

¹О.В. Виговська, ¹С.О. Крамарьов, ²Н.М.Тарадій, ³Д.С. Янковський, ³Г.С. Димент

ІМУНОПАТОГЕНЕЗ ЕПШТЕЙН–БАРР ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

²Міжнародний центр астрономічних та медико-екологічних досліджень НАНУ, м. Київ, Україна

³НПК «О.Д. Пролісок», Україна

Мета: вивчити стан диференційних маркерів імункомпетентних клітин (ІКК) у хворих із гострою Епштейн–Барр вірусною (ЕБВ) інфекцією та провести корекцію виявлених змін шляхом використання вітчизняного мультипробіотика Симбітер.

Пацієнти і методи. Досліджували експресію диференційних маркерів імункомпетентних клітин (ІКК) CD3, CD4, CD7, CD8, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95 та мембранні імунoglobуліни (mIg) – mIgA, mIgD, mIgM, mIgG за допомогою конфокальної лазерної скануючої мікроскопії у 45 хворих на гостру форму ЕБВ-інфекції та у 15 практично здорових дітей.

Результати. Встановлено, що при гострій формі ЕБВ-інфекції у дітей підвищена експресія маркерів CD95 у 9,8 разу, CD45 – у 4,8 разу, CD25 – у 5,5 разу, CD22 – у 7 разів, CD20 – у 3,9 разу, CD16 – у 2,9 разу, CD4 – у 2,7 разу, CD7 – у 2,6 разу, CD3 – у 1,4 разу та знижена експресія маркера CD8 у 1,3 разу. У хворих на гостру ЕБВ-інфекцію значно активізована експресія mIg: mIgA – у 1,3 разу, mIgD – у 2,7 разу, mIgM – у 3,5 разу, mIgG – у 1,2 разу. Застосування комплексної терапії гострої ЕБВ-інфекції з включенням мультипробіотика «Симбітер ацидофільний концентрований» по 1 пакетику 1 раз на день впродовж місяця змінює показники експресії маркерів CD7, CD8 у бік нормалізації та знижує експресію CD4, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95, mIgM, збільшує компенсаторно експресію mIgA, mIgG, mIgD, спрямовану на елімінацію зруйнованих та інфікованих клітин.

Висновки. Мультипробіотик Симбітер діє на Т- і В-клітинну ланку імунітету шляхом нормалізації рівня експресії диференційних маркерів основних ІКК, чинить імунорегулюючу дію, особливо при активації клітинної імунної відповіді, має імунomodулюючий ефект, який особливо виражений при недостатності клітинного імунітету.

Ключові слова: Епштейн–Барр вірусна інфекція, імунітет, мультипробіотик Симбітер, диференційні маркери, імункомпетентні клітини, CD, мембранні імунoglobуліни, діти.

Вступ

Вірус Епштейн–Барр (ЕБВ) був відкритий 49 років тому (1964 р.) під електронним мікроскопом у клітинах тканини лімфоми Беркитта вченими Епштейном, Барр та Ачонгом [14]. Через чотири роки (у 1968 р.) була доведена роль ЕБВ як етіологічного фактора при інфекційному мононуклеозі (ІМ), коли серонегативний працівник лабораторії захворів на ІМ та набув ЕБВ-антитіла [5]. ДНК ЕБВ було виділено у тканинах від пацієнтів із назофарингеальною карциномою у 1970 р. [5,14]. У 1980-х роках виявлено, що ЕБВ асоційований із неходжкінською лімфомою та оральною лейкоплакією у пацієнтів із синдромом набутого імунodefіциту (СНІДом) [5,14]. З того часу ДНК ЕБВ була знайдена в тканинах від пацієнтів з іншими лімфопроліферативними захворюваннями, у тому числі Т-клітинною лімфомою та хворобою Ходжкіна [5,14,19]. Вірус Епштейн–Барр є одним з найпоширеніших вірусів – ним інфіковано близько 90% всього населення, у тому числі 40–60% дітей перших двох-трьох років життя. ЕБВ-інфекція є інфекційною хворобою імунної системи з хронічною персистенцією вірусу [18]; вірус зберігається в організмі довічно [5,13]. Вірус тропний до різних клітин, але основною мішенню для нього є В-лімфоцити й дендритні клітини, що несуть на собі рецептор CD21 (або CR2-рецептор для С3d-компонента системи комплементу) [5,16]. Він може також вражати епітелій слизової носо- і ротоглотки, протоки слинних залоз, шийки матки, шлунково-кишкового тракту, ендотелій судин, гладких клітин [17]. Також є повідомлення про можливе інфікування вірусом імункомпетентних клітин – Т-лімфоцитів (CD3), клітин – природних кілерів (NK-клітини – CD16), макрофагів, моноцитів, нейтрофілів

[17,20]. Враховуючи спектр можливої дії вірусу, ЕБВ-інфекцію, як і будь-яку лімфотропну інфекцію, слід вважати імуносупресивним захворюванням, що призводить до розвитку імунної дисфункції, транзитного імунodefіциту, вторинної імунної недостатності, які впливають на клітинний імунітет (вміст і функціональну активність Т- і В-лімфоцитів), гуморальний імунітет (концентрація у сироватці крові імунoglobулінів (Ig) А, М, G), фактори природної цитотоксичності (NK-клітини, моноцити макрофаги, нейтрофіли) тощо [10,14,15].

