43\%$  при низком уровне содержания CD68-позитивных макрофагов до  $5,15 \pm 0,88\%$ . В динамике заболевания на фоне снижения плеоцитоза в ЦСЖ при БГМ выявлено достоверное нарастание относительного содержания CD3-позитивных лимфоцитов при менингококковом до  $27,85 \pm 18,13\%$  и гемофильном до  $22,42 \pm 14,84\%$  менингитах в отличие от ПМ, при котором имело место снижение содержания CD3-позитивных клеток до  $12,45 \pm 14,17\%$ . Также в ходе течения БГМ имело место нарастание уровня относительного содержания CD68-позитивных макрофагов, степень выраженности которого определялась этиологией заболевания: наименьший показатель их содержания наблюдался при менингите гемофильной этиологии до  $12,45 \pm 13,17\%$ , достоверно более высокий – при менингитах менингококковой  $21,43 \pm 10,73\%$  и пневмококковой  $27,26 \pm 5,81\%$  этиологии (табл. 2).

Таблица 2- Характеристика содержания CD3-, CD68-, CD31- и S100-позитивных клеток в цереброспинальной жидкости в зависимости от этиологии в динамике заболевания

| Показатель              | Этиология менингита    |                         |                   |                     |                     |                    |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
|                         | менингококковый        |                         | гемофильный       |                     | пневмококковый      |                    |
|                         | 1-2 день<br>(n=7)      | 7-9 день<br>(n=7)       | 1-2 день<br>(n=9) | 7-9 день<br>(n=12)  | 1-2 день<br>(n=3)   | 7-9 день<br>(n=3)  |
| Цитоз, кл. в 1 мкл, ср. | $2199 \pm 1541^*$      | $19,75 \pm 13,2^*$      | $8463 \pm 8424^*$ | $71,58 \pm 56,9^*$  | $999,6 \pm 570,9^*$ | $47,4 \pm 45,3^*$  |
| CD3, %, ср.             | $9,81 \pm 54,08^\circ$ | $27,85 \pm 18,13^\circ$ | $2,41 \pm 1,27^*$ | $22,42 \pm 14,84^*$ | $18,8 \pm 8,43$     | $12,45 \pm 14,17$  |
| CD68, %, ср.            | $3,9 \pm 2,83^*$       | $21,43 \pm 10,73^*$     | $3,46 \pm 3,81^*$ | $12,45 \pm 13,17^*$ | $5,15 \pm 0,88^*$   | $27,26 \pm 5,81^*$ |
| CD31, %                 | 0                      | 0                       | $1,21 \pm 0,7$    | $6,43 \pm 4,73$     | 0                   | 0                  |
| S-100, %                | $1,22 \pm 1,11$        | $2,91 \pm 1,15$         | $0,28 \pm 0,37$   | 1,12                | $0,1 \pm 0,2$       | 0                  |

Примечание

\* достоверные различия (U-критерий Манна-Уитни при  $p \leq 0,01$ ) между

сравнимаемыми группами (изменения на 1-2 и 7-9 дни)  
 ° достоверные различия (U-критерий Манна-Уитни при  $p \leq 0,05$ ) между сравнимаемыми группами (изменения на 1-2 и 7-9 дни).

Выявленные особенности характера интратекального клеточного иммунного ответа при БГМ различной этиологии, связанные, вероятно, с патогенными свойствами возбудителей, являются патогенетическим объяснением особенностей клинического течения и разной частоты развития неблагоприятных исходов БГМ в зависимости от этиологии.

