

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ ВНУТРИВЕННЫМ ИММУНОГЛОБУЛИНОМ НА ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ИММУНИТЕТ И ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ДЕТЕЙ, ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ С СИНДРОМОМ ЛИМФАДЕНОПАТИИ

Проф. Н. Н. Попов, А. Н. Савво, Е. Г. Колиушко*

**Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина,
*Областная детская клиническая больница № 1, Харьков**

Изучена эффективность применения внутривенного иммуноглобулина (ВВИГ) в лечении детей, часто болеющих острыми респираторными вирусными инфекциями с синдромом лимфаденопатии (ЛАП). Полученные данные указывают на то, что применение ВВИГ позволяет сократить сроки лечения, в три раза уменьшает заболеваемость ОРВИ в течение года, предупреждает развитие бактериальных осложнений, ликвидирует ЛАП. У детей, получавших ВВИГ, наблюдается динамичное повышение местного и системного иммунитета, активизируется антивирусный иммунитет, нормализуется функциональная активность лимфоцитов и фагоцитарных клеток. Под воздействием ВВИГ уровни спонтанной и ИЛ-2-индуцированной пролиферативной активности лимфоцитов, а также спонтанной продукции ИЛ-2 и ИЛ-10 у больных снижаются до нормальных значений. Предложенная терапия позволяет в короткие сроки нормализовать иммунные процессы, с которыми ассоциируется развитие ЛАП.

ВПЛИВ ТЕРАПІЇ ВНУТРІШНЬОВЕННИМ ІМУНОГЛОБУЛІНОМ НА ПРОТИВІРУСНИЙ ІМУНІТЕТ І ЦИТОКІНОВИЙ СТАТУС ДІТЕЙ, ЯКІ ЧАСТО ХВОРІЮТЬ НА ГОСТРІ РЕСПИРАТОРНІ ВІРУСНІ ІНФЕКЦІЇ ІЗ СИНДРОМОМ ЛІМФАДЕНОПАТІЇ

Проф. М. М. Попов, О. М. Савво, Е. Г. Коліушко*

Вивчено ефективність застосування внутрішньовенного імуноглобуліну (ВВИГ) в лікуванні дітей, які часто хворіють на гострі респіраторні вірусні інфекції з синдромом лімфаденопатії (ЛАП). Отримані дані вказують на те, що застосування ВВИГ дозволяє скоротити терміни лікування, утричі зменшує захворюваність ОРВІ протягом року, попереджає розвиток бактеріальних ускладнень, ліквідує ЛАП. У дітей, які одержували ВВИГ, спостерігається динамічне підвищення місцевого та системного імунітету, активізується антивірусний імунітет, нормалізується функціональна активність лімфоцитів і фагоцитарних клітин. Під впливом ВВИГ рівні спонтанної та ІЛ-2-індукованої проліферативної активності лімфоцитів, а також спонтанної продукції ІЛ-2 та ІЛ-10 у хворих знижуються до нормальних значень. Запропонована терапія дозволяє в короткий термін нормалізувати імунні процеси, з якими асоціюється розвиток ЛАП.

THERAPY INFLUENCE INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN ON ANTIVIRAL IMMUNITIES AND CYTOKINES THE STATUS OF OFTEN ILL CHILDREN SHARP RESPIRATORY VIRUS INFECTIONS WITH A SYNDROME LYMPHADENOPATHY

N. N. Popov, A. N. Savvo, E. G. Koliushko*

The purpose of the present research was studying of efficiency of application of an intravenous antibody in treatment of often ill children strum respiratory virus infections with a syndrome lymphadenopathy (PAWS). The obtained data specifies that application VVIG allows about treatment terms, in 3 times reduces disease SRVI within a year, warns development of bacterial complications, liquidates PAWS. At children receiving VVIG, dynamical increase of local and system immunity, activization of anti-virus immunity, normalization of functional the activity of lymphocytes and phagocytes cages is observed. Under the influence of VVIG spontaneous and IL-2-индуцированной proliferative activity of lymphocytes, and also spontaneous production IL-2 and IL-10 at patients decrease to normal values. The offered therapy allows to normalize in short terms immune processes with which development of PAWS associates.

В последние годы наблюдается рост частых острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) с синдромом лимфаденопатии (ЛАП). Заболевание у детей с ЛАП протекает тяжело и длительно, характеризуются устойчивостью к традиционной терапии. У этой категории детей чаще, чем у эпизодически болеющих детей (ЭБД), наблюдаются различного рода аллергические реакции и развитие аутоиммунных процессов. Они склонны к сосудистым дистониям, заболеваниям желудочно-кишечного тракта. Дети с ЛАП очень остро реагируют на различные неблагоприятные факторы окружающей среды, что в свою очередь негативно сказывается на развитии и течение различного рода заболеваний и способствует раннему развитию хронической патологии. Высокая заболеваемость детей ОРВИ часто сопровождается развитием осложнений [1]. Проведенные нами ранее исследования показали, что у часто болеющих детей (ЧБД) с ЛАП отмечаются серьезные нарушения в клеточном и фагоцитарном звеньях иммунитета, цитокиновом статусе, интерфероногенезе [3].

Классическая терапия детей с ОРВИ заключается в применении антипиретиков, противовоспалительных, спазмолитических, разжижающих слизь и мокроту препаратов. Этиотропная терапия ОРВИ, как показывает практика, является малоэффективной. В детской лечебной практике в лечении ОРВИ наиболее часто используют противовирусные средства (арбидол, ремантадин), препараты интерферонов (гриппферон, виферон) и индукторы интерферонов (циклоферон), а также препараты, повышающие клеточный иммунитет — иммунорикс, иммунофан, гропринозин.

Имеющиеся литературные данные и наш опыт показывают, что указанные выше иммуномодуляторы в ряде случаев сокращают сроки выздоровления, предотвращают развитие тяжелых осложнений [1, 4]. В то же время существующая терапия является малоэффективной в борьбе с генерализованной ЛАП, развивающейся у ЧБД ОРВИ.

Имуноглобулин для внутривенного введения (ВВИГ) имеет поливалентную природу и содержит более 10 млн антител различной специфичности. Он способен компенсировать дефицит организма в специфических иммуноглобулинах, а также стимулировать его общую иммунореактивность.

Цель исследования — изучение эффективности применения нормального человеческого иммуноглобулина для внутривенного введения (ВВИГ) в восстановлении основных факторов противовирусной защиты организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Влияние ВВИГ на противовирусный иммунитет было изучено на примере 40-ка детей, часто болеющих ОРВИ (6–8 раз в год), сопровождающихся ЛАП, традиционная терапия у которых была малоэффективна (1-я группа). ВВИГ назначали из расчета 0,1 г/кг массы тела в сутки курсом 5 дней. Группу сравнения (2-я группа) составили 40 ЧБД

ОРВИ с ЛАП, лечение которых проводилось по общепринятой схеме (противовирусные препараты, препараты и индукторы интерферонов, противовоспалительные и общеукрепляющие средства, муколитики).

Контрольную группу составили 30 детей, относящиеся к ЭБД. Эти данные принимали за норму. Возраст детей во всех группах составлял 9–16 лет.

Иммунологические исследования проводились на 10-е сутки от начала лечения и после полного выздоровления (30-е сутки и 6-й месяц).

Были изучены содержание в крови $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD8^+CD11b^-$, $CD8^+CD11b^+$, $CD16^+$ -клеток, фагоцитарная активность лейкоцитов, уровень ИНФ α и ИНФ γ в сыворотке крови, а также концентрация основных провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Фенотипически популяции лимфоцитов оценивали с помощью проточной лазерной цитометрии (FACSC Calibur, США) с использованием соответствующих моноклональных антител (МАТ) [5].

Фагоцитарную активность лейкоцитов крови оценивали по способности клеток поглощать *S.aureus* (штамм 209) [2]. Определяли фагоцитарный индекс (ФИ — число фагоцитировавших клеток) и фагоцитарное число (ФЧ — число бактерий, поглощенных одной клеткой). Эффективность внутриклеточного киллинга (биоцидность лейкоцитов) оценивали по методу S.Nielsen [6]. Число поглощенных, но живых бактерий определяли после высевы лизата клеток по методу Гольда на чашки Петри с мясопептонным агаром. Лизис лейкоцитов проводили путем добавления трехкратного объема воды.

Цитокины ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО α , ИФН α , ИФН γ в сыворотке крови детей определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (пос. Кольцово, Новосибирская область, Россия), ООО «Альвекс» (Харьков).

Идентификацию этиологических факторов острых респираторных заболеваний проводили методом иммунофлюоресценции (согласно инструкции). В качестве материала для исследований использовали препараты, содержащие клетки цилиндрического эпителия слизистой оболочки глубоких отделов носовой полости больных, в качестве диагностикума — иммуноглобулины диагностические флюоресцирующие для быстрой диагностики гриппа и других ОРВИ (ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов», г. Санкт-Петербург, Россия).

Полученные данные подвергали статистической обработке. Для этой цели использовали пакет прикладных программ Statgraphics. Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Данные приведены в виде среднего арифметического значения M и среднего квадратического отклонения m .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Лабораторные исследования показали, что этиологическими факторами развития острых респираторных заболеваний у ЧДБ выступают вирусы гриппа, парагриппа, аденовирус, РС-вирус. В 83,8% случаев заболевание вызвано моновирусной инфекцией, у 16,2% — микст-инфекцией.

Следует отметить, что в структуре заболеваемости ЧДБ высокий процент занимают ОРВИ смешанной этиологии, а также заболевания, вызванные РС-вирусом. У ЭБД основной причиной ОРВИ является вирус гриппа (80,7%).

Детальный анализ заболеваемости детей показал, что в течение года ЧДБ переносили ОРВИ, вызванные различными возбудителями (табл. 1).

Таблица 1

Этиологические факторы ОРВИ у ЧДБ и ЭБД

Возбудитель	Группы детей	
	ЧДБ	ЭБД
	ОРВИ, %	ОРВИ, %
Вирус гриппа	45,7	80,7
Вирус парагриппа	10,8	7,0
Аденовирус	18,0	10,5
РС-вирус	9,0	—
ОРВИ смешанной этиологии	16,2	1,7

Примечания: в группе ЧДБ обследовано 32 ребенка, в течение года каждый ребенок был обследован 4–6 раз, выполнено 166 исследований; в группе ЭБД обследовано 30 детей, в течение года каждый ребенок был обследован 1–3 раза, выполнено всего 57 исследований.

Изменения в структуре этиологических факторов, вызывающих ОРВИ у ЧДБ, по-видимому, связаны со снижением общей иммунореактивности организма, что создает благоприятные условия для персистенции одновременно нескольких вирусных агентов, а также повышает риск заболеваемости менее вирулентными вирусами.

Следует отметить, что в 59% случаев заболеваний ОРВИ у ЧДБ наблюдалось присоединение бактериальной инфекции и развитие бактериальных ангин, синуситов, бронхитов, пневмоний. У ЭБД развитие осложнений наблюдалось в 11% случаев. Включение в комплексное лечение ЧДБ ВВИГ сокращало сроки выздоровления в два раза по сравнению с ЧДБ, у которых ВВИГ не использовался. У всех больных, получавших ВВИГ, наблюдалась динамическая регрессия увеличенных лимфоузлов до нормальных размеров. К 12–17-м суткам их размеры полностью нормализовались. У детей, не получавших ВВИГ, в 77% случаев увеличение лимфоузлов сохранялось более 40-а дней, и новые эпизоды заболевания развивались на фоне имеющейся ЛАП.

Иммунологические исследования показали, что под влиянием терапии ВВИГ на 10-е сутки после начала лечения в периферической крови достоверно повышалось относительное содержание Т-общих лимфоцитов (CD3⁺-клеток) и Т-хелперов (CD4⁺-клеток), происходил рост доли Т-клеток с цитотоксическими свойствами (CD8⁺CD11b⁻) и снижение содержания Т-клеток с супрессорными свойствами (CD8⁺CD11b⁺) (табл. 2).

На 30-е сутки от начала лечения Т-клеточный состав лимфоцитов крови полностью восстанов-

Таблица 2

Содержание Т-лимфоцитов в периферической крови ЧДБ с ЛАП до и после терапии

Показатели	№ группы	До лечения	После начала лечения			Контрольная группа
			10-е сутки	30-е сутки	6 месяцев	
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1	3,23 ± 0,33***	2,52 ± 0,28*	2,29 ± 0,24*	2,28 ± 0,22*	2,28 ± 0,21
	2	3,23 ± 0,33***	2,58 ± 0,29*	2,30 ± 0,25*	2,24 ± 0,23*	
CD3+-клетки, %	1	52,3 ± 3,1***	58,9 ± 3,1*	64,6 ± 2,0*	64,5 ± 2,0*	64,8 ± 2,0
	2	52,3 ± 3,1***	54,1 ± 3,6***	61,2 ± 3,1*	59,8 ± 3,1***	
CD4+-клетки, %	1	30,1 ± 2,7***	35,6 ± 2,3*	37,6 ± 1,7*	37,5 ± 1,6*	37,5 ± 1,6
	2	30,1 ± 2,7***	31,8 ± 2,7***	35,0 ± 2,8	33,6 ± 2,6	
CD8+-клетки, %	1	22,6 ± 1,3	23,1 ± 1,4	23,4 ± 1,4	20,8 ± 1,2	20,3 ± 1,2
	2	22,6 ± 1,3	22,8 ± 1,4	22,8 ± 1,4	21,4 ± 1,2	
CD16+-клетки, %	1	14,2 ± 0,8	14,8 ± 0,9***	14,9 ± 0,9***	12,8 ± 0,8	12,8 ± 0,8
	2	14,2 ± 0,8	14,3 ± 0,8	14,3 ± 0,8	12,9 ± 0,8	
CD8+CD11b ⁻ -клетки, %	1	8,3 ± 0,4	10,6 ± 0,4*.*.*.*.*	13,3 ± 0,7*.*.*	12,9 ± 0,6*.*.*	12,9 ± 0,6
	2	8,3 ± 0,4	8,9 ± 0,5***	10,9 ± 0,6*.*.*.*	10,4 ± 0,6*.*.*.*	
CD8+CD11b ⁺ -клетки, %	1	13,0 ± 0,7	10,1 ± 0,6*.*.*.*.*	7,0 ± 0,4*.*.*	6,4 ± 0,3*.*.*	6,4 ± 0,3
	2	13,0 ± 0,7	12,3 ± 0,7	9,2 ± 0,6*.*.*.*	7,2 ± 0,4*.*.*.*	

Примечания: *p* < 0,05 — между показателями до и после лечения;

** *p* < 0,05 — между показателями детей 1-й и 2-й групп;

*** *p* < 0,05 — между показателями детей 1-й, 2-й и контрольной групп.

ливался до нормы и 6 месяцев спустя оставался таким же.

У детей 2-й группы на 10-е сутки от начала терапии достоверных изменений в популяционном составе Т-лимфоцитов не наблюдалось. Только на 30-е сутки у этих детей отмечалось повышение относительного содержания CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺CD11b⁻-клеток и снижение доли супрессорных клеток (CD8⁺CD11b⁺). Однако в этот срок и через

6 месяцев от начала терапии у детей 2-й группы регистрировались достоверные различия в содержании крови CD3⁺-клеток, CD8⁺CD11b⁻-клеток, CD8⁺CD11b⁺-клеток по сравнению с детьми контрольной группы.

У детей 1-й группы под влиянием проведенной терапии происходило также динамичное повышение фагоцитарной и биоцидной активности клеток (табл. 3).

Таблица 3

**Фагоцитарная и биоцидная активность лейкоцитов периферической крови
ЧБД с ЛАП до и после терапии**

Показатели	№ группы	До лечения	После начала лечения			Контрольная группа
			10-е сутки	30-е сутки	6 месяцев	
ФИ, %	1	43,1 ± 2,11***	58,6 ± 2,40*.,***,***	68,4 ± 2,42*.,**	68,0 ± 2,42*.,**	68,2 ± 2,41
	2	43,1 ± 2,11***	50,7 ± 2,39*.,***	61,1 ± 2,41*.,***	58,1 ± 2,38*.,***	
ФЧ	1	5,0 ± 0,32***	6,0 ± 0,30*	6,5 ± 0,28*.,**	6,5 ± 0,28*.,**	6,5 ± 0,28
	2	5,0 ± 0,32***	5,4 ± 0,30***	5,9 ± 0,30*.,***	5,8 ± 0,30***	
Биоцидность (% бактерий, выживших после фагоцитоза)	1	16,3 ± 1,60***	7,3 ± 0,79*.,***,***	4,8 ± 0,61*	4,8 ± 0,61*.,**	4,8 ± 0,61
	2	16,3 ± 1,60***	10,9 ± 1,13*.,***	5,9 ± 0,68*.,***	6,2 ± 0,62*.,***	

Примечания: * $p < 0,05$ — между показателями до и после лечения;

** $p < 0,05$ — между показателями детей 1-й и 2-й групп;

*** $p < 0,05$ — между показателями детей 1-й, 2-й и контрольной групп.

На 10-е сутки от начала терапии фагоцитарный индекс лейкоцитов (ФИ) увеличивался в 1,35 раза, фагоцитарное число (ФЧ) — в 1,20 раза, биоцидность — в 2,23 раза. На 30-е сутки от начала лечения эти показатели активности фагоцитарных клеток соответствовали значениям контрольной группы детей и сохранялись такими до конца наблюдения. У детей 2-й группы, которые не получали ВВИГ, нормализация этих показателей происходила значительно медленнее: на 10-е сутки ФИ возрастал в 1,17 раза, ФЧ — в 1,08 раза, биоцидность — в 1,49 раза. На 30-е сутки и через 6 месяцев ни один из этих показателей не достигал значений нормы и достоверно отличался от показателей детей 1-й группы.

Следует отметить, что восстановление функциональной активности фагоцитарных клеток является важным фактором повышения как противовирусного, так и антибактериального иммунитета. Фагоцитарные клетки являются продуцентами интерферонов, а также основными клеточными факторами борьбы с внеклеточными и внутриклеточными бактериями. Повышение активности фагоцитарных клеток у лиц с вирусными инфекциями играет важную роль в предупреждении развития бактериальных осложнений.

У детей 1-й группы, в отличие от детей 2-й группы, под влиянием проведенного лечения на 10-е сутки от его начала наблюдалось достоверное повышение содержания в сыворотке крови ИФН α , ИФН γ по сравнению с их содержанием до лечения (табл. 4).

Через 1 и 6 месяцев уровень ИФН α , ИФН γ у детей 1-й группы соответствовал значениям детей контрольной группы, у детей 2-й группы был несколько ниже. У детей 1-й группы на 10-е сутки от начала лечения происходила нормализация содержания в сыворотке крови провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α , а через 30 суток — противовоспалительного цитокина ИЛ-10 (табл. 4). Через 1 и 6 месяцев их уровни соответствовали значениям нормы. У детей 2-й группы в эти сроки содержание изученных интерлейкинов достоверно превышало нормальные показатели.

ВЫВОДЫ

ВВИГ оказывает нормализующее влияние на цитокиновый статус пациентов, что служит созданию благоприятного фона для развития полноценных иммунных реакций на вирусную и бактериальную инфекции. Повышение противовирусного иммунитета у 1-й группы детей приводило к снижению:

Таблиця 4

Содержание цитокинов в сыворотке крови ЧБД с ЛАП до и после терапии

Показатели	№ группы	До лечения	После начала лечения			Контрольная группа
			10-е сутки	30-е сутки	6 месяцев	
ИНФ α , пг/мл	1	6,8 \pm 0,7	8,9 \pm 1,1*	8,9 \pm 1,0*	8,0 \pm 1,0*	8,0 \pm 1,0
	2	6,8 \pm 0,7	8,4 \pm 1,1	8,3 \pm 1,0	6,5 \pm 0,8	
ИНФ γ , пг/мл	1	7,9 \pm 0,8	10,1 \pm 1,2*	10,3 \pm 1,2*	9,8 \pm 1,2	9,8 \pm 1,2
	2	7,9 \pm 0,8	9,1 \pm 1,2	9,2 \pm 1,2	8,4 \pm 0,9	
ИЛ-1, пг/мл	1	7,3 \pm 1,5***	4,1 \pm 0,8***	2,1 \pm 0,2***	1,9 \pm 0,21***	1,8 \pm 0,20
	2	7,3 \pm 1,5***	6,3 \pm 1,19***	3,3 \pm 0,59***	3,2 \pm 0,58***	
ИЛ-6, пг/мл	1	80,8 \pm 16,3***	42,1 \pm 8,4***	13,6 \pm 1,18***	12,5 \pm 1,15***	12,1 \pm 1,13
	2	80,8 \pm 16,3***	63,4 \pm 11,8***	24,0 \pm 4,4***	24,2 \pm 4,1***	
ФНО- α , пг/мл	1	5,4 \pm 0,8***	2,3 \pm 0,4***	0,6 \pm 0,07***	0,5 \pm 0,06***	0,5 \pm 0,06
	2	5,4 \pm 0,8***	4,0 \pm 0,9***	1,0 \pm 0,09***	1,1 \pm 0,09***	
ИЛ-10, пг/мл	1	33,9 \pm 6,8***	36,6 \pm 7,7***	11,1 \pm 1,9*	8,2 \pm 0,9***	8,1 \pm 0,9
	2	33,9 \pm 6,8***	35,8 \pm 7,3***	13,6 \pm 2,3***	13,0 \pm 2,2***	

Примечание: * $p < 0,05$ — между показателями до и после лечения;

** $p < 0,05$ — между показателями детей 1-й и 2-й групп;

*** $p < 0,05$ — между показателями детей 1-й, 2-й и контрольной групп.

заболеваемости ОРВИ в течение года в 3 раза, числа бактериальных осложнений — с 57 до 14%. У детей 2-й группы, в лечении которых не использовался ВВИГ, заболеваемость снизилась в 1,8 раза, число бактериальных осложнений уменьшилось до 39%.

Включение ВВИГ в комплексное лечение ЧБД ОРВИ с ЛАП перспективно, способствует повышению противовирусного иммунитета, а также активности гуморальных и клеточных факторов защиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бережной В. В. Иммуноterapia рецидивирующих респираторных инфекций у детей / В. В. Бережной // Здоровье Украины. — 2004. — № 108.
2. Пастер Е. У. Иммунология: практикум / Е. У. Пастер, В. В. Овод, В. К. Позур, Н. Е. Вихоть. — К.: Вища школа, 1989. — С. 274–275.
3. Попов Н. Н. Цитокиновый статус часто болеющих детей с синдромом лимфаденопатии / Н. Н. Попов, А. Н. Савво, Е. А. Романова // Иммунологія та алергологія. — 2010. — №1 — С. 41–43.
4. Сафонов О. А. Иммуноterapia острой респираторной инфекции и ее осложнений / О. А. Сафонов, А. В. Пичугин, Е. Ж. Кожемяко [и др.] // Иммунология. — 2009 — № 1. — С. 30–50.
5. Ханухова Л. М. Определение Th₁- и Th₂-клеток в периферической крови больных с красным плоским лишаем и влияние на них иммуномодулятора ликопада / Л. М. Ханухова, О. Ф. Рабинович, Б. В. Пилегин // Аллергия, астма и клин. иммунология. — 1999. — № 6 — С. 3–6.
6. Nielsen S. L. Evaluation of a method for measurement of intracellular killing of staphylococcus aureus in human neutrophilic granulocyte / S. L. Nielsen, F. T. Blak, V. Storgaard [et al.] // ARMIS. — 1995. — № 103. — P.460–468.