

**ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ВЕБ-ІНФЕКЦІЮ***СОРОКІНА О. Г.*

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України»,

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Кафедра загальної та клінічної імунології та алергології

**Вступ.** Актуальною проблемою клінічної імунології та інфектології на теперішній час є вірусні захворювання людини, що асоціюються з затяжним перебігом, довічною персистенцією, хронізацією процесу та несприятливими наслідками хвороби. Серед численних факторів, які безпосередньо впливають на імунну систему, особливої уваги заслуговують герпесвірусні інфекції, які на сьогоднішній день характеризуються широким розповсюдженням серед людської популяції [2, 4]. Рівень інфікованості дорослого населення вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ) становить 90–95 % [6, 8]. Здатність ВЕБ до хронічної персистенції в організмі людини після первинного інфікування з реактивацією під дією різних імуносупресивних чинників може зумовити виникнення хронічних форм захворювання [3, 5]. Сучасні публікації свідчать про ключову роль імунної системи в розвитку інфекції, обумовленої ВЕБ. У зв'язку з тропністю даного вірусу до лімфоїдної тканини, захворювання, викликані ВЕБ, пов'язують з імуносупресією, що призводить до транзиторного або стійкого вторинного імунодефіциту [1, 9]. В останні роки спостерігається зростання вперше діагностованих випадків хронічної ВЕБ-інфекції (ХВЕБ-інфекції). Це пов'язано як з імунодепресією, яка зумовлена різноманітними несприятливими факторами, так і впровадженням нових методів лабораторної діагностики ВЕБ-інфекції [5, 7].

Встановлено, що при ВЕБ-інфекції формуються імунні порушення, що стосуються як факторів вродженого, так і адаптивного імунітету. Наявність змін у імунній системі, в свою чергу, призводить до більш важкого перебігу, збільшення частоти ускладнень. Чисельні дослідження демонструють імунодепресивний потенціал ВЕБ та патогенетичні механізми, що сприяють формуванню імунної недостатності [1]. Таким чином, вивчення характеру імунних порушень є актуальним питанням сучасної імунології та інфектології.

**Метою** даної роботи було вивчити стан імунної системи та характер імунних порушень у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію.

**Матеріали та методи.** Виконано обстеження 128 хворих на ХВЕБ-інфекцію (період реакти-

вації). Групу контролю склали 30 практично здорових людей. Проведено дослідження вмісту основних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів у периферичній крові, показників, що характеризують стан гуморального імунітету, а також показників фагоцитарної активності лейкоцитів крові.

Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи (НДР) «Вивчення феномену мікоплазмено-герпесвірусної асоціації при інфекційній патології дихальних шляхів» (№ держреєстрації 0114U000243) ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» та є фрагментом НДР кафедри загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликані герпесвірусами», № держреєстрації 0112U005911.

Імунофенотипування популяцій і субпопуляцій лімфоцитів визначали за допомогою проточної лазерної цитометрії у периферичній крові на апараті FACS-Calibur (США) з використанням моноклональних антитіл. Для дослідження вмісту Іg класів А, М, G в крові застосовували метод простої радіальної імунодифузії в гелі (за методом Манчіні). Для визначення розбіжності між середніми значеннями використовували параметричний t- критерій Ст'юдента. Статистична обробка результатів дослідження проводилася з використанням пакету статистичних програм «Statistica 6.0».

**Результати.** Аналіз результатів дослідження вмісту відносних показників основних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів дозволив встановити гетерогенність їх вмісту у хворих на ХВЕБ-інфекцію (табл. 1). Так, рівень CD3+ - клітин виявився достовірно нижчим порівняно з показниками контрольної групи та складав  $48,61 \pm 1,5\%$  проти  $63,40 \pm 1,7\%$  ( $p < 0,05$ ); рівень CD4+ - клітин також був меншим за показники контрольної групи пацієнтів і складав  $30,82 \pm 2,5\%$  проти  $41,1 \pm 1,1\%$  ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що рівні CD8+ - клітин, CD16+ - клітин та CD22+ - клітин мали тенденцію до підвищення, але не від-