В ходе исследования при сопоставлении содержания CD3-позитивных клеток в ЦСЖ у выживших детей и в составе клеточного экссудата мягких мозговых оболочек у детей с летальным исходом при ММ установлено, что в последнем случае имело место снижение относительного содержания CD3-позитивных лимфоцитов до  $3,68 \pm 1,47\%$  в первые дни заболевания в отличие от выживших детей, у которых определялось достоверно более высокое содержание CD3-позитивных Т-лимфоцитов до  $9,67 \pm 5,35\%$ . Установлено, что при ПМ имела место та же тенденция на более поздних сроках заболевания (после 7 дня): у детей с летальным исходом имело место снижение относительного содержания CD3-позитивных лимфоцитов до  $7,2 \pm 6,28\%$  среди клеточного детрита, инфильтрирующего мягкие мозговые оболочки в отличие от выживших детей, у которых выявлялось более высокое содержание CD3-позитивных Т-лимфоцитов до  $12,45 \pm 14,17$ . При сопоставлении содержания CD68-позитивных макрофагов в ЦСЖ у выживших и у детей с летальным исходом установлено, что при ММ в последнем случае имело место нарастание относительного содержания CD68-позитивных макрофагов до  $11,76 \pm 2,95\%$  в первые дни заболевания в отличие от выживших детей, у которых определялось достоверно более низкое содержание CD68-позитивных клеток до  $3,9 \pm 3,1\%$ . Установлено, что при ПМ имела место иная тенденция на более поздних сроках заболевания (после 7 дня): у детей с летальным исходом имело место более низкое содержание CD68-позитивных макрофагов до  $15,77 \pm 9,55\%$  среди клеточного детрита, инфильтрирующего мягкие мозговые оболочки по сравнению с выжившими детьми, у которых содержание CD68-позитивных клеток было повышено до  $27,26 \pm 5,81\%$ . Благодаря анализу содержания CD31-позитивных клеток в ЦСЖ при БГМ у выживших и детей с летальным исходом, установлено, что при благоприятном течении БГМ десквамированных эндотелиальных клеток в ЦСЖ не наблюдалось, а при неблагоприятном течении БГМ с летальным исходом имело место нарастание содержания поврежденных и десквамированных эндотелиальных клеток среди клеточного детрита, инфильтрирующего мягкие мозговые оболочки как при менингококковой до  $10,58 \pm 5,22\%$ , так и при пневмококковой этиологии патологического процесса до  $11,77 \pm 7,15\%$ . Вероятно, наличие и степень увеличения в ЦСЖ CD31-позитивных клеток в остром периоде заболевания является маркером поражения сосудов и отражает степень тяжести течения заболевания (табл.3).

Таблица 3 - Характеристика содержания лимфоцитов (CD3+), макрофагов (CD68+) и десквамированных эндотелиальных клеток (CD31+) в цереброспинальной жидкости у выживших и в клеточном экссудате мягких мозговых оболочек у детей с летальным исходом

| Этиология                                   | Исход                         | Среднее содержание клеточных элементов |                       |                       |
|---|-------------------------------|--|-----------------------|-----------------------|
|   |                               | CD3, %                                 | CD68, %               | CD31, %               |
| Менингококковый менингит<br><br>1-2 день    | выжившие, n=7                 | 9,67±5,35                              | 3,9±3,1               | 0                     |
|   | дети с летальным исходом, n=6 | 3,68±1,47                              | 11,76±2,95            | 10,58±5,22            |
|   |                               | Uэмп =6<br><br>p<0,05                  | Uэмп =1<br><br>p<0,01 | Uэмп =0<br><br>p<0,01 |
| Пневмококковый менингит<br><br>более 7 дней | выжившие, n=3                 | 12,45±14,17                            | 27,26±5,81            | 0                     |
|   | дети с летальным исходом, n=4 | 7,2±6,28                               | 15,77±9,55            | 11,77±7,15            |
|   |                               | Uэмп =5<br><br>p>0,05                  | Uэмп =2<br><br>p>0,05 | Uэмп =0<br><br>p<0,01 |

На основании проведенного исследования разработан способ ликвороцитологического прогноза течения БГМ у детей раннего возраста. Установлено, что ранний прогноз неблагоприятного течения БГМ основан на определении уровня содержания CD31 и S100-позитивных клеток в ЦСЖ, отражающих степень повреждения сосудов микроциркуляторного русла и ткани головного мозга. По наличию S-100 позитивных клеток и наличию CD31-позитивных клеток более 0,5% в ЦСЖ в остром периоде БГМ прогнозируют неблагоприятное течение, а при низком уровне содержания CD31 (менее 0,5%) и отсутствии S100-позитивных клеток в остром периоде и к периоду ранней реконвалесценции прогнозируют благоприятное течение заболевания.

