

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК [616.98:578.825.13]-092:612.017.1:575]-078.33-08-053.2(045)

Оригинальная статья

ЭПШТЕЙНА-БАРРА ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ У ДЕТЕЙ: ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ОТВЕТА И ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

С.А. Хмилевская — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, кафедра детских инфекций, доцент, кандидат медицинских наук; **И.А. Зайцева** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, кафедра детских инфекций, профессор, доктор медицинских наук; **Е.В. Михайлова** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, заведующая кафедрой детских инфекций, профессор, доктор медицинских наук. E-mail: hmils@mail.ru

EPSTEIN-BARR VIRAL INFECTION IN CHILDREN: CYTOKINE RESPONSE PECULIARITIES AND IMMUNOPATHOLOGICAL REACTIONS

S.A. Khmilevskaya — Saratov State Medical University, Department of Children Infectious Diseases, Associate Professor, Candidate of Medical Science; **I.A. Zaytseva** — Saratov State Medical University, Department of Children Infectious Diseases, Professor, Doctor of Medical Science; **E.V. Mikhaylova** — Saratov State Medical University, Head of Department of Children Infectious Diseases, Professor, Doctor of Medical Science. E-mail: hmils@mail.ru

Дата поступления — 2.03.09 г.

Дата принятия в печать — 22.04.09 г.

С.А. Хмилевская, И.А. Зайцева, Е.В. Михайлова. Эпштейна-Барра вирусная инфекция у детей: Особенности цитокинового ответа и иммунопатологические реакции. Саратовский научно-медицинский журнал, 2009, том 5, № 2, с. 222–226.

В работе представлены результаты наблюдения за 100 пациентами в возрасте от 1 до 18 лет с различными вариантами течения Эпштейна-Барра вирусной инфекции. Выявлены клинические особенности инфекционного мононуклеоза при первичной инфекции и ее реактивации. Проведена оценка напряженности процессов аутоенсибилизации. Показаны взаимосвязь аутоиммунных и цитокиновых реакций, а также их участие в формировании органопатологии при Эпштейна-Барра вирусной инфекции.

Ключевые слова: Эпштейна-Барра вирусная инфекция, цитокины, аутоантитела.

S.A. Khmilevskaya, I.A. Zaytseva, E.V. Mikhaylova. Epstein-Barr Viral Infection in Children: Cytokine Response Peculiarities and Immunopathological Reactions. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2009, vol. 5, № 2, p. 222–226.

The research results are presented in the work. 100 patients aged 1–18 with different Epstein-Barr viral infection course variations have been observed. Clinical features of infectious mononucleosis in case of primary infection and its revivification have been revealed. The evaluation of intensity of auto-sensibilization processes has been performed. The interrelation of autoimmune and cytokine reactions and their participation in formation of organopathology in case of Epstein-Barr viral infection are demonstrated.

Key words: Epstein-Barr viral infection, cytokines, autoantibodies.

Имунопатологические процессы, как правило, обусловлены нарушением механизмов иммунорегуляции в результате воздействия различных факторов, в том числе инфекционных агентов. В последние годы все больше исследователей привлекает проблема вирусиндуцированной иммунопатологии и ее роль в формировании исходов заболевания [6].

Особенности Эпштейна-Барра вирусной инфекции позволяют рассматривать ее как заболевание иммунной системы, при котором возможно развитие целого ряда иммунопатологических реакций и создаются условия для возникновения аутоиммунных нарушений, агрессии провоспалительных цитокинов и свободных радикалов, обуславливающих различные осложнения со стороны функционирования органов и систем [5].

У вируса обнаружено большое количество генов, дающих ему возможность в определенной мере ускользать от иммунной системы человека. Его способность угнетать клеточный иммунитет, высокая мутабельность могут явиться причиной формирования хронических форм инфекции. Так как является генетическим «паразитом», в основе его взаимодействия с организмом всегда лежит патологический процесс на уровне клетки, который реализуется путем взаимодействия вирусных и клеточных генов. Особен-

ности репликации, необходимость перманентного достраивания доминирующей цепи определяет вероятность ошибок, многовариативность и гетерогенность вируса. Выживание возбудителя путем интеграции с геномом инфицированных лимфоцитов при ЭБВ-инфекции может стать причиной ряда аутоиммунных заболеваний [3].

