Динамическая оценка реагирования иммунной системы детей разного возраста при Эпштейна–Барр вирусном инфекционном мононуклеозе

Кашуба Э.А.,
Антонова М.В.,
Дроздова Т.Г.,
Любимцева О.А.,
Ханипова Л.В.,
Огошкова Н.В.,
Чехова Ю.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 625023, г. Тюмень, Российская Федерация

Цель – провести динамическую оценку реагирования иммунной системы детей разного возраста при Эпштейна–Барр вирусном (ВЭБ) инфекционном мононуклеозе (ИМ).

Материал и методы. Проведено комплексное иммунологическое обследование 98 детей с ВЭБ ИМ. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10 с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты и обсуждение. На 1-й неделе заболевания изменения субпопуляционного состава лимфоцитов во всех группах носили однонаправленный характер, однако степень выраженности иммунологических реакций в зависимости от возраста ребенка была различной. В частности, у детей 3–6 лет отмечено большее содержание CD23⁺, CD38⁺, а у детей старше 7 лет – CD8⁺, CD16⁺, CD11b⁺-лимфоцитов. При этом у детей 3–6 лет зафиксировано преобладание Th2 иммунного ответа, у детей 7–11 лет тип реагирования был смешанный – Th1/Th2, а в группе 12–17 лет происходил полноценный запуск Th1-ответа. При повторном исследовании (на 3-й неделе) отмечалось сохранение статистически значимых отклонений содержания основных субпопуляций лимфоцитов. Однако уровень CD16⁺-лимфоцитов у детей 3–6 и 11–17 лет и уровень CD11b⁺-лимфоцитов у детей 3–6 лет снижался до нормативных значений. Количество CD20⁺- и CD23⁺-лимфоцитов становилось значимо больше в младшей возрастной группе, а CD38⁺-лимфоцитов в группе 7–11 лет. При этом уровень цитокинов во всех возрастных группах свидетельствовал о преобладании Th2-ответа.

Заключение. В результате анализа у детей с ВЭБ ИМ обнаружены возрастные особенности динамики иммунологических реакций. В группе детей 3–6 лет выявлена несбалансированность иммунного ответа, заключающаяся в наиболее значимых отклонениях содержания большей части субпопуляций лимфоцитов и преобладании на всем протяжении исследования цитокинов Th2 иммунного ответа. В группе детей 7–11 лет реакция иммунной системы на ВЭБ также не была оптимальной. Это выражалось в запуске иммунного ответа по смешанному Th1/Th2-типу с переключением на Th2 по мере стихания клинической симптоматики и сохранением статистически значимо высокого содержания субпопуляционного состава лимфоцитов. Иммунный ответ подростков 12–17 лет на Эпштейна–Барр вирусную инфекцию характеризовался закономерной сменой Th1 на Th2 иммунный ответ и наибольшей средней интенсивностью межиммунных взаимодействий. Комплексную иммунологическую реакцию у детей 12–17 лет можно считать наиболее благоприятным ответом, способствующим элиминации Эпштейна–Барр вируса.

Ключевые слова:

Эпштейна–Барр вирус, инфекционный мононуклеоз, дети, цитокины, лимфоциты, Th1 иммунный ответ, Th2 иммунный ответ

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Кашуба Э.А., Антонова М.В., Дроздова Т.Г., Любимцева О.А., Ханипова Л.В., Огошкова Н.В., Чехова Ю.С. Динамическая оценка реагирования иммунной системы детей разного возраста при Эпштейна–Барр вирусном инфекционном мононуклеозе // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9, № 1. С. 63–72. doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-1-63-72
Статья поступила в редакцию 01.08.2019. Принята в печать 13.01.2020.

Dynamic evaluation of the immune system response of children of different ages in Epstein-Barr viral infectious mononucleosis

*Kashuba E.A., Antonova M.V., Drozdova T.G.,
Lyubimtseva O.A., Khanipova L.V.,
Ogoshkova N.V., Chekhova Yu.S.*

Tyumen State Medical University of the Ministry
of Health of the Russian Federation, 625023, Tyumen,
Russian Federation

Aim to reveal dynamic assessment of the immune system response in children of different ages in Epstein–Barr viral (EBV) infectious mononucleosis (IM).

Material and methods. We conducted the study of 98 children with EBV IM, including a comprehensive immunological examination. Statistical data processing was carried out in the Statistica 10.

Results and discussion. Changes in the subpopulation composition of lymphocytes in all groups at 1 week were unidirectional. However, the degree of severity of immunological reactions was different depending on the age of the child. Children aged 3–6 years had a higher content of CD23⁺, CD38⁺, and children over 7 years – CD8⁺, CD16⁺, CD11b⁺-lymphocytes. In children 3–6 years old was recorded the predominance of Th2 immune response, in children 7–11 years old the type of response was mixed – Th1/Th2, and in the group of 12–17 years old there was a full launch of Th1-response. The preservation of significantly high values of the main lymphocyte subpopulations was noted in the repeated study (3 week). However, the level of CD16⁺-lymphocytes in children 3–6 and 11–17 years and the level of CD11b⁺-lymphocytes in children 3–6 years decreased to standard values. The level of CD20⁺ and CD23⁺-lymphocytes became significantly higher in the I group, and the level of CD38⁺-lymphocytes increased in the 2 group. The level of cytokines in all age groups indicated the predominance of Th2-response.

