

На правах рукописи

Бухалко Марина Александровна

КЛИНИКО-ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D
И ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЕГО РЕЦЕПТОРА ПРИ ЭНЦЕФАЛИТАХ У
ДЕТЕЙ

14.01.09 - инфекционные болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»

Научный руководитель: доктор медицинских наук, доцент
Скрипченко Елена Юрьевна

Официальные оппоненты:

Тимченко Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных заболеваний у детей им. Профессора М.Г. Данилевича федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Иванов Константин Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней (с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний) Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится “ _____ ” _____ 2020 г. в _____ часов на заседании диссертационного Совета Д.208.090.02 при Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете имени академика И.П. Павлова (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12, зал заседаний Ученого Совета, 6 этаж).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Первого Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8 и на сайте <http://spb-gmu.ru>.

Автореферат разослан “ _____ ” _____ 2020 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Александров Альберт Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы инфекционно-воспалительных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) у детей обусловлена их распространенностью, тяжестью и непредсказуемостью течения, высокой летальностью (11–23 %) [Скрипченко Н.В., 2015; Лобзин Ю.В., 2018]. Энцефалиты (ЭФ) у детей являются наиболее распространенными заболеваниями ЦНС и отличаются тяжелыми инвалидизирующими последствиями, связанными со структурными и функциональными изменениями в нервной системе [Гузева В.И., 2017; Скрипченко Е.Ю., 2019]. Тропизм возбудителей к различным компонентам нервной ткани, их способность к персистенции в клетках мозга на фоне дисбаланса иммунной системы приводят к хронизации патологического процесса, сопровождающегося апоптозом и медленной атрофией мозговой ткани, нарушением продукции миелина и демиелинизацией [Weissert R., 2013; Иванова Г.П., 2015; Завалишин И.А., 2018].

В последние годы огромное значение в потенцировании различных заболеваний придается дефициту и недостаточности витамина D. Известно, что метаболиты витамина D (25(OH)D, 1,25(OH)D) участвуют в пролиферации и дифференцировке клеток всех органов и тканей, в том числе иммунокомпетентных, регулируя врожденный и приобретенный иммунитет [Holick M.F., 2012; Мальцев С.В., 2014; Громова О.А., 2016; Захарова И.Н., 2017]. Обнаружение рецепторов витамина D и собственной альфа-1-гидроксилазы, преобразующей метаболит витамина D 25(OH)D в его биологически активную форму 1,25(OH)D, у большинства клеток организма, включая нейроны и активированную микроглию, подтверждает многогранность функций данного витамина и его значимую роль в развитии и функционировании нервной системы [Norman A.W., 2010; Holick M.F., 2012; Мальцев С. В., 2014]. Благодаря фундаментальным исследованиям последних лет подтверждены нейропротекторные, нейротрофические, антигипертензивные, антиатеросклеротические свойства витамина D [Garcion et al., 2002; Калуев А.В., 2004г.; Kienreich et al., 2013; Mashayekhi F., 2016]. Активно изучается роль витамина D в регуляции синтеза компонентов миелина [Chabas J.-Fr., 2013; Mpandzou G., 2015]. В то же время, работы по изучению обеспеченности витамином D в крови и цереброспинальной жидкости у детей с ЭФ отсутствуют.

Известно, что биологическое действие метаболитов витамина D реализуется путем связывания со специфическими рецепторами (VDR), кодируемыми одноименным геном, имеющим более 245 генетических полиморфизма. Имеются данные, свидетельствующие о возможной связи таких воспалительных заболеваний человека как ревматоидный артрит, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, бронхиальная астма и рассеянный склероз с носительством полиморфных вариантов гена рецептора витамина D (D'Incà R., 2008; Костик М.М., 2017; Xia S., 2015; Bermúdez-Morales V.H., 2017; Despotovic M., 2017). Однако, при ЭФ у детей подобные исследования отсутствуют. Помимо этого, в последние годы

приоритетное значение имеют исследования нейроспецифических белков, таких как основной белок миелина (ОБМ), белок S100, глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) и нейрон-специфическая енолаза (NSE), изменение уровня которых наблюдается при различных патологических состояниях (травмах, инсультах, гипоксии, нейродегенеративных и соматических заболеваниях, включая сепсис, нейроэндокринных опухолях, менингитах) (Карякина Г.М., 2007; Галиева Г.Ю., 2010; Краснов А.В.; 2012; Скоромец А.А., 2012; Алексеева Л.А., 2017). Известно, что степень повышения уровня данных белков в сыворотке крови и ЦСЖ коррелирует с тяжестью повреждения тканей нервной системы и может служить прогностическим фактором в отношении исходов при таких заболеваниях, как инсульты, черепно-мозговая травма, ишемическом повреждении мозга в перинатальный период (Гришанова Т.Г., 2011; Блинов Д.В., 2014; Hjalmarsson С., 2014). Однако, сведения о прогностическом значении нейроспецифических белков и об их взаимосвязи с содержанием метаболита витамина D 25(OH)D при ЭФ у детей отсутствуют. Все вышесказанное обуславливает актуальность проведения данного исследования.

Степень разработанности темы

К настоящему времени изучены особенности клинических проявлений ЭФ у детей и разработаны критерии их диагностики [Иванова Г.П., 2015; Скрипченко Н.В. с соавт., 2016; Gray M. P., 2016; Гузева В.И., 2016; Лобзин Ю.В., 2018; Скрипченко Е.Ю. 2019 и др.]. Уточнены некоторые этиопатогенетические механизмы и предложена терапевтическая тактика [Скрипченко Н. В., Иванова Г. П., 2016; Скрипченко Е.Ю., 2019 и др.]. Однако, не изучено значение витамина D и полиморфизма гена его рецептора в формировании степени тяжести и характера течения ЭФ у детей. Не определены патогенетические и прогностические аспекты витамина D и нейроспецифических белков в сыворотке крови и ЦСЖ при ЭФ у детей, что, возможно, предопределяет его течение и исходы.

Цель исследования

Уточнить роль витамина D, полиморфизма гена его рецептора и нейроспецифических белков в патогенезе энцефалитов у детей для совершенствования прогноза характера течения заболевания.

Задачи исследования

1. Уточнить особенности клинических проявлений энцефалитов у детей в зависимости от возраста, этиологии, степени тяжести и характера течения заболевания.
2. Изучить уровень метаболита витамина D 25(OH)D в сыворотке крови и ЦСЖ у детей с энцефалитами в зависимости от этиологии, степени тяжести и характера течения заболевания.

3. Определить уровень нейрон-специфической енолазы, белка S100, глиального фибриллярного кислого белка, основного белка миелина в сыворотке крови и ЦСЖ у детей с энцефалитами в зависимости от этиологии, степени тяжести и характера течения заболевания.
4. Охарактеризовать BsmI полиморфизм гена рецептора витамина D у детей с энцефалитами в зависимости от степени тяжести и характера течения заболевания.
5. Усовершенствовать прогнозирование характера течения энцефалитов у детей.

