

## ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЙ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, СОСТОЯНИЯ ИХ ИММУННОГО И ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА НА ФОНЕ РАЗЛИЧНОГО ТЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРРА

Чернышева О.Е., Юлиш Е.И., Иванова Л. А.

*Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького*

Изучена роль вируса Эпштейна-Барра в развитии иммунодефицитных состояний у детей. Выявлена инфицированность вирусом Эпштейна-Барра у 60 % детей. Отмечено повышение концентрации провоспалительных цитокинов, дисбаланс В- и Т-клеточного звеньев иммунитета.

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барра, иммунный статус, дети.

Характерной чертой современной патологии является рост хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, часто формирующихся на фоне персистирующего инфекционного процесса, вызываемого герпесвирусами (вирусом простого герпеса, цитомегаловирусом, Эпштейн-Барра) [1,2,3]. Вирус Эпштейна-Барра характеризуется тропностью к лимфоидным клеткам (Т- и В-лимфоцитам), в которых он длительно персистирует и, трансформируя их, может вызывать формирование злокачественных опухолей — лимфомы, саркомы. Его свойства отличаются от других герпесвирусов, известных своей «внутриклеточной» агрессивностью [4, 5]. Возбудители цитомегалии, опоясывающего лишая, генитального и лабиального герпеса практически всегда разрушают клетки, в которые вторгаются. Вирус Эпштейна-Барра, о котором из герпесвирусов известно меньше, ведет себя более «тактично»: он паразитирует в клетках иммунной системы, лишая их возможности выполнять предназначенные функции, а выраженное цитопатическое действие к ним демонстрирует нечасто [11]. Это, впрочем, только усиливает осторожность по отношению к нему, поскольку подобное свойство вируса при определенных обстоятельствах может вызвать в организме неуправляемые дегенеративные изменения, обуславливая прогрессирование недостаточности его функций [6, 7, 8]. Соответственно, вирус Эпштейна-Барра вызывает такие различные заболевания, как инфекционный мононуклеоз, злокачественные опухоли, аутоиммунные заболевания, вторичные иммунодефициты [9, 10].

Основными клетками-мишенями для вируса Эпштейна-Барра являются В-лимфоциты. Инфицированные В-клетки приобретают способность к неограниченной пролиферации и синтезируют большое количество антител [11, 12]. При Эпштейн-Барр-вирусной инфекции возникают изменения не только со стороны В-клеточного звена иммунной системы, но и нарушения клеточного иммунного ответа и факторов врожденной резистентности (макрофагов, натуральных киллеров, нейтрофилов, системы интерферона). Результатом индукции иммунодефицитного состояния и способности вируса Эпштейна-Барра интегрироваться в геном инфицированных клеток является пожизненная его персистенция [13, 14].

Целью нашей работы явилось определение роли вируса Эпштейна-Барра (ВЭБ) в развитии иммунодефицитных состояний, влияющих на частоту и длительность респираторных заболеваний у детей.

Проведен анализ результатов клинического и лабораторного обследования 30 детей из группы часто и длительно болеющих (ЧДБ) в возрасте от 8 до 14 месяцев. Определялись специфические антитела к ВЭБ — иммуноглобулины классов М и G (IgM и IgG) к раннему антигену (ЕА), к капсидному антигену (VGA) и ядерному антигену (ЕВНА) методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови, используя диагностическую иммуноферментную систему «Вектор-Бест» (Россия). Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета определялись методом иммунофенотипирования мембранных антигенов кластеров дифференцировки лимфоцитов периферической крови: CD-3 (общие Т-лимфоциты), CD-4 (Т-хелперы), CD-8 (Т-супрессоры), CD-16 (NK-клетки), CD-20 (В-лимфоциты). Уровень цитокинов — ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухоли (ФНО) определялся с помощью моноклональных антител методом проточной цитофлюорометрии. Концентрация иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови определялась методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Состояние фагоцитарной системы оценивалось реакцией фагоцитоза с определением фагоцитарного числа, процента фагоцитоза и его завершенности. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) определяли с помощью полиэтиленгликоля-6000. Исследование иммунного профиля инфицированных детей проводилось на фоне клинической ремиссии. Показатели иммунитета наблюдаемых детей сравнивались с данными 15 практически здоровых сверстников. Статистическая обработка проводилась с использованием диалоговой статистической системы «STADIA».

