

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ ПРИ ЭПШТЕЙНА-БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ И ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ

Кравченко Л.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: secretary@rniiap.ru

Целью исследования явилось изучение особенности изменения цитокинового статуса у детей первых месяцев жизни при Эпштейна-Барр вирусной инфекции (ЭБВИ). Обследовано 39 новорожденных с ЭБВИ и 24 - без герпесвирусной инфекции. Уровень интерферона - α , γ (ИФН - α , γ), фактора некроза опухолей - α (ФНО- α), интерлейкина - 2,4 (ИЛ-2,4) в сыворотке крови пациентов определяли методом иммуноферментного анализа. У новорожденных с ЭБВИ отмечалось повышение ИФН- α , ИЛ-2 по сравнению с контрольной группой, при отсутствии изменения концентрации ФНО- α , ИФН- γ ИЛ-4. В течение первых 6 месяцев жизни отмечалось снижение уровня ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α , ИФН- α , ИФН- γ . Снижение содержания ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α , ИФН- α , ИФН- γ в сыворотке крови в течение первых 6 месяцев жизни свидетельствовало о сохраняющихся нарушениях в системе иммунитета.

Ключевые слова: новорожденные, Эпштейна-Барр вирусная инфекция, цитокины.

LEVEL OF CYTOKINES AT CHILDREN IN FIRST MONTHS OF LIFE WITH THE INFECTION CAUSED BY THE EPSTEIN-BARR VIRUS

Kravchenko L.V.¹

¹Federal State Budgetary Institution "Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics" of the Ministry of Health, Rostov-on-Don, e-mail: secretary@rniiap.ru

The aim of the study was to study the peculiarities of changes in immune status at children in first months of a life with infection caused by the Epstein-Barr virus. We examined 39 patients with Epstein-Barr virus infection, while in 24 newborns the negative result was obtained. Follow-up immunological studies were undertaken to examine the levels tumor necrosis factor (TNF- α), interferon α , γ (IFN- α , IFN- γ), interleukin 2 (IL -2) and interleukin - 4 (IL -4) in the sera at children of the first months of a life with infection caused by the Epstein-Barr virus. In newborn infants with infection caused by the Epstein-Barr virus revealed a higher levels of IFN- α , IL -2 than in newborn of the control group. It was found that changes in the concentration of TNF- α , IFN- α , IL -4 were not changed. During the first 6 months of life levels of TNF- α , IFN- α , IFN- γ , IL -2, IL -4 has decreased. Decrease of the level IL -2, IL -4, TNF- α , IFN- α , IFN- γ in whey of blood in first 6 months of a life evidence of continuing violations in the immune system.

Keywords: newborns, Epstein-Barr virus infection, cytokines.

Актуальность Эпштейна-Барр вирусной инфекции (ЭБВИ) связана с тропностью этого вируса к иммунокомпетентным клеткам. Риск перинатального заражения высок при наличии активных форм инфекции у женщин, имеющих осложненное течение беременности, страдающих хроническим тонзиллитом, проживающих в городе [3]. Недостаточно изучены особенности клинического течения ЭБВИ у новорожденных и детей первых месяцев жизни, особенно случаи, связанные с формированием хронической формы заболевания, в основе которой способность ВЭБ нарушать иммунорегуляторные механизмы противоинфекционной защиты [3; 4; 7-10]. Учитывая, что в настоящее время ЭБВИ рассматривается в качестве ведущего фактора формирования вторичных иммунодефицитов в детском возрасте, определяя в дальнейшем состояние здоровья ребенка, становится

очевидной необходимостью изучения особенностей иммунологических нарушений и выявления преморбидных факторов риска у детей с ЭБВИ [1; 2; 6].

Цель исследования: изучить особенности цитокинового статуса у детей первых месяцев жизни при Эпштейна-Барр вирусной инфекции.

Материалы и методы

Проведение проспективного, контролируемого, рандомизированного клинического исследования было одобрено локальным комитетом по этическим вопросам и биоэтике ФГБУ «РНИИАП» Минздрава РФ. В исследование было включено 39 новорожденных с ЭБВИ. Контрольную группу составили 24 условно здоровых ребенка обоего пола в возрасте до одного месяца без герпесвирусной инфекции. Пациенты включались в исследование с письменного разрешения родителей, если в периоде новорожденности госпитализировались в отделение патологии новорожденных; поступали в отделение патологии новорожденных не позднее 28-х суток жизни; при лечении в отделении патологии новорожденных имели ЭБВИ; гестационный возраст ≥ 28 недель; при поступлении не имели клинических признаков бактериального инфицирования. Пациенты не включались в исследование в случае наличия: подтвержденного сложного врожденного порока сердца, подозреваемой или подтвержденной хромосомной аномалии или генетической аберрации.