Мета: вивчити стан диференційних маркерів імункомпетентних клітин (ІКК) у хворих на гостру ЕБВ-інфекцію та провести корекцію виявлених змін шляхом використання вітчизняного мультипробіотика «Симбітер», який являє собою симбіотичну асоціацію бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium* і *Lactococcus* (виробник – Компанія О.Д. «Пролісок»). Мультипробіотик «Симбітер ацидофільний концентрований» містить пробіотичних мікроорганізмів, КУО/г, не менше: лактобацили та лактококи – $6,0 \times 10^{10}$, пропіоновокислі бактерії – $3,0 \times 10^{10}$, біфідобактерії – $1,0 \times 10^{10}$, оцтовокислих бактерій – $1,0 \times 10^6$ [9].

Матеріал і методи дослідження

Під нашим спостереженням перебувало 45 дітей віком 3–18 років, хворих на гостру ЕБВ-інфекцію, які лікувалися у Київській міській дитячій клінічній інфекційній лікарні протягом останніх семи років. Верифікацію діагнозу здійснювали на підставі даних анамнезу, клінічного та лабораторного обстеження (загального аналізу крові, визначення активності трансаміназ крові), виявлення специфічних маркерів ЕБВ-інфекції – антитіл класів IgM

VCA, IgG VCA, IgG EA до EBV, відсутності у крові IgG EBNA, визначення ДНК ЕБВ у крові та слині. Дослідження експресії диференційних маркерів CD (cluster differentiation, cell differentiation antigens) та мембранних імуноглобулінів (mIg) проводилося в лабораторії імунології Міжнародного центру астрономічних і медико-екологічних досліджень Національної академії наук України (завідувач лабораторії імунології – к.мед.н. Н.М. Тарадій) і включало вивчення експресії маркерів: CD3 (TCR, Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери), CD8 (цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ)), CD7 (Т-лімфоцити, FcγR-маркер), CD16 (природні кілери, або NK-клітини), CD20 (В-лімфоцити), CD22 (В-лімфоцити), CD25 (IL-2R) (Т-лімфоцити, що експресують на своїй поверхні рецептор до інтерлейкіну-2 (IL-2), CD45 (зрілі неімунні або «наївні» лімфоцити), CD95 (Fas/Apo1, маркер апоптозу) та mIg – mIgA, mIgD, mIgM, mIgG. Дослідження проводилися при госпіталізації до стаціонару та через місяць від початку лікування.

Імунологічні дослідження: лімфоцити виділяли з венозної крові, стабілізовані EDTA (50 ммоль/10мл), розведеної 1:2 середовищем RPMI 1640 (Sigma, США) із додаванням 10% інактивованої фетальної телячої сироватки (GidcoBRL, Англія) в градієнті щільності фіколл-верографін («Pharmacia», щільність 1,077), триразово відмивали розчином PBS (рН 7,2; Flow Labs, Великобританія). Життєздатність клітин становила 95–98. Фіксацію препаратів проводили на предметних скельцях у маркованих лунках (1x10⁶ клітин в 1 мл) протягом трьох хвилин у парах 10% нейтрального формаліну. Перед фарбуванням мазки двічі промивали в PBS (рН 7,2). Мембранні маркери диференціювання (CD) визначали методом прямої імуофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл (АТ), міченими FITC (fluorescein isothiocyanate) або Cy5 до CD3, CD4, CD7, CD8, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45 (НПЦ «МедБіоСпектр», Москва, ОНЦ ВАНН). Мембранні імуноглобуліни mIgM, mIgG, mIgA, mIgD визначали методом прямої імуофлуоресценції за допомогою моноклональних сироваток, мічених FITC (Serva). Для виявлення маркера апоптозу Fas/Apo1 (CD95) використовували три види моноклональних антитіл (АТ): кон'юговані з FITC, або з Cy5 (НПЦ «МедБіоСпектр», Москва, ОНЦ ВАНН), або з PE (фікоєритрином, Pharmingen, США). Ядра клітин фарбували в синій колір (США). Кількість клітин, які експресують відповідний маркер, переводили в абсолютні значення відповідно до системи СІ – гіга/л (Г/л)=10⁹/л. Колокалізацію, дислокацію та підрахунок маркерів досліджували на двох конфокальних лазерних скануючих мікроскопах Axioskop-2 LSM 5 PASCAL та Axiosam HRO LSM PASCAL 510 META (Carl ZEISS). Об'єктив – PlanAprochomat 100x/1.4, окуляр 10, масляна імерсія. Отримані зображення сканували і обробляли за допомогою комп'ютерної програми LSV510. Визначали диференційні маркери за допомогою АТ, кон'югованих із флуоресцентними мітками різного спектра світіння при Em-max (FITC/519 – зелений, PE/578 – жовтий, Cy5/667 – червоний, PerCP/678 – червоний).

Референтні значення досліджували у групі порівняння, до якої увійшло 15 практично здорових дітей віком від 4 до 18 років. Статистичну обробку результатів проводили методами описової статистики. Визначались середні показники (t-тест Student) та стандартні відхилення (M±SD). Різницю частот визначали за методом оцінки різниці між частотами появи ознаки в окремих серіях спостереження, статистично достовірною вважали різницю, якщо p<0,05 [2].