Conclusion. We have found age-specific dynamics of immunological reactions as a result of the analysis of immunological parameters in children with EBV IM. In the group of 3–6 years, we revealed an imbalance of the immune response, consisting of the most significant deviations of the content of most lymphocytes and the predominance of cytokines Th2 immune response. In the group of 7–11 years, the immune response to the Epstein–Barr virus wasn't optimal too. This was expressed in the launch of a mixed Th1/Th2 immune response with switching to Th2 as the clinical symptoms subsided and maintaining a statistically significantly high content of lymphocytes subpopulation. The immune response of patients 12–17 years old with Epstein–Barr viral infectious was characterized by a logical shift of Th1 to Th2 immune response and the greatest average intensity immune interactions. Thus, a complex immunological reaction in children 12–17 years could be considered the most favorable response, contributing to the elimination of Epstein–Barr virus.

Keywords:

Epstein–Barr virus, infectious mononucleosis, children, cytokines, lymphocytes, Th1 immune response, Th2 immune response

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For citation: Kashuba E.A., Antonova M.V., Drozdova T.G., Lyubimtseva O.A., Khanipova L.V., Ogoshkova N.V., Chekhova Yu.S. Dynamic evaluation of the immune system response of children of different ages in Epstein-Barr viral infectious mononucleosis. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2020; 9 (1): 63–72. doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-1-63-72 (in Russian)

Received 01.08.2019. **Accepted** 13.01.2020.

В настоящее время не вызывает сомнения, что инфекционный мононуклеоз (ИМ), вызванный вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ), является иммунопатологическим состоянием [1, 2]. Благоприятное течение Эпштейна–Барр вирусной инфекции (ЭБВИ) в остром периоде сопровождается повышением содержания CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺-лимфоцитов, уровня IgA, IgM и IgG, активацией поздних этапов (HLA-DR⁺-лимфоциты) апоптоза (CD95⁺-лимфоциты) [3–8], уровня интерферонов (ИФН) α , γ (ИФН- γ); интерлейкинов (ИЛ) 1 β и фактора некроза опухоли α (ФНО α), а следовательно, смещением иммунного ответа в сторону Th1 [9–11]. Неблагоприятным фактором, указывающим на вероятность затяжного течения ЭБВИ в начальном периоде заболевания, по мнению ряда авторов, служит смещение иммунного ответа в сторону Th2 [9, 10, 12]. Это проявляется в недостаточности синтеза ФНО α , ИФН- γ , ИЛ-8 на фоне усиленной продукции ИЛ-4 [13]. В результате разбалансировки цитокиновой системы уменьшается содержание CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD-25, снижается функциональная активность фагоцитов [14], увеличивается уровень CD38⁺, иммуноглобулинов, преимущественно IgM, и циркулирующих иммунных комплексов [10, 12, 14].

Таким образом, установлено, что соотношение отдельных интерлейкинов и субпопуляций лимфоцитов в сыворотке крови ребенка с ВЭБ ИМ является информативным критерием тяжести течения заболевания. Однако в литературе отсутствует исчерпывающая информация о возрастных особенностях подобных иммунологических сдвигов.

Цель работы – оценка состояния показателей иммунной системы детей разного возраста при ВЭБ ИМ.

Материал и методы

Проведено динамическое проспективное когортное исследование 98 детей с ВЭБ ИМ. Диагноз устанавливали на основании наличия типичного симптомокомплекса заболевания, определения в крови антител к капсидному антигену ВЭБ класса М (VCA IgM) методом иммуноферментного анализа и качественного выявления ДНК вируса методом полимеразной цепной реакции.

С учетом возрастных особенностей иммунного ответа и критических периодов, которые проходит детский организм по мере взросления, были сформированы 3 группы: 1-я группа – дети 3–6 лет ($n=29$), 2-я группа – 7–11 лет ($n=25$) и 3-я группа – 12–18 лет ($n=45$). Группа контроля – 20 здоровых детей.

Критерии исключения из исследования: отсутствие маркеров активной ЭБВИ; обнаружение маркеров активности других герпесвирусов; наличие симптомов обострения сопутствующей патологии; отказ законных представителей несовершеннолетних детей от участия в исследовании.

Комплексное иммунологическое обследование пациентов проведено на 1-й и 3-й неделях ИМ. Оно включало иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови с помощью расширенной панели моноклональных антител (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD11b⁺, CD16⁺, CD20⁺, CD23⁺, CD38⁺) и определение концентрации цитокинов (ИЛ-1, -2, -4, -6, -10; ИФН- γ , ФНО α).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office и Statistica 10. Значения оцениваемых показателей выражали медианой (Me), 25-м и 75-м квартилями (C25–C75) (по результатам расчетов критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка для ряда показателей гипотеза о нормальности распределения была отклонена). Для обработки результатов исследования использовали критерий Вилкоксона (для зависимых выборок) и критерий Манна–Уитни (для независимых выборок). Статистическую связь иммунологических показателей определяли по коэффициенту корреляции Спирмена. Сильными связями считали $\geq 0,6$, в которых параметры были статистически значимо взаимосвязаны ($p \leq 0,05$).