різнялися статистичною достовірністю від показників контролю та становили – 25,72±1,8% проти 22,3±1,3% (p>0,05), 11,77±1,2% проти 13,1±0,7% (p>0,05) та 10,60±1,8% проти 9,1±0,6% (p>0,05) відповідно. Співвідношення CD3+/CD22+- клітин у хворих на ХВЕБ-інфекцію також не відрізнялось статистично від контроль-

них значень, але мало тенденцію до зменшення та складало – 4,59±0,71 проти 6,9±0,6 (p>0,05). При дослідженні відносного вмісту HLA-DR+ - клітин у хворих на ХВЕБ не було виявлено достовірно значущих відмінностей порівняно з показниками контролю – 13,20±1,4% проти 11,6±0,6 (p>0,05).

Таблиця 1

**Популяційний та субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові хворих на ХВЕБ-інфекцію (M±m)**

Показник	ХВЕБ (n=128)	Контроль (n=30)
CD3+-кл, %	48,61±1,51	63,4±1,7
CD4+ -кл, %	30,82±2,51	41,1±1,1
CD8+-кл, %	25,72±1,8	22,3±1,3
CD16+-кл, %	11,77±1,2	13,1±0,7
CD22+-кл, %	10,60±1,8	9,1±0,6
CD3+/CD22+-кл.	4,59±0,711	6,9±0,6
HLA-DR+ кл, %	13,20±1,4	11,6±0,6
РБТЛ на ФГА, %	44,81±4,51	64,3±4,2
РБТЛ сп., %	11,84±2,11	7,3±0,5
РБТЛ на ІЛ-2, %	22,63±2,91	31,9±2,7

Примітка: <sup>1</sup> – достовірна різниця з показниками контрольної групи (p<0,05).

При аналізі результатів дослідження рівнів РБТЛ на ФГА та РБТЛ на ІЛ-2 у хворих на ХВЕБ-інфекцію ці показники відзначалися достовірними змінами в бік зменшення відносно показників контрольної групи та були знижені у 1,43 та 1,41 рази відповідно та склали 44,81±4,5% проти 64,3±4,2% (p<0,05) та 22,63±2,9% проти 31,9±2,7% (p<0,05); тоді як рівень спонтанної РБТЛ був статистично вище за показники групи контролю у 1,62 рази та складав 11,84±2,1% проти 7,3±0,5% (p<0,05).

Таким чином, аналіз отриманих даних щодо вивчення субпопуляційного складу основних

імунокомпетентних клітин дозволив встановити достовірне підвищення рівня спонтанної РБТЛ, тоді як рівні CD3<sup>+</sup> - клітин, CD4<sup>+</sup> - клітин, РБТЛ на ФГА та РБТЛ на ІЛ-2 були достовірно меншими за показники контрольних значень, що свідчило про пригнічення імунної системи на фоні хронічного інфекційного процесу.

Дослідження гуморальної ланки імунітету у хворих на ХВЕБ-інфекцію дозволило встановити статистично достовірні відмінності вмісту ІgG відносно контрольної групи, який був збільшений у 1,42 рази та складав 17,90±1,16 г/л проти 12,6±1,14 г/л (p<0,05) (табл. 2).

Таблиця 2

**Рівень Іg та ЦІК у периферичній крові хворих на ХВЕБ-інфекцію (M±m)**

Показники	Хворі на ХВЕБ (n=128)	Контрольна група (n=30)
ІgA, г/л	1,8±0,18	1,9±0,16
ІgM, г/л	1,7±0,19	1,8±0,18
ІgG, г/л	17,9±1,16 <sup>1</sup>	12,6±1,14
ЦІК, г/л	1,79±0,11 <sup>1</sup>	1,28±0,08

Примітка: <sup>1</sup> – достовірна різниця з показниками контрольної групи (p<0,05).

