

ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІКИ ПОКАЗНИКІВ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЙНИЙ МОНОНУКЛЕОЗ, ВИКЛИКАНИЙ ВІРУСОМ ЕПШТЕЙНА-БАРР

Лядова Т. І., Волобуєва О. В., Павлікова К. В., Сорокіна О. Г., Гололобова О. В., Козлов О. П.

Мета. Стаття присвячена вивченню вмісту основних імунних показників у хворих на інфекційний мононуклеоз (ІМ) у динаміці захворювання.

Матеріали та методи. Клінічне обстеження хворих на ІМ (n = 60) та пацієнтів контрольної групи (n = 20) передбачало вивчення скарг, епідеміологічного анамнезу, анамнезу захворювання та життя, об'єктивний огляд, стандартні інструментальні та лабораторні дослідження в динаміці, виявлення ДНК ВЕБ у слині та сироватці крові та комплексний аналіз імунних показників. Основні субпопуляції лімфоцитів периферичної крові (CD3⁺; CD4⁺; CD8⁺; CD16⁺; CD8⁺CD28⁺; CD8⁺CD28⁻; CD20⁺; CD25⁺) визначали за допомогою проточної лазерної цитометрії на апараті FACS-Calibur (США) з використанням моноклональних антитіл. Для ідентифікації в цитоплазмі Т-лімфоцитів ІНФγ (Th1-клітини), ІЛ-4 (Th2-клітини) використовували моноклональні антитіла ІНФγ – РС-5, ІЛ-4 – РЕ (eBioscience, Beckman Coulter, R&D System).

Результати. Комплексне дослідження стану субпопуляцій реагуючих імунних клітин виявило значні порушення з боку клітинної ланки імунної відповіді порівняно з показниками контрольної групи. Встановлено, що імунна відповідь у хворих на ІМ в період розпалу захворювання характеризується дисбалансом клітинної ланки (про що свідчить підвищення вмісту CD3⁺, CD4⁺, та одночасним підвищенням вмісту CD16⁺, CD25⁺).

В періоді реконвалесценції виявлені порушення зберігаються не досягаючи показників контрольної групи у більшій кількості хворих на ІМ.

Висновки. Отримані результати свідчать про значні зміни структурних характеристик системи клітинної ланки імунітету та різноспрямованість імунної відповіді при ІМ. Прогресуючий характер змін імунних показників при ІМ вказує на формування вторинного клітинного імунного дисбалансу, зміною рівноваги імунорегуляторних медіаторів у бік Th2-ланки при формуванні затяжних та хронічних форм ВЕБ-інфекції.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вірус Епштейна-Барр, інфекційний мононуклеоз, показники імунної відповіді

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Лядова Тетяна Іванівна, д.мед.н., професор, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Майдан Свободи, 6, Харків, 61022, Україна, e-mail: t.lyadova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9255-6019>

Волобуєва Ольга Вікторівна, к.мед.н., доцент, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Майдан Свободи, 6, Харків, 61022, Україна, e-mail: o.volobueva@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5569-1748>

Павлікова Ксенія В'ячеславівна, асистент, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Майдан Свободи, 6, Харків, 61022, Україна, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1228-4915>

Сорокіна Ольга Георгіївна, к.мед.н., асистент, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Майдан Свободи, 6, Харків, 61022, Україна, e-mail: o.sorokina@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6646-544X>

Гололобова Олеся Василівна, к.мед.н., доцент, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Майдан Свободи, 46 Харків, 61022, Україна, e-mail: o.gololobova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1111-2302>

Козлов Олександр Петрович, к.мед.н., доцент, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Майдан Свободи, 6, Харків, 61022, Україна, e-mail: kozlov@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0320-1505>

ВСТУП

Кардинальним завданням сучасної інфекційної імунології є з'ясування

імунопатогенетичних механізмів несприятливого перебігу інфекційного процесу, що викликаний герпесвірусними інфекціями, при яких перебіг захворювання зумовлений як

факторами вірусу, так і факторами макроорганізму [1, 2]. В основі ускладненого перебігу або хронізації процесу лежить неефективна імунна відповідь, яка є неспроможною в запобіганні дисемінації вірусу або в повній елімінації збудника з організму, що є причиною формування рецидивів або хронічного перебігу захворювання. В сучасній літературі містяться дані про те, що у пацієнтів, які перенесли інфекційний мононуклеоз (ІМ), незалежно від важкості перебігу хвороби, розвивається вторинний імунодефіцит, що є причиною можливих бактеріальних ускладнень [1, 3–6].