Иммунотерапия при данном заболевании, как правило, обоснована, однако ее использование, при наличии иммунной дисфункции и наследственной предрасположенности, может привести к развитию иммунопатологических состояний. В связи с этим становится понятной необходимость дальнейшего изучения показателей как иммунных, так и аутоиммунных реакций у больных различными формами Эпштейна-Барра вирусной инфекции.

Цель работы: оценить напряженность аутоиммунных реакций в зависимости от варианта течения инфекции и уровня цитокинов, выявить особенности цитокинового статуса и аутоиммунного профиля органов у детей с Эпштейна-Барра вирусной инфекцией.

Материалы и методы исследования. Обследовано 100 пациентов в возрасте от 1 до 18 лет, находившихся на стационарном лечении в 5 детской инфекционной больнице г. Саратова с диагнозом «Инфекционный мононуклеоз Эпштейна-Барра вирусной этиологии». Больные отбирались методом случайной выборки. Для верификации диагноза применялись клинические, серологические и молекулярные методы диагностики.

Ответственный автор — **Хмилевская Светлана Анатольевна** 410031, г. Саратов, ул. Б. Горная 100, МУЗ «5ДИБ», кафедра детских инфекционных болезней, тел.: 89272265011, E-mail: hmils@mail.ru

Критериями включения в протокол исследования являлись: наличие активно протекающей Эпштейн-Барр вирусной инфекции в форме инфекционного мононуклеоза, возраст от 1 до 18 лет, информированное согласие законного представителя больного. Критерии невключения: отсутствие маркеров Эпштейн-Барр вирусной инфекции, тяжелые сопутствующие и обострения хронических заболеваний, диффузные заболевания соединительной ткани, ревматическая патология. Критерии исключения ребенка из протокола: отказ законных представителей больного от участия в протоколе, нарушения протокола.

На основании профиля антител к АГ ЭБВ (определение серологических маркеров Эпштейн-Барр вирусной инфекции осуществлялось с помощью диагностических наборов фирмы «Вектор-Бест», Россия) пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу составили 57 детей, у которых на момент поступления в стационар обнаруживались маркеры первичной Эпштейн-Барр вирусной инфекции (IgM к VCA и/или IgG к EA при отсутствии IgG к EBNA). Во вторую группу вошли 43 ребенка, имевшие, наряду с диагностическими титрами IgM к VCA, IgG к EBNA (ОП>0,5), что свидетельствовало о реактивации инфекции [1,2]. Группу контроля составили 25 относительно здоровых детей аналогичного возраста.

Помимо рутинных методов исследования у всех больных определялся ряд биохимических показателей сыворотки крови (активности аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST), щелочной фосфатазы (ЩФ), билирубина на биохимическом анализаторе Vitalab Flexor E наборами реагентов фирмы DiaSys, Германия). 94 пациентам произведено ультразвуковое исследование печени, поджелудочной железы и селезенки. Всем обследованным при поступлении, в периоде ранней реконвалесценции и через полгода после выписки из стационара проводилась 12-канальная ЭКГ в общепринятых отведениях на компьютерном аппарате с мониторным наблюдением фирмы «Волготех» (г. Саратов).

С целью изучения выраженности иммунопатологических реакций определялись ЦИК (метод преципитации полиэтиленгликолем) и титры аутоантител в сыворотке крови к тканям сердца, печени, селезенки, поджелудочной железы, почек, кишечника, тимуса, легких и мозга микрометодом в РПГА с использованием приоритетных противоорганных эритроцитарных диагностикумов (по методике Л.Н. Шаниной 1985 г., step-test). Для адекватной оценки полученных результатов было произведено обратное преобразование показателей с последующим вычислением среднего геометрического (учитывая характер и распределение данных).

Уровень цитокинов (интерлейкина-1 β (ИЛ1), интерлейкина-2 (ИЛ2), интерлейкина-4 (ИЛ4), интерлейкина-6 (ИЛ6), фактора некроза опухоли α (ФНО α), интерферона- α (ИФН α), интерферона- γ (ИФН- γ) в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных систем производства ООО «Цитокин» (СПб).