#### **Морфологические проявления бактериальных гнойных менингитов с летальным исходом у детей раннего возраста**

В ходе проведенного исследования установлено, что морфологические изменения мягкой мозговой оболочки при ММ с летальным исходом носили характер прогрессирующего серозного (или начинающегося гнойного) экссудативного воспаления в ранний период заболевания (рис. 1).

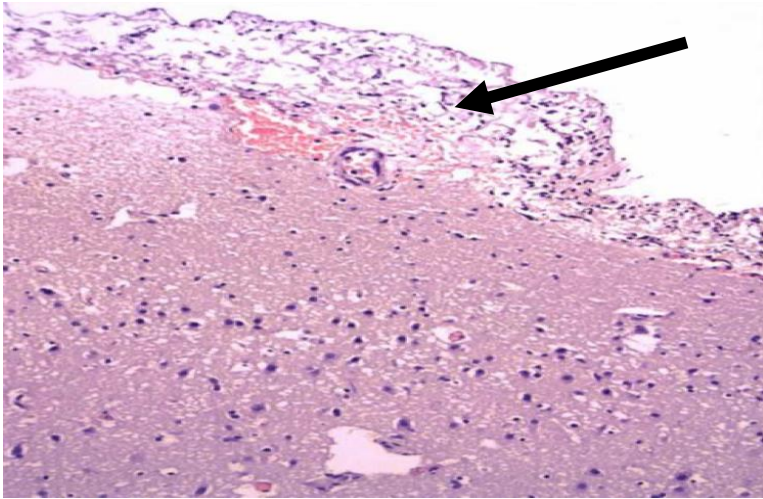


Рисунок 1 - Отек, полнокровие, кровоизлияния и распространенная полиморфноклеточная инфильтрация мягкой мозговой оболочки (стрелка) при менингококковой инфекции (2 день болезни). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X200.

Причиной смерти во всех наблюдениях ММ с летальным исходом, являлось геморрагическое инфарктирование (геморрагический инфаркт) надпочечников во всех наблюдениях (100%). При ПМ воспаление мягкой мозговой оболочки имело фибринозно-гнойный характер и отличалось интратекальной деструкцией сосудов микроциркуляторного русла с отложением фибрина, наличием очагов некроза (инфаркта) коры, что, вероятно, обуславливало тяжесть повреждения и способствовало неблагоприятному течению (рис.2).



Рисунок 2 - Гнойно-фибринозный характер экссудативного воспаления (стрелка 1), неравномерность полнокровия сосудов мягкой мозговой оболочки (стрелка 2) при пневмококковом менингите. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X200.

Во всех наблюдениях сосуды мягких мозговых оболочек (как артериального, так и венозного типа) имели распространенные изменения. Эндотелиальная выстилка сосудов была частично или полностью разрушена, сохранившиеся



эндотелиальные клетки характеризовались полиморфизмом, а сами клетки располагались неравномерно, формируя расширенные межклеточные пространства, что, несомненно, свидетельствует о значительном изменении проницаемости стенок сосудов. Кроме того, часть сосудов капиллярного типа находилась в состоянии субтотальной или тотальной деструкции (рис.3.).