Рассчитывали интегральные показатели корреляционных матриц:

$$\text{процент достоверных связей (ПДС)} = \frac{n \text{ достоверных связей}}{n \text{ возможных кор. связей}} \times 100;$$

$$\text{коэффициент тесноты связей (КТС)} = \frac{\sum \text{достоверных кор. связей}}{\sum \text{недостоверных связей}},$$

который указывает на преобладание достоверных связей (КТС >1) или недостоверных связей (КТС <1);

$$\text{средняя интенсивность связей (СИС)} = \frac{\sum \text{величин связей}}{n \text{ изученных связей}}.$$

Результаты и обсуждение

При комплексной оценке субпопуляционного состава лимфоцитов у детей на 1-й неделе ИМ была выявлена однонаправленность всех иммунологических сдвигов при статистически значимо разной выраженности этих изменений в зависимости от возраста ребенка.

Отмечено увеличение абсолютного количества лимфоцитов, несущих маркер CD3⁺: 1-я группа – 5,19 (2,19–10,05) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,000$; 2-я группа – 3,46 (2,35–6,99) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,001$; 3-я группа – 5,04 (2,56–7,92) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$. Абсолютное содержание лимфоцитов с хелперной функцией, несущих рецептор CD4⁺, увеличивалось статистически незначимо: 1-я группа – 1,07 (0,67–1,60) $\times 10^9/\text{л}$; 2-я группа – 0,92 (0,76–1,30) $\times 10^9/\text{л}$; 3-я группа – 0,87 (0,36–1,14) $\times 10^9/\text{л}$. Было обнаружено нарастание количества цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) с маркером CD8⁺: 1-я группа – 2,31 (1,11–6,80) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,000$; 2-я группа – 2,44 (1,00–5,26) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,003$; 3-я группа – 2,94 (1,14–5,75) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$, играющих ключевую роль в раннем сдерживании репликации вируса за счет активации апоптоза инфицированных В-лимфоцитов. Содержание киллеров CD16⁺-лимфоцитов: 1-я группа – 0,66 (0,44–0,89) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,016$; 2-я группа –

0,74 (0,41–1,25) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,023$; 3-я группа – 0,62 (0,52–1,10) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,007$, и CD11b⁺-лимфоцитов: 1-я группа – 0,90 (0,79–1,81) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,001$; 2-я группа – 1,75 (0,62–2,11) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,021$; 3-я группа – 1,15 (0,63–2,06) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$, возросло. В связи с выраженным дисбалансом в соотношении содержания CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов происходило статистически значимое уменьшение иммунорегуляторного индекса, наиболее выраженное у детей старшего возраста: 1-я группа – 0,39 (0,26–0,81) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,000$; 2-я группа – 0,34 (0,26–0,98) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,001$; 3-я группа – 0,23 (0,12–0,37) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$. Подобные изменения свидетельствовали о развитии эффекторной фазы цитотоксического иммунного ответа.

Реакция гуморального звена на внедрение вируса на 1-й неделе ИМ характеризовалась статистически значимым уменьшением абсолютного содержания CD20⁺-лимфоцитов. Уровень В-лимфоцитов у детей 12–17 лет по сравнению с младшими возрастными группами был минимален: 1-я группа – 0,25 (0,17–0,46) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,001$; 2-я группа – 0,20 (0,14–0,27) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,000$; 3-я группа – 0,11 (0,10–0,17) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$; $p_{1-3}=0,034$, $p_{2-3}=0,043$. Содержание активированных CD23⁺-лимфоцитов у детей 3–6 лет повышалось до 0,22 (0,05–0,33) $\times 10^9/\text{л}$, а у 7–11 лет – до 0,16 (0,12–0,18) $\times 10^9/\text{л}$, тогда как у пациентов 12–17 лет уменьшалось до 0,11 (0,07–0,20) $\times 10^9/\text{л}$ в сравнении с показателем контрольной группы (отклонения были статистически незначимы, $p>0,05$). Подобные изменения могут быть связаны с апоптозом инфицированных В-лимфоцитов. Однако значимое увеличение содержания лимфоцитов, несущих маркер плазматических клеток CD38⁺: 1-я группа – 3,88 (2,15–6,33) $\times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,000$; 2-я группа – 2,60 (1,82–3,12) $\times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,005$; 3-я группа – 2,47 (1,10–3,06) $\times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,004$, указывало на возможную компенсаторно-перераспределительную причину уменьшения содержания В-лимфоцитов в периферическом русле (рис. 1).

Таким образом, у детей 3–6 лет отмечено статистически значимо большее содержание CD23⁺- и CD38⁺-лимфоцитов. У пациентов 7–11 и 12–17 лет регистрировали большее содержание клеток, проявляющих цитотоксическую активность и киллерные функции (CD8⁺-, CD16⁺-, CD11b⁺-лимфоцитов), и минимальный уровень CD4⁺/CD8⁺ (см. рис. 1).

Анализ цитокинового профиля детей с ВЭБ ИМ на 1-й неделе заболевания выявил, что содержание ИЛ-1, основного провоспалительного цитокина, у детей 3–6 лет было снижено, тогда как в старших возрастных группах уровень этого интерлейкина повышался ($p_2=0,034$). Отсутствие выраженной стимуляции синтеза провоспалительного медиатора ИЛ-1 при ИМ, по мнению ряда авторов, может быть связано с ингибирующим воздействием ИЛ-1РА, продукцию которого в нейтрофилах индуцирует ВЭБ. Это приводит к недостаточности ИЛ-1-зависимых механизмов клеточного иммунитета [15]. Таким образом, уменьшение ИЛ-1 у детей дошкольного возраста могло быть связано с запоздалой реакцией иммунной системы на репликацию ВЭБ (табл. 1).