Научная новизна исследования

Представлена характеристика особенностей клинических проявлений ЭФ у детей в зависимости от возраста, этиологии, степени тяжести и характера течения заболевания. Установлено, что в 47 % случаев ЭФ развиваются у детей 3–6 лет, при этом в 21 % случаев имеет место крайне тяжелое течение заболевания, с сохранением в 33 % случаев грубого и умеренного неврологического дефицита в исходе заболевания. Выявлено, что в 93 % случаев возбудителями ЭФ являлись вирусы, из них 46,3 % составили герпесвирусы, 44,4 % — энтеровирусы, 7,4 % — вирус клещевого энцефалита, 1,9 % — парвовирус В19. В 5 % случаев имела место сочетанная этиология заболевания, а в 2 % — бактериальная.

Впервые охарактеризован уровень метаболита витамина D 25(OH)D в сыворотке крови у детей с ЭФ в зависимости от степени тяжести и характера течения заболевания. Установлено, что дефицит и недостаточность витамина D, наблюдались у 100 % детей с ЭФ, при этом степень снижения уровня метаболита витамина D 25(OH)D в сыворотке крови коррелировала со степенью тяжести ветряночных ЭФ, тогда как при ЭФ другой этиологии данная связь значимой не была.

Впервые дана характеристика уровня метаболита витамина D 25(OH)D в ЦСЖ детей с ЭФ. Выявлено, что максимальное его повышение коррелирует с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ и развитием неблагоприятного течения.

Впервые проведено исследование уровня NSE, белка S100, GFAP, ОБМ в сыворотке крови и ЦСЖ у детей с ЭФ в зависимости от этиологии, степени тяжести и характера течения заболевания. В остром периоде ЭФ установлено достоверное увеличение уровня ОБМ в ЦСЖ. Доказано, что максимальное повышение уровня ОБМ и белка S100 в ЦСЖ коррелировало с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ, а неблагоприятное течение ЭФ ассоциировано с максимальным повышением уровня ОБМ, белка S100 и GFAP в ЦСЖ.

Впервые определена взаимосвязь между уровнями 25(OH)D и нейроспецифических белков в сыворотке крови и ЦСЖ у детей с ЭФ. Установлена отрицательная корреляционная связь между уровнем 25(OH)D в ЦСЖ и уровнем NSE в сыворотке крови у детей с ЭФ.

Впервые представлена характеристика распространенности генотипов BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D у детей с ЭФ. Установлено негативное влияние гомозиготного носительства аллеля G (GG) BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D

на степень тяжести заболевания. Достоверно более высокая частота ЭФ крайне тяжелой степени тяжести имела место у детей с гомозиготным носительством аллеля G (GG).

Разработана математико-статистическая модель раннего прогнозирования характера течения ЭФ у детей, что позволяет на основании оценки таких лабораторных показателей как GFAP, белок S100 и 25(OH)D в ЦСЖ, с вероятностью 75 % прогнозировать неблагоприятное течение заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования обобщают и дополняют современные представления о течении ЭФ у детей. Доказано негативное влияние дефицита витамина D на степень тяжести и характер течения ЭФ. Доказано, что высокие уровни таких нейроспецифических белков как GFAP и белок S100, а также высокий уровень 25(OH)D в ЦСЖ предопределяют формирование неблагоприятного течения заболевания и снижение качества жизни детей в катамнезе. Разработаны прогностические критерии неблагоприятного течения ЭФ у детей на ранних сроках заболевания, что имеет значение для усовершенствования тактики ведения и профилактики развития тяжелых резидуальных последствий.

Методология и методы исследования

Методологическая основа диссертации спланирована согласно поставленной цели исследования и включает систематизированное применение методов научного познания с целью решения поставленных задач.

Работа выполнена в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием клинических, лабораторных, нейровизуализационных и статистических методов.

Положения, выносимые на защиту

1. У всех детей с ЭФ различной этиологии в возрасте 3 – 17 лет имеет место недостаточность или дефицит витамина D по уровню 25(OH)D в сыворотке крови, причем дефицит определяется в 86% случаев и коррелирует с тяжестью заболевания.
2. Фактором риска развития ЭФ крайне тяжелой степени тяжести является гомозиготное носительство аллеля G (GG) BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D.
3. Прогноз характера течения ЭФ у детей, основанный на определении уровня метаболита витамина D 25(OH)D, белка S100 и GFAP в цереброспинальной жидкости с последующим расчетом формулы линейной дискриминантной функции, позволяет с вероятностью 75% прогнозировать неблагоприятное течение заболевания.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных данных обеспечивается достаточным количеством обследованных пациентов, адекватными и точными методами исследования, а также использованием современных методов статистической обработки. Положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации аргументированы результатами выполненных исследований и их адекватной статистической обработкой.

Основные результаты работы доложены и обсуждены

Результаты исследований и основные положения работы были доложены и обсуждены на ежегодных научно-практических конференциях: Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика», СПб, 2017 г.; Научно-практической конференции «Актуальные вопросы острых вялых параличей - 2017», СПб, 2017 г.; Научно-практической конференции «Трудный клинический случай в практике психоневролога», СПб, 2017 г.; XII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения», СПб, 2017 г.; Российском форуме с международным участием «Здоровое питание с рождения: медицина, образование, пищевые технологии», СПб; 2017 г.; XVI Конгрессе детских инфекционистов России, Москва; 2017 г., 2018г.; Научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей», СПб, 2018, 2019 г.; Всероссийский ежегодный конгресс «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика», СПб, 2018г.; XI Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы», Москва, 2019г.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследований внедрены в практику работы отделений нейроинфекций и органической патологии нервной системы и интенсивной терапии и реанимации Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», в ГАУЗ «Набережно-Челнинская инфекционная больница», г. Набережные Челны. Основные положения диссертации используются в лекциях, семинарах и практических занятиях на кафедре инфекционных заболеваний у детей и на кафедре неонатологии с курсами неврологии и акушерства-гинекологии ФП и ДПО Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, получен патент на изобретение «Способ прогнозирования характера течения воспалительных заболеваний нервной системы у детей в острый период» № 2689797 (рег. 29.05.19 г.). По результатам работы получены: диплом I степени за постерный доклад «Дефицит витамина D у детей с нейроинфекциями: взаимосвязь и тактика ведения» на конкурсе молодых ученых XVI Конгресса детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (Москва, 2017г.), диплом II степени за постерный доклад «Характеристика BsmI полиморфного варианта гена рецептора витамина D и обеспеченности витамином D при острых энцефалитах у детей» на конкурсе молодых ученых XI Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 2019г).

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен анализ отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертационной работы, результат которого представлен в обзоре литературы. Личное участие автора в проведенных исследованиях заключалось в организации всех этапов исследования, самостоятельном ведении больных, работе с медицинской документацией. Автор принимала участие в организации проведения лабораторных исследований (забор материала, подготовка материала к исследованию, участие в исследовании). Автором лично проведен статистический анализ полученных данных с использованием современных компьютерных программ.