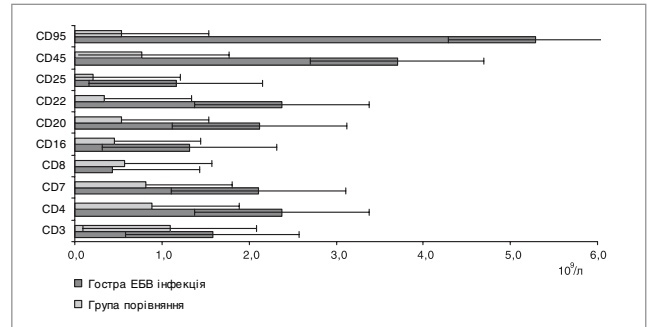


Рис.1. Експресія диференційних маркерів ІКК у дітей, хворих на гостру ЕБВ-інфекцію, при госпіталізації

Результати дослідження та їх обговорення

При імунологічному обстеженні дітей із ЕБВ-інфекцією відзначалися зміни у Т- і В-клітинних ланках імунітету та з боку мембранних імуноглобулінів. Стан Т-клітинної ланки імунітету характеризувався у дітей з гострим перебігом ЕБВ-інфекції значним дисбалансом, ознаками активації протівірусних механізмів захисту й ознаками порушення регуляції імунної системи. При гострій ЕБВ-інфекції при першому зверненні відмічається підвищення експресії маркера CD3 в 1,4 разу (p<0,05). Відзначається підвищення експресії маркерів CD95 в 9,8 разу, CD45 – в 4,8 разу, CD25 – в 5,5 разу, CD4 – в 2,7 разу, CD7 – в 2,6 разу, p<0,05 (рис. 1). Рівень експресії мембранного антигену CD16 підвищений в 2,9 разу (p<0,01), рівень експресії маркера CD8 знижений в 1,3 разу (p<0,05). Показники В-клітинного імунітету при гострій ЕБВ-інфекції також змінюються і характеризуються підвищенням рівня експресії диференційних маркерів В-лімфоцитів – CD20 в 3,9 разу та CD22 в 7 разів, p<0,05 (рис. 1).

Активация експресії мембранних Іg пов'язана з гіпермутагенезом В-клітин, при якому можливе переключення класів Іg та розширення антигенів зв'язуючих можливостей В-лімфоцитів. Експресія mIgA була вище контролю в 1,3 разу, mIgD – в 2,7 разу, mIgM – в 3,5 разу, mIgG – в 1,2 разу, p<0,05 (рис. 2).

У дітей з гострою ЕБВ-інфекцією виявлено зміни з боку експресії диференційних маркерів, що характеризують стан Т- і В-клітинного імунітету, які ми розцінюємо як прояви імунної дисфункції за Т-клітинним типом, і прояви виразної активації протівірусного захисту, більше за В-клітинним типом.

Підвищення кількості лімфоцитів у периферичній крові при гострій ЕБВ-інфекції відбувається як за рахунок експансії клітин кістково-мозкового походження – CD16 NK-клітин, CD20 і CD22 В-лімфоцитів, так і за

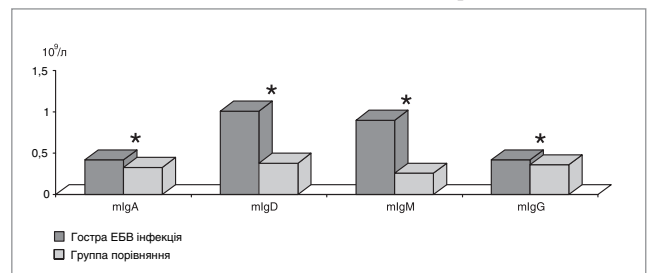


Рис. 2. Експресія диференційних маркерів мембранних імуноглобулінів (mIg) у дітей з гострою ЕБВ-інфекцією при госпіталізації: *p<0,05 — достовірність різниці між показниками при гострій ЕБВ-інфекції порівняно з референтними значеннями в групі порівняння

рахунок підвищення рівня експресії диференційного маркера CD3 Т-лімфоцитів. Через CD7 (FcγR)-маркер здійснюється підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію, перехресне реагування з CD25 (IL-2R), CD71, CD54, HLA-DR, стимуляція секреції інтерферону (ІФН-γ); підвищується цитотоксична активність НК-клітин; ініціюється проліферація НК-клітин і опосередковується адгезія до фібринектину. При гострій ЕБВ-інфекції відбувається значне підвищення експресії маркера апоптозу CD95 (Fas-ліганда), який зв'язується із Fas-рецептором на активованих Т-лімфоцитах і запускає їх апоптоз. Вміст рівня експресії диференційних маркерів стимульованих лімфоцитів CD45 і високоафінного рецептора ІЛ-2 CD25 (IL-2R) відображає інтенсивність імунної відповіді: підвищення кількості цих клітин відповідає високій активності імунної відповіді, що відповідає гострій фазі інфекційного процесу та виразному інфекційному запаленню [14]. При гострій ЕБВ-інфекції за рахунок виразного антигенного навантаження відбувається активація антиген-специфічних механізмів імунітету та антиген-неспецифічних механізмів імунітету (пов'язаних з природними кілерами та В-лімфоцитами). Антиген-неспецифічний механізм імунітету є, з одного боку, мало-ефективним для елімінації ЕБВ вірусних антигенів, з іншого — є основою формування аутоімунних реакцій і лімфопроліферативних захворювань у віддаленому катамнезі після перенесеної гострої ЕБВ-інфекції [4,15,19]. Значення експресії диференційного маркера CD16 природних кілерів пояснюється тим, що ці клітини займають найважливіше місце в антиінфекційному та антипухлинному захисті й тісно пов'язані з аутоімунними цитотоксичними та лімфопроліферативними процесами [16,18]. CD16 відносять до циркулюючих тільки в крові клітин, які можуть додиференціюватися у зрілі форми при циркуляції в кров'яному руслі. Крім рецепторів для цитокінів, на мембрані природних кілерів розміщуються рецептори для антигенів головного комплексу гістосумісності (МНС) 1 типу (МНС 1) і рецептор для Fc-кінців — IgG-FcγRIIIA (CD16) — єдиний з інгібіторних, що працює з розчинними лігандами. CD16 беруть участь у розпізнаванні антигенів непептидної природи в комплексі з молекулами CD1, виробляють інтерлейкін 4 (ІЛ-4) і через стимуляцію диференціювання Т-лімфоцитів-хелперів (Th) Th0 в Th2 активують гуморальну імунну відповідь; вони також експресують багато Fas-ліганду (CD95), який зв'язується із Fas-рецептором на активованих Т-лімфоцитах і запускає апоптоз цих клітин [7,16,18]. Збільшення рівня експресії диференційного маркера В-лімфоцитів при гострій ЕБВ інфекції, з одного боку, може бути компенсаторним, з іншого — може свідчити про те, що активної елімінації ЕБВ-інфікованих (ЕБВ+) В-лімфоцитів не відбувається (може бути за рахунок зниження рівня експресії диференційного маркера ЦТЛ (CD8)) [12]. З вивчених показників Т- і В-клітинного імунітету, з нашої точки зору, предикторами переходу гострої ЕБВ-інфекції у хронічну форму виступають рівень експресії маркерів CD8 Т-лімфоцитів, CD16 природних кілерів, CD95 маркера апоптозу, CD20 та CD22 В-лімфоцитів. Саме рівень експресії диференційних маркерів цих клітин у гострому періоді та в динаміці хвороби свідчить про перехід гострої форми інфекції у хронічну. Різні автори описують різні зміни з боку всіх ланок імунітету при ЕБВ-інфекції, дуже часто навіть суперечливі [1,4,8]. Так, G. Niedobitek et al. відзначають відсутність достовірних змін рівня В-лімфоцитів із фенотипом CD20+ у дітей із ІМ різного ступеня важкості порівняно зі здоровими