Лабораторные исследования проводились в динамике заболевания (при поступлении и 7–15 дни болезни) и в периоде реконвалесценции (12–18 дни болезни), а также при диспансерном осмотре (через 6, 9, 12 и 18 месяцев после выписки из стационара).

Обработка результатов исследования выполнялась на компьютерах серии Pentium, с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0 и Microsoft Excel for Windows 4,0. Для описательной

статистики использовали параметрические и непараметрические методы с указанием средних величин и стандартной ошибки среднего (формат $M \pm m$). Оценка различий между двумя долями (учитывая достаточный объем выборки) и средними арифметическими (для показателей с нормальным распределением) проводилась с помощью t-критерия. При несоблюдении нормальности распределения количественных показателей для сравнения использовался U тест Манна-Уитни. Анализ зависимости маркеров эндотоксикоза, показателей аутоантителообразования и уровней цитокинов проводился с помощью метода ранговой корреляции по Спирмену.

Результаты исследования. Первичная форма ЭБВ-инфекции встречалась преимущественно у детей от 3 до 7 лет — 35% (20 человек) и от 12 до 18 лет — 33% (19 человек), что согласуется с данными литературы о двухпиковом возрастном распределении заболеваемости в нашей стране [6, 7]. В возрасте от 1 до 3 лет и от 7 до 12 лет заболевание регистрировалось в 2 раза реже (16% (9 человек) и 16% (9 человек) соответственно).

Случаи реактивации инфекции были более характерны для пациентов младшего возраста (от 1 до 3 лет — 44% (19 человек), от 3 до 7 лет — 30% (13 человек), со снижением частоты до 8% (3 больных) у детей от 7 до 12 лет, и некоторым увеличением в старшей возрастной группе (до 18% (8 человек) в возрасте от 12 до 18 лет). Подобное распределение, вероятнее всего, вызвано особенностями иммунологической реактивности в данном возрасте. На основании вычисления t-критерия наиболее значимым ($p < 0,05$) явилось преобладание во 2 группе детей младшего возраста.

Клиническая картина у находившихся под нашим наблюдением больных носила типичный характер с развитием основного симптомокомплекса, включавшего лихорадку, тонзиллит, затруднение носового дыхания, лимфоаденопатию с преимущественным увеличением лимфоузлов шейной группы, гепатоспленомегалию и изменения периферической крови. Однако выраженность и частота выявления данных симптомов зависела от варианта течения инфекции — первичная или реактивация.

При реактивации процесса течение заболевания протекало в более легкой форме, были менее выражены лихорадочная реакция, симптомы интоксикации, лимфопролиферативный синдром, воспалительные изменения в рото- и носоглотке ($p < 0,05$) (рис.1). Продолжительность таких клинических проявлений, как лихорадка, боль в горле и затруднение носового дыхания у детей 2 группы была короче ($p < 0,05$). Обращал на себя внимание тот факт, что частота гепато- и спленомегалии на момент выпи-

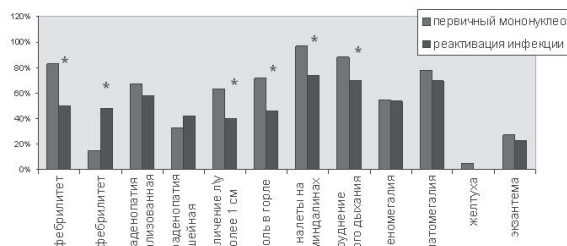


Рис.1. Частота основных симптомов заболевания в зависимости от варианта ЭБВ-инфекции при поступлении в стационар
* - достоверное отличие показателей при $p < 0,05$

ски из стационара при реактивации ЭБВ-инфекции несколько превышала показатели при первичном инфекционном мононуклеозе (65% против 50% и 16% против 8% соответственно), несмотря на слабую выраженность данного симптома.

Гематологические сдвиги, такие как лейкоцитоз, лимфоцитоз, характеризовались большей частотой и выраженностью при первичной инфекции. Однако при поступлении в стационар процент выявления атипичных мононуклеаров и маркеров острого воспалительного процесса (ускорение СОЭ; сдвиг лейкоцитарной формулы влево) превалировал у больных 2 группы (68%, 90%, 40% и 47%, 75%, 28% соответственно). К моменту выписки из стационара описанные выше изменения при реактивации инфекции встречались значительно реже, чем при первичном процессе (20%, 40%, 3% и 36%, 61%, 7% соответственно).