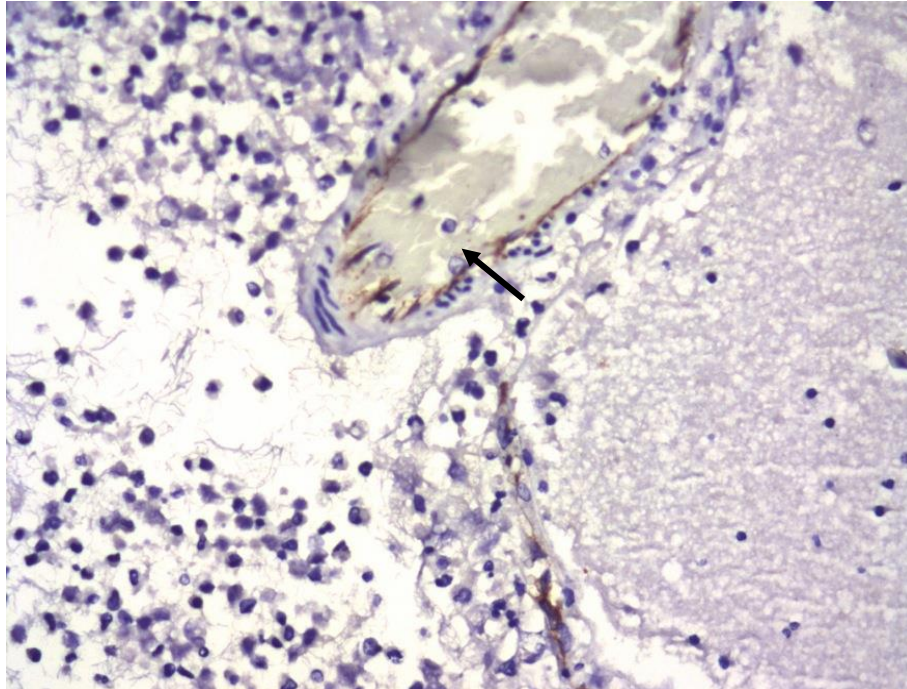


Рисунок 3 - Повреждение эндотелиальной выстилки (CD31+, коричневое окрашивание) сосудов и деструкция сосуда капиллярного типа (стрелка) в мягкой мозговой оболочке при бактериальном гнойной менингите пневмококковой этиологии. Иммуногистохимическая реакция, DAB. Ув. X400.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании литературных данных и собственных исследований представлена гипотеза патогенеза БГМ: в результате бактериальной инвазии через слизистые назофарингеального тракта, последующей бактериемии и токсинемии повышается проницаемость гематоэнцефалического барьера, в результате чего патогенные микроорганизмы попадают в интратекальное пространство. Микробы и их факторы патогенности оказывают активирующее влияние на эндотелий мозговых сосудов, периваскулярные макрофаги мозга, клетки астроглии, микроглии и эпендимы, которые начинают продуцировать про- и противовоспалительные цитокины. Провоспалительные цитокины активируют эндотелиальные клетки, секретирующие полипептиды, подобные тромбоцитарному фактору роста, избыточная продукция которых приводит к диссеминированной внутрисосудистой коагуляции, стимулирует синтез белков острой фазы воспаления, индуцирует реакцию острой фазы воспаления, повышают хемотаксис полиморфноядерных нейтрофилов, активирует синтез ими молекул адгезии, регулирует неспецифическую защиту и специфический иммунитет. Формируется гнойное воспаление мозговых оболочек с развитием