Характер течения ВЭБ-инфекции основывался не только на данных клинического обследования, но, что являлось ведущим критерием диагностики ВЭБ, и на определении наличия и уровней ДНК вируса, [g M и Ig G (табл. 1). Инфицированность ВЭБ была выявлена в 60 % случаев (18 детей). Среди них — у 4 пациентов (22,3 %) диагностировано острое течение инфекции (1 группа), у 14 (77,7 %) — хроническое течение (2 группа). Данные обследования представлены в табл. 2.

Анализ клинических данных выявил, что у наблюдаемых детей отмечен высокий показатель рецидивирующих заболеваний дыхательных путей вирусной этиологии. За время наблюдения все дети перенесли ОРВИ ( $7.4 \pm 0,62$  в год), которые протекали длительно и с осложнениями. Длительность заболевания составила  $12,6 \pm 0,27$  дней. В

большинстве случаев отмечалось поражение органов дыхательной системы: обструктивный бронхит встречался у 14 (77,7 %) детей, пневмония - у 7 (38,8 %).

При изучении антенатального анамнеза выявлено, что у всех исследуемых детей отмечался высокий риск внутриутробного инфицирования. Осложненное течение беременности и родов выявлено в 7 случаях (38,9 %). По сроку гестационного возраста 12 детей (66,7 %) родились доношенными, у половины из них наблюдалась антенатальная гипотрофия, 6 детей (33,3 %) родились недоношенными.

У детей, имеющих острое течение ВЭБ-инфекции, ранние симптомы болезни характеризовались адинамией, задержкой нарастания массы тела, повышением температуры, преимущественно до субфебрильных цифр, воспалением верхних дыхательных путей и нередко бронхообструктивным синдромом. При исследовании периферической крови отмечались анемия, нейтропения, относительный лимфоцитоз, моноцитоз. Атипичные мононуклеары не выявлялись.

У детей с хроническим течением Эпштейн-Барр-вирусной инфекции отмечалась большая вариабельность клинических проявлений. Диагностировались гипотрофия различной степени и отставание в нервно-физическом развитии на 1,5-2 эпикризных срока. Гиперплазия вилочковой железы по данным ультразвукового и рентгенологического исследования выявлялась у 35,7 % детей, лимфоаденопатия — в 72,2 % случаев, длительный гепатолиенальный синдром — в 14,2 % случаев. Проявления атонического дерматита имели место у трети детей. На фоне острых проявлений ОРВИ отмечалось развитие бронхообструктивного синдрома у 14 (77,7 %) детей (преимущественно рецидивирующее течение).

При иммунологическом обследовании ЧДБ детей, инфицированных ВЭБ, отмечались изменения как в специфических, так и неспецифических звеньях иммунитета (табл. 3).

Таблица 1

### Критерии активности течения ВЭБ-инфекции

Показатели	Острое течение	Хроническое течение		Латентное течение
		рецидив	ремиссия	
ДНК	+	+	-	-
IgM	+	+	-	-
IgG	Увеличение в динамике	Увеличение в динамике	+	+

Таблица 2

### Течение инфекции, вызванной вирусом Эпштейн-Барра, у часто и длительно болеющих детей

Показатели	Дети из группы ЧДБ, инфицированные ВЭБ, n=18			
	Острое течение, n=4		Хроническое течение, n=14	
	IgM VCA	IgM VCA и IgG EA	IgG EA	IgG EA IgG иEBNA
Количество детей	2(11,1%)	2 (11,1%)	13 (72,2%)	1 (5,6%)

Так, при исследовании показателей гуморального иммунитета у детей с острым течением ВЭБ-инфекции, на фоне снижения количества В-лимфоцитов, средние показатели Ig A, M, G почти в 2 раза превышали возрастные нормы. В группе детей с хроническим течением ВЭБ инфекции общее число В-клеток было несколько выше. Гиперпродукция иммуноглобулинов у детей, инфицированных ВЭБ, рассматривалось нами как реакция на длительную вирусную сенсибилизацию, определяющую хронизацию воспалительного процесса.