У всех детей в начальном периоде заболевания уровень ИФН- γ – индуктора Th1-типа иммунного ответа был выше показателя контрольной группы. Статистически значимым это повышение было у детей 3–6 [10,90 (10,90–20,50) пг/мл, $p_1=0,000$] и 7–11 лет [16,60 (3,60–19,80) пг/мл, $p_2=0,02$]. Уровень ИЛ-2, играющего роль в ранней пролиферации и дифференцировке лимфоцитов, значимо снижался у детей 3–6 лет [0,0 (0,0–0,0) пг/мл, $p_1=0,000$] и нарастал у детей 12–17 лет [57,26 (1,50–60,80) пг/мл, $p_3=0,004$]. Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении другого медиатора, синтезируемого лимфоцитами CD4⁺ 1-го типа (Th1), – ФНО α [1,70 (1,10–5,60) пг/мл, $p_1=0,000$; 61,70 (47,30–72,890) пг/мл, $p_3=0,000$; $p_{1-3}=0,03$] (см. табл. 1).

О состоянии Th2 иммунного ответа можно было судить по содержанию его основных медиаторов. Уровень ИЛ-4 был повышен у детей 3–6 [0,20 (0,10–0,20) пг/мл, $p_1=0,000$] и 7–11 лет [0,12 (0,2–0,30) пг/мл, $p_{2-3}=0,026$]. Содержание ИЛ-6 у детей всех возрастных групп многократно увеличивалось, однако максимальным уровень данного цитокина был у детей старше 12 лет [4,60 (4,60–5,30) пг/мл, $p_1=0,000$; 8,60 (3,85–9,93) пг/мл, $p_2=0,000$, 14,89 (5,80–18,90) пг/мл, $p_3=0,007$]. Содержание другого важного медиатора Th2 иммунного ответа ИЛ-10 было значимо высоким по сравнению с контрольной группой [31,30 (31,30–36,70) пг/мл, $p_1=0,000$; 12,41 (10,2; 26,96) пг/мл, $p_2=0,000$; 13,20 (10,44; 18,30) пг/мл, $p_3=0,000$] и обратно пропорциональным возрасту ребенка ($p_{1-3}=0,042$) (см. табл. 1).

Таблица 1. Медианный уровень и интерквартильный размах цитокинов в сыворотке крови пациентов на 1-й неделе болезни в сравнении с контрольной группой, Ме (25%; 75%)

Цитокины	Уровень цитокинов, пг/мл			
	контрольная группа (n=10)	1-я группа, дети 3–6 лет (n=8)	2-я группа, дети 7–11 лет (n=8)	3-я группа, дети 12–17 лет (n=5)
ИЛ-1	0,29 (0,10; 0,53)	0,0 (0,0; 0,90)	0,87** (0,15; 1,59)	0,74 (0,38; 1,72)
ИФН- γ	6,70 (4,20; 14,80)	10,90*** (10,90; 20,50)	16,60* (3,60; 19,80)	11,90 (0,0; 23,80)
ИЛ-2	11,85 (8,65; 15,0)	0,0*** (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	57,26** (1,50; 60,80)
ФНО α	17,61 (3,65; 13,53)	1,70*** (1,10; 5,60)	0,40 (0,30; 0,90)	61,70*** (47,30; 72,89)
ИЛ-4	0,008 (0,0; 0,01)	0,20*** (0,10; 0,20)	0,12 (0,02; 0,30)	0,0 (0,0; 0,20)
ИЛ-6	0,004 (0,001; 0,005)	4,60*** (4,60; 5,30)	8,60*** (3,85; 9,93)	14,89** (5,80; 18,90)
ИЛ-10	1,65 (1,23; 1,84)	31,30*** (31,30; 36,70)	12,41*** (10,2; 26,96)	13,20*** (10,44; 18,30)

Примечание. * – статистически значимые различия с группой контроля (* – $p\leq 0,05$; ** – $p\leq 0,01$; *** – $p\leq 0,001$); жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p\leq 0,05$) между показателями 1-й и 3-й групп; курсивом – статистически значимые различия ($p\leq 0,05$) между показателями 2-й и 3-й групп.

Рис. 1. Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов (Лф) периферической крови с помощью моноклональных антител у больных инфекционным мононуклеозом на 1-й неделе болезни

Следовательно, у детей 3–6 и 7–11 лет на 1-й неделе ИМ развивалась недостаточность Th1-подобного варианта иммунного ответа, которая заключалась в значимом снижении продукции цитокинов Th1-лимфоцитами (ИЛ-2, ФНО α),

на фоне повышения продукции цитокина, запускающего процессы дифференцировки Th0- в Th1-клетки (ИФН- γ). У детей 12–17 лет происходил полноценный запуск Th1 иммунного ответа. При этом максимальный уровень цито-

кинов, свидетельствующих о запуске Th2-ответа, отмечался у детей 3–6 лет. По данным научной литературы, преобладание Th2 иммунного ответа в ранние сроки ИМ рассматривается в качестве фактора, препятствующего элиминации ВЭБ (см. табл. 1).