Нарушение функционального состояния печени преимущественно проявлялось в виде повышения активности аминотрансфераз в 2–3 раза по сравнению с нормальными показателями, причем при впервые возникшем заболевании АЛТ была повышена в 50% случаев, а при реактивации — в 66%. Несмотря на тот факт, что отклонения перечисленных биохимических показателей достоверно чаще встречались при реактивации инфекции, выраженность их была значительно меньше, чем при первичном мононуклеозе (активность АЛТ составила $67,2 \pm 8,5$ и $94,3 \pm 10,1$ соответственно, различия достоверны при $p < 0,05$). Осложнения в виде острого гепатита с гипербилирубинемией зарегистрированы только при первичной форме заболевания (5% случаев).

Данные УЗИ печени по ряду параметров, таких как увеличение размеров и изменение эхогенности, были сопоставимы с выраженностью клинических признаков поражения печени (увеличение размеров, боли в области печени) (коэффициенты корреляции 0,88 и 0,32; 0,74 и 0,39 соответственно при попарном определении). В то же время изменение биохимических показателей в большей части случаев не соответствовало данным полученным в ходе клинического и ультразвукового исследований. Значительная вариативность биохимических изменений, возможно, связана не только с цитолитической природой энзимологических сдвигов, но и с метаболическими осо-

бенностями рассматриваемых вариантов Эпштейна-Барра вирусной инфекции [4].

Изменения сердечной деятельности по данным ЭКГ чаще регистрировались у пациентов 2 группы и проявлялись в виде нарушения функции автоматизма (снижения частоты сердечных сокращений и эктопических предсердных ритмов) — 24% против 15%; функции возбудимости (наджелудочковой экстрасистолии) — 2% против 0%; проводимости (неполной блокадой правой ножки пучка Гиса, атрио-вентрикулярной блокадой) — 32% против 24%. Диффузное снижение амплитуды зубца Т при отсутствии подъема сегмента ST и изменений комплексов QRS, расцененное нами как проявление миокардиодистрофии, было выявлено у 9% пациентов с первичным инфекционным мононуклеозом и у 25% — при реактивации инфекции (различия достоверны при $p < 0,05$).

Изучение содержания циркулирующих иммунных комплексов при различных вариантах ЭБВ-инфекции показало его достоверное ($p < 0,05$) увеличение на высоте клинических проявлений по сравнению со здоровыми детьми (рис. 2). Для первичного ИМ было характерно повышение уровня ЦИК до максимальных значений на пике клинических проявлений с последующим снижением до показателей нормы у 90% детей в течение 1–2 месяцев наблюдения. Изменения ЦИК при реактивации инфекции носили более сглаженный характер. Умеренное повышение показателя сохранялось у основной массы детей на протяжении последующего наблюдения в течение 1 года, с последующими колебаниями в зависимости от активности ЭБВ-инфекции.

Период максимальной выраженности симптомов заболевания сопровождался повышением концентрации исследуемых цитокинов в сыворотке крови у детей обеих групп. Однако при первичной инфекции уровень ИФН α , ИФН γ и ИЛ2 достоверно превышал таковые значения при рецидиве ИМ ($p < 0,05$), что косвенно свидетельствует в пользу большей активности Тх-1 типа при данном варианте инфекции. Соотношение ИФН γ /ИЛ4 при остром ИМ было выше нормы в 1,6 раза. Реактивация сопровождалась менее выраженной активацией синтеза ИФН α , ИФН γ и ИЛ2 (что свидетельствует о слабой активации кле-