Структура диссертации

Основной текст диссертации изложен на 118 страницах машинописного текста на русском языке и включает введение, обзор литературы, главу материалов и методов исследования, 2 главы результатов собственных исследований, выводы, практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 2 рисунками. Список цитируемой литературы включает 201 источник, из них 57 отечественных и 144 иностранных публикаций.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Общая характеристика больных и методов исследования

Под наблюдением находилось 58 детей с ЭФ в возрасте от 3 до 17 лет, поступивших в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России за период 2016–2018 гг. В группу сравнения было включено 25 детей с острыми респираторными заболеваниями без поражения нервной системы. Клинико-лабораторный мониторинг за пациентами проводился с момента госпитализации в стационар и до выписки, а также при катамнестическом наблюдении в амбулаторно-поликлиническом центре ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России на протяжении 1–3-х лет. Работа выполнена в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 года и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 года № 266.

Диагностика ЭФ основывалась на наличии общеинфекционных, общемозговых и очаговых неврологических симптомов. Степень тяжести ЭФ определялась с учетом выраженности менингеальных знаков, общемозговой симптоматики, общеинфекционного синдрома, очаговой симптоматики, а также наличия/отсутствия осложнений острого периода (отек головного мозга, дислокационный синдром, мозговая кома, полиорганная недостаточность, судорожный статус). Крайне-тяжелая степень тяжести определялась при наличии осложнений, требующих интенсивной терапии в условиях отделения реанимации с применением искусственной вентиляции легких (ИВЛ), тяжелая степень определялась при отсутствии осложнений, требующих интенсивной терапии в условиях отделения реанимации с применением ИВЛ. Степень нарушения сознания оценивали по детской шкале ком Глазго (1974 г. в модификации) в баллах, где 15 баллов — ясное сознание, 13–14 баллов — оглушение, 9–12 баллов — сопор, 4–8 баллов — кома, 3 балла — глубокая кома (смерть мозга). Средний возраст детей с ЭФ составил $8,4 \pm 4,6$ лет, причем 47% случаев составляли дети в возрасте от 3 до 6 лет ($n = 27$). У 79 % ($n = 24$) больных с ЭФ имела место тяжелая степень тяжести заболевания, у 21 % ($n = 12$) — крайне тяжелая (Табл. 1).

Таблица 1 — Возрастная структура и характеристика больных с энцефалитами в зависимости от степени тяжести ($n/\%$)

Степень тяжести энцефалита	Возраст детей с ЭФ									
	3–6 лет		7–10 лет		11–14 лет		15–17 лет		ИТОГО	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Крайне тяжелая	5	18,5	2	17	4	40	1	11	12	21
Тяжелая	22	81,5	10	83	6	60	8	89	46	79

ИТОГО	27	47	12	21	10	17	9	15	58	100
-------	----	----	----	----	----	----	---	----	----	-----

Характер течения ЭФ оценивался с учетом исходов заболевания. Наличие в исходе легкого неврологического дефицита в виде астеноневротического синдрома, легких пирамидных и экстрапирамидных расстройств определялось как благоприятное течение. Наличие в исходе грубой или умеренной пирамидной симптоматики (парезы/параличи) и/или выраженной энцефалопатии оценивалось как неблагоприятное течение.

Всем больным не позднее 3-х суток от появления очаговой неврологической симптоматики проводилось стандартное исследование ЦСЖ (общий белок, цитоз). Общий белок ЦСЖ определяли с использованием красителя пирогаллоловый красный (Вектор-Бест, Россия), цитоз – после окраски мазка реактивом Самсона (ЭКОлаб-Клиника-СМЖ, Россия).

Этиологическая верификация заболевания включала выявление маркеров инфекционных возбудителей с применением прямых — полимеразная цепная реакция, метод иммуноцитохимии (ПЦР, ИЦХ), и непрямых — иммуноферментный анализ (ИФА) диагностических тестов в лабораториях ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России. Обнаружение ДНК/РНК (ПЦР) или антигенов (ИЦХ) возбудителя в ЦСЖ являлось основанием для подтверждения его этиологического значения в развитии органического поражения ЦНС при ЭФ. Этиологически значимый фактор развития ЭФ устанавливался также при выявлении в сыворотке крови методом ИФА иммуноглобулина (ИГ) М или низкоавидных ИГ G. При выявлении ДНК/РНК (ПЦР) возбудителей в крови при отрицательном исследовании ЦСЖ, диагностировалась сопутствующая инфекция.

Исследование уровня метаболита витамина D 25(ОН)D в сыворотке крови и ЦСЖ проводилось всем пациентам однократно не позднее 3 суток от появления очаговой неврологической симптоматики методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа с использованием тест-системы Vitamin D total фирмы Roche Diagnostics (Германия) на анализаторе Cobas 6000 в лаборатории ООО «НПФ «ХЕЛИКС». Оценка обеспеченности в сыворотке крови проводилась согласно критериям Национальной программы «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы и коррекции» (2018г.): дефицит витамина D определялся при уровне метаболита витамина D 25(ОН)D в сыворотке крови менее 20 нг/мл, при этом выраженный дефицит соответствовал уровню менее 10 нг/мл, недостаточность — 21–29 нг/мл, адекватный уровень — 30–50 нг/мл у детей независимо от возраста. Оценка результатов в ЦСЖ проводилась аналогично. Показатели сравнивались с показателями группы сравнения.

Исследование распределения генотипов и аллелей BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D проводилось методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени и анализом кривых плавления (качественный анализ) с последующим применением эндонуклеаз рестрикции с использованием тест-системы «Генетика метаболизма кальция» фирмы НПФ «ДНК-Технология» (Россия) в лаборатории ООО «НПФ «ХЕЛИКС». В

связи с низкой встречаемостью гомозиготного носительства аллеля А (АА) BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D как в нашей выборке ($n = 6$; 10 %), так и в популяции в целом, в данном исследовании проведено сравнение носителей аллеля А (АА и АG генотипы) с гомозиготными носителями аллеля G (GG).

Определение уровня нейроспецифических белков (НСБ) в сыворотке крови и ЦСЖ проводилось однократно не позднее 3-х суток от появления очаговой неврологической симптоматики методом иммуноферментного анализа в лаборатории отдела клинической лабораторной диагностики ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России. Для определения уровня ОБМ в ЦСЖ использовали наборы реагентов фирмы Diagnostic systems laboratories (США). Определение уровня белка S100 и NSE в ЦСЖ и сыворотке крови проводилось с использованием тест-системы фирмы Fujirebio Diagnostics, Inc. (Швеция). Уровень GFAP в ЦСЖ и сыворотке крови определялся с использованием тест-системы фирмы BioVendor Laboratory Medicine, Inc. (Чехия). Измерение уровней проведено на иммуноферментном анализаторе Sunrise (TECAN, Австрия). Показатели уровня НСБ в сыворотке крови и ЦСЖ сравнивали с показателями группы сравнения.