На 3-й неделе ИМ во всех возрастных группах сохранялись статистически значимо высокие значения основных субпопуляций лимфоцитов. Однако у детей 3–6 лет была зафиксирована более значимая тенденция по нормализации содержания основных субпопуляций Т-лимфоцитов. Содержание CD3⁺-лимфоцитов постепенно уменьшалось. Эта тенденция более всего прослеживалась в 1-й группе: 1-я группа – $3,71 (2,68–5,38) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,000$, 2-я группа – $2,83 (2,61–2,85) \times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,000$; 3-я группа – $3,24 (1,91–3,81) \times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$. Уровень CD4⁺-лимфоцитов оставался повышенным, что, вероятно, было связано с выраженным лимфоцитозом, развивающимся при ЭБВИ [1-я группа – $1,04 (0,97–1,50) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,021$; 2-я группа – $0,90 (0,69–1,13) \times 10^9/\text{л}$; 3-я группа – $0,85 (0,72–1,15) \times 10^9/\text{л}$]. Количество CD8⁺-лимфоцитов уменьшалось, что было закономерно для поздних сроков болезни [1-я группа – $1,65 (1,16–2,21) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,000$; 2-я группа – $1,14 (1,05–1,61) \times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,004$; 3-я группа – $1,76 (0,74–2,50) \times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$] в связи с переключением иммунного ответа на Th2-тип. Концентрация CD16⁺-лимфоцитов в 1-й и 3-й группах уменьшалась до уровня нормальных значений, тогда как во 2-й группе оставалась повышенной [1-я группа – $0,70 (0,33–0,82) \times 10^9/\text{л}$; 2-я группа – $0,58 (0,57–0,64) \times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,041$; 3-я группа – $0,50 (0,30–0,66) \times 10^9/\text{л}$]. При повторном исследовании у детей 3–6 лет отмечена нормализация содержания CD11b⁺-лимфоцитов, а в группах 7–11 и 12–17 лет этот показатель оставался повышенным. Разница была статистически значима [1-я группа – $0,64 (0,45–0,89) \times 10^9/\text{л}$; 2-я группа – $0,84 (0,71–1,14) \times 10^9/\text{л}$, $p_2=0,003$; 3-я группа – $0,90 (0,77–1,12) \times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$] (рис. 2).

Теперь о показателях гуморального звена иммунного ответа: на 3-й неделе заболевания у детей старше 7 лет сохранялся статистически значимый дефицит CD20⁺-лимфоцитов, тогда как у детей 3–6 лет содержание этой субпопуляции В-лимфоцитов было выше: 1-я группа – $0,31 (0,24–0,35) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,001$; 2-я группа – $0,09 (0,09–0,15) \times$

$10^9/\text{л}$, $p_2=0,000$; 3-я группа – $0,12 (0,10–0,21) \times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,000$; $p_{1-2}=0,030$; $p_{1-3}=0,018$. Подобная динамика может быть связана с физиологическим лимфоцитозом, характерным для детей дошкольного возраста, или с совершенствованием специфического гуморального звена иммунного ответа у детей старшего возраста, а следовательно, с более быстрым переходом В-лимфоцитов в плазматические клетки и последующей выработкой антител. Количество клеток, несущих маркер CD23⁺, у детей дошкольного возраста возвращалось к уровню возрастной нормы и соответственно становилось более высоким по сравнению со старшими группами [1-я группа – $0,21 (0,17–0,27) \times 10^9/\text{л}$; 2-я группа – $0,08 (0,07–0,14) \times 10^9/\text{л}$; 3-я группа – $0,09 (0,05–0,18) \times 10^9/\text{л}$, $p_{1-3}=0,050$]. Отмечено постепенное снижение содержания CD38⁺-лимфоцитов, которое превышало показатель нормы, значительно выраженное у детей 7–11 лет [1-я группа – $2,21 (1,38–5,32) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,010$; 2-я группа – $1,34 (1,26–1,53) \times 10^9/\text{л}$; 3-я группа – $1,98 (1,44–3,06) \times 10^9/\text{л}$, $p_3=0,001$] (см. рис. 2).

При повторном исследовании в цитокиновом профиле у детей 3–6 лет отмечено статистически значимо большее по сравнению со старшими возрастными группами содержание ИЛ-1 [1,20 (0,25–2,05) пг/мл, $p_{1-2}=0,020$], что свидетельствовало об отсутствии регресса иммунного воспаления в организме детей младшего возраста (табл. 2).

Уровень продукции индуктора Th1-подобного иммунного ответа ИФН- γ был обратно пропорционален возрасту детей [16,35 (6,40–32,0) пг/мл, $p_1=0,037$]. Содержание ИЛ-2 во всех группах было значимо меньше по сравнению с контрольным показателем [0,30 (0,0–1,25) пг/мл, $p_1=0,000$; 1,0 (0,0–2,10) пг/мл, $p_2=0,000$; 0,0 (0,0–0,30) пг/мл, $p_3=0,000$]. Однако в динамике заболевания у детей младше 12 лет продукция данного цитокина нарастала, а у подростков старше 12 лет значимо снижалась. Содержание ФНО α во всех группах было меньше контрольного значения [0,20 (0,0–21,50) пг/мл, $p_2=0,002$; 0,30 (0,0–2,50) пг/мл, $p_3=0,015$; $p_{1-3}=0,004$] (см. табл. 2).