дітьми та між собою [13]. В інших дослідженнях Y. Kasahara, A. Yachie, S. Ohga et al. відзначали підвищення концентрації CD21+ В-клітин у перші три тижні хвороби у дітей з більш тяжким перебігом ІМ [1,12]. Про збільшення кількості В-лімфоцитів (з фенотипом CD72+) у ці ж терміни є свідчення й в інших роботах [3,11]. У літературі є дані про зниження вмісту у периферичній крові клітин з фенотипом CD19+ (В-лімфоцити) і CD19+CD23+ (зрілі В-лімфоцити) у гостру фазу ІМ і в періоді ранньої реконвалесценції, причому ступінь виразності цього зменшення та його тривалість прямо корелювали з тяжкістю захворювання [10]. При гострій ЕБВ-інфекції також відбуваються значні зміни з боку Т-клітинного імунітету, які проявляються порушеннями вмісту та рівня функціональної активності Т-лімфоцитів. Ці зміни, за даними різних авторів, також мають різноспрямований характер [4,10,14]. Так, в роботах L.S. Zidovec et al., В.В. Новицького і співавт. вказується на підвищення при гострій ЕБВ-інфекції відносного і/або абсолютного рівня Т-лімфоцитів (CD3+клітин) [7,20]. Інші дослідники відзначають деяке зниження вмісту клітин з даними фенотипом у гострий період ІМ [3,11]. Зміни субпопуляційного складу Т-лімфоцитів у доступній нам літературі також описуються по-різному. Підвищений вміст (або тенденція до підвищення вмісту) CD4+клітин у гострий період ІМ і в періоді ранньої реконвалесценції показано в роботах Y. Kasahara et al., G. Niedobitek et al., L. Quintanilla—Martinez et al. [13,15,16]. У дослідженнях D.H. Crawford, В.А. Кельцева і співавт., В.В. Новицького і співавт. показано, що рівень цих клітин при гострому ІМ не змінюється або знижується [7,8,10]. Відносно вмісту Т-лімфоцитів із фенотипом CD8+ дані різних дослідників також суперечливі. Більшість авторів вказують на підвищення рівня цих клітин в гостру фазу ІМ [3,7,8,10]. При цьому відзначається збільшення вмісту активованих Т-лімфоцитів із фенотипом CD8+ CD38+ і CD8+HLA-DR+ [7,12]. Причому, якщо інфекція переходить у хронічну форму, маркери активності CD8+-клітин зберігаються і через чотири місяці від початку гострої ЕБВ-інфекції [19]. Однак існують роботи, у яких відзначається тенденція до зменшення вмісту CD8+-клітин при гострій ЕБВ-інфекції або залежність цього показника від тяжкості захворювання: при легкій формі ІМ рівень CD8+-клітин підвищений, а при важкій — знижений [16,18]. Розбалансований у роботі клітинного імунітету проявляється також підвищенням у крові клітин-попередників кортикальних тимоцитів (CD3+CD4+CD8+) в гостру фазу ІМ, різним співвідношенням серед Т-лімфоцитів клітин із фенотипом CD45RO+ (клітини пам'яті) і CD45RA+ (зрілі неімунні, або «наївні», лімфоцити) [8,11]. Популяція великих незрілих тимоцитів (з фенотипом CD3+CD4+CD8+) експресує рецептор CD21+. Ймовірно, це сприяє інфікуванню цих клітин вірусом і пояснює здатність ЕБВ вражати Т-лімфоцити на ранніх етапах Т-лімфопоезу, ще в тимусі [3]. Відносно вмісту ще одних ефекторних клітин — природних кілерів, або НК-клітин (CD16+), — також існують суперечливі дані. У деяких дослідженнях вказується на підвищення (абсолютне і/або відносне) рівня цих клітин у гострий період ІМ [3,7,11]. Інші автори констатували зниження вмісту НК-клітин у той самий період захворювання, причому більш виразне при тяжкому перебігу ІМ [16,18].