гнойного менингита. Состояние интратекального иммунного ответа является определяющим в исходе гнойных менингитов. Патогенные свойства возбудителей и возрастные особенности иммунной системы детей раннего возраста определяют различные типы иммунного клеточного ответа у детей при менингитах. Нейтрофильные лейкоциты являются основным звеном первичной защиты от проникновения извне и распространения микроорганизмов, которое во многом определяет возможность локализации возбудителя. Именно они первыми появляются в очаге повреждения и активно стимулируют миграцию туда моноцитов, лимфоцитов. Снижение общего пула CD3-позитивных клеток, т.е. Т-лимфоцитов и макрофагального звена в остром периоде БГМ определяет недостаточность интратекального клеточного иммунного ответа. С другой стороны, важное значение в формировании тяжести менингита имеют макрофаги. Макрофагальное звено фагоцитоза обеспечивается макрофагами, экспрессирующими CD68. Помимо осуществления фагоцитоза макрофаги являются антигенпрезентирующими клетками, представляющими антиген Т-клеткам. Увеличение количества макрофагов в остром периоде заболевания отражает их защитную роль, тогда как в период выздоровления нарастание доли макрофагов может рассматриваться как показатель активации клеточных повреждающих реакций. Не исключено, что именно увеличение CD68-позитивных клеток со значительным нарастанием в динамике заболевания, в сочетании со снижением содержания CD3-позитивных лимфоцитов обуславливают тяжесть и длительность течения заболевания, высокую частоту осложнений даже при адекватной этиотропной и патогенетической терапии. Помимо этого, в патогенезе БГМ имеет значение степень повреждения сосудов интратекального микроциркуляторного русла, которая определяет выраженность морфологических изменений, интенсивность и распространенность некротических изменений в мозге, во многом обуславливающих тяжесть течения заболевания, выраженность и стойкость резидуального неврологического дефицита. Отражением степени повреждения микроциркуляторного русла является появление в ЦСЖ десквамированных эндотелиоцитов, т.е. CD 31+ клеток. Воспаление в ЦСЖ приводит к развитию церебрального васкулита. Следствием этих патологических процессов является снижение церебрального кровотока и мозговой перфузии, приводящих к острой ишемии и метаболическим нарушениям, накоплению внутриклеточного кальция, свободных радикалов, оксида азота, продуктов протеолиза, которые способствуют развитию цитотоксического отека головного мозга (ОГМ), что ещё больше нарушает цереброваскулярную ауторегуляцию. Следствием нарушения мозговой перфузии при гнойных менингитах является повреждение мозговой ткани. Свидетельством деструкции мозговой ткани при гнойном поражении мягких мозговых оболочек и развитии контактного энцефалита, вентрикулита является появление в ЦСЖ S100-позитивных клеточных элементов. Отсутствие S100-позитивных клеток в ЦСЖ отражает низкий уровень повреждения мозговой ткани, определяющий течение периода реконвалесценции без значимых резидуальных явлений при катамнестическом наблюдении. Напротив, осложненное течение БГМ характеризовалось наличием S100-позитивных клеток в ЦСЖ, являющихся

следствием текущего деструктивного процесса в ткани головного мозга, что подтверждено в данном исследовании.

Таким образом, благодаря уточнению особенностей течения БГМ у детей раннего возраста, интратекального иммунного ответа, морфологических аспектов повреждения мозговой ткани, отработке прогностических критериев течения заболевания усовершенствована тактика ведения, что позволило снизить частоту осложнений с 85% до 59,5%.