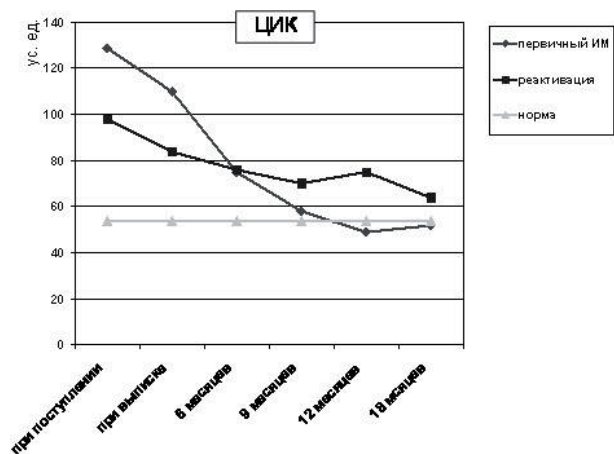


Рис. 2. Динамика содержания в крови ЦИК при различных вариантах ЭБВ-инфекции

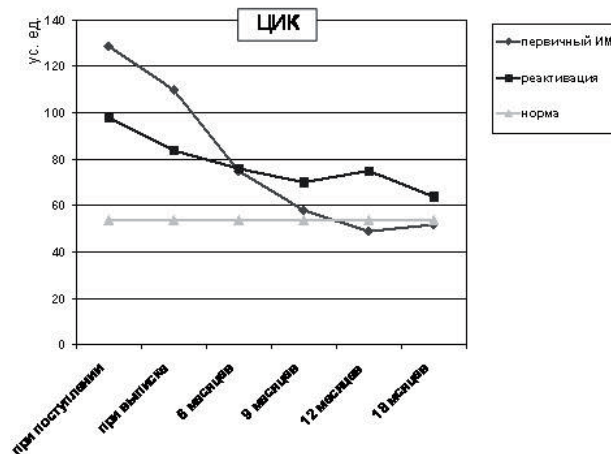


Рис. 3. Уровень цитокинов в сыворотке крови у детей в зависимости от варианта ЭБВ-инфекции при поступлении в стационар
* — достоверное отличие показателей при $p < 0,05$

точного звена иммунитета), а также более высоким содержанием в сыворотке крови ИЛ1, ИЛ4 и ФНОα (p<0,05). Отмечалось уменьшение соотношения ИФНγ/ИЛ4 в 1,9 раз по сравнению с показателями группы с первичной инфекцией и в 1, 2 раза по сравнению с показателями контрольной группы, что позволило говорить о наличии смещения иммунного ответа при реактивации инфекции в сторону гуморального (рис.3).

У больных с первичным ИМ установлено наличие умеренной по силе положительной связи между отдельными провоспалительными цитокинами (ИЛ1 и ФНОα) (r=0,58; p<0,01) и умеренной по силе отрицательной связи между провоспалительным цитокином ИФНγ и противовоспалительным ИЛ4 (r=-0,47; p<0,05). Реактивация инфекции характеризовалась той же направленностью связей.

При первичном инфекционном мононуклеозе имелась положительная связь между уровнями ИФНγ, ИЛ-1 и ЦИК (r= 0,59; 0,64 соответственно; p<0,05). Отрицательная связь установлена между показателями ЦИК и ИЛ-4 (r= -0,48; p<0,05) .

В разгаре заболевания у детей обеих групп отмечалось повышение титров аутоантител к тканям всех исследуемых органов (p<0,05). Напряженность процессов аутосенсibilизации в большей степени зависела от давности инфицирования (коэффициент корреляции между вариантом инфекции и аутоантителами от 0,27 до 0,65 при p<0,001). При реактивации на высоте клинической симптоматики титры аутоантител к тканям печени, селезенки, кишечника, поджелудочной железы и сердца были достоверно выше, чем при первичном ИМ (уровень значимости критерия Манна-Уитни от 0,0002 до 0,001). В обеих группах наиболее высокие значения определялись к тканям кишечника и печени (рис.4).

При первичной инфекции у основной массы детей (67%) к 6–9 месяцу наблюдения содержание аутоантител не превышало показателей здоровых лиц. В 24% случаев повышенный уровень аутосенсibilизации сохранялся в течение 12–18 месяцев (в основном повышение касалось аутоантител к тканям кишечника и печени). У 9 % пациентов в течение всего последующего периода наблюдений сохранялись признаки аутосенсibilизации на фоне умеренно выраженных симптомов эндогенной интоксикации и активности Эпштейна-Барра вируса (обнаружение его ДНК в крови или слюне). Динамическое наблюдение за детьми с реактивацией инфекции выявило повышение титров аутоантител у основной массы обследуемых (69%) на протяжении всего срока наблюдения. Причем наиболее компрометированными в плане аутосенсibilизации были такие органы, как кишечник, печень, селезенка, сердце и поджелудочная железа, в то время как титры аутоАт к тканям почек, мозга, желудка, тимуса имели незначительные отклонения от показателей здоровых лиц (рис.5, 6).