Також у хворих на ХВЕБ-інфекцію відзначалось достовірне збільшення ЦІК, рівень яких був у 1,40 рази вищим, ніж у групі контролю та становив 1,79±0,11 г/л проти 1,28±0,08 г/л (p<0,05). При дослідженні рівня ІgA не було виявлено ста-

тистично достовірних відмінностей у порівнянні із групою контролю. Цей показник знаходився на рівні 1,8±0,18 проти 1,9±0,16 г/л (p>0,05). Також не було виявлено статистично достовірних відмінностей при дослідженні рівня ІgM у порів-

нянні із групою контролю. Цей показник становив  $1,79 \pm 0,11$  проти  $1,8 \pm 0,18$  г/л ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, аналіз результатів дослідження гуморальних показників у хворих на ХВЕБ-інфекцію, дозволив встановити достовірне підвищення ЦІК та ІgG у порівнянні із групою контролю, що підтверджувало наявність хронічного запального процесу у даній категорії хворих.

При дослідженні фагоцитарної активності лейкоцитів периферичної крові хворих на ХВЕБ-інфекцію було виявлено достовірне зниження показників (табл. 3). Так, рівень ФЧ був у 1,42 рази нижче показників контрольної групи та становив  $45,55 \pm 2,4$  проти  $64,9 \pm 2,36$  ( $p < 0,05$ ), а рівень ФІ був у 1,33 рази нижче показників контрольної групи та становив  $4,28 \pm 0,3$  проти  $5,7 \pm 0,5$  ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3

**Фагоцитарна активність лейкоцитів периферичної крові хворих на ХВЕБ-інфекцію (M±m)**

Показники	Хворі на ХВЕБ (n=128)	Контрольна група (n=30)
Фагоцитарне число (ФЧ), %	$45,55 \pm 2,41$	$64,9 \pm 2,36$
Фагоцитарний індекс (ФІ)	$4,28 \pm 0,31$	$5,7 \pm 0,5$

Примітка: <sup>1</sup> – достовірна різниця з показниками контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

**Обговорення та висновки.** Резюмуючи вищезазначене, можна зробити висновок, що хронічна ВЕБ-інфекція перебігає на тлі порушень у Т-ланці імунітету, зниження вмісту у периферичній крові CD3+ та CD4+ - клітин, пригнічення їх бласттрансформуючої здатності (на ФГА та ІЛ-2), порушення балансу між Т- та В- клітинами крові, підвищення рівня ЦІК.

Резюмуючи отримані дані, можливо прийти до висновку, що у хворих на ХВЕБ-інфекцію спостерігаються зміни як у клітинній, гуморальній, так і фагоцитарній ланках імунітету. Характер виявлених змін імунних показників свідчить про формування вторинного клітинного імунного дисбалансу, пригнічення імунореактивності хворих на ХВЕБ-інфекцію.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Барычева Л.Ю., Голубева М.В., Волкова А.В. Факторы и механизмы иммуносупрессии при Эпштейна-Барр вирусной инфекции. *Детские инфекции*. 2014. №2. С. 28–33.
2. Боднар В. А. Удосконалення діагностики хронічних форм інфекції, зумовленої вірусом Епштейна-Барр. *Проблеми екології та медицини*. 2013. Т. 17. № 5-6. С. 9–15.
3. Глей А. І. Хронічні форми Епштейна-Барр вірусної інфекції. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2009. № 2. С. 69–71.
4. Клініко-лабораторні особливості перебігу інфекційного мононуклеозу у дорослих / П. П. Кіш, Г. М. Коваль, В. О. Петров, Є. І. Русин [та ін.]. *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина»*. 2013. Вип. 2 (47). С. 139–144.

5. Клінічні форми хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції: питання сучасної діагностики та лікування / А. К. Дуда Р. О. Колесник, Н. В. Окружнов, В. А. Бойко. *Актуальна інфектологія*. 2015. № 1 (6). С. 15–20.
6. Крамарев С. О., Виговська О. В. Епштейна-Барр вірусна інфекція у дітей. *Актуальна інфектологія*. 2013. № 1. С. 73–78.
7. Покровська Т. В. Стан імунітету при хронічній Епштейна-Барр вірусній інфекції. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2013. №4. С. 47–51.

Dunmire S. K., Hogquist K. A., Balfour H. H. Infectious Mononucleosis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2015. № 390 (1). P. 211–240.