У зв'язку з тим, що у всіх обстежених пацієнтів із гострою ЕБВ-інфекцією були виявлені зміни з боку експресії усіх досліджуваних диференційних маркерів Т- і В-клітинного імунітету, з метою корекції виявлених порушень усі хворі отримували мультипробіотик «Симбітер ацидо-

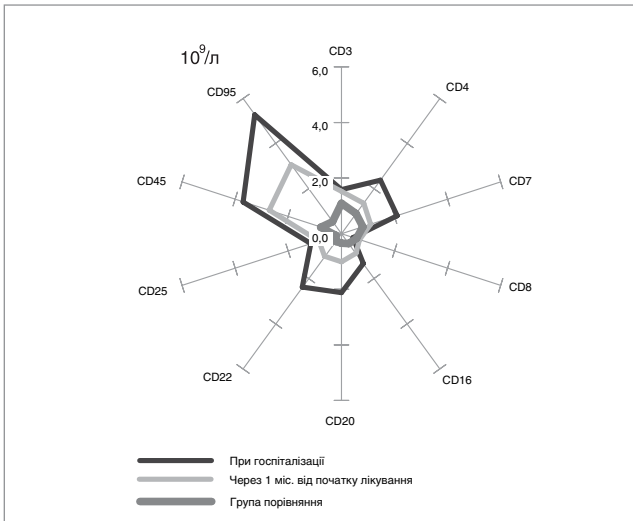


Рис. 3. Експресія диференційних маркерів імунокомпетентних клітин у дітей з гострою ЕБВ-інфекцією при госпіталізації та через місяць від початку терапії

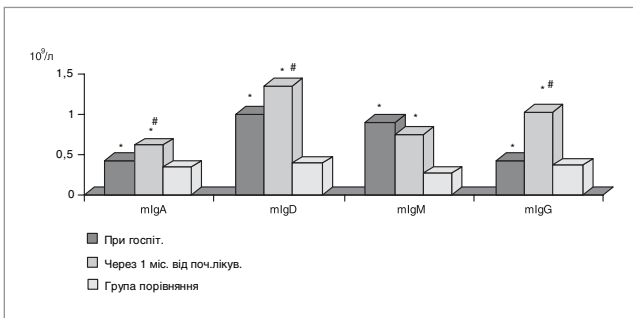


Рис.4. Експресія мембранних імуноглобулінів (mIg) у дітей з гострою ЕБВ-інфекцією при госпіталізації та через місяць від початку терапії: * $p < 0,05$ — достовірність різниці з показниками в групі порівняння; # $p < 0,05$ — достовірність різниці між показниками при госпіталізації та через місяць від початку лікування

фільний концентрований» по одному пакетику один раз на день протягом місяця. Усі діти отримували базисну терапію, яка включала антибактеріальні, антигістамінні препарати, ентеросорбенти, симптоматичну і місцеву терапію, за необхідності — дезінтоксикаційну інфузійну терапію з включенням глюкозо-сольових розчинів.

Параметри імунітету у дітей досліджували через місяць від початку терапії. Було виявлено, що у дітей з гострою ЕБВ-інфекцією рівні експресії маркерів CD7 та CD8 наблизилися до референтних значень, $p > 0,05$ (рис. 3). Рівень експресії диференційних маркерів CD4, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95 знижувався, але не досягнув референтних значень ($p < 0,05$). Рівень експресії маркера CD3 мав тенденцію до деякого зниження ($p < 0,05$). Рівень експресії mIgM мав тенденцію до зниження, але ще залишався вище референтного значення ($p < 0,05$). Рівні експресії mIgG, mIgA, mIgD залишалися підвищеними порівняно із значеннями в групі порівняння ($p < 0,05$) та мали тенденцію до підвищення порівняно із рівнем маркерів на момент госпіталізації ($p < 0,05$) (рис. 4).

У динаміці захворювання на фоні проведеної терапії із включенням мультипробіотика «Симбітер ацидофільний концентрований» у пацієнтів з гострою ЕБВ-інфекцією реєстрували наступне. Рівень експресії диференційного маркера CD3-лімфоцитів, що відображає загальну кількість Т- і В-лімфоцитів, зберігався підвищеним та практич-

но не змінився порівняно з показником при госпіталізації ($1,53 \pm 0,08 \times 10^9 / \text{л}$ і $1,58 \pm 0,05 \times 10^9 / \text{л}$ відповідно, $p > 0,05$). Знизився рівень експресії диференційних маркерів основних клітин, що беруть участь у протівірусному захисті та відповідають виразній запальній реакції, як з боку імунної системи, так і з боку всього організму: CD4 Т-лімфоцитів-хелперів — у 1,8 разу, CD7 Т-лімфоцитів (FcγR-маркер) — у 1,9 разу порівняно з показниками при госпіталізації ($p < 0,05$). Рівень експресії маркера CD8 Т-лімфоцитів у динаміці на фоні терапії підвищився в 1,6 разу та досягнув значення $0,68 \pm 0,06 \times 10^9 / \text{л}$ порівняно з показником при госпіталізації ($0,43 \pm 0,03 \times 10^9 / \text{л}$, $p < 0,05$) (рис. 3). Порівняно із значенням при госпіталізації ($p < 0,05$) знизився рівень експресії диференційних маркерів В-лімфоцитів: CD20 — у 2,1 разу, CD22 — у 2,3 разу. Рівень експресії натуральних кілерів, які беруть активну участь у протівірусному захисті і є предиктором переходу гострої ЕБВ-інфекції у хронічну, знизився у 1,5 разу ($p < 0,05$) (рис. 3). Зменшився рівень експресії диференційних маркерів активованих лімфоцитів: CD25 (IL-2R) — у 1,4 разу, CD45 — у 1,4 разу, CD95 (Fas-ліганд, маркер апоптозу) — у 1,7 разу порівняно з показниками до початку лікування ($p < 0,05$) (рис. 3). Рівень експресії mIgG збільшився у 2,4 разу, mIgA — у 1,4 разу, mIgD — у 1,3 разу порівняно із показниками до початку терапії ($p < 0,05$). Рівень експресії mIgM зменшився у 1,2 разу на фоні терапії ($p > 0,05$) (рис. 4).