### **ВЫВОДЫ:**

1. Установлено, что бактериальные гнойные менингиты у детей раннего возраста чаще встречаются до 1 года – 44,9% по сравнению с пациентами 1-2 лет – 29,4% и 2-3 лет -25,7%. В этиологической структуре во всех возрастных группах преобладают менингококковые менингиты – 40,8%, 65,6% и 50% соответственно наряду с гемофильными менингитами и пневмококковыми. Последние имеют крайне тяжелое течение у всех детей до года. Бактериальные гнойные менингиты у детей раннего возраста в 55% протекают на неблагоприятном преморбидном фоне.
2. Особенностью клинических проявлений бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста является преобладание общеинфекционных и общемозговых симптомов над менингеальными, которые наиболее выражены у пациентов 2-3 лет. Частота осложнений имеет место в 63,4% случаев у детей до года, в 67,9% - у детей 2-3 лет и реже – 46,6% у детей 1-2 лет. Летальность при бактериальных гнойных менингитах у детей раннего возраста составляет 9,2%.
3. Цитологические особенности ликвора у детей раннего возраста при бактериальных гнойных менингитах зависят от этиологии, сроков и тяжести заболевания. Так, в остром периоде плеоцитоз составляет при менингококковом менингите  $2199 \pm 1541$  клеток в 1 мкл, относительное содержание CD3-позитивных лимфоцитов до  $9,81 \pm 54,08\%$  и содержание CD68-позитивных макрофагов до  $3,9 \pm 2,83\%$ , тогда как при гемофильном менингите -  $8463 \pm 8424$  клеток в 1 мкл при выраженном снижении CD3-позитивных клеток до  $2,41 \pm 1,27\%$  и низком содержании CD68-позитивных макрофагов до  $3,46 \pm 3,81\%$  соответственно, а при пневмококковом менингите -  $999 \pm 570,9$  клеток в 1 мкл на фоне возрастания содержания в цереброспинальной жидкости CD3-позитивных лимфоцитов до  $18,8 \pm 8,43\%$  при низком уровне содержания CD68-позитивных макрофагов до  $5,15 \pm 0,88\%$ . В периоде ранней реконвалесценции имеет место нарастание относительного содержания Т-лимфоцитов при менингококковом и гемофильном менингитах (до  $27,85 \pm 18,13\%$  и  $22,42 \pm 14,84\%$  соответственно) и снижение при пневмококковом менингите (до  $12,45 \pm 14,1\%$ ). При менингитах различной этиологии отмечалось нарастание относительного содержания CD68-позитивных макрофагов с преобладанием при пневмококковом менингите.
4. У детей раннего возраста при менингококковом менингите с летальным исходом определялось прогрессирующее серозное экссудативное воспаление мягких мозговых оболочек, причиной неблагоприятного исхода был геморрагический инфаркт надпочечников в первые двое суток заболевания, тогда как при



пневмококковом менингите – гнойно-фибринозное экссудативное поражение мягких мозговых оболочек с тромбозом и гнойной деструкцией кровеносных сосудов, а также контактное гнойное деструктивное поражение кортикальных отделов головного мозга, выявляющихся после 7 дня заболевания.

5. Прогностическими критериями неблагоприятного течения бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста являются наличие в остром периоде заболевания в цереброспинальной жидкости высокого содержания CD31 (более 0,5%) и S-100 позитивных клеток, тогда как при благоприятном течении в цереброспинальной жидкости определяется низкое содержание CD31 (менее 0,5%) и отсутствие S100-позитивных клеток.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. С целью повышения эффективности терапии бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста необходима комплексная этиологическая верификация крови и цереброспинальной жидкости с обязательным исследованием в цереброспинальной жидкости клеточных популяций CD31 и S100 позитивных клеток, что способствует оптимизации тактики ведения.
2. Для прогнозирования характера течения бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста рекомендуется в 1-2 день заболевания определять в цереброспинальной жидкости методом иммуноцитохимии содержание CD31 и S100-позитивных клеток: при содержании CD31 более 0,5% и наличии S100-позитивных клеток прогнозируют неблагоприятное течение бактериального гнойного менингита, а при содержании CD31 менее 0,5% и отсутствии S100-позитивных клеток – благоприятное течение.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Скрипченко Н.В., Алексеева Л.А., Иващенко И.А., Кривошеев Е.М. Цереброспинальная жидкость и перспективы ее изучения // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** - 2011. - Т. 56, №6. - С. 88-97.
2. Скрипченко Н.В., Иванова М.В., Иванова Г.П. и соавт. Возможности нейрометаболической терапии при нейроинфекциях у детей // **Бюллетень медицинских интернет-конференций.** - 2012. - Т. 2, №9. - С. 637-640.
3. Скрипченко Н.В., Иванова Г.П., Иванова М.В. и соавт. Тактика системной энзимотерапии при нейроинфекциях у детей // **Нейроиммунология.** - 2012.–Т. X, № 1-2. - С. 47-54
4. Скрипченко Н.В. Бактериальные менингиты у детей. Медицинское пособие / Н.В. Скрипченко, А.А. Вильниц, В.Н. Команцев, М.В. Иванова, Г.П. Иванова, Е.Ю. Горелик, Н.Ф. Пульман, И.А. Иващенко, Е.М. Мазаева. – СПб., 2012. – 65с.
5. Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В., Вильниц А.А. и соавт. Клинико-эпидемиологический пейзаж менингитов у детей: тенденции и проблемы // **Материалы X съезда Всеросс. Научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Москва 12-13.04.2012./ Инфекция и иммунитет.** – 2012 - Т. 2, № 1-2. - С. 548