Okano M. Features of Chronic Active Epstein-Barr virus Infection and Related Human Diseases. *The Open Hematology Journal*. 2011. № 5. P.1–3.

**РЕЗЮМЕ**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ВЕБ-ІНФЕКЦІЮ**

Сорокіна О.Г.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України»,  
Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна,  
Кафедра загальної та клінічної імунології та алергології

**Вступ.** Актуальною проблемою клінічної імунології та інфектології є вірусні інфекції. Встановлено, що при ВЕБ-інфекції формуються імунні порушення, що стосуються як факторів вродженого, так і адаптивного імунітету. Наявність змін у імунній системі, в свою чергу, призводить до більш важкого перебігу захворювання, збільшення частоти ускладнень.

**Мета роботи** – вивчити стан імунної системи та характер імунних порушень у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію.

**Матеріали і методи дослідження.** Обстежено 128 хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію. Імунофенотипування субпопуляцій лімфоцитів визначали за допомогою проточної лазерної цитометрії на апараті FACS-Calibur (США) з використанням моноклональних антитіл.

**Результати.** Аналіз отриманих даних щодо вивчення субпопуляційного складу основних імунокомпетентних клітин дозволив встановити достовірне підвищення рівня спонтанної РБТЛ, тоді як рівні CD3+ - клітин, CD4+ - клітин, РБТЛ на ФГА та РБТЛ на ІЛ-2 були достовірно меншими за показники контрольних значень, що свідчило про пригнічення імунної системи на фоні хронічного інфекційного процесу. Аналіз результатів дослідження гуморальних показників у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію, дозволив встановити достовірне підвищення ЦІК та ІgG у порівнянні із групою контролю, що підтверджувало наявність хронічного запального процесу у даній категорії хворих. При дослідженні фагоцитарної активності лейкоцитів периферичної крові хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію було виявлено достовірне зниження показників.

Таким чином, виявлено, що хронічна ВЕБ-інфекція перебігає на тлі порушень у Т-ланці імунітету, зниження вмісту у периферичній крові CD3+ - та CD4+ - клітин, пригнічення їх бласттрансформуючої здатності (на ФГА та ІЛ-2), порушення балансу між Т- та В- клітинами крові, підвищення рівня ЦІК.

**Висновок.** Резюмуючи отримані дані, можливо прийти до висновку, що у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію спостерігаються зміни як у клітинній, гуморальній, так і фагоцитарній ланках імунітету. Характер виявлених змін імунних показників свідчить про формування вторинного клітинного імунного дисбалансу, пригнічення імунореактивності хворих на ХВЕБ-інфекцію.

**Ключові слова:** вірус Епштейна–Барр, хронічна ВЕБ-інфекція, популяційний та субпопуляційний склад лімфоцитів, гуморальна ланка імунітету, фагоцитарна ланка імунітету, імуноглобуліни, фагоцитарне число, фагоцитарний індекс, ЦІК.

## РЕЗЮМЕ

### ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА И ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕБ-ИНФЕКЦИЕЙ

Сорокина О.Г.

ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины», Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Кафедра общей и клинической иммунологии и алергологии

**Вступление.** Актуальной проблемой клинической иммунологии и инфектологии являются вирусные инфекции. Установлено, что при ВЭБ-инфекции формируются иммунные нарушения, касающиеся как факторов врожденного, так и адаптивного иммунитета. Наличие изменений в иммунной системе, в свою очередь, приводит к более тяжелому течению заболевания, увеличению частоты осложнений.

**Цель работы** – изучить состояние иммунной системы и характер иммунных нарушений у больных хронической ВЭБ-инфекцией.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 128 больных хронической ВЭБ-инфекцией. Имунофенотипування субпопуляцій лимфоцитів определяли с помощью проточной лазерной цитометрии на аппарате FACS-Calibur (США) с использованием моноклональных антител.