Клинический осмотр детей осуществляли на первом месяце и в дальнейшем в 3, 6, 9 и 12 месяцев. Всем детям основной и контрольной групп была проведена ПЦР-диагностика мочи и крови на ВЭБ, вирусы простого герпеса 1, 2 типа и вирус цитомегалии. Всем наблюдавшимся детям в эти сроки проводили исследование иммуноглобулина М к капсидному антигену (VCA) и иммуноглобулина IgG к ядерному антигену (EBNA) ВЭБ в сыворотке крови методом ИФА, УЗИ головного мозга, УЗИ печени и почек, эхокардиографическое исследование. Всем наблюдавшимся пациентам на первом месяце и в 3, 6 месяцев жизни проводили иммунологическое обследование, включающее исследование цитокинового статуса. В контрольной группе данный объем обследований проводился однократно на первом месяце жизни.

При поступлении в стационар больным с ЭБВИ назначалось лечение, включавшее противовирусный препарат (ацикловир), иммуностимулирующую терапию (иммуновенин), интерферонотерапию (виферон), метаболическую терапию (актовегин), витаминотерапию, один из ноотропных препаратов (кортексин, церебролизат, пирацетам).

Для выявления ВЭБ, вируса цитомегалии и вируса простого герпеса 1, 2 типа использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). В качестве материала для исследования у пациентов служили периферическая кровь и моча. Обнаружение вышеперечисленных возбудителей методом ПЦР проводилось с использованием наборов

реагентов производства «Ампли Сенс» (ЦНИИ эпидемиологии МЗ РФ) и оборудования, включающего многоканальный амплификатор ДНК «Герцик» (производство «ДНК-Технология», г. Москва) с компьютером и программным обеспечением. Уровень иммуноглобулина М к капсидному антигену (VCA) и иммуноглобулина IgG к ядерному антигену (EBNA) вируса Эпштейна-Барр в сыворотке крови пациентов определяли методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов реактивов фирмы BCM DIAGNOSTICS (LLC USA). Уровень интерферона α (ИФН- α), интерферона γ (ИФН- γ), фактора некроза опухолей альфа человека (ФНО- α), интерлейкинов – 2 и 4 (ИЛ-2 и ИЛ-4) в сыворотке крови определялся с помощью набора реагентов для твердофазного иммуноферментного анализа ProConIF2 plus, ProConIfgamma, ProConTNF α , ProConIL-2, ProConIL-4, (ООО «Протеиновый контур», Россия, г. Санкт-Петербург).

Процедура статистической обработки полученных эмпирических данных предусматривала последовательное выполнение нескольких этапов. Проверилось распределение исходных переменных на нормальность с применением пакета прикладных программ MegaStat [5]. Далее применялись процедуры описательной статистики, с помощью которой находились – оценивались значения медианы и интерквартильного размаха (25%, 75%). Достоверность полученных результатов рассчитывалась при доверительной вероятности 95%. Обработка исходных рядов признаков осуществлялась с использованием пакетов прикладных программ Statistica версии 6.0 и Excel 2003, SPSS 13.0, MegaStat. Для сравнения межгрупповых различий использовали непараметрический метод Вилкоксона для независимых групп с помощью пакета AtteStat 9.2. При помощи пакета SPSS рассчитывались доверительные интервалы для медиан. Пересечение интерквартильных интервалов не говорит об отсутствии достоверных различий сравниваемых групп. В случае сравнения долевых признаков в двух независимых группах объектов исследования применяли программу вычисления точного критерия Фишера.