Состояние Т-клеточного звена иммунитета характеризовалось у детей с острым течением ВЭБ-инфекции значимым дисбалансом. Общее количество Т-лимфоцитов и их субпопуляций превышали возрастные нормы при двукратном снижении выработки естественных киллеров. Индекс соотношения CD-4/CD-8 был снижен и составлял в первой группе обследованных  $1,29 \pm 0,19$ , при  $1,75 \pm 0,29$  у здоровых детей ( $p < 0,05$ ). При хроническом течении ВЭБ инфекции состояние Т-системы было более компенсировано, однако количество киллеров, хотя и недостаточно, но было сниженным. Несмотря на активность клеточного звена иммунитета у ВЭБ-инфицированных детей, выявлялось снижение маркера активации, пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов — ИЛ-2, что особенно было выражено при хроническом течении инфекции.

При оценке функционального состояния фагоцитарной системы нейтрофилов выявлено, что процент фагоцитирующих клеток в обеих группах инфицированных детей был достоверно ниже показателей здоровых сверстников. Вместе с тем, при хроническом течении активность и поглощающая способность гранулоцитов значительно превышала показатели у детей с острым течением. Дисбаланс в соотношении процента фагоцитирующих клеток и фагоцитарного числа свидетельствует о напряжении системы фагоцитоза, при еще достаточных компенсаторных возможностях этих функций нейтрофилов. Переваривающая способность фагоцитирующих клеток, независимо от стадии инфекционного процесса, снижалась в обеих группах детей. Так, у детей первой группы показатель завершенности фагоцитоза составил  $0,64 \pm 0,036$ , у детей с хроническим течением ВЭБ инфекции —  $0,63 \pm 0,06$ , что было достоверно ниже, чем у здоровых сверстников. Незавершенность фагоцитоза, снижение числа фагоцитирующих клеток у обследованных детей подтверждают предположение об участии вируса Эпштейн-Барра в апоптозе нейтрофильных лейкоцитов. Обращает на себя внимание дисбаланс синтеза провоспалительных цитокинов, в частности, ИЛ-6, ИЛ-8, ФИО — основных регулирующих факторов специфических реакций клеточного звена иммунитета, Полученные результаты свидетельствуют о преобладающем влиянии про воспалительных цитокинов у ЧДБ детей, инфицированных ВЭБ. Так установлено, что у

большинства детей первой группы (75,0%) уровни исследуемых цитокинов были достоверно высокими. При хроническом течении инфекционного процесса продукция интерлейкинов была увеличена в 1,5-2,0 раза по сравнению с показателями детей первой группы и группы контроля.

Таблица 3

### Показатели иммунного статуса детей, инфицированных вирусом Эпштейн-Барра

Показатели иммунитета	Величины измерения	Контрольная группа, здоровые сверстники, n=15	Инфицированные ВЭБ, острое течение, n=4	Инфицированные ВЭБ, хроническое течение, n=14
СД-3 (Т-лимф)	%	55,7 ±2,32	70,64 ±3,22*	73,79 ±5,34*
	109 /л	2,55 ± 1,19	2,51 ± 1,17	3,05 ±0,95
СД-4, (Т-хелп.)	%	29,3 ± 2,72	34,0 ±4, 16*	38,7 ±5,83*
	109 /л	1,31 ±1,05	1,3± 1,27	1,8 ± 1,04
СД-8, (1-супр.)	%	1 8,4 ± 2,64	29,2 ±3,61*	22,2 ± 1,84*
	109 /л	0,83 ± 0,07	0,98 ± 0,06	1,0±0,10
СД-16, (НК-клетк.)	%	11,81 ± 1,3	7,12 ±0,49*	10,48± 1,34 <sup>x</sup>
	1 09 /л	0,52 ± 0,02	0,18 ±0,06	0,45 ± 0,05
СД-4/СД-8		1 ,75 ± 0,29	1,29±0,19	1,9 ±0,82
СД-20, (В-лимф.)	%	17,7 ±0,89	14,0 ± 1,64*	15,8 ±0,76 <sup>**</sup>
	109 /л	0,6 ± 0,08	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,06
Ig-A	мг/мл	0,59 ±0,1 4	1,25 ±0,87*	1,06 ±0,19*
Ig-M	мг/мл	0,74 ±0,1 2	! ,7 1 ± 0,24*	1,47 ±0,34*
Ig-G	мг/мл	6,85 ± 1,19	11,7 ±0,36*	12,8±0,28*
% фагоц. клеток	%	50,16 ±3,9	36,0 ±4,29*	38,9 ±3,71*
фагоц. число	ед.	5,25 ± 0,72	5,01 ±0,57	4,62 ±0,61
заверш. фагоцитоз		0,76±0,09	0,64 ±0,036*	0,63 ± 0,06*
ИЛ-2	пг/мл	14,6 ±1,5	12,4 ±0,71	10,9 ±1,11
ИЛ-6	пг/мл	3,67± 1,72	30,32 ± 5,64*	43,87±8,12*
ИЛ-8	пг/мл	5,94 ±2,46	17,6 ±3,07*	59,2 ±5,41 <sup>**</sup>
ФНО	пг/мл	4,28 ± 1,83	41, 6 ±4,94*	60,7 ±7,23 <sup>**</sup>
ЦИК	ед. опт. плт.	55,2 ±4,28	187,6 ±26,73*	126,8 ±22,14 <sup>**</sup>