Содержание ИЛ-4 – ключевого медиатора регуляции Th2-варианта иммунного ответа у детей всех возрастных групп оставалось многократно повышенным [0,25 (0,0–0,55) пг/мл, $p_1=0,016$; 0,30 (0,20–0,70) пг/мл, $p_2=0,000$]. Уровень ИЛ-6

Таблица 2. Медианный уровень и интерквартильный размах цитокинов в сыворотке крови пациентов на 3-й неделе болезни в сравнении с группой контроля, Ме (25%; 75%)

Цитокины	Уровень цитокинов, пг/мл			
	группа контроля (n=10)	1-я группа, дети 3–6 лет (n=8)	2-я группа, дети 7–11 лет (n=8)	3-я группа, дети 12–17 лет (n=5)
ИЛ-1	0,29 (0,10; 0,53)	1,20 (0,25; 2,05)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 1,20)
ИФН- γ	6,70 (4,20; 14,80)	16,35** (6,40; 32,0)	10,60 (0,0; 16,60)	5,90 (0,0; 18,70)
ИЛ-2	11,85 (8,65; 15,0)	0,30*** (0,0; 1,25)	1,0*** (0,0; 2,10)	0,0*** (0,0; 0,30)
ФНО α	17,61 (3,65; 13,53)	3,65 (1,70; 49,35)	0,20** (0,0; 21,50)	0,30* (0,0; 2,50)
ИЛ-4	0,008 (0,0; 0,01)	0,25* (0,0; 0,55)	0,30*** (0,20; 0,70)	0,14 (0,0; 0,10)
ИЛ-6	0,004 (0,001; 0,005)	4,50** (0,0; 18,45)	0,0* (0,0; 0,30)	5,6 (0,0; 9,0)
ИЛ-10	1,65 (1,23; 1,84)	24,30*** (15,50; 26,65)	8,30*** (5,0; 11,70)	5,60 (4,73; 12,30)

Примечание. * – статистически значимые различия с группой контроля (* – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$); жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между показателями 1-й и 2-й групп; курсивом выделены статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между показателями 1-й и 3-й групп; полужирным курсивом выделены статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между показателями 2-й и 3-й групп.

Рис. 2. Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов (Лф) периферической крови с помощью моноклональных антител у больных инфекционным мононуклеозом на 3-й неделе болезни

в динамике снижался, при этом у детей 7–11 лет это изменение было статистически значимым по сравнению с группой контроля [0,0 (0,0–0,30) пг/мл, $p_2=0,000$]. Продукция ИЛ-10 уменьшалась обратно пропорционально возрасту ребенка,

однако уровень этого цитокина на 3-й неделе по-прежнему оставался значимо повышенным [24,30 (15,50–6,65) пг/мл, $p_1=0,000$; 8,30 (5,0–11,70) пг/мл, $p_2=0,000$; $p_{1-2}=0,008$] (см. табл. 2).

Таблица 3. Интегральные показатели корреляционного баланса иммунной системы у детей с Эпштейна–Барр вирусным инфекционным мононуклеозом, Me (25%; 75%)

Показатель	Группа исследования						
	контрольная	1-я (3–6 лет)		2-я (7–11 лет)		3-я (12–17 лет)	
		1 нед	3 нед	1 нед	3 нед	1 нед	3 нед
Процент достоверных связей	8,66	19,5	8,7	11	7	12	16
Коэффициент тесноты связей	0,24	0,52	0,23	0,24	0,16	0,22	0,37
Средняя интенсивность связей	0,34	0,40	0,38	0,48	0,46	0,52	0,37

Соотношение интерлейкинов на 3-й неделе ИМ свидетельствовало о том, что стихание клинической симптоматики заболевания во всех возрастных группах сопровождалось преобладанием Th2-типа иммунного ответа. При этом у детей 3–6 лет сохранялись признаки разбалансировки клеточно опосредованного ответа, а повышенный уровень ИЛ-1 ($p_{1-2}=0,020$) указывал на отсутствие регресса иммунного воспаления. У детей старшего возраста происходило уменьшение активности медиаторов Th1-ответа (см. табл. 2).

Анализ интегральных показателей корреляционных матриц позволил выявить различия в исследуемых группах в зависимости от возраста детей. У детей 3–6 и 7–11 лет динамика показателей была однотипна. Она выражалась в активации межиммунного взаимодействия (ПДС и КТС) и увеличении средней силы связи. Наибольшая сопряженность системы (ПДС) определена у дошкольников, однако сила связей была слабой. Эти показатели указывали на то, что в начальном периоде ИМ в противовирусный ответ вовлекалось большое количество компонентов иммунной системы, однако их взаимодействие было нестойким, что подтверждено уменьшением числа межиммунных связей на 3-й неделе. При повторном исследовании средняя сила значимых связей у детей 1-й группы оставалась на прежнем уровне. К особенностям реагирования детей 7–11 лет по сравнению с другими группами можно отнести минимальный ПДС и СИС. У детей старшей возрастной группы динамика была иной: сопряженность в системе нарастала к 3-й неделе болезни, а наибольшая СИС приходилась на начальный период болезни, что свидетельствовало о постепенном развитии иммунного ответа, достаточной активности, а также сбалансированности системы на протяжении всего периода болезни (табл. 3).

Таким образом, в результате проведенного анализа показателей иммунного ответа у детей с ВЭБ ИМ обнаружены возрастные особенности его динамики.