Таким чином, у дітей з гострою ЕБВ-інфекцією на фоні призначеної комплексної терапії із включенням мультипробіотика Симбітер у динаміці захворювання порушені показники Т- і В-клітинного імунітету мали виразну позитивну динаміку, яка свідчила про ліквідацію значної запальної реакції з боку всього організму та відповідала клінічному одужанню, відсутності затяжного інфекційного процесу та загрози переходу ЕБВ-інфекції у хронічну форму. З боку динаміки експресії диференційних маркерів — предикторів переходу гострої ЕБВ-інфекції у хронічну форму реєстрували наступне: рівень експресії CD8 ЦТЛ при госпіталізації був знижений ($0,43 \pm 0,03$) порівняно із показником у дітей групи порівняння ($p < 0,05$). У динаміці захворювання на фоні проведеної терапії його рівень підвищився ($0,68 \pm 0,06$) та досягнув рівня аналогічного показника у дітей групи порівняння ($p > 0,05$). Рівень експресії CD16 природних кілерів у дітей з гострою ЕБВ-інфекцією при надходженні до стаціонару був підвищений в 2,9 разу ($1,32 \pm 0,07$) порівняно з показником у групі порівняння ($0,45 \pm 0,02$; $p < 0,01$). На тлі лікування цей показник знизився у 1,5 разу ($0,88 \pm 0,13$; $p < 0,05$), але залишався дещо підвищеним порівняно з референтним значенням ($p < 0,05$). Рівень експресії диференційних маркерів В-лімфоцитів при госпіталізації був підвищений: CD20 — у 3,9 разу ($2,12 \pm 0,3$), CD22 — у 7 разів ($2,38 \pm 0,4$) порівняно з показником у дітей групи порівняння ($p < 0,05$). На фоні терапії рівень CD20 знизився в 2,1 разу, CD22 — у 2,3 разу ($1,02 \pm 0,13$; $1,02 \pm 0,02$) ($p < 0,05$), але ще незначно залишався підвищеним порівняно з показником в групі порівняння ($0,54 \pm 0,06$; $0,34 \pm 0,04$; $p < 0,05$). Рівень експресії CD95 Т-лімфоцитів (Fas-ліганд, маркера апоптозу) у хворих на гостру ЕБВ-інфекцію при госпіталізації був різко підвищений ($5,29 \pm 0,5$) і перевищував аналогічний показник у групі порівняння ($0,54 \pm 0,09$) у 9,8 разу ($p < 0,001$). У динаміці захворювання на фоні комплексної терапії із включенням мультипробіотика Симбітер його рівень знизився у 1,7 разу ($3,06 \pm 0,2$; $p < 0,05$), але значення показника групи порівняння ще не досягнув ($p < 0,05$).

Вплив пробіотиків — складний і багатоплановий і полягає у наступному: нормалізація бар'єрної функції епітелію; поліпшення мікроекології кишечника — під-

вищення колонізаційної резистентності; регуляція цитокінового балансу та ангіогенезу — пригнічення фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- α) і пов'язаного з ним апоптозу колоноцитів, стимуляція інтерлейкіну 10, трансформуючого фактора росту бета (TGF-beta); підвищення синтезу секреторного імуноглобуліну А (sIgA); стимуляція факторів вродженого імунітету тощо [6,9].

Висновки

Мультипробиотик Симбітер діє на Т- і В-клітинну ланку імунітету шляхом нормалізації рівня експресії диференційних маркерів основних ІКК, проявляє імунорегулюючу дію, особливо при активації клітинної імунної відповіді, має імуномодулюючий ефект, особливо виразний при недостатності клітинного імунітету.