Результаты

Всем детям основной группы был выставлен диагноз ЭБВИ. В контрольной группе детей ЭБВИ, ЦМВИ и инфекция, вызванная вирусом герпеса 1, 2 типа, не были зарегистрированы. ЭБВИ более чем в 50% случаев выявлена на первой неделе жизни и более чем в 80% случаев на первом месяце жизни. Возраст матерей колебался в основном от 19 до 30 лет. Среди экстрагенитальной патологии у матерей преобладали заболевания мочевыделительной системы (у 5 пациенток - 12,8% случаев). Следует отметить, что достоверно чаще регистрировался кольпит (в 9 случаях, что составило 23%) по сравнению с частотой выявления эрозии шейки матки (в 1 случае - 2,6%) ($p < 0,002$), эндоцервицита (в 4

случаях - 10,2%) ($p < 0,01$), метроэндометрита (в 1 случае - 2,6%) ($p < 0,0001$), бактериального вагиноза (в 3 случаях - 7,7%) ($p < 0,0002$), аднексита (в 1 случае - 2,6%) ($p < 0,004$).

Выявлено, что большинство матерей обследованных детей имели достаточно отягощенный акушерский анамнез: в 10 случаях (25,6%) регистрировались медицинские аборт, в 4 случаях (10,3%) - самопроизвольные выкидыши и неразвивающиеся беременности.

Ведущее место в патологии беременности в группе детей с ЭБВИ занимали гипоксия плода (у 18 пациентов - 46,2%) и угроза прерывания (у 16 пациентов - 41%). Также часто регистрировались ранний гестоз (в 12 случаях - 30,8%), фетоплацентарная недостаточность (в 13 случаях - 33,3%). У большей части детей манифестация ЭБВИ произошла на первом месяце жизни. Срок родов варьировал от 28 до 41 недели. У подавляющего большинства женщин родоразрешение произошло в сроке 38-40 недель (24 случая - 61,5%). Среди обследуемых новорожденных с ЭБВИ преждевременные роды встречались у 14 матерей (35,9%), причем в сроке 28-33 недели у двух женщин (5,13%), в сроке 34-37 недель - у 12 (31,0%). Больше половины новорожденных (20 человек - 51,3%) родились с массой тела при рождении 3000,0 - 4000,0 г. Масса тела при рождении ниже 2000,0 г отмечалась у 5 (12,8%) новорожденных, от 2000,0 до 2600,0 г - у 3 (7,7%), массу тела при рождении 2600,0 - 3000,0 г имели 9 (23,1%) пациентов.

Новорожденные с оценкой по шкале Апгар на первой минуте 4-6 баллов родились в 8 случаях (20,5%). Оценка по шкале Апгар 7-8 баллов регистрировалась у большинства новорожденных (27 - 69,2%). Оценка по шкале Апгар ниже 4 баллов зарегистрирована у 3 детей (7,7%). С оценкой 9-10 баллов по шкале Апгар родился лишь 1 ребенок (2,5%).

Что касается детекции ДНК при Эпштейна-Барр вирусной инфекции, то ее выявление в крови зарегистрировано у 5 пациентов - 12,8% и в моче у 27 новорожденных - 71,4%. В остальных случаях для постановки диагноза использовали обнаружение специфических IgGк EBNA ВЭБ в ликворе у 7 новорожденных - 18%. Ввиду того что антитела класса IgG к герпесвирусным инфекциям у новорожденных являются «материнскими» [4; 10], нами для диагностики этот параметр использовался лишь в случае нарастания к 3 месяцам жизни титра IgG к EBNA ВЭБ, когда начинают вырабатываться собственные антитела. Уровень специфических противовирусных антител класса IgG в крови достоверно ($p < 0,01$) нарастал в течение первых 3 месяцев от 62 (12-114,8) индекса позитивности (ИП) на первом месяце жизни до 109 (61-137) ИП в 3 месяца, достоверно ($p < 0,001$) превышая контрольные значения, составившие 45,5 (14,3-75,8) ИП. Повышенный уровень IgM к капсидному антигену (VCA) не был зарегистрирован у обследуемого контингента детей, что совпадает с заключением других исследователей [9] о том, что период полураспада этих антител весьма

невелик, и антитела класса IgM (VCA - IgM), являющиеся маркером активности ЭБВИ, выявлялись редко - в 3,6% случаев у детей в возрасте до 1 года. В литературе последних лет отмечено, что признаками перинатальной герпесвирусной инфекции у новорожденных служат неспецифические проявления TORCH-синдрома [3; 4; 9]. По нашим данным, клиническая симптоматика у новорожденных основной группы также характеризовалась полиморфностью. Заболевание протекало в генерализованной форме.