Анализ зависимости показателей аутоантителобразовании от уровня цитокинов и показателей ЦИК при первичном мононуклеозе показал наличие достоверных положительных связей между титрами аутоантител и провоспалительными цитокинами ИФНγ, ИЛ1 (коэффициенты корреляции от 0,35 до 0,57 при

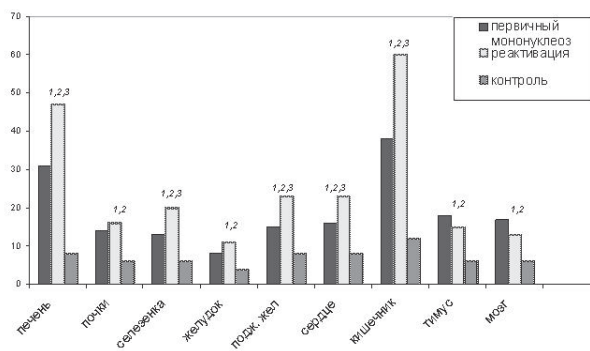


Рис.4. Уровень сенсibilизации к тканям различных органов у больных с разными вариантами ЭБВ-инфекции при поступлении в стационар (преобразованные показатели титров)

- 1 — достоверные отличия показателей группы с первичным мононуклеозом и контрольной (p<0,05);
- 2 — достоверные отличия показателей группы с реактивацией инфекции и контрольной (p<0,05);
- 3 — достоверные отличия показателей группы с первичным мононуклеозом и реактивацией инфекции (p<0,05);

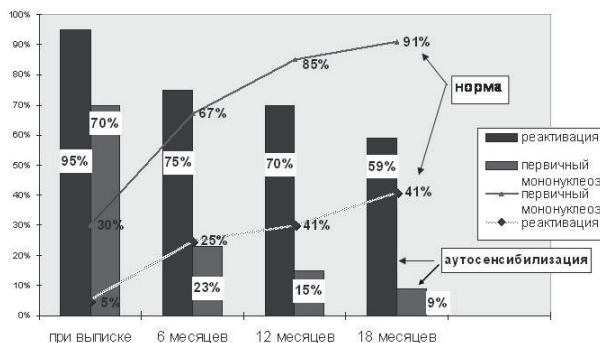


Рис.5. Удельный вес лиц с повышенными и нормальными титрами аутоантител в динамике наблюдения

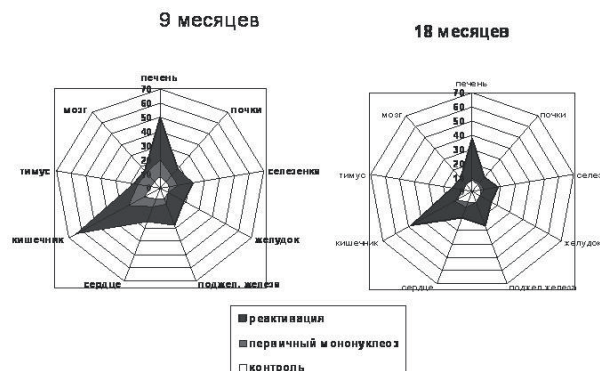


Рис.6. Напряженность аутоиммунных реакций у детей с различными вариантами ЭБВ-инфекции в динамике наблюдения (преобразованные показатели титров)

$p < 0,05$); а также аутоАТ и ЦИК (коэффициенты корреляции от 0,31 до 0,44, при $p < 0,05$).

При реактивации инфекции наиболее тесные положительные связи выявлены между уровнем ФНО α и титрами органоспецифических антител к тканям кишечника, печени, сердца, поджелудочной железы и селезенки ($r = 0,72; 0,69; 0,65; 0,64; 0,62$ соответственно; $p < 0,05$).