ЛІТЕРАТУРА

1. Апоптоз и иммунный ответ у детей с острым инфекционным мононуклеозом / Железникова Г. Ф., Васекина Л. И., Мочакова П. Е. [и др.] // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. — 2000. — № 4. — С. 87—94.
2. Біостатистика / Москаленко В. Ф., Гульчій О. П., Голубчиков М. В. [та ін.]; за заг. ред. чл.-кор. АМН України, проф. В. Ф. Москаленка. — К.: Книга плюс, 2009. — 184 с.
3. Инфекционный мононуклеоз: клиника, патогенез, новое в диагностике и терапии / Иванова В. В., Родионова О. В., Железникова Г. Ф. [и др.] // Инфекционные болезни. — 2004. — Т. 2, № 4. — С. 5—12.
4. Кудин А. П. Состояние специфического иммунитета при инфекционном мононуклеозе у детей / А. П. Кудин, Т. Р. Романовская, М. В. Белевцев // Мед. журн. — 2007. — № 1. — С. 102—106.
5. Кудин А. П. Эта «безобидная» вирус Эпштейна-Барра инфекция. Часть 1. Характеристика возбудителя. Реакция иммунной системы на вирус / А. П. Кудин // Мед. нов. — 2006. — № 7. — С. 14—22.
6. Мазанкова Л. Н. Пробиотики и иммунитет (концепция иммунологической терапии) / Л. Н. Мазанкова, Т. А. Чеботарева, И. Д. Майкова // Consilium medicum. 2007. — Экстр. вып. — С. 16—19.
7. Новицкий В. В. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у детей с инфекционным мононуклеозом / В. В. Новицкий, О. И. Уразова, И. О. Наследникова // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2002. — № 7. — С. 66—68.
8. Функциональное состояние и взаимосвязь иммунной и эндокринной систем у больных Эпштейн—Барра вирусным мононуклеозом / Кельцев В. А., Гребенкина Л. И., Петрова Е. В. [и др.] // Детские инфекции. — 2005. — № 1. — С. 29—32.
9. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д. С. Янковский. — К.: Эксперт ЛТД, 2005. — 362 с.
10. Crawford D. H. Biology and disease associations of Epstein—Barr virus / D. H. Crawford // Philos Trans R Soc. Lond B Biol sci. — 2001. — Vol. 356, № 1408. — P. 461—473.
11. Detection of Epstein—Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children / Ikuta K., Satoh Y., Hoshikawa Y. [et al.] // Microbes Infect. — 2000. — Vol. 2, № 2. — P. 115—120.
12. Differential kinetics and specificity of EBV-specific CD4+ and CD8+ T cells during primary infection / Precopio M. L. [et al.] // J. Immunol. — 2003. — Vol. 170, № 5. — P. 2590—2598.
13. Epstein—Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells / Niedobitek G., Agathangelou A., Herbst H. [et al.] // J. Pathol. 1997. — Vol. 182, № 2. — P. 151—159.
14. Epstein—Barr virus: an important vaccine target for cancer prevention / Cohen J. I., Fauci A. S., Varmus H., Nabel G. J. // Sci Transl Med. — 2011. — Nov 2. — Vol. 3 (107). — P. 107fs7.
15. Fulminant EBV+ T-cell lymphoproliferative disorder following acute/chronic EBV infection: a distinct clinicopathologic syndrome / Quintanilla-Martinez L., Kumar S., Fend F. [et al.] // Blood. 2000. — Vol. 96, № 2. — P. 443—451.
16. Kasahara Y. Cell type specific infection of Epstein—Barr virus (EBV) in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and chronic active EBV infection / Y. Kasahara, A. Yachie // Crit Rev Oncol Hematol. — 2002. — Vol. 44, № 3. — P. 283—294.
17. Mittrucker H. W. Mini-review: regulatory T cells and infection: suppression revisited / H. W. Mittrucker, S. H. Kaufmann // Eur. J. Immunol. — 2004. — Vol. 34. — P. 306—312.
18. Ohga S. Immunological aspects of Epstein—Barr virus infection / S. Ohga, A. Nomura, H. Takada // Crit Rev Oncol Hematol. — 2002. — Vol. 44, № 3. — P. 203—215.
19. Risk of Hodgkin's disease and other cancers after infectious mononucleosis / Hjalgrim H., Askling J., Sorensen P. [et al.] // J. Natl Cancer Inst. — 2000. — Vol. 92, № 18. — P. 1522—1528.
20. Zidovec L. S. Increased numbers of CD 38 molecules on bright CD8+ T lymphocytes in infectious mononucleosis caused by Epstein—Barr virus infection / L. S. Zidovec, A. Vince, R. O. Dakovic // Clin. Exp. Immunol. — 2003. — Vol. 133, № 3. — P. 384—390.

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ПРИ ЭПШТЕЙН—БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Ю.В. Выговская, С.А. Крамарев, Н.Н. Тарадий, Э.Д.С. Янковский, Э.С. Дымент

¹Кафедра детских инфекционных заболеваний Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

²Международный центр астрономических и медико-экологических исследований НАНУ, г.Киев, Украина

³НПК «О.Д.Пролисок», Украина

Цель: изучить состояние дифференцировочных маркеров иммунокомпетентных клеток у больных с острой ЭБВ-инфекцией и провести коррекцию выявленных изменений путем использования отечественного мультипробиотика Симбитер.

Пациенты и методы. Исследовали экспрессию дифференцировочных маркеров иммунокомпетентных клеток CD3, CD4, CD7, CD8, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95 и мембранные иммуноглобулины mIgA, mIgD, mIgM, mIgG с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии у 45 больных острой формой Эпштейн—Барр вирусной инфекции и у 15 практически здоровых детей.

Результаты. Установлено, что при острой форме ЭБВ-инфекции у детей повышена экспрессия маркеров CD95 в 9,8 раза, CD45 — в 4,8 раза, CD25 — в 5,5 раза, CD22 — в 7 раз, CD20 — в 3,9 раза, CD16 — в 2,9 раза, CD4 — в 2,7 раза, CD7 — в 2,6 раза, CD3 — в 1,4 раза и снижена экспрессия маркера CD8 в 1,3 раза. У больных острой ЭБВ-инфекцией значительно активирована экспрессия mlg: mlgA — в 1,3 раза, mlgD — в 2,7 раза, mlgM — в 3,5 раза, mlgG — в 1,2 раза. Применение комплексной терапии острой ЭБВ-инфекции с включением мультипробиотика «Симбитер ацидофильный концентрированный» по 1 пакету 1 раз в день в течение месяца изменяет показатели экспрессии маркеров CD7, CD8 в сторону нормализации и снижает экспрессию CD4, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95, mlgM, увеличивает компенсаторно экспрессию мембранных иммуноглобулинов mlgA, mlgG, mlgD, направленную на элиминацию разрушенных и инфицированных клеток.