При оценке клинических данных на первом месяце были выявлены такие признаки, как лихорадка, конъюгационная желтуха, гипербилирубинемия, гепатит, лимфаденит, ринофарингит. В высоком проценте случаев встречалась сосудистая адаптация, увеличение печени, геморрагический синдром, менингоэнцефалит. К особенностям клиники при ЭБВИ следует также отнести частое выявление конъюгационной желтухи геморрагического синдрома и врожденных пороков сердца: дефект межпредсердной (ДМПП) и межжелудочковой перегородок (ДМЖП) (табл. 1). Исходом ЭБВИ у части пациентов (11 человек – 28,2%) явились частые острые респираторно-вирусные инфекции в течение первого года жизни, лимфаденит.

Таблица 1

Характеристика и частота клинических симптомов у детей с ЭБВИ в динамике заболевания

Клинические признаки	1 месяц		3 месяц		6 месяц	
	n	% от группы	n	% от группы	n	% от группы
Сосудистая дезадаптация	27	69,2	12	33,3	0	0
Лихорадка	10	25,6	0	0	0	0
Менингоэнцефалит	6	15,4	0	0	0	0
Геморрагический синдром	7	17,9	0	0	0	0
Конъюгационная желтуха	17	43,6	5	12,8	0	0
Увеличение печени	19	48,7	5	12,9	0	0
Гипербилирубинемия	16	41,0	6	15,4	0	0
Гепатит	5	12,9	0	0	0	0
Лимфаденит	3	7,7	3	7,7	8	20,5
Пневмония	16	41,0	6	15,4	0	0
Ринофарингит	16	41,0	0	0	0	0
ДМПП	19	48,7	19	48,7	19	48,7
ДМЖП	21	53,8	21	53,8	21	53,8

В начале заболевания на первом месяце жизни отмечалось достоверное повышение в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой уровней ИЛ-2 и ИФН α (табл. 2).

Уровень ИФН- γ , ИЛ-4 и ФНО- α не имел статистически значимых различий по сравнению с пациентами контрольной группы в периоде новорожденности.

Таблица 2

Показатели цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови у детей с
Эпштейна-Барр вирусной инфекцией

Цитокины	Контрольная группа, n = 15	Сроки обследования			P
		1 мес.	3 мес.	6 мес.	
ИЛ-2	89,2 (57,5-107,6)*	124,4 (54,5-415,1)	125,2 (51,8-393,0)	122 (112,2-290)	0,05
ИЛ-4	68,9 (50,8-84,0)	81,5 (70,5-93)	70,5 (48,5-94,1)	70,2 (63,0-80,3)	0,38
ИФН α	9,6 (6,3-15,4)	15,4 (4,0-28,2)	3,6 (1,3-13,5)	3,7 (1,8-11,5)	0,04
ИФН γ	497,9 (209,9-581,9)	384,7 (121,9-536,8)	94,6 (17,1-473,7)	272,6 (28,8-472,8)	0,322
ФНО $-\alpha$	7,7 (5,9-17,2)	19,4 (5,8-52,0)	6,9 (2,6-27,8)	8,0 (3,7-21,0)	0,103

* - в скобках даны значения 1–3 квартиля;

P–статистическая значимость с показателями контрольной группы в возрасте 1 месяца.

Исследование динамики уровней сывороточного ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α в динамике заболевания в возрасте 3 и 6 месяцев показало достоверное снижение их концентрации (таблицы 2, 3).

Таблица 3

Статистический анализ показателей цитокинов у детей с ЭБВИ в динамике
(по Вилкоксоу)

Месяцы	Показатели				
	ИЛ-2, n = 39	ИЛ-4, n = 39	ИФН- α , n = 39	ИФН- γ , n = 39	ФНО- α , n = 39
1-3	0,417	0,06	0,096	0,064	0,08
1-6	0,029	0,013	0,02	0,030	0,010
3-6	0,051	0,28	0,19	0,330	0,163

Обсуждение

Основными исходом, возникшим от воздействия ВЭБ на организм новорожденного, явилось повышение уровней ИФН- α , ИЛ-2 по сравнению с контрольной группой, при отсутствии изменения концентрации ФНО- α , ИФН- γ ИЛ-4. В динамике отмечалось снижение уровня ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α , ИФН- α , ИФН- γ в течение первых 6 месяцев жизни.