У детей 3–6 лет на 1-й неделе болезни выявлены значительное отклонение содержания части субпопуляций лим-

фоцитов (CD16⁺, CD11b⁺, CD38⁺) и формирование наибольшего количества нестойких корреляционных межиммунных связей. Статистически значимое увеличение содержания интерлейкинов, обеспечивающих формирование иммунного ответа по Th2-типу, уже в начальном периоде ИМ указывало на десинхронизацию работы иммунной системы. Преобладание цитокинов Th2 иммунного ответа сопровождалось более выраженной тенденцией к нормализации содержания Т- и В-лимфоцитов на 3-й неделе болезни. Подобная динамика развития иммунного ответа за счет недостаточной активности Th1-типа может служить одним из факторов, приводящих к более частому рецидивированию ЭБВИ у детей дошкольного возраста.

В группе детей 7–11 лет реакция иммунной системы на ВЭБ также не была оптимальной. Это выражалось в запуске иммунного ответа по смешанному Th1/Th2-типу с переключением на Th2 по мере стихания клинической симптоматики, сохранением высокого содержания субпопуляционного состава лимфоцитов (CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD11b⁺, CD38⁺) и наименьшим количеством статистически значимых корреляционных связей.

У подростков 12–17 лет реагирование иммунной системы на ВЭБ отличалось активацией Th1 иммунного ответа, и наибольшей СИС в начальном периоде ИМ и переключением на Th2 с уменьшением концентрации CD16⁺-лимфоцитов параллельно с купированием основных симптомов заболевания. Изменения в иммунной системе детей старшего школьного возраста в ответ на ЭБВИ можно считать оптимальной реакцией, способствующей не только стиханию воспалительного процесса в остром периоде заболевания, но и уменьшающей вероятность рецидивирующего течения инфекционного процесса.

Таким образом, созревание иммунной системы в постнатальном периоде обуславливает возрастные особенности реагирования детей на ЭБВИ, заключающиеся в более сбалансированном иммунном ответе в возрастной группе 12–17 лет.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Российская Федерация:

Кашуба Эдуард Алексеевич (Eduard A. Kashuba) – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: infect-tgma@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9832-7623>

Антонова Мария Владимировна (Maria V. Antonova) – ассистент кафедры инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: antonovamariav@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7859-1101>

Дроздова Татьяна Георгиевна (Tatiana G. Drozdova) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: infect-tgma@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6191-4699>

Ханипова Людмила Вячеславовна (Lyudmila V. Khanipova) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: infect-tgma@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8795-4186>

Любимцева Оксана Анатольевна (Oksana A. Lyubimtseva) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: infect-tgma@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-7360-2657>

Огошкова Наталья Владимировна (Natalia V. Ogoshkova) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: infect-tgma@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6626-2087>

Чехова Юлия Сергеевна (Yulia S. Chekhova) – ассистент кафедры инфекционных болезней с курсами детских инфекций, дерматовенерологии и косметологии

E-mail: infect-tgma@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0982-0000>

ЛИТЕРАТУРА

1. Odumade O.A., Hogquist K.A., Balfour H.H. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections // Clin. Microbiol. Rev. 2011. Vol. 24, N 1. P. 193–209. doi: 10.1128/CMR.00044-10
2. Thorley-Lawson D.A., Hawkins J.B., Tracy S.I., Shapiro M. The pathogenesis of Epstein-Barr virus persistent infection // Curr. Opin. Virol. 2013. Vol. 3, N 3. P. 227–232. doi: 10.1016/j.coviro.2013.04.005
3. Антонова М.В., Кашуба Э.А., Дроздова Т.Г., Любимцева О.А., Ханипова Л.В., Огошкова Н.В. и др. Динамика иммунного ответа при Эпштейна–Барр вирусном инфекционном мононуклеозе у детей // Мед. наука и образование Урала. 2018. Т. 93, № 1. С. 21–28.
4. Кологривова И.В., Кологривова Е.Н., Суслова Т.Е. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа // Бюл. сибир. мед. 2011. Т. 10, № 4. С. 93–99.
5. Lam J.K., Hui K.F., Ning R.J., Xu X.Q., Chan K.H., Chiang A.K.S. Emergence of CD4+ and CD8+ polyfunctional T cell responses against immunodominant lytic and latent EBV antigens in children with primary EBV infection // Front. Microbiol. 2018. Vol. 9. P. 416. doi: 10.3389/fmicb.2018.00416
6. Jing L., Laing K.J., Dong L., Russell R.M., Barlow R.S., Haas J.G. et al. Extensive CD4 and CD8 T cell cross-reactivity between alphaherpesviruses // J. Immunol. 2016. Vol. 196, N 5. P. 2205–2218. doi: 10.4049/jimmunol.1502366
7. Marshall N.B., Swain S.L. Cytotoxic CD4 T cells in antiviral immunity // J. Biomed. Biotechnol. 2011. Vol. 2011. Article ID 954602. doi: 10.1155/2011/954602
8. Kaufmann J.K., Liu B., Jacques J., Wu N., Yan Z., Alami A. et al. Systematic analysis of T cell responses specific to the Epstein-Barr virus proteome using ATLAS™ // J. Immunol. 2017. Vol. 198, 1 Suppl. 78.42.
9. Горейко Т.В., Калинина Н.М., Дрыгина Л.Б. Роль цитокинов в патогенезе хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Цитокины и воспаление. 2011. Т. 10, № 4. С. 96–100.
10. Симованьян Э.Н., Харсеева Г.Г., Ким М.А. Роль «цитокиновой среды» в иммунопатогенезе инфекционного мононуклеоза Эпштейна–Барр вирусной этиологии // Современные тенденции развития науки и технологий. 2016. С. 32–37.
11. Чечина О.Е., Биктасова А.К., Сазонова Е.В., Жукова О.Б., Прохоренко Т.С., Крат И.В. и др. Роль цитокинов в редоксзависимой регуляции апоптоза // Бюл. сибир. мед. 2009. Т. 8, № 2. С. 67–72.
12. Барычева А.Ю., Голубева М.В., Волкова А.В. Факторы и механизмы иммуносупрессии при Эпштейна–Барр вирусной инфекции // Детские инфекции. 2014. № 2. С. 28–33.
13. Нагаев Б.С., Камбачкова З.А. Цитокиновый статус у больных герпесвирусными инфекциями // Инфекц. бол. 2011. № 1. С. 19–22.
14. Fukuda M., Kawaguchi Y. Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein-Barr virus LMP2A-induced cell transformation // J. Virol. 2014. Vol. 88, N 9. P. 5189–5194. doi: 10.1128/JVI.03714-13
15. Болевич С.Б., Синельников Г.Г. Биотерапия иммуноопосредованных воспалительных заболеваний : руководство для врачей. М. : МИА, 2012. 128 с.