6. Иващенко И.А., Скрипченко Н.В., Карев В.Е. Бактериальные гнойные менингиты у детей раннего возраста: актуальные проблемы // Материалы X Всероссийского съезда неврологов с международным участием - Нижний Новгород, 2012. - С.527.
- 7. Карев В.Е., Скрипченко Н.В., Иващенко И.А. и соавт. Возможности иммуноцитохимического фенотипирования клеток цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных менингитах у детей // Журнал инфектологии. - 2013. - № 4. - С.60-63.**
8. Скрипченко Н.В., Иванова М.В., Вильниц А.А. и соавт. Роль и место гопантеновой кислоты в лечении нейроинфекций у детей // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. - 2013. - № 4. - С.15-18.
9. Иващенко И.А., Скрипченко Н.В., Карев В.Е. и соавт. Патогенетический подход к прогнозированию характера течения бактериальных гнойных менингитов у детей раннего возраста // Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики: Материалы XII Конгресса детских инфекционистов России, Москва 11-13.12.2013.
10. Иванова М.В., Карев В.Е., Иващенко И.А. Патогенетические механизмы развития бактериальных гнойных менингитов: информационно-аналитический обзор // Современные подходы к диагностике, терапии и профилактике инфекционных заболеваний у детей: научные труды. - СПб, 2013. - Т.3. - С.428-453.
- 11. Вильниц А.А., Карев В.Е., Мазаева Е.М., Иващенко И.А. Характеристика гематологических и ликворологических изменений при менингококковой инфекции // Менингококковая инфекция у детей: руководство для врачей / Н.В. Скрипченко, А.А. Вильниц. - СПб: Тактик-Студио, 2015. - С. 138-155.**
12. Карев В.Е., Скрипченко Н.В., Иващенко И.А. и соавт. Возможности иммуноцитохимического фенотипирования клеток цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных менингитах у детей // Нейроинфекции у детей (коллективная монография) / Под редакцией проф. Н.В. Скрипченко. - СПб: Тактик-Студио, 2015. - С.707-713.
- 13. Способ прогнозирования течения бактериальных гнойных менингитов у детей: патент №2526177 Рос. Федерация / В.Е.Карев, Н.В.Скрипченко, И.А.Иващенко, А.А.Вильниц, А.Н. Восканьянц; патентообладатель Федеральное медико-биологическое агентство Федеральное государственное бюджетное учреждение Науч.-исслед- ин-т детских инфекций.- №2013119730/15; заявл.26.04.2013 опубл. 20.08.2014.**

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- БГМ - бактериальный гнойный менингит
- ГМ - гемофильный менингит
- ГФМИ - генерализованная форма менингококковой инфекции
- ИВЛ - искусственная вентиляция легких

- ИЦХ - иммуноцитохимия
- МИ - менингококковая инфекция
- ММ - менингококковый менингит
- ММО - мягкая мозговая оболочка
- ОГМ - отек головного мозга
- ОРИТ - отделение реанимации и интенсивной терапии
- ПМ - пневмококковый менингит
- СШ - септический шок
- ЦНС - центральная нервная система
- ЦСЖ - цереброспинальная жидкость

**Выражаю огромную благодарность руководителю отдела тканевых и патоморфологических методов исследования ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России старшему научному сотруднику, кандидату медицинских наук Вадиму Евгеньевичу Кареву за бесценную помощь при выполнении данной работы**