Механизмы защиты организма ребенка при ЭБВИ характеризовались достоверно более высокой продукцией ИФН- α , ИЛ-2 на первом месяце жизни по сравнению со значениями этих параметров у контрольной группы пациентов, что свидетельствует о включении системы интерферона в процесс противовирусной защиты.

Благодаря интерферонам клетки становятся невосприимчивыми по отношению к вирусу. Интерферонопродукция, а именно продукция ИФН- α , ИФН- γ у детей, инфицированных ВЭБ, имела значительно выраженное снижение уровня данных показателей к 6 месяцам жизни. Такие изменения в иммунном статусе неизбежно приводят к более низкому ответу на внедрение вирусного агента в клетку. Полученные данные свидетельствовали о срыве адаптационно-компенсаторных механизмов на фоне усиленной антигенной нагрузки. Низкий уровень изученных нами цитокинов или их значительное снижение в динамике заболевания может свидетельствовать об истощении резервов иммунной системы. Происходит недостаточная активация специфического противовирусного ответа, что в дальнейшем может быть одним из факторов развития тяжелой формы заболевания, хронической вирусной инфекции или длительной персистенции ВЭБ. Нормализация показателей интерферонового статуса обычно совпадает с процессами выздоровления.

Полученные данные являются также убедительным подтверждением того, что повышенная продукция ИЛ-2 обусловлена индукцией его синтеза патогенными агентами.

Выводы

1. Для ЭБВИ на первом месяце жизни характерны такие клинические особенности, как геморрагический синдром (17,9%), конъюгационная желтуха (43,6%), увеличение печени (48,7%), пневмония (41%), врожденные пороки сердца (ДМПП – 48,7%, ДМЖП – 53,8%). В высоком проценте случаев к 6 месяцам сохранялся лимфаденит.
2. ЭБВИ характеризуется статистически значимым повышением уровня ИФН- α , ИЛ-2 в сыворотке крови при отсутствии изменений уровня ИФН- γ , ИЛ-4 и ФНО- α новорожденных на первом месяце, что свидетельствует о нарушении баланса про- и противовоспалительных цитокинов и характеризует глубину нарушений в иммунном статусе, связанных с выраженным воспалительным процессом.
3. Снижение продукции интерферонов в динамике заболевания к 6 месяцам жизни свидетельствует о врожденном или приобретенном дефиците системы интерферонов и может рассматриваться как показание для проведения интерферонотерапии.

Список литературы

1. Долгих Т.И. Клинико-иммунологическая характеристика смешанных герпесвирусных

- инфекций у детей первого года жизни // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - № 3 (вып. 1). – С. 19-22.
2. Касымова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. Особенности иммунного статуса и факторы риска хронического течения Эпштейна-Барр вирусной инфекции у детей // Новая наука: современное состояние и пути развития. - 2016. - № 8. - Т. 98. – С. 16-20.
 3. Котлова В.Б., Кокорева С.П., Макарова А.В. Клинико-лабораторные особенности и факторы риска перинатальной Эпштейна-Барр вирусной инфекции // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. - № 1. - Т. 59. – С. 57-61.
 4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М. : Высшая школа, 1990. - 352 с.
 5. Орлова С.Н., Машин С.А., Жамбарова С.В. Эффективность рибосомального комплекса в лечении Эпштейна-Барр вирусной инфекции у детей // Вопросы современной педиатрии. – 2011. - № 10. - Т. 6. – С. 41-44.
 6. Постаногова Н.О., Софронова Л.В. Показатели крови у детей с инфекционным мононуклеозом в зависимости от этиологии заболевания в остром периоде и катамнез // Вопросы практической педиатрии. – 2016. - № 11. - Т. 3. – С. 22-25.
 7. Симованьян Э.Н. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей: совершенствование программы диагностики и лечения // Детские инфекции. – 2016. - № 15. - Т. 1. – С. 15-23.
 8. Слободенюк В.К. Смешанная Коксаки В-герпесвирусная инфекция у детей в возрастном аспекте // Детские инфекции. – 2012. - № 4. – С. 13-16.
 9. Хаитов Р.М. Иммунология : учебник. – М. : Медицина, 2013. – 429 с.
 10. Кравченко Л.В. Клинико-патогенетические аспекты герпесвирусных инфекций у детей первых месяцев жизни : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Ростов н/Д, 2009. – 42 с.