REFERENCES

1. Odumade O.A., Hogquist K.A., Balfour H.H. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. Clin Microbiol Rev. 2011; 24 (1): 193–209. doi: 10.1128/CMR.00044-10
2. Thorley-Lawson D.A., Hawkins J.B., Tracy S.I., Shapiro M. The pathogenesis of Epstein-Barr virus persistent infection. Curr Opin Virol. 2013; 3 (3): 227–32. doi: 10.1016/j.coviro.2013.04.005
3. Antonova M.V., Kashuba E.A., Drozdova T.G., Lyubimtseva O.A., Hanipova L.V., Ogoshkova N.V., et al. Dynamics of the immune response in Epstein-Barr viral infectious mononucleosis in children. Meditsinskaya nauka i obrazovaniye Urala [Medical Science and Education of the Urals]. 2018; 93 (1): 21–8. (in Russian)
4. Kolodrivova I.V., Kolodrivova E.N., Suslova T.E. Molecular aspects of the functioning of type 17 T-helpers. Byulleten' sibirskoy meditsiny [Bulletin of Siberian Medicine]. 2011; 10 (4): 93–9. (in Russian)
5. Lam J.K., Hui K.F., Ning R.J., Xu X.Q., Chan K.H., Chiang A.K.S. Emergence of CD4+ and CD8+ polyfunctional T cell responses against immunodominant lytic and latent EBV antigens in children with primary EBV infection. Front Microbiol. 2018; 9: 416. doi: 10.3389/fmicb.2018.00416
6. Jing L., Laing K.J., Dong L., Russell R.M., Barlow R.S., Haas J.G., et al. Extensive CD4 and CD8 T cell cross-reactivity between alphaherpesviruses. J Immunol. 2016; 196 (5): 2205–18. doi: 10.4049/jimmunol.1502366

7. Marshall N.B., Swain S.L. Cytotoxic CD4 T cells in antiviral immunity. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 954602. doi: 10.1155/2011/954602
8. Kaufmann J.K., Liu B., Jacques J., Wu N., Yan Z., Alami A., et al. Systematic analysis of T cell responses specific to the Epstein-Barr virus proteome using ATLAS™. *J Immunol.* 2017; 198 (1 Supplement) 78.42.
9. Goreyko T.V., Kalinina N.M., Drygina L.B. The role of cytokines in the pathogenesis of chronic infection caused by Epstein-Barr virus. *Tsitokiny i vospalenie [Cytokines and Inflammation].* 2011; 10 (4): 96–100. (in Russian)
10. Simovan'yan E.N., Harseeva G.G., Kim M.A. The role of «cytokine medium» in immunopathogenesis of infectious Epstein-Barr mononucleosis of viral etiology. Modern trends in the development of science and technology. In: *Sovremennyye tendentsii razvitiya nauki i tehnologii [Current Trends in the Development of Science and Technology].* 2016: 32–7. (in Russian)
11. Chechina O.E., Biktasova A.K., Sazonova E.V., Zhukova O.B., Prokhorenko T.S., Krat I.V., et al. The role of cytokines in the redox-dependent regulation of apoptosis. *Byulleten' sibirskoy meditsiny [Bulletin of Siberian Medicine].* 2009; 8 (2): 67–72. (in Russian)
12. Baryicheva L.Yu., Golubeva M.V., Volkova A.V. Factors and mechanisms of immunosuppression in Epstein-Barr viral infection. *Detskie infektsii [Children's Infections].* 2014; (2): 28–33. (in Russian)
13. Nagaev B.S., Kambachkova Z.A. Cytokine status in patients with herpesvirus infections. *Infektsionnye bolezni [Infectious Diseases].* 2011; (1): 19–22. (in Russian)
14. Fukuda M., Kawaguchi Y. Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein-Barr virus LMP2A-induced cell transformation. *J Virol.* 2014; 88 (9): 5189–94. doi: 10.1128/JVI.03714-13
15. Bolevich S.B., Sinel'nikov G.G. Biotherapy of immune-mediated inflammatory diseases: a guide for physicians. Moscow: MIA, 2012: 128 p. (in Russian)