**Результаты.** Анализ данных, полученных при изучении субпопуляционного состава основных иммунокомпетентных клеток, позволил установить достоверное повышение уровня спонтанной РБТЛ, тогда как уровни CD3+ - клеток, CD4+ - клеток, РБТЛ на ФГА и РБТЛ на ІЛ-2 были достоверно меньше показателей контрольных значений, что свидетельствовало об угнетении иммунной системы на фоне хронического инфекционного процесса. Анализ результатов исследования гуморальных показателей у больных хронической ВЭБ-инфекцией, позволил установить достоверное повышение ЦІК и ІgG по сравнению с группой контроля, что подтверждало наличие хронического воспалительного процесса у данной категории больных. При исследовании фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови больных хронической ВЕБ-инфекцией было выявлено достоверное снижение показателей.

Таким образом, выявлено, что хроническая ВЭБ-инфекция протекает на фоне нарушений в Т-звене иммунитета, снижении содержания в периферической крови CD3+ - та CD4+ - клеток, угнетения их бласттрансформующей способности (на ФГА и ІЛ-2), нарушения баланса между Т- и В-клетками крови, повышения уровня ЦІК.

**Заключение.** Резюмируя полученные данные, можно прийти к выводу, что у больных хронической ВЕБ-инфекцией наблюдаются изменения как в клеточном, гуморальном, так и фагоцитарном звеньях иммунитета. Характер выявленных изменений иммунных показателей свидетельствует о формировании вторичного клеточного иммунного дисбаланса, угнетении иммунореактивности больных хронической ВЕБ-инфекцией.

**Ключевые слова:** вирус Эпштейна-Барр, хроническая ВЭБ-инфекция, популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов, гуморальное звено иммунитета, фагоцитарное звено иммунитета, иммуноглобулины, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, ЦІК.

## SUMMARY

### STUDY OF IMMUNE STATUS AND CHARACTERISTICS OF IMMUNE DISORDERS IN PATIENTS WITH CHRONIC EBV INFECTION

Sorokina O.G.

Mechnikov Institute of microbiology and immunology, V.N. Karazin Kharkov National University, Department of general and clinical immunology and allergology

**Introduction.** The actual problem of clinical immunology and infectiology are viral infections. It has been established that in patients with EBV infection immune

disorders are formed, concerning both factors of innate and adaptive immunity. The presence of changes in the immune system, in turn, leads to a more severe course of the disease, an increase in the frequency of complications.

**The purpose of this work** was to study the state of the immune system and the nature of immune disorders in patients with chronic EBV infection.

**Materials and methods.** A complex study was performed involving 128 patients with chronic EBV infection. Immunophenotyping lymphocyte subpopulations were determined using flow laser cytometry on a FACS-Calibur apparatus (USA) using monoclonal antibodies.

**Results.** Analysis of the data obtained in the study of the subpopulation composition of the main immunocompetent cells allowed us to establish a significant increase in the level of spontaneous RBTL, whereas levels CD3<sup>+</sup> - cells, CD4<sup>+</sup> - cells, RBTL with the PHA and IL-2 were significantly less than the control values, indicating that the immune system was depressed against the background of a chronic infection process. Analysis of the results of the study of humoral indices in patients with chronic EBV infection, allowed to establish a significant increase in the CIC and

IgG compared with the control group, which confirmed the presence of a chronic inflammatory process in this category of patients. In the study of the phagocytic activity of peripheral blood leukocytes in patients with chronic EBV infection, a significant decrease in indicators was found.

So, it was revealed that chronic EBV infection occurs on the background of violations in the T-level of immunity, a decrease in peripheral blood CD3<sup>+</sup>- and CD4<sup>+</sup> - cells, inhibition of their blasttransformation capacity (with the PHA and IL-2), imbalance between T and B blood cells, increasing the level of the CIC.

**Conclusion.** Summarizing the data obtained, it can be concluded that in patients with chronic EBV infection, changes are observed both in the cellular, humoral and phagocytic immunity. The characteristic of the revealed changes in immune parameters indicates the formation of a secondary cellular immune imbalance, suppression of immunoreactivity in patients with chronic EBV infection.

**Key words:** Epstein-Barr virus, chronic EBV infection, population and subpopulation composition of lymphocytes, humoral immunity, phagocytic immunity, immunoglobulins, phagocytic number, phagocytic index, CIC.