С целью уточнения патогенетического значения роста титра органоспецифических антител у больных ЭБВ-инфекцией нами были изучены взаимосвязи между показателями аутоантителообразования и наличием клинико-лабораторных и иных признаков поражения соответствующих органов (по данным ЭКГ, УЗИ).

Так, выраженность аутоиммунных процессов в отношении тканей печени находилась в прямой зависимости от степени цитолиза печеночных клеток ($r = 0,44; 0,62$ соответственно, $p < 0,05$). В обеих группах у всех обследованных больных с повышенной активностью АЛТ были повышены уровни аутоантител к тканям печени в среднем до $64 \pm 5,4$ (обратные титры), в то время как при нормальных показателях АЛТ повышение аутоантител наблюдалось лишь у 70% больных, а средние показатели составили $38 \pm 4,3$. Примечателен тот факт, что наряду с повышением фермента и уровня аутоантител у всех обследуемых данной категории коэффициент Ритиса был менее 1, тогда как у всех других пациентов он находился на значениях превышающих 1. Более значимой оказалась связь относительно выраженности УЗ признаков изменения печени с напряженностью аутоиммунных процессов в отношении данного органа (коэффициенты корреляции от 0,49 до 0,75 при $p < 0,05$).

Положительные умеренные по силе связи ($r = 0,45$; при $p < 0,05$) у больных ЭБВ-инфекцией выявлены между показателями аутоантителообразования и наличием ультразвуковых признаков панкреатита.

Независимо от формы заболевания выраженность аутоантителообразования к тканям сердца в большей степени коррелировала с клиническими признаками поражения сердца нежели с изменениями биохимических показателей ($r = 0,54$ и $r = 0,31$ соответственно; $p < 0,05$). Однако частота выявления энзиматических сдвигов в группе детей с так называемыми «сердечными» симптомами была значительно выше (68% против 24%). Во всех случаях

наиболее тесными были связи при реактивации инфекции.

Выводы:

1. Изменения цитокинового статуса и аутоиммунного профиля у детей с инфекционным мононуклеозом зависят от варианта течения инфекции (первичная, реактивация).

2. Недостаточная активация клеточного иммунитета и смещение баланса в сторону Th2 при реактивации инфекции сопровождается значимым усилением выраженности аутосенсibilизации к тканям различных органов. Наибольшие уровни аутоантител отмечаются к тканям кишечника и печени.

3. Наличие корреляционных связей между титрами противоорганных антител, уровнями цитокинов и ЦИК свидетельствует в пользу координированного течения (иммунных и аутоиммунных реакций) данных реакций в ходе развития инфекционного процесса и их вероятной взаимообусловленности.

4. Выявление взаимосвязи между титрами аутоантител и поражением соответствующих органов свидетельствует в пользу активного участия аутоиммунных процессов в формировании органопатологии при Эпштейна-Барра вирусной инфекции. Степень значимости возрастает с давностью инфицирования.

Библиографический список

1. Данилюк, Н.К. Вирус Эпштейн-Барр и серодиагностика связанных с ним заболеваний / Н.К. Данилюк // *Новости «Вектор-Бест»*. — 2000. — № 4(18). — С. 10–13.
2. *Инфекционные болезни у детей* / Под ред. Д. Марри; Пер. с англ. — М.: Практика, 2006. — 928 с.
3. Катягина, М.Г. Инфекционный мононуклеоз у детей / М.Г. Катягина, А.С. Сельков, А.С. Мартынкин — СПб., 1999 — С. 44.
4. Рослый, И.М. Биохимические показатели в оценке цитолитических механизмов и метаболических процессов на примере инфекционного мононуклеоза / И.М. Рослый, С.В. Абрамов // *Эпидемиология и инфекционные болезни* — 2005. — № 5. — С. 33–41.
5. Харламова, Ф.С. Вирусы семейства герпеса и иммунитет / Ф.С. Харламова // *Детские инфекции*. — 2006. — Т. 5. — № 3. — С. 3–10.
6. Чеснокова, Н.П. О роли недостаточности резистентности и специфических иммунологических механизмов защиты в патогенезе хронического синусита / Н.П. Чеснокова // *Саратовский научно-медицинский журнал*. — 2007. — № 4(18). — С. 40–43.