Для исследования локализации и распространенности поражения ЦНС использовались методы нейровизуализации — магнитно-резонансная томография (МРТ) головного и спинного мозга, которая выполнялась с использованием стандартных импульсных последовательностей (T1, T2, FLAIR) и внутривенным контрастным усилением препаратами гадолиний или магневист в дозе 0,2 мг/кг проводилась на сверхвысокопольных томографах General Electric 1,5 Тесла на базе отделения лучевой диагностики ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и General Electric Discovery MR750W 3,0 Тесла на базе отделения МРТ клиники «Скандинавия» (ООО «АВА-ПЕТЕР»).

Статистический анализ выполнен на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows, Microsoft Excel 2010, SPSS. При нормальном распределении совокупности для описания групп указывалось среднее значение со стандартным отклонением, для выборок, отклоняющихся от нормального распределения, указывалась медиана и интерквартильный размах (25 %-75 %). Для сравнения количественных признаков применялись критерий Стьюдента, тест Манн-Уитни. Сравнение частоты встречаемости признаков в группах и анализ таблиц сопряженности выполняли с помощью χ^2 -Пирсона и точного метода Фишера. Сравнение трех и более групп количественных признаков проводилось с применением параметрических (дисперсионный анализ ANOVA) и непараметрических (Kruskall-Wallis ANOVA тест) критериев. Статистически достоверными считались различия при величине $p < 0,05$, высоко достоверными — при $p < 0,01$ и $p < 0,001$, недостоверными при $p > 0,05$. Применялся корреляционный анализ (критерии Пирсона и Спирмена). Связь между явлениями расценивали как сильную при значении $r \geq 0,7$; умеренную при $r = 0,69-0,31$; слабую при $r \leq 0,3$. Для выявления вероятности наступления крайне тяжелого течения ЭФ в зависимости от наличия фактора риска (носительство аллеля G) рассчитывали относительный риск (RR). Как отсутствие ассоциации рассматривали $RR = 1$, как положительную ассоциацию — $RR > 1$, а $RR < 1$ — как отрицательную

ассоциацию. Доверительный интервал (ДИ) представлял собой интервал значений, в пределах которого с вероятностью 95 % находилось ожидаемое значение RR.

Разработку модели прогнозирования неблагоприятного течения ЭФ осуществляли с помощью дискриминантного анализа статистического пакета Statistica for Windows, на основании выявленных признаков, значимо влияющих на отнесение конкретного пациента к одной из классификационных групп, вычисления коэффициентов для этих признаков с целью последующего прогнозирования вероятности неблагоприятного течения ЭФ у детей. Анализ диагностической значимости уровней нейроспецифических белков и метаболита витамина D 25(OH)D проводился с использованием ROC-анализа пакета по статистической обработке данных SPSS. Оценивались величины площадей под ROC-кривыми (AUROC), значения чувствительности и специфичности, 95 % доверительного интервала (ДИ). Учитывались модели с хорошей (при AUROC 0,7–0,8) и очень хорошей (при AUROC >0,8) предсказательной способностью при оптимальных уровнях чувствительности и специфичности.

Клинико-лабораторная характеристика детей с энцефалитами в зависимости от этиологии, тяжести и характера течения заболевания

В ходе проведенного исследования выявлено, что при ЭФ в возрастной структуре преобладали дети в возрасте 3–6 лет ($n = 27$; 47 %), при этом у 18,5 % ($n = 5$) из них имело место крайне тяжелое течение заболевания.

Анализ клинической картины в зависимости от степени тяжести ЭФ показал, что при крайне тяжелой степени у всех детей имело место нарушение сознания (100 %), при этом на фоне выраженного общеинфекционного синдрома (100 %) с высокой частотой наблюдались ОГМ (67 %), парезы (67 %), эпилептические приступы (67 %) и тазовые расстройства (33 %). Тогда как у детей с тяжелой степенью тяжести на фоне общеинфекционной симптоматики (76 %) преобладали мозжечковые нарушения (70 %).

В ходе исследования этиологической структуры выявлено, что наиболее частыми возбудителями, поражающими ЦНС при крайне тяжелой степени тяжести ЭФ у детей, являлись герпесвирусы (42 %; $n = 5$), с преобладанием в их структуре ВПГ (60 %; $n = 3$), энтеровирусы (25 %; $n = 24$), сочетанная инфекция (17 %; $n = 2$). Тогда как при ЭФ тяжелой степени тяжести этиологией заболевания в 46 % ($n = 21$) являлись энтеровирусы, в 43 % ($n = 20$) — герпесвирусы, с преобладанием в их структуре ВВЗ (70 %; $n = 14$), реже наблюдались клещевые инфекции (9 %; $n = 4$).

У 26 % ($n = 15$) детей с ЭФ имела место сопутствующая инфекция, представленная герпесвирусной инфекцией: ВЭБ (33 %; $n = 5$), ВГЧ-6 (20 %; $n = 3$), ЦМВ (13 %; $n = 2$), сочетанная герпесвирусная инфекция (27 %; $n = 4$) — ВЭБ и ВГЧ-6 ($n = 2$), ВЭБ и ЦМВ ($n = 1$), ЦМВ и ВПГ ($n = 1$), ВЭБ и ВПГ ($n = 1$). Анализ клинической картины заболевания у детей с ЭФ, имевших сопутствующую инфекцию, показал достоверно более высокую частоту

общее инфекционное синдром, в то время как значимых отличий в очаговой симптоматике и развитии осложнений ЭФ выявлено не было ($p > 0,05$).

При анализе результатов МРТ выявлено, что очаговое поражение ЦНС имело место у 65,5 % ($n = 38$) детей с ЭФ. При этом у пациентов с крайне тяжелой степенью тяжести в 100 % имело место многоочаговое (более 10-ти очагов: 78 %) или диффузное поражение (22 %) с преимущественной локализацией очагов в сером веществе коры головного мозга. В тоже время у детей с тяжелой — многоочаговое поражение ЦНС наблюдалось в 55 % случаев с преимущественной локализацией очагов в стволе и мозжечке.

Наблюдение детей в катамнестическом периоде позволило установить, что в 34 % ($n = 20$) случаев ЭФ наблюдалось неблагоприятное течение, при этом у детей с крайне тяжелой степенью тяжести тяжелый/умеренный неврологический дефицит наблюдался достоверно чаще (83 %; $n = 10$), чем при тяжелой (22 %, $n = 10$). При этом у детей с ЭФ, этиологией которых являлся ВПГ ($n = 5$), неблагоприятное течение заболевания наблюдалось в 100 % случаев, ВВЗ ($n = 16$) — в 6 % ($n = 1$), вирус клещевого энцефалита ($n = 4$) — в 25 % ($n = 1$), при энтеровирусной этиологии ($n = 24$) — в 37,5 % ($n = 9$), сочетанной этиологии (боррелии и ЦМВ, ЭВ и ВПГ; $n = 3$) — 67 % ($n = 2$). Также неблагоприятное течение ЭФ имело место у 1-го ребенка с ЭФ ВЭБ этиологии и 1-го — ВГЧ-6 этиологии. При ЭФ парвовирусной ($n = 1$) и боррелиозной ($n = 1$) этиологии наблюдалось благоприятное течение заболевания. Установлено, что сопутствующая инфекция у детей с неблагоприятным течением наблюдалась у 16 % ($n = 3$) детей, а у детей с благоприятным — у 31 % ($n = 12$; $p > 0,05$).