Після перенесеного ІМ не завжди спостерігається поновлення імунного балансу та тривалий час зберігаються зміни в гемограмі [1, 7–9].

Імунологічний статус хворих на ІМ має ряд особливостей. Суть загальної закономірності змін полягає в збільшенні при ІМ числа Т- і В-лімфоцитів, а в субпопуляції Т-лімфоцитів – зростання кількості цитотоксичних клітин, що дозволяє розцінювати ІМ як лімфопроліферативний процес. Підвищення рівня Т-лімфоцитів з супресорною активністю при ІМ є одним з основних регуляторних механізмів пригнічення ранніх етапів експресії В-лімфоцитів, як безпосередньо впливаючи на них, так і опосередковано, інгібуючи активацію Т-хелперів. У свою чергу, зниження Т-хелперів призводить до блокування індукції апоптозу [10]. Отже, при ІМ відбувається сповільнення апоптозу «відпрацьованих» ефекторних клітин і відсутня перешкода для їх участі в імунній відповіді. В кінцевому підсумку, при вірус Епштейна – Барр (ВЕБ) – інфекції може з'явитися вірогідність виникнення аутореактивних, а також злоякісних клонів клітин. Ряд дослідників відзначають з боку гуморальної ланки імунітету підвищення кількості ІgА і ІgМ, що є характерним для важких форм ІМ [11–14].

Крім того, багатьма дослідниками активно вивчається взаємозв'язок між тяжкістю перебігу та окремими показниками імунної системи. При первинній інфекції формуються нейтралізуючі антитіла, антитіла класів ІgМ та ІgG до VCA, пізніше – до EA та NA антигенів ВЕБ. Вважається, що легкий перебіг ІМ пов'язано з ефективним імунологічним захистом Т-клітинної ланки імунітету і високим рівнем альфа-інтерферону (α -ІФН). Важкий перебіг інфекції обумовлено недостатністю як клітинної, так і гуморальної

ланки імунітету, що супроводжується низькими концентраціями α -ІФН, реверсією продукції ІФН з α на γ -тип і порушенням виведення загальних циркулюючих імунних комплексів (ЦК) [10, 15, 16].

Кількість досліджень, присвячених вивченню характеру імунних розладів лабораторних проявів ІМ залежно від стадії інфекційного процесу у дорослих пацієнтів у нашій країні, дуже обмежена. Потребує також уточнення діагностична значимість специфічних методів імуноферментного аналізу (ІФА) і полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в різні стадії інфекційного процесу. Робота виконана в рамках НДР кафедри загальної та клінічної імунології та алергології «Роль імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та оптимізація засобів лікування» №0117UC04874.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідити характер і ступінь порушень імунного статусу у хворих на гостру ВЕБ-інфекцію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для виконання поставлених завдань дослідження нами були обстежені 60 пацієнтів з ІМ.

Діагноз ІМ у пацієнтів, що знаходилися під нашим спостереженням, був поставлений на підставі клініко-анамнестичних та лабораторних даних. Всі хворі перенесли середньотяжку форму ІМ.

У комплекс обстеження хворих входили клінічний аналіз крові, виявлення атипичних мононуклеарів, визначення специфічних Іg до ВЕБ методом твердофазного ІФА (тІФа), виявлення ДНК ВЕБ методом ПЛР в крові і слині в динаміці захворювання. Для підтвердження діагнозу, крім загального аналізу крові, виконували комплекс серологічних і молекулярно-генетичних досліджень. Як скринінговий експрес-аналіз крові на наявність інфекції ВЕБ застосовували гетерофільний тест в модифікації Гоффа-Бауера (ГБ) (Чірешкіна Н. М., 1973).

Фенотип лімфоцитів крові визначали за допомогою проточної лазерної цитометрії на апараті FACS-Calibur (США) з використанням моноклональних антитіл (МАТ)

(С. В. Дамбаева, 2002; Л. М. Ханунова, 1999). Для ідентифікації на клітинах CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺, CD25⁺, CD8⁺CD28⁺, CD8⁺CD28⁻ використовували відповідні антитіла помічені FITC. Для ідентифікації в цитоплазмі Т-лімфоцитів ІНФγ (Th1-клітини), ІЛ-4 (Th2-клітини) ТФРβ1 (Th3-клітини) використовували моноклональні антитіла ІНФγ – РС-5, ІЛ-4 – РЕ, ТФРβ – FITC (eBioscience, Beckman Coulter, R&D System). Усі стадії підготовки проб для лазерної цитофлюорометрії проводили у відповідності з протоколами виробника. Для дослідження вмісту Іg класів А, М, G в сироватці крові застосовували метод простої радіальної імунодифузії в гелі.

Результати досліджень опрацьовано методом варіаційної та кореляційної статистики з використанням програми «Statistica 10.0 for Windows». Для кожного варіаційного ряду розраховували середню арифметичну (M), середнє квадратичне відхилення (σ), середню помилку середньої арифметичної (m). Також використовувалися методи параметричної й непараметричної статистики. Кількісний і якісний аналіз внутрішньосистемних і міжсистемних кореляційних зв'язків проводився з використанням методу кореляційних структур та послідовного аналізу Вальда.

Діагноз ІМ у пацієнтів, що знаходилися під нашим спостереженням, був поставлений на підставі клініко-анамнестичних та лабораторних даних. Всі хворі перенесли середньо-тяжку форму ІМ.

Госпіталізація хворих в стаціонар здійснювалася з 4 по 20 день захворювання, в більшості випадків з 4 по 11 день. В середньому хворі госпіталізували на $8,3 \pm 3,8$ день хвороби.

З 1 по 10 день захворювання до лікарні надійшло 89 (64,5 %) хворих, з 11 по 20 день – 49 (35,5 %).

Всім хворим на ІМ в стаціонарі проведено комплексне лікування: палатний режим, загальний стіл (дієта № 15). Хворим, у яких було виявлено прояви цитолітичного та мезенхімально-запального синдрому з підвищенням рівнів АЛАТ, АсАТ та білірубину призначалась дієта № 5. Всі хворі отримували симптоматичне лікування: дезінтоксикаційні, десенсибілізуючі, жарознижуючі засоби. У разі виникнення ознак активізації вторинної інфекції пацієнтам призначалась антибактеріальна терапія. В основному препаратами вибору були антибіотики фторхінолонового ряду та цефалоспориної ІІ-ІІІ покоління. Тривалість курсу антибактеріальної терапії в середньому складала $6 \pm 1,2$ днів. Необхідність у проведенні антибактеріальної терапії виникла майже у 70 % (96 хворих на ІМ).

Обсяг терапевтичних заходів визначався формою захворювання, важкістю стану хворого. Базисна терапія включала обмежу-вальний режим, дієтичне харчування. За показниками застосовувалися дезінтоксика-ційні засоби (5 % розчин глюкози, 0,9 % розчин NaCl, реосорбілакт), рибоксин, спазмолітики, гепатопротектори, сорбенти, рідше, інші препарати. У якості етіотропної терапії використовували валацикловір по 500–1000 мг 3 рази. Ефективність проведеної терапії у хворих на ВЕБ-інфекцію оцінювали на підставі клінічних даних, досягнення біохімічної, лабораторної та вірусологічної ремісії (зникнення ДНК ВЕБ або зниження рівня віремії).

Характеристика та тривалість основних клінічних симптомів у хворих на ІМ представлена у таблиці 1.

Таблиця 1

Характеристика та тривалість клінічних симптомів у хворих на ІМ

Клінічні симптоми	Абсолютна кількість (n = 138)	Процент (%)	Тривалість симптомів (M ± m) днів
Лихоманка	138	100	10,9 ± 1,8
Лімфаденопатія	138	100	15,8 ± 1,1
Загальна слабкість	116	84	8,6 ± 1,2
Збільшення мигдаликів	113	82	8,7 ± 1,4
Болі в горлі	95	69	6,2 ± 1,5
Головний біль	92	66,6	6,2 ± 1,3
Гепатомегалія	91	66	10,8 ± 2,2
Спленомегалія	73	53	9,3 ± 2,1
Порушення сну	33	24	7,4 ± 1,5
Нудота	25	18	5,6 ± 1,3
Висипка	14	10	4,6 ± 1,3

Як видно з таблиці, типовими клінічними проявами ІМ, які виявлялися у 100 % хворих, були підвищення температури тіла, лімфаденопатія. У більшості кількості реєструвалися загальна слабкість (84 %), збільшення мигдаликів (82 %). Нальоти у ротоглотці виявлялися у 99 (71,7 %) пацієнтів, серед яких у вигляді некротичної ангіни – у 4 осіб (4 %), лакунарної – у 61 хворого (61,6 %) і фолікулярної ангіни – у 34 хворих (34,4 %). Об'єктивно у 54,8 % хворих відзначався обкладений язик. Головний біль реєструвався у 92 пацієнтів (66,6 %), болі в горлі при ковтанні у 95 хворих (69 %), збільшення розмірів печінки у 91 (66 %) хворого, спленомегалія – у 73 (53 %) хворих на ІМ. Пальпаторно відзначалося збільшення розмірів печінки в середньому на $2,04 \pm 0,2$ см. При цьому ущільнення її консистенції не спостережувалося. З меншою частотою виявлялися порушення сну у 33 (24 %) хворих, нудота – у 25 (18 %) та висипка у 14 пацієнтів (10 %). Характер висипки у хворих на ІМ мав плямистий та плямисто-папульозний характер.

При виписці зі стаціонару у 58,2 % хворих відзначався астено-вегетативний синдром, а у 27 % пацієнтів, збільшення розмірів печінки до 1 см.

Таким чином, клінічна симптоматика періоду розпалу ІМ у більшості обстежених хворих характеризувалася явищами інтоксикації, лімфаденопатії, тонзилітом, гепатоліснальним синдромом.

У більшості хворих на ІМ показники клінічного аналізу крові характеризувалися підвищенням загальної кількості лейкоцитів від 5,6 до $28,3 \times 10^9$ /л. Виражене збільшення лімфоцитів в періоді розпалу хвороби виявлено у 124 (90 %) хворих і лише у 14 (10 %) пацієнтів лімфоцити не перевищували норми. Більше ніж у 1/3 хворих відзначався моноцитоз 43 (31,2 %) хворих відсотковий вміст моноцитів складав $11,3 \pm 0,9$ %. Патологічні зміни в клінічному аналізі сечі (незначна протеїнурія, лейкоцитурія, циліндрурія) реєструвалися в період розпалу у 42 % хворих ІМ (58 пацієнтів).

У хворих на ІМ відзначалося підвищення АлАТ (у 3–4 рази вище за норму та складала в середньому $2,5 \pm 0,2$ ммоль/(г×л) ($p < 0,05$).

Усі вищеописані зміни зникали по мірі поліпшення загального стану хворих і нормалізації біохімічних показників.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Комплексний аналіз стану імунної відповіді, його характеру та інтенсивності, балансу субпопуляцій реагуючих клітин, продукції імунорегуляторних молекул має велике значення у вивченні патогенезу та клініки ВЕБ-інфекції, що в кінцевому результаті, сприяє ідентифікації протипу-русної стратегії організму.

Субпопуляційний склад основних лімфоцитів, а також показники, що відображають стан гуморальної імунної відповіді – вміст ЦК та Ig A, M, G вивчали у периферичній крові хворих на ІМ у динаміці захворювання – у періоді розпалу та реконвалесценції (перед випискою із стаціонару). Отримані результати відображені в табл. 2.

Аналіз результатів дослідження вмісту відносних та абсолютних показників основних субпопуляцій лімфоцитів виявив гетерогенність вмісту цих імунокомпетентних клітин у періоді розпалу захворювання. Як видно з табл. 1, субпопуляційний склад лімфоцитів у групі хворих на ІМ характеризувався певними якісними та кількісними відмінностями порівняно з показниками контрольної групи.

Так, в періоді розпалу ІМ в периферичній крові хворих на фоні підвищеного вмісту лейкоцитів спостережувалося вірогідне підвищення відносної та абсолютної кількості деяких субпопуляцій лімфоцитів порівняно з даними контрольної групи хворих.

Так, у хворих на ІМ відзначено збільшення вмісту $[CD3^+ - 87,21 \pm 3,34 \%$; $CD4^+ - 47,16 \pm 1,07 \%$; $CD8^+ - 44,16 \pm 3,78 \%$; $CD16^+ - 16,61 \pm 0,6$; $CD20^+ - 18,91 \pm 0,9 \%$; $CD8^+CD28^+ - 17,6 \pm 1,1 \%$; $CD25^+ - 21,4 \pm 1,92 \%$], ($p < 0,05$) порівняно з аналогічними показниками контрольної групи $[CD3^+ 65,85 \pm 3,5 \%$; $CD4^+ - 42,0 \pm 1,31 \%$; $CD8^+ - 29,4 \pm 1,9 \%$; $CD16^+ - 14,52 \pm 0,44 \%$; $CD20^+ - 13,5 \pm 0,5 \%$; $CD8^+CD28^+ - 14,8 \pm 0,9 \%$; $CD25^+ - 16,0 \pm 1,45 \%$], ($p < 0,05$). Підвищення вмісту Th1-клітин також відзначалося вірогідністю і складало $15,2 \pm 0,94 \%$ проти $11,1 \pm 1,1 \%$ ($p < 0,05$). Нижчими за контрольні значення виявилися рівні $CD8^+CD28^-$, які не відрізнялися від контрольних значень – $5,7 \pm 0,3 \%$ ($p > 0,05$), а вміст Th2-клітин мав тенденцію до зниження: $10,4 \pm 1,78$ проти $12,4 \pm 1,43$ ($p > 0,05$), відповідно.

Таким чином, вивчення фенотипового спектру лімфоцитів крові показало підвищення вмісту зрілих Т-лімфоцитів (CD3⁺), цитотоксичних Т-супресорних клітин (CD8⁺), клітин, що експресують активаційний маркер CD25⁺ (рецептор ІЛ-2). Дисбаланс у співвідношенні Th1/Th2 ($p < 0,001$), що обумовлений підвищенням відносного вмісту серед Th-лімфоцитів вмісту Th1 клітин,

підтверджує, що ефективний захист та елімінація збудника формуються при трансформації Т-хелперної відповіді в бік Th1 клітин. Крім того, підвищення кількості лімфоцитів, що несуть рецептор до ІЛ-2 (CD25⁺) у гострому періоді ІМ, вочевидь свідчить про активацію імунної системи і збільшення кількості клітин, відповідаючих на ІЛ-2.

Таблиця 2

Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові хворих на ІМ (M ± m)

Показник	ІМ, період розпалу (n = 60)	ІМ, період реконвалесценції (n = 60)	Контроль (n = 20)
Лейкоцити, (10 ⁹ /л)	12,7 ± 0,8 ^{1,2}	6,77 ± 0,36	5,37 ± 0,18
Лімфоцити, (%)	57,67 ± 2,81 ^{1,2}	45,65 ± 2,32 ¹	30,1 ± 1,75
Лімфоцити, (10 ⁹ /л)	5,74 ± 0,65 ^{1,2}	3,6 ± 0,38 ¹	2,55 ± 0,18
CD3 ⁺ -кл, %	87,21 ± 3,34 ^{1,2}	79,21 ± 2,29 ¹	65,85 ± 3,5
CD4 ⁺ -кл, %	47,16 ± 1,07 ¹	44,6 ± 0,98	42,0 ± 1,31
CD8 ⁺ -кл, %	44,16 ± 3,78 ¹	36,6 ± 2,7 ¹	29,4 ± 1,9
CD16 ⁺ -кл, %	16,61 ± 0,6 ¹	14,8 ± 0,46	14,52 ± 0,44
CD20 ⁺ -кл, %	18,91 ± 0,9 ¹	16,11 ± 0,6 ¹	13,5 ± 0,5
CD8 ⁺ CD28 ⁺ -кл, %	17,6 ± 1,1 ¹	15,5 ± 0,9	14,8 ± 0,6
CD8 ⁺ CD28 ⁻ -кл, %	5,7 ± 0,3	5,3 ± 0,27	5,1 ± 0,3
CD8 ⁺ CD28 ⁺ /CD8 ⁺ CD28 ⁻	3,08 ± 0,3	2,9 ± 0,3	2,9 ± 0,4
CD25 ⁺ -кл, %	21,40 ± 0,92 ¹	19,41 ± 0,86 ¹	16,0 ± 0,65
Th1 (ІНФγ), %	15,2 ± 0,94 ¹	13,7 ± 0,98	11,1 ± 1,1
Th2 (ІЛ-4 ⁺), %	10,4 ± 1,78	11,3 ± 1,67	12,4 ± 1,43
Th1/Th2	1,46 ± 0,06 ¹	1,21 ± 0,07	0,89 ± 0,09

Примітки:

¹ – вірогідна різниця з показниками контрольної групи ($p < 0,05$),

² – вірогідна різниця з показниками періоду реконвалесценції ($p < 0,05$).

В періоді реконвалесценції вірогідне зменшення відзначалося тільки стосовно відносного вмісту лімфоцитів з 57,67 ± 2,81 до 45,65 ± 2,32% та 5,74 ± 0,65 до 3,6 ± 0,38 x 10⁹ ($p < 0,05$), показників CD3⁺ – 87,21 ± 3,34 до 79,21 ± 2,29% ($p < 0,05$). Інші кластери лімфоцитів мали тенденцію до зниження вмісту порівняно з аналогічними у розпалі ІМ ($p > 0,05$) та не відрізнялися вірогідністю порівняно з даними періоду реконвалесценції ($p > 0,05$). В даному періоді вірогідні відмінності з показниками контрольних даних мали відносний вміст лімфоцитів – 45,65 ± 2,32 проти 30,1 ± 1,75% та 3,6 ± 0,38 проти 2,55 ± 0,18 x 10⁹ ($p < 0,05$); рівні CD3⁺ – 79,21 ± 2,29 проти 65,85 ± 3,5% ($p < 0,05$); CD8⁺ – 36,6 ± 2,7 проти 29,4 ±

1,9% ($p < 0,05$); CD20⁺ – 16,11 ± 0,6 проти 13,5 ± 0,5% ($p < 0,05$) та CD25⁺ – 19,41 ± 0,86 проти 16,0 ± 0,65% ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що в цьому періоді розподіл вмісту показників згідно контрольних даних характеризувався різноспрямованістю, що на нашу думку підтверджує досить повільну регресію клінічної симптоматики при ІМ та існування дисбалансу як в гострому періоді, так і в періоді реконвалесценції.

Майже у 80 % хворих виявлено підвищення Т-клітин. При чому збільшення даних клітин спостерігалось в основному за рахунок CD8⁺ та CD3⁺ лімфоцитів. У 65 % хворих спостерігалось збільшення вмісту CD4⁺ та у 50 % відзначались підвищенні показники

НК-клітин, тобто на момент надходження в стаціонар половина хворих відповіла на інфікування вірусом Епштейна-Барр підвищенням кількості клітин з цитотоксичною активністю.

Кількість пацієнтів з підвищеним вмістом В-клітин відзначалася у 42 % хворих на ІМ, у 42 % вміст В-клітин знаходився у межах норми, т.ч. спостерігалася проліферація В-клітин, які в подальшому повинні були перейти в плазматичні клітини й почати продукувати антиген-специфічні антитіла. З іншого боку, враховуючи, що ВЕБ має лімфотропність до В-клітин, можна дійти висновку, що збільшення кількості В-лімфоцитів може сприяти збільшенню «резервуара» для вірусу. У 16 % відзначалося зниження кількості CD20⁺, що на нашу думку, відображало перехід в антитілопродукуючі клітини або апоптоз інфікованих В-клітин та їх елімінацію.

Таким чином, вивчення фенотипового спектру лімфоцитів крові показало підвищення вмісту зрілих Т-лімфоцитів (CD3⁺), цитотоксичних Т-супресорних клітин (CD8⁺), клітин, що експресують активаційний маркер CD25⁺ (рецептор ІЛ-2). Дисбаланс у співвідношенні Th1/Th2 ($p < 0,001$), що обумовлений підвищенням відносного вмісту серед Th-лімфоцитів вмісту Th1 клітин, підтверджує, що ефективний захист та елімінація збудника формуються при трансформації Т-хелперної