Примечание.

\* Данные статистически достоверно отличаются от группы контроля (p<0,05)

<sup>x</sup> Данные статистически достоверно отличаются от первой группы (p<0,05)

Особенно высоким и статистически достоверным показателем дискоординации функций иммунной системы являлось многократное повышение уровня ЦИК. Так, в первой группе концентрация ЦИК составила 187,6 ± 26,73 ед. опт. пл. (при возрастной норме 55,2 ± 4,28). У детей с хроническим течением инфекции уровень ЦИК был несколько ниже, хотя также значимо превышал нормальные показатели (126,8 ± 22,14). Это расценивалось как прогрессирование патологического процесса вследствие оседания иммунных комплексов на определенных тканях. Развитие такой воспалительной реакции у ВЭБ-инфицированных ЧДБ детей, по-видимому, и обуславливает формирование в последующем случаев хронических заболеваний, в том числе аутоиммунных и аллергических.

Таким образом, в раннем периоде инфицированности ВЭБ у детей первых лет жизни на фоне высокой антигенной нагрузки срабатывает система иммунной адаптации, что выражается в повышении концентрации провоспалительных цитокинов. Длительная персистенция вируса Эпштейн-Барра в организме ребенка приводит к иммунному срыву — выраженному синтезу провоспалительных цитокинов, являющихся ключевыми в формировании хронического системного воспаления.

В этой связи комплекс лечебных и реабилитационных мероприятий ЧДБ детей, особенно инфицированных ВЭБ, должен учитывать не только коррекцию иммунного состояния больных детей, но и баланс выработки про- и противовоспалительных цитокинов.

Следует подчеркнуть, что ни один из известных в настоящее время противовирусных или других препаратов не способен полностью элиминировать герпесвирусную инфекцию из организма. Во многом это обусловлено преимущественностью внутриклеточного существования, невозможностью достаточно полного проникновения химиопрепаратов в клетку и трудностью в связи с этим их нейтрализации и удаления. Поэтому тактика лечения герпесвирусной инфекции во многом определяется частотой, степенью тяжести обострений, осложнениями заболеваний, а также риском передачи инфекции. И задачей лечебных мероприятий является профилактика и

терапия обострений инфекционного процесса и развития осложнений.

Метод лечения детей с активным течением инфекции, вызванной вирусом Эпштейн-Барра, заключается в том, что детям с выявленным активным течением инфекции, вызванной вирусом Эпштейн-Барра (острым или обострением хронического) с выраженными клиническими проявлениями и органными поражениями, показано комбинированное использование ациклических нуклеозидов (Ацикловир, Вальтрекс), рекомбинантного  $\alpha$ -интерферона, позволяющего улучшить состояние иммунологической реактивности организма и в то же время не оказывающего влияния на уровень интерферона, участвующего в развитии аутоиммунных процессов.

С целью длительной вирусной супрессии используется разработанный в Украине препарат растительного происхождения Флавозид, обладающий выраженной противовирусной активностью (блокада размножения вируса), способностью к индукции эндогенных интерферонов ( $\alpha$  и  $\gamma$ ), стимулирующим действием на функции тканевых макрофагов и антиоксидантными свойствами.