При стандартном клиническом исследовании ЦСЖ увеличение цитоза наблюдалось в 53 % ($n = 31$) случаев, при этом показатели варьировали в широком диапазоне — 23 (8,5–98) кл/мкл (Ме (Q25–Q75)), с наибольшим разбросом у детей с тяжелой степенью тяжести ЭФ — 29 (9–133) кл/мкл, тогда как при крайне тяжелой — 15 (4–71) кл/мкл ($p > 0,05$). Повышение концентрации общего белка в ЦСЖ наблюдалось у 31 % ($n = 18$) детей с ЭФ, при этом у детей с крайне тяжелой степенью тяжести показатели находились в пределах — 0,54 (0,24–0,85) г/л, тогда как при тяжелой — 0,27 (0,19–0,44) г/л ($p > 0,05$).

Характеристика уровня нейроспецифических белков в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости у детей с энцефалитами

В ходе исследования уровня NSE, GFAP, белка S100 и ОБМ в сыворотке крови и ЦСЖ у детей с ЭФ установлено, что в острый период заболевания имело место достоверное повышение уровня ОБМ в ЦСЖ. При этом у детей с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ уровень ОБМ и белка S100 в ЦСЖ был значимо выше — 30 (10–30) нг/мл и 903 (664–2184) нг/л, чем у детей с тяжелой степенью — 3,4 (2,8–6,7) нг/мл и 489 (291–646) нг/л, соответственно ($p < 0,01$). Достоверных отличий по уровню нейроспецифических белков в сыворотке крови у детей с ЭФ в зависимости от степени тяжести заболевания выявлено не было (Табл. 2).

Таблица 2 — Характеристика содержания нейроспецифических белков в ЦСЖ и сыворотке крови больных с энцефалитами в зависимости от степени тяжести

Нейроспецифические белки	Степень тяжести энцефалита				Все энцефалиты n = 58		Группа сравнения n = 25	
	Крайне тяжелая n = 12		Тяжелая n = 46					
	n	Me (Q25–Q75)	n	Me (Q25–Q75)	n	Me (Q25–Q75)	n	Me (Q25–Q75)
Сыворотка крови								
NSE (мкг/л)	9	4,6 (4,1–9,2)	26	5,3 (3,7–6,9)	35	5,3 (3,7–7,6)	7	5,78 (4,01–7,57)
GFAP (нг/мл)	4	0,13 (0,07–0,22)	22	0,10 (0,05–0,16)	26	0,10 (0,06–0,18)	7	0,07 (0,04–0,18)
S100 (нг/л)	5	63 (57–82)	22	49 (27–80)	27	56 (36–80)	7	39 (29–79)
ЦСЖ								
ОБМ (нг/мл)	5	30 (10–30)** ^o	29	3,4 (2,8–6,7)** ^o	34	4,8 (3,1–10,0)*	15	2,5 (1,6–3,2)
NSE (мкг/л)	4	8,4 (4,0–10,9)	17	3,8 (3,7–5,6)	21	3,8 (3,7–6,2)	7	4,3 (2,0–6,2)
GFAP (нг/мл)	5	1,5 (0,3–13,0)	21	0,4 (0,3–0,5)	26	0,40 (0,31–0,53)	8	0,4 (0,3–0,5)
S100 (нг/л)	5	903 (664–2184) ^o	22	489 (291–646) ^o	27	563 (248–664)	8	553 (400–802)

Примечание: ** достоверные отличия между группой с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ и группой сравнения $p < 0,001$, * достоверные отличия между группой с тяжелой степенью тяжести ЭФ и группой сравнения, а также между группой ЭФ и группой сравнения $p < 0,01$, ^o достоверные отличия между группой с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ и группой с тяжелой $p < 0,01$.

Анализ уровня нейроспецифических белков у детей в зависимости от этиологии заболевания не показал значимых отличий в группах. Однако оценка индивидуальных показателей показала, что наиболее высокие значения ОБМ (30 нг/мл), GFAP (13 нг/мл), белка S100 (2184 нг/л) в ЦСЖ и NSE (10,8 мкг/л) в сыворотке крови наблюдались у детей с сочетанной этиологией заболевания.

По результатам исследования установлено, что у детей с неблагоприятным течением ЭФ уровень ОБМ и GFAP в ЦСЖ в острый период заболевания был достоверно выше, а уровень белка S100 в ЦСЖ имел тенденцию к более высоким значениям, чем у детей с благоприятным течением (Табл. 3).

Таблица 3 — Характеристика содержания нейроспецифических белков в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с энцефалитами в зависимости от характера течения

Нейроспецифические белки	Характер течения ЭФ			
	Неблагоприятное n = 19		Благоприятное n = 39	
	n	Me (Q25–Q75)	n	Me (Q25–Q75)
Сыворотка крови				
NSE (мкг/л)	13	4,6 (3,7–9,2)	22	5,4 (3,9–6,9)
GFAP (нг/мл)	9	0,16 (0,07–0,19)	17	0,09 (0,05–0,14)
S100 (нг/л)	9	63 (52–82)	18	49 (27–80)
ЦСЖ				
ОБМ (нг/мл)	13	12 (4,5–30,0)*	21	3,5 (2,8–5,6)*
NSE (мкг/л)	6	3,8 (2,2–6,1)	15	3,8 (3,7–7,5)
GFAP (нг/мл)	11	0,50 (0,40–0,85)**	15	0,34 (0,28–0,41)**
S100 (нг/л)	11	646 (406–883)	16	522 (235–646)

Примечание: *достоверные отличия между группами $p < 0,01$; **достоверные отличия между группами $p < 0,05$.

В ходе исследования установлено, что у детей с ЭФ уровень ОБМ в ЦСЖ у которых превышал 3,6 нг/мл с высокой долей вероятности имело место неблагоприятное течение заболевания (ROC AUC $0,80 \pm 0,09$, 95 % DI 0,63–0,97, Se 92 %, Sp 57 %), также развитие неблагоприятного течения ЭФ наблюдалось у детей, уровень GFAP в ЦСЖ которых превышал 0,42 нг/мл (ROC AUC $0,77 \pm 0,10$, 95 % DI 0,63–0,97, Se 67 %, Sp 80 %).