Выводы. Мультипробиотик Симбитер действует на Т- и В-клеточное звено иммунитета путем нормализации уровня экспрессии дифференцировочных маркеров основных ИКК, проявляет иммунорегулирующее действие, особенно при активации клеточного иммунного ответа, обладает иммуномодулирующим эффектом, который особенно выражен при недостаточности клеточного иммунитета.

Ключевые слова: Эпштейн—Барр вирусная инфекция, инфекционный мононуклеоз, иммунитет, мультипробиотик Симбитер, дифференцировочные маркеры, иммунокомпетентные клетки, CD, мембранные иммуноглобулины, дети.

IMMUNOPATHOGENESIS AT EPSTEIN—BARR VIRAL INFECTION IN CHILDREN

¹O.V. Vygovskaya, ¹S.A. Kramarev, ²N.N.Taradiy, ³D.S. Jankovskiy, ³G.S. Dyment

¹Department of pediatric infectious diseases of the National medical university A.A. Bogomolets, Kiev, Ukraine

²Intrnational centre for astronomical, medical and ecological research of National Academy of Science of Ukraine, Kiev, Ukraine

³Company «O.D.Prolisok», Ukraine

Objective: to study the differentiation markers of immune cells in patients with acute EBV infection and to calibrate the changes detected by the use of domestic multiprobiotic Symbiter.

Patients and methods: Examined the expression of differentiation markers of immune cells CD3, CD4, CD7, CD8, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95 and membrane immunoglobulins mlgA, mlgD, mlgM, mlgG by confocal laser scanning microscopy in 45 patients with acute Epstein—Barr virus infection and 15 healthy children.

Results. Found that the acute form of EBV infection in children, elevated expression of the markers CD95 — 9,8 times, CD45 — 4,8 times, CD25 — 5,5 times, CD22 — 7 times, CD20 — 3,9 times, CD16 — 2,9 times, CD4 2,7 times, CD7 — 2,6 times, CD3 — 1,4 times and reduced expression of CD8 marker 1,3 times. Patients with acute EBV infection significantly activated expression of mlg:mlgA — 1,3 times, mlgD — 2,7 times, mlgM — 3,5 times, mlgG — 1,2 times. Application of complex therapy of acute EBV infection with the inclusion multiprobiotic Symbiter acidophilic concentrated 1 sachet 1 times per day for 1 month indicators eliminates expression markers CD7, CD8 towards normalization and reduces the expression of CD4, CD16, CD20, CD22, CD25, CD45, CD95, mlgM, compensatory increases the expression of membrane immunoglobulin mlgA, mlgG, mlgD aimed at the elimination of infected cells and destroyed.

Conclusions. Multiprobiotic Symbiter acts on T-and B-cellular immunity by normalizing the level of expression of differentiation markers basic cells exhibits immunoregulatory effects, especially when activating the cellular immune response has an immunomodulatory effect, which is especially pronounced at the failure of cellular immunity.

Key words: Epstein—Barr virus infection, infectious mononucleosis, immunity, multiprobiotic Symbiter, differentiation markers, immunocompetent cells, CD, membrane immunoglobulins, children.

Сведения об авторах:

Крамарев Сергей Александрович — д.мед.н., проф., зав. кафедрой детских инфекционных болезней Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца. Адрес: г. Киев, ул. Дегтяревская, 23. Телефон: 4837462; e-mail: sKramarev@yandex.ru.

Выговская Оксана Валентиновна — к.мед.н., ас. кафедры детских инфекционных болезней Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца. Адрес: г. Киев, ул. Дегтяревская, 23. Телефон: 4837484; e-mail: vigovska@online.ua.

Тарадий Нелли Николаевна — к.мед.н., ведущий научн. сотр., зав. лаборатории иммунологии Международного центра астрономических и медико-экологических исследований НАНУ. Адрес: г. Киев, ул. Заболотного, 27. Телефон 526-22-86; e-mail: tkitar@mail.ru

Янковский Дмитрий Станиславович — д.биол.н., проф., Генеральный директор НПК «О.Д.Пролисок».

Адрес: Киевская обл., Васильковский р-н, с. В. Вильшанка. Телефон: (044)3319868; e-mail: prolisok_kiev@ua.fm

Дымент Галина Семеновна — к.тех.н., директор научного центра НПК «О.Д. Пролисок».

Адрес: Киевская обл., Васильковский р-н, с. В. Вильшанка. Телефон: (044)3319868.

Статья поступила в редакцию 27.11.2013 г.

НОВОСТИ

Анализ генотипа поможет в борьбе с лишними килограммами

Российские ученые из Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН разработали новый метод борьбы с лишним весом на основе анализа генотипа.

Метод заключается в том, что пациенту необходимо сдать кровь, которую специалисты анализируют на наличие девяти генетических маркеров. Каждый из этих маркеров указывает на отдельные отклонения организма от нормы, влияющие на набор лишних килограммов.

Эксперты утверждают, что наиболее эффективна данная методика для борьбы с детским ожирением, так как у малышей еще нет вредных привычек, влияющих на набор веса, что позволяет разработать подходящую диету.

Так как причин набора веса множество, то и решать эту проблему нужно по-разному, подчеркивают ученые. Так, одним достаточно лишь регулярно ходить в спортзал, а другим необходимо отказаться от пива. Борьба с лишними килограммами очень важна для оздоровления организма, ведь это один из факторов, повышающих риск развития сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний.

Источник: <http://medexpert.org.ua>