Методика применения Флавозида в комплексе лечения ВЭБ-инфекции: детям в возрасте до года — по 0,5 мл 2 раза в день. 2-4 недели; детям в возрасте 1-2 лет — по 1 мл 2 раза в день, 2-4 недели; детям в возрасте 2-4 года — по 1,5 мл 2 раза в день с первого до третьего дня, по 3 мл 2 раза в день с 4 дня; детям в возрасте 4-6 лет — по 3 мл 2 раза в день с первого до третьего дня, по 4 мл 2 раза в день с 4 дня; детям в возрасте 6-9 лет — по 4 мл 2 раза в день с первого до третьего дня, по 5 мл 2 раза в день с 4 дня; детям в возрасте 9-12 лет — по 5 мл 2 раза в день с первого до третьего дня, по 6 мл 2 раза в день с 4 дня. Длительность лечения — 1 месяц.

При рецидивирующем течении инфекции курсы терапии Флавозидом проводятся 3-4 раза в году, при латентном — у детей из группы ЧДБ — два раза в году.

На фоне проводимого лечения удалось купировать острые явления инфекции у 67 % детей, перевести рецидивирующее течение хронической герпесвирусной инфекции в латентное — у 64 %.

### Перечень ссылок

1. Неділько В. П. Проблеми здоров'я дітей України. Здорове дитина: ріст, розвиток та проблеми норми в сучасних умовах. // Мат. Міжнародної науково-практичної конф., Чернівці, 2002.—С. 6-7.
2. Марушко Ю. В., Моцич П. С., Сонькін В. М. Частохворіючі діти— актуальна проблема педіатрії //ПАГ, 1999.—№4.— С. 69-70.
3. Починок Т. В., Омельченко А. І., Чернишов В. П. До питання про формування вторинних імунодефіцитних станів у дітей з інфекційним синдромом, які часто хворіють на ГРВІ. // ПАГ, 1999.— № 4.— С. 22
4. Андрущук А. О., Тяжка О. В. До питання про етіологічні та патогенетичні фактори розвитку і перебігу повторних респіраторних захворювань у дітей. // ПАГ, 1999,—№4.— С. 69.
5. Черток Г. Я., Нибш Г. Состояние здоровья и диспансеризация детей раннего возраста.— М.: Медицина, 1987.—256с.
6. Сидорова И. С., Черниенко И. Н. Внутриутробные инфекции: хламидиоз, мононуклеоз, герпес, цитомегалия. // Рос. вести, перинатологии и педиатрии, 998.—№3.—С. 7-13.
7. Хахалин Л. Н. Герпесвирусные заболевания человека (этиология, патогенез, принципы диагностики и этиопатогенетической терапии). // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 1997. — № 3. — С. 5-36,
8. Железникова Г. Ф., Иванова В. В., Аксенов О. А. Варианты иммунного ответа при острых респираторно-вирусных инфекциях у детей. // Вопр. вирусологии, 1999.— № 6.—С. 249-253.
9. Инфекции, вызываемые вирусом Эпштейна-Барра, включая инфекционный мононуклеоз. // Скули Р. (Schooley R.). Внутренние болезни. В 10 книгах. Книга 4. Пер. с англ./Под ред. Е. Браунвальда и др.— М.: Медицина, 1994.—С. 101-109.
10. Поляков В. Е., Лялина В. Н., Воробьева М. Л. Инфекционный мононуклеоз у детей и подростков. // Эпидем. и инфекционные болезни, 1998.— № 6.— С. 50-55.
11. Ковальчук Л. В., Череведев А. Н. Новые иммунопатогенетические взгляды: апоптотические иммунодефициты. //Иммунология, 1998.—№6,—С. 17-18.
12. Железнякова Г. Ф., Васякина Л. И., Монахова Н. Е. Апоптоз и иммунный ответ у детей с острым инфекционным мононуклеозом. // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2000.— №4.— С. 87.
13. Зборовская А. А., Алейникова О. В., Коломиец Н. Д. Эффективность рекомбинантного интерферона в терапии хронической ВЭБ-инфекции у детей с онкопатологией. //Достижения медицинской науки Белоруссии, 1999.— №3.—С. 12-14.
14. Коресев А. В., Арцимович Н. Г. Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции. //Лечащий врач, 1998.—№3.— С. 18-22