Корреляционный анализ между показателями нейроспецифических белков показал наличие прямых связей средней силы уровнем ОБМ и белка S100 в ЦСЖ ($r = 0,59$; $p < 0,01$), белка S100 и NSE в ЦСЖ ($r = 0,51$; $p < 0,05$), белка S100 и NSE в сыворотке крови ($r = 0,67$; $p < 0,01$). При оценке взаимосвязей между уровнями специфичных для нейронов и глиии белков в сыворотке крови и ЦСЖ и стандартными ликворологическими показателями (цитоз и общий белок) у детей с ЭФ достоверных корреляционных связей выявлено не было.

Характеристика обеспеченности витамином D у детей с энцефалитами

В ходе исследования обеспеченности витамином D установлено, что у всех детей с ЭФ ($n = 58$) имели место дефицит и недостаточность витамина D, при этом уровень метаболита витамина D 25(OH)D в сыворотке крови составил $14,6 \pm 6,3$ нг/мл, что достоверно ниже, чем в группе сравнения — $24,7 \pm 10,4$ нг/мл ($p = 0,0001$). Дефицит витамина D был выявлен в 86 %

случаев ($n = 50$), при этом выраженный дефицит составил 29 % ($n = 17$), а недостаточность наблюдалась у 14 % ($n = 8$). При сравнительном анализе обеспеченности витамином D детей с ЭФ в зависимости от степени тяжести заболевания было выявлено, что у детей с крайне тяжелой степенью ($n = 12$) уровень 25(OH)D был несколько ниже ($12,3 \pm 4,7$ нг/мл), чем у детей с тяжелой степенью ($n = 46$) — $15,2 \pm 6,6$ нг/мл ($p = 0,16$). При этом установлено, что у детей с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ во всех случаях имел место дефицит витамина D и в 42 % случаев ($n = 5$) уровень 25(OH)D был ниже 10 нг/мл, в то время как у детей с тяжелой степенью тяжести ЭФ дефицит имел место в 83 % ($n = 38$), при этом выраженный дефицит наблюдался у 26 % детей ($n = 12$), а у 17 % ($n = 8$) была выявлена недостаточность витамина D (Табл. 4).

Таблица 4 — Структура обеспеченности витамином D у детей с энцефалитами различной степени тяжести (%)

Диагноз	Обеспеченность витамином D детей с ЭФ			
	Дефицит		Недостаточность	Адекватный уровень
	менее 10 нг/мл	11–20 нг/мл	21–29 нг/мл	более 30 нг/мл
Все ЭФ ($n = 58$)	29	57	14	0
ЭФ, крайне тяжелой степени тяжести ($n = 12$)	42	58	0	0
ЭФ, тяжелой степени тяжести ($n = 46$)	26	57	17	0
Группа сравнения ($n = 25$)	12	32	28	28

В результате исследования уровня 25(OH)D в ЦСЖ ($n = 22$) детей с ЭФ было выявлено, что, несмотря на низкие значения метаболита в сыворотке крови, уровень 25(OH)D в ЦСЖ у всех обследованных детей с ЭФ оставался стабильно высоким ($34,5 \pm 2,3$ нг/мл), и не имел значимых отличий с группой сравнения — $34,0 \pm 3,4$ нг/мл ($n = 15$, $p > 0,05$), при этом у детей с крайне тяжелой степенью тяжести ЭФ его уровень был в пределах — $35,2 \pm 3,6$ нг/мл ($n = 4$), а в группе с тяжелой — $34,4 \pm 2,0$ нг/мл ($n = 18$; $p > 0,05$).

Анализ обеспеченности витамином D детей с сочетанной инфекцией, включая активацию персистирующей герпесвирусной инфекции, выявил более низкие показатели 25(OH)D в сыворотке крови — $13,3 \pm 5,1$ нг/мл ($n = 18$), чем у детей с моноинфекцией — $15,2 \pm 6,8$ нг/мл ($n = 40$; $p > 0,05$), тогда как уровень в ЦСЖ находился в пределах $33,4 \pm 3,2$ нг/мл ($n = 6$) и $35,0 \pm 1,8$ нг/мл ($n = 16$) соответственно ($p > 0,05$).

На основании результатов исследования выявлено, что у детей с неблагоприятным течением ЭФ уровень 25(OH)D в сыворотке крови в острый период статистически не отличался от показателей в группе с благоприятным течением — $14,0 \pm 4,9$ нг/мл и $14,9 \pm 7,1$ нг/мл, соответственно ($p > 0,05$), при этом установлено, что дефицит при неблагоприятном течении ЭФ имел место в 90 % случаев, выраженный дефицит — в 35 %, тогда как при

благоприятном — в 79 % и 26 %, соответственно. В то же время уровень 25(OH)D в ЦСЖ у детей с неблагоприятным течением ЭФ был достоверно выше — $36,0 \pm 2,0$ нг/мл ($n = 10$), чем у детей с благоприятным течением — $33,7 \pm 1,9$ нг/мл ($n = 12$; $p < 0,05$).

В ходе исследования была выявлена отрицательная связь средней силы между уровнем 25(OH)D в ЦСЖ и уровнем NSE в сыворотке крови ($r = -0,56$; $p < 0,05$).

Характеристика BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D у детей с энцефалитами

На основании исследования BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D у детей с ЭФ было выявлено преобладание частоты носительства аллеля A (AA + AG) — 57 % ($n = 33$), при этом гомозиготное носительство аллеля A (AA) составляло только 10 %. В то же время частота встречаемости аллеля G (GG) в группе детей с ЭФ составила 43 %.

Анализ частоты встречаемости генотипов и аллелей BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D у детей с ЭФ в зависимости от степени тяжести заболевания показал значимое преобладание носительства аллеля G (GG) в группе с крайне тяжелой степенью (75 %; $n = 9$), по сравнению с тяжелой — 35 % ($n = 16$; $p > 0,05$). Распространенность генотипов AA и AG оказались выше в группе с тяжелой степенью тяжести ЭФ и составила 13 % и 52 %, тогда как в группе с крайне тяжелой генотип AA не встречался, а гетерозиготный генотип AG присутствовал у 25 % ($p < 0,05$). Так, носительство аллеля G повышало риск крайне тяжелой степени тяжести ЭФ у детей (RR = 4 [95 % ДИ: 1,2; 13]) (Табл. 5).

Таблица 5 — Характеристика частоты встречаемости генотипов BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D у больных с энцефалитами в зависимости от степени тяжести (абс/%)

Генотип BsmI	Степень тяжести ЭФ		Всего ($n = 58$)	Группа сравнения ($n = 25$)
	Крайне тяжелая ($n = 12$)	Тяжелая ($n = 46$)		
AA	0	6/13	6/10	6/24
AG	3/25	24/52	27/47	11/44
GG	9/75	16/35	25/43	8/32

Изучение распространенности BsmI полиморфных генотипов гена рецептора витамина D у детей с ЭФ в зависимости от объема поражения ЦНС по данным МРТ в двух группах: дети с многоочаговым (более 10 очагов) или диффузным поражением структур головного мозга ($n = 23$) — 1-я группа, дети с объемом поражения до 10 очагов ($n = 27$) — 2-я группа, не выявило достоверных отличий. В обеих группах преобладало носительство аллеля A (AA + AG) — 52 % и 59 %, соответственно, при этом частота гомозиготного носительства аллеля G (GG) в 1-й группе наблюдалась несколько чаще (48 %), чем во 2-й группе — 41 % ($p > 0,05$).

Частота носительства аллеля G BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D у детей с неблагоприятным течением ЭФ составила 57 % ($n = 12$), тогда как у детей с благоприятным — 35 %

($p > 0,05$), при этом распространенность генотипов AA, AG и GG в группе детей с неблагоприятным течением заболевания составила — 0 %, 43 % и 57 %, соответственно, тогда как у детей с благоприятным — 16 %, 49 % и 35 %, соответственно ($p > 0,05$).

Прогнозирование характера течения энцефалитов у детей

На основании проведенного исследования разработана математико-статистическая модель прогнозирования неблагоприятного течения ЭФ у детей в острый период заболевания, позволяющая на основании оценки таких лабораторных показателей как уровень метаболита витамина D 25(OH)D, белка S100 и GFAP в ЦСЖ, выделить детей, относящихся к группе риска неблагоприятного течения заболевания с формированием грубого/умеренного неврологического дефицита в виде парезов/параличей/тяжелой энцефалопатии (Табл. 6).

Таблица 6 — Перечень предикторов, значения коэффициентов и их уровень значимости

Предикторы	Код	ЛДФ1 (неблагоприятное течение)	ЛДФ2 (благоприятное течение)	Уровень значимости, p
GFAP	X1	-13,69	-12,15	0,03
Белок S100	X2	0,065	0,054	0,013
25(OH)D	X3	17,06	15,99	0,07
Constant		-318,25	-276,22	

Полученные значения уровня метаболита витамина D, GFAP и белка S100 в ЦСЖ вносили в формулу расчета:

$$\text{ЛДФ1} = -318,25 + (-13,69 \times X1) + 0,065 \times X2 + 17,06 \times X3,$$

$$\text{ЛДФ2} = -276,22 + (-12,15 \times X1) + 0,054 \times X2 + 15,99 \times X3,$$

где X1 – концентрация GFAP (нг/мл); X2 – концентрация белка S100 (нг/л); X3 – концентрация 25(OH)D (нг/мл).

При этом, сравнивая значения ЛДФ1 и ЛДФ2, получаемые при вычислении суммы показателей, получаемых при перемножении лабораторных и клинических показателей пациента и коэффициентов, указанных таблице 7, можно было с вероятностью 75 % прогнозировать неблагоприятное течение ЭФ при ЛДФ1 > ЛДФ2, и с вероятностью 85,7 % — благоприятное течение ЭФ при ЛДФ2 > ЛДФ1.

Таким образом, на основании литературных данных и собственных исследований современную концепцию патогенеза воспалительных заболеваний ЦНС у детей можно представить следующим образом: при развитии ЭФ на фоне дефицита витамина D возникает дисбаланс иммунной системы с наибольшим проявлением у детей с гомозиготным носительством аллеля G (GG) VsmI полиморфизма гена рецептора витамина D, что, вероятно, приводит, с одной стороны, к массивной диссеминации возбудителя,

сопровождается бактериемией, токсинемией или вирусемией, способствующей непосредственному повреждению как клеток эндотелия сосудов центральной нервной системы, так и нейронов, и глиальных клеток с высвобождением ОБМ, GFAP, S100, NSE, степень повышения которых отражает степень тяжести и характер течения заболевания, а с другой стороны — к гиперпродукции провоспалительных цитокинов и снижению продукции противовоспалительных факторов клетками иммунной системы, что усугубляет течение воспалительного процесса, увеличивает объем поражения нервной ткани, повышает риск неблагоприятного течения и исходов заболевания [Bikle D., 2009; Hjalmarsson C., 2014; Sokhan A., 2017; Скрипченко Е.Ю., 2019]. Кроме того, на фоне дефицита витамина D, происходит снижение ингибирующего влияния метаболитов витамина D на функционирование В-лимфоцитов и их дифференцировку в плазматические клетки, что обуславливает гиперпродукцию антител как к инфекционным факторам, так и эндогенным молекулам, высвобождаемым при гибели собственных клеток организма, что, вероятно, усугубляет повреждения и может потенцировать развитие аутоиммунных реакций [Holick M.F., 2012; Simon K.C., 2012; Pavan B., 2014].

Проведенные исследования свидетельствуют о важной роли витамина D и VsmI полиморфизма гена его рецептора в генезе ЭФ у детей. Исследование клинико-этиологических особенностей ЭФ у детей, определение уровня метаболита витамина D 25(OH)D в сыворотке крови и ЦСЖ в сочетании с уточнением генотипа VsmI полиморфизма гена рецептора витамина D, позволяет своевременно оптимизировать тактику ведения пациента.

ВЫВОДЫ

1. Энцефалиты в 47 % случаев имеют место у детей 3–6 лет, с развитием крайне тяжелой степени тяжести у 21 % пациентов, с сохранением в 33 % случаев грубого и умеренного неврологического дефицита в исходе заболевания. В 43 % случаев поражение ЦНС при энцефалитах обусловлено герпесвирусами, среди которых до 64% составляет вирус варицелла зостер.
2. У всех пациентов с энцефалитами уровень метаболита витамина D 25(OH)D в сыворотке крови снижен, причем у 86 % имеет место дефицит. Наиболее низкий уровень 25(OH)D до $12,3 \pm 4,7$ нг/мл выявляется у детей с крайне тяжелой степенью тяжести энцефалита, тогда как уровень 25(OH)D в ЦСЖ составляет $34,5 \pm 2,3$ нг/мл вне зависимости от степени тяжести заболевания, однако при неблагоприятном течении заболевания уровень 25(OH)D в ЦСЖ достигает $36,0 \pm 2,0$ нг/мл, по сравнению с пациентами с благоприятным течением — $33,7 \pm 1,9$ нг/мл ($p < 0,05$).
3. У детей с энцефалитами в острый период на ранних сроках начала заболевания имеет место достоверное повышение уровня ОБМ и белка S100 в ЦСЖ, причем максимальные значения ОБМ до 30 (10–30) нг/мл и белка S100 до (903 (664–2184) выявляются у детей с крайне тяжелой степенью тяжести энцефалита, тогда как уровень ОБМ и GFAP в ЦСЖ у

детей с неблагоприятным течением составляют 12 (4,5–30) нг/мл и 0,5 (0,4–0,85) нг/мл соответственно, в отличие от пациентов с благоприятным течением 3,5 (2,8–5,6) нг/мл и 0,34 (0,28–0,41) нг/мл, соответственно ($p < 0,01$; $p < 0,05$).

4. Частота гомозиготного носительства аллеля G (GG) BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D достоверно чаще наблюдается у детей с крайне тяжелой степенью тяжести энцефалита — 75 % ($p < 0,01$).

5. Разработана математико-статистическая модель прогнозирования характера течения энцефалита у детей, основанная на комплексной оценке в ЦСЖ уровня GFAP, белок S100 и метаболита 25(OH)D, позволяющая с вероятностью 75 % прогнозировать неблагоприятное течение заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью прогнозирования степени тяжести ЭФ в остром периоде заболевания у детей рекомендуется наряду с исследованием в крови уровня метаболита витамина D 25(OH)D определение генотипов BsmI полиморфизма гена рецептора витамина D и при выявлении гомозиготного носительства аллеля G (GG) прогнозируется крайне тяжелая степень тяжести заболевания, что является основанием для оптимизации тактики ведения.

2. С целью прогноза характера течения ЭФ у детей в остром периоде заболевания рекомендуется исследование в цереброспинальной жидкости уровня метаболита витамина D 25(OH)D и нейроспецифических белков: глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) и белка S100, результаты которых вносятся в формулу расчета:

$$\text{ЛДФ1} = -318,25 + (-13,69 \times X1) + 0,065 \times X2 + 17,06 \times X3,$$

$$\text{ЛДФ2} = -276,22 + (-12,15 \times X1) + 0,054 \times X2 + 15,99 \times X3;$$

где X1 – концентрация GFAP (нг/мл); X2 – концентрация белка S100 (нг/л); X3 – концентрация 25(OH)D (нг/мл) и при значении ЛДФ 1 больше ЛДФ 2 прогнозируют неблагоприятное течение заболевания, а при значении ЛДФ2 больше ЛДФ1 — благоприятное.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективно дальнейшее исследование особенностей течения ЭФ различной этиологии у детей на фоне применения препаратов витамина D в комплексной терапии с учетом молекулярно-генетических факторов, таких как BsmI полиморфизм гена рецептора витамина D. Требуется продолжение исследований по уточнению патогенетической взаимосвязи уровня витамина D и нейроспецифических белков в цереброспинальной жидкости.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ РАБОТ

1. Бухалко, М.А. Нейроинфекции у детей в современных условиях / Н.В. Скрипченко, А.А. Вильниц, Е.Ю. Скрипченко, М.В. Иванова, В.Е. Карев, Е.Ю. Горелик, М.А. Бухалко // **Практическая медицина.** - 2017. – № 10 (111). – С. 7–15.
2. Бухалко, М.А. Значение витамина D в патологии человека / Н.В. Скрипченко, М.А. Бухалко, Л.А. Алексеева, Е.Ю. Скрипченко // **Детские инфекции.** – 2017. – № 16 (4). – С. 52–57.
3. Бухалко М.А. Значение полиморфизма гена рецептора витамина D в патологии человека / М.А. Бухалко, Н.В. Скрипченко, Е.Ю. Скрипченко, Е.Н. Имянитов // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2017. – № 62:(6). – С. 23-28.
4. Бухалко, М.А. Трудности дифференциальной диагностики очагового поражения центральной нервной системы у детей (клинический случай) / Е.Ю. Скрипченко, А.А. Вильниц, В.Е. Карев, Н.В. Скрипченко, А.В. Суровцева, Е.Н. Имянитов, Н.В. Марченко, М.А. Бухалко, Е.Н. Суспицын // **Русский журнал детской неврологии.** – 2017. – №4. – С. 63–73.
5. Бухалко, М.А. Витамин D и нейроспецифические белки у детей с воспалительно-демиелинизирующими заболеваниями центральной нервной системы: причины и следствия / М.А. Бухалко, Е.Ю. Скрипченко, Л.А. Алексеева, Н.В. Скрипченко, Н.Е. Монахова, С.Г. Григорьев // **Педиатр.** – 2019. – Т. 10. – № 3. – С. 17–24.
6. Бухалко М.А. Роль VsmI полиморфизма гена рецептора витамина D в патогенезе воспалительных заболеваний центральной нервной системы у детей / М.А. Бухалко, Е.Ю. Скрипченко, Н.В. Скрипченко, Л.А. Алексеева, С.Г. Григорьев // **Практическая медицина.** – 2019. – Т. 17, № 5. – С. 170–174.
7. Бухалко, М.А. Содержание метаболита витамина D 25(OH)D у детей с энцефалитами и демиелинизирующими заболеваниями / Е.Ю. Скрипченко, М.А. Бухалко, Н.В. Скрипченко, Л.А. Алексеева // Сборник тезисов VII Балтийского конгресса по детской неврологии. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 299–303.
8. Бухалко, М.А. Характеристика уровня витамина D 25 (OH) D в сыворотке крови и ликворе у детей с энцефалитами и диссеминированными энцефаломиелиитами / Н.В. Скрипченко, М.А. Бухалко, Л.А. Алексеева, Е.Ю. Скрипченко // Сборник тезисов Всероссийского ежегодного конгресса. Журнал инфектологии. – Санкт-Петербург, 2017. – Т 9, №4. – С. 106–107.
9. Бухалко, М.А. Дефицит витамина D у детей с нейроинфекциями: взаимосвязь и тактика ведения / М.А. Бухалко, Н.В. Скрипченко, Н.Ф. Пульман // Сборник тезисов XVI Конгресса детских инфекционистов России. – Москва, 2017г. – С. 14–15.
10. Бухалко, М.А. Характеристика содержания нейроспецифических белков в крови при энцефалитах у детей с дефицитом витамина D / Н.В. Скрипченко, М.А. Бухалко, Л.А.

Алексеева, Н.Е. Монахова // Всероссийский ежегодный конгресс: Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика. Журнал инфектологии. – 2018. – Т. 10, №4. – С. 60.

11. Бухалко, М.А. Характеристика VsmI-полиморфного варианта гена рецептора витамина D и обеспеченности витамином D при острых энцефалитах у детей / Скрипченко Н.В., Бухалко М.А., Алексеева Л.А., Скрипченко Е.Ю., Монахова Н.Е. // Российская научно-практическая конференция «Управляемые и другие социально значимые инфекции: диагностика, лечение и профилактика». Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11, №1. – 118.

12. Бухалко, М.А. Характеристика содержания нейроспецифических белков в ЦСЖ при демиелинизирующих заболеваниях у детей с дефицитом витамина D в период обострения / Н.В. Скрипченко, М.А. Бухалко, Л.А. Алексеева, Е.Ю. Скрипченко, Н.Е. Монахова // Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, №5. – С. 75–76.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВВЗ	вирус варицелла зостер
ВГЧ-6	вирус герпеса человека 6 типа
ВПГ	вирус простого герпеса
ВЭБ	вирус Эпштейна-Барр
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
ИФА	иммуноферментный анализ
ИЦХ	иммуноцитохимия
МРТ	магнитно-резонансная томография
НСБ	нейроспецифические белки
ОБМ	основной белок миелина
ОГМ	отек головного мозга
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ЦМВ	цитомегаловирус
ЦНС	центральная нервная система
ЦСЖ	цереброспинальная жидкость
ЭФ	энцефалит
GFAP	глиальный фибриллярный кислый протеин
NSE	нейрон-специфическая енолаза
VDR	рецептор витамина D