

УДК 616.523:577.213-06.047.42:572.784-058.86+616.9-007.272-036.87

Юхименко О.О.

ОЦІНКА ВПЛИВУ РЕПЛІКАЦІЇ EBV, CMV ТА HSV НА ПОКАЗНИКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ РЕСПІРАТОРНОГО ТРАКТУ У ДІТЕЙ З ІНФЕКЦІЙНО-АСОЦІЙОВАНИМ АЛЕРГІЧНИМ РЕЦИДИВУЮЧИМ ОБСТРУКТИВНИМ БРОНХІТОМ ПІД ЧАС РЕЦИДИВУ

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В. Громашевського», м. Київ

З метою вивчення впливу реплікації збудників персистуючих інфекцій EBV, CMV та HSV на перебіг загострення обструктивного бронхіту було проведено визначення ДНК цих збудників у слині методом ПЛР у дітей з інфекційно-асоційованим, алергічним рецидивуючим обструктивним бронхітом під час рецидиву та дітей групи порівняння на тлі ГРЗ. Проведено визначення рівнів IL-4 IL-6 IL-8 IL-10 IgE за допомогою тест-систем ІФА для кількісного визначення виробництва «Вектор-Бест» (Росія, м. Новосибірськ). Встановлено, що у дітей з інфекційно-асоційованим рецидивуючим обструктивним бронхітом достовірно частіше визначається реактивація EBV. Було визначено, що у дітей з інфекційно-асоційованим рецидивуючим обструктивним бронхітом в яких в слині визначалася реплікація EBV визначалися достовірно вищі рівні IL-6, IL-8, порівняно із пацієнтами в яких в слині реплікація цього вірусу була відсутньою. Рівні IL-10 були достовірно вищими у дітей, у яких реплікативна активність EBV в слині не визначалася. Встановлено, що персистуючі інфекції, зокрема EBV, спричиняють імуномодуючий вплив на перебіг імунної відповіді у дітей з інфекційно-асоційованим та алергічним рецидивуючим обструктивним бронхітом, спрямованість якого визначається домінуючими в імунній системі процесами.

Ключові слова: діти, рецидивуючий обструктивний бронхіт, EBV, CMV, HSV.

Дана робота є фрагментом НДР «Удосконалення діагностики і лікування інфекційно-асоційованого рецидивуючого обструктивного бронхіту при герпесвірусній інфекції», № держ. реєстрації 4116U001304.

Вступ

Збудники персистуючих інфекцій є убіквітарними патогенами, які, одного разу потрапивши до організму, залишаються в ньому пожиттєво. Відповідно, усі інші патологічні процеси розгортаються на тлі перебігу персистуючих інфекцій. Реплікативна активність цих патогенів регулюється імунною системою, тому їх відносять до групи опортуністичних інфекцій, чий хвороботворний потенціал реалізується на тлі уражень імунної системи, таких як первинні комбіновані імунодефіцити, злякисні новоутворення гемopoетичних органів (лейкози, лімфоми), термінальна стадія ВІЛ-інфекції. З іншого боку, активна реплікація збудників персистуючих інфекцій є сама по собі індуктором імунної відповіді за клітинним типом. Найбільш вивченими (класичними) патогенами, що належать до цієї групи є EBV, CMV та HSV [3, 6].

Під час виконання НДР «Удосконалення діагностики та лікування інфекційно-асоційованого рецидивуючого обструктивного бронхіту у дітей при герпетичній інфекції» ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В. Громашевського» НАМН України нам и було проведено вивчення особливостей функціонування імунної системи респіраторного тракту [10, 11, 12].

В роботах, виконаних іншими дослідниками при вивченні імунного статусу дітей, інфікованих герпесвірусами, виявлено імунний дисбаланс практично у всіх ланках імунітету [5, 9]. Зокрема, спостерігалось значне підвищення рівня зрілих Т-лімфоцитів переважно за рахунок субпопуляції цитотоксичних клітин, що характерно для імунних реакцій при реплікації вірусів, дефіцит природних кілерів. Про виражений дисбаланс гумо-

ральної ланки імунітету свідчили підвищені рівні сироваткових імуноглобулінів А, М, G на тлі зниження рівня зрілих В-лімфоцитів. Виявлено зміни також в фагоцитарній ланці імунітету у вигляді зниженої кількості фагоцитів, пригнічення здатності до перетравлення мікроорганізмів. Були виявлені також зміни в цитокіновому статусі, а саме зниження рівнів інтерферонів альфа і гамма [2, 4]. В той же час в доступній літературі відсутні дані щодо впливу вірусів герпетичної групи на перебіг рецидивуючого обструктивного бронхіту у дітей.

Мета дослідження

З метою вивчення впливу реплікації збудників персистуючих інфекцій EBV, CMV та HSV на перебіг загострення обструктивного бронхіту було проведено визначення ДНК цих збудників у слині методом ПЛР у дітей з інфекційно-асоційованим, алергічним рецидивуючим обструктивним бронхітом під час рецидиву обструктивного бронхіту та дітей групи порівняння на тлі ГРЗ.

Особливістю EBV як патогену людини є його виражений вплив на імунну систему. Зокрема, він безпосередньо здатен впливати на геном лімфоцитів, порушуючи проліферативну активність В-лімфоцитів, яка в подальшому призводить до надмірної активації Т-клітинної ланки імунітету, наслідком чого можуть бути різноманітні зміни в кістковому мозку, та, відповідно, клітинному складі периферичної крові. У крайніх випадках можна спостерігати розвиток лімфопроліферативних захворювань, апластичної анемії [1]. Відповідно, реплікація EBV може бути фактором, що модифікує імунну відповідь у дітей з інфекційно-асоційованим рецидивуючим обструктивним бронхітом.

Об'єкт і методи дослідження

Для перевірки цього припущення було проведено визначення рівнів IL-4 IL-6 IL-8 IL-10 IgE досліджуваних цитокінів, які визначалися за допомогою тест-систем ІФА для кількісного визначення виробництва «Вектор-Бест» (Росія, м. Новосибірськ) [8].

Реєстрація результатів кольорової ІФА-

реакції відбувається за допомогою фотометра вертикального сканування (ІФА-рідера). Інтенсивність реакції прямо пропорційна кількості специфічних антитіл в біопробі [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Поширеність реплікації EBV, CMV, HSV серед дітей досліджуваних груп наведена у таблиці 1.

Таблиця 1

Поширеність реплікації EBV, CMV, HSV вірусів у дітей з інфекційно-асоційованим, алергічним рецидивуючим обструктивним бронхітом під час рецидиву обструктивного бронхіту та дітей групи порівняння на тлі ГРЗ

Збудник	інфекційно-асоційований РОБ n=134		алергічний РОБ n=115		група порівняння N=105	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
EBV	11	8,21	5	4,35	5	4,76
CMV	7	5,22	4	3,48	3	2,86
HSV	6	4,48	4	3,48	2	1,9

Таблиця 2

Рівні цитокінів в слині дітей в залежності від інфікованості EBV

Показники	Діти з інфекційно-асоційованим РОБ		Діти з алергічним РОБ		Діти з необтяженим за РОБ анамнезом		Р
	EBV +	EBV -	EBV +	EBV -	EBV +	EBV -	
IL-4	0,028±0,005	0,018±0,003	0,144±0,02	0,24±0,04	0,012±0,006	0,016±0,003	p ₃₋₄ <0,01
IL-6	0,35±0,029	0,22±0,025	0,054±0,025	0,11±0,01	0,14±0,03	0,13±0,01	p ₁₋₂ <0,01 p ₃₋₄ <0,05
IL-8	3,48±0,19	2,80±0,15	0,59±0,13	1,0±0,1	1,55±0,22	1,58±0,12	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,01
IL-10	0,04±0,009	0,08±0,01	2,22±0,13	1,99±0,08	2,09±0,12	2,21±0,05	p ₁₋₂ <0,05
IgE	0,65±0,06	0,53±0,05	6,25±0,38	5,28±0,32	0,66±0,09	0,97±0,34	Н.д.

Примітка: н.д. – не достовірно.

Встановлено, що у дітей з інфекційно-асоційованим рецидивуючим обструктивним бронхітом реактивація збудників цих захворювань відбувається дещо частіше порівняно із пацієнтами з алергічним генезом захворювання та дітьми групи порівняння. Достовірними (p<0,05) виявилися відмінності за поширеністю реплікації EBV.

Не було встановлено достовірного впливу цитомегаловірусу, вірусу простого герпесу на рівні досліджуваних цитокінів в слині дітей досліджуваних груп, достовірними були відмінності у рівнях цитокінів лише в дітей в залежності від інфікування EBV (табл. 2).

Встановлено, що у дітей з інфекційно-асоційованим рецидивуючим обструктивним бронхітом в яких в слині визначалася реплікація Епштейн-Барр вірусу визначалися достовірно вищі рівні інтерлейкінів 6, 8 порівняно із пацієнтами в яких в слині реплікація цього вірусу була відсутньою.

Це може бути пов'язано із роллю, яку відіграють ці інтерлейкіни у патологічних процесах, що відбуваються в організмі. Так, встановлено, що інтерлейкін 6 є одним з провідних індукторів запальної реакції організму. Він сприяє активації Т-лімфоцитів, стимулює утворення В-лімфоцитами молекул імуноглобулінів. Особливе значення цей медіатор має під час розвитку хронічних запальних захворювань, що пов'язано із спрямуванням диференціювання попередників Т-лімфоцитів в напрямку Т-хелперів 17, які згідно сучасних уявлень і є субстратом хронічного запалення.

Натомість, інтерлейкін 8, інша назва «фактор, що активує нейтрофіли», належить до медіаторів неспецифічного імунітету. Він сприяє активній міграції і залученню в запальний процес нейтрофілів, моноцитів, еозинофілів, Т-лімфоцитів. Також, інтерлейкін 8 має виражені прозапальні властивості, він стимулює експресію молекул міжклітинної адгезії, посилює адгезію нейтрофілів до ендотеліальних клітин.

Відповідно, більш високі рівні цих медіаторів в слині дітей, в яких було визначено реплікацію EBV відповідають більшій інтенсивності запальних змін, які, як було показано, притаманні розвитку інфекційно-асоційованого обструктивного бронхіту.

В той же час рівні інтерлейкіну 10 були достовірно вищими у дітей, у яких реплікативна активність EBV навпаки, в слині не визначалась. Це може бути пов'язано із тим, що інтерлейкін 10 є медіатором, що вгамовує імунну відповідь, має протизапальний вплив. Він має вплив як на специфічний, так і вроджений імунітет, так, він пригнічує як фагоцитарну ланку імунітету, зокрема макрофаги та моноцити, а також Т-хелпери першого типу. Його продуцентами можуть бути моноцити, макрофаги, активовані Т-хелпери; IL-10 пригнічує продукцію IFN-γ Т-лімфоцитами і природними кілерами, продукцію всіх прозапальних цитокінів макрофагами, експресію рецепторів фактору некрозу пухлин.

У дітей з алергічним механізмом розвитку бронхообструктивного синдрому реплікація Епштейн-Барр вірусу в слині, навпаки, асоціювалася зменшенням умісту інтерлейкінів 4, 6, 8. Та-

кий протилежний вплив EBV можна пояснити тим, що його вплив залежить від спрямованості фонові імунної відповіді, який він здатен модифікувати, але не визначати його спрямованість. Тому він посилює запальні реакції, опосередковані Т-хелперами, 17 у дітей з інфекційно-асоційованим РОБ. В той же час розвиток імунної відповіді при алергічному варіанті перебігу захворювання, що керується Т-хелперами 2 типу, які пригнічують розвиток інших субпопуляцій регуляторних клітин, супроводжується посиленням їхнього пригнічення.

Висновки

Таким чином, встановлено, що персистуючі інфекції, зокрема Епштейн-Барр вірус, спричиняють імуномодуючий вплив на перебіг імунної відповіді у дітей з інфекційно-асоційованим та алергічним рецидивуючим обструктивним бронхітом, спрямованість якого визначається домінуючими в імунній системі процесами.

Перспективи подальших досліджень

Необхідні подальші дослідження процесів взаємодії окремих збудників інфекційних хвороб та їх впливу на процеси що розгортаються в імунній системі людини, що дозволить забезпечити диференційоване лікування цих хворих.

Література

1. Бабаченко И.В. Проблемные аспекты диагностики и терапии инфекционного мононуклеоза у детей / И.В. Бабаченко // Журнал инфектологии. - 2009. - Т. 1, № 2. - С. 9-10.

2. Богадельников И.В. Роль герпесвирусной инфекции в организме человека / И.В. Богадельников // Сучасні медичні технології. - 2009. - № 3. - С. 57-61.
3. Бутенко З.А. Современные представления о вирусном онкогенезе: фундаментальные и прикладные аспекты / З.А. Бутенко, А.А. Фильченков // Экспериментальная онкология. - 2000. - № 2. - С. 239-245.
4. ВЗБ-инфекция (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение): учебное пособие / [Д.М. Собчак, О.В. Корочкина, О.Л. Хряева и др.]. - Н.Новгород : Изд-во Нижегородский гос. мед. академии, 2010. - 72 с.
5. Иванова В.В. Инфекционный мононуклеоз: тактика терапии больных с нелегким течением заболевания / В.В. Иванова, Э.Г. Камальдинова, А.С. Левина // Информационное письмо для педиатров. - Санкт-Петербург, 2004. - 24 с.
6. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / В.А. Исаков, Е.И. Архипова, Д.В. Исаков / Под ред. В.А. Исакова. - СПб. : СпецЛит, 2013. - 2-е изд., перераб. и доп. - 670 с. : ил.
7. Полетаев А. Б. Клиническая и лабораторная иммунология : избранные лекции / А. Б. Полетаев. - М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2007. - 184 с.
8. Рябичева Т.Г. Определение цитокинов методом иммуноферментного анализа / Т.Г. Рябичева, Н.А. Вараксин, Н.В. Тимофеева, М.Ю. Рукавишников // Новости «Вектор-Бест». - 2004 - № 4(34). - Режим доступа http://www.vectorbest.ru/nvb/n34/st34_4.htm
9. Юлиш Е.И. Метод дифференцированного подхода к лечению и реабилитации часто и длительно болеющих респираторными заболеваниями детей при различном течении герпесвирусных инфекций / Е.И. Юлиш, И.В. Баличенцева, В.Б. Висягин, Б.И. Кривущев [и др.] // Здоровье ребенка. - 2010. - № 1. - С. 20-29.
10. Юхименко О.О. Значення визначення інтерлейкінів 4, 6, 8, 10 в слині дітей під час загострення рецидивуючого обструктивного бронхіту / О.О. Юхименко // Проблеми військової охорони здоров'я. Збірник наукових праць Української військово-медичної академії. - 2016. - Вип. 45, Том 1. - С. 410-414.
11. Yukhimenko O. Chronic inflammatory diseases of upper respiratory tract as a significant cause of recurrent obstructive bronchitis in children / O. Yukhimenko // Профілактична медицина. - 2015. - № 3-4. - С. 71 - 72.

Реферат

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕПЛИКАЦИИ EBV, CMV и HSV НА ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННО-АССОЦИИРОВАННЫМ, АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ОБСТРУКТИВНЫМ БРОНХИТОМ ВО ВРЕМЯ РЕЦИДИВА

Юхименко О.А.

Ключевые слова: дети, рецидивирующий обструктивный бронхит, EBV, CMV, HSV.

С целью изучения влияния репликации возбудителей персистирующих инфекций EBV, CMV и HSV на ход обострения обструктивного бронхита было проведено определение ДНК этих возбудителей в слюне методом ПЦР у детей с инфекционно-ассоциированным, аллергическим рецидивирующим обструктивным бронхитом во время рецидива и детей группы сравнения на фоне ОРЗ. Проведено определение уровней IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 IgE с помощью тест-систем ИФА для количественного определения производства «Вектор-Бест» (Россия, г. Новосибирск). Установлено, что у детей с инфекционно-ассоциированным рецидивирующим обструктивным бронхитом достоверно чаще определяется реактивация EBV. Было определено, что у детей с инфекционно-ассоциированным рецидивирующим обструктивным бронхитом, у которых в слюне определялась репликация EBV, определялись достоверно более высокие уровни IL-6, IL-8, по сравнению с пациентами, у которых в слюне репликация этого вируса отсутствовала. Уровни IL-10 были достоверно выше у детей, у которых репликативной активности EBV в слюне не определялось. Установлено, что персистирующие инфекции, в том числе EBV, вызывают иммуномодулирующим влияние на ход иммунного ответа у детей с инфекционно-ассоциированным и аллергическим рецидивирующим обструктивным бронхитом, направленность которого определяется доминирующими в иммунной системе процессами.

Summary

ASSESSMENT OF IMPACTS PRODUCED BY EBV, CMV AND HSV REPLICATION ON INDICES OF IMMUNE SYSTEM OF RESPIRATORY TRACT IN CHILDREN WITH INFECTION-ASSOCIATED ALLERGIC RECURRENT OBSTRUCTIVE BRONCHITIS DURING RELAPSE

Yukhymenko O.

Key words: children, recurrent obstructive bronchitis, EBV, CMV, HSV.

In order to study the impact of replication of persistent infection EBV, CMV and HSV agents in the course of acute obstructive bronchitis we conducted DNA investigation of these pathogens in the saliva PCR technique in children with infection allergic recurrent obstructive bronchitis during relapse and in children of control group with acute respiratory disease. We assessed the levels of IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IgE by ELISA by "Vector-Best" system (Novosibirsk, Russia). It was found that children with infection-associated recurrent obstructive bronchitis were significantly more often diagnosed to have EBV reactivation. It was also revealed that children with infectious-associated recurrent obstructive bronchitis in whom replication was determined in the saliva of EBV, demonstrated significantly higher levels of IL-6, IL-8, compared with patients whose salivary replication of the virus was absent. Levels of IL-10 were significantly higher in children who did not show EBV replication activity in the saliva. The persistent infection, including the EBV, causes an immunomodulatory effect on the course of the immune response in children with infection-associated allergic and recurrent obstructive bronchitis that is impacted by the direction of the dominant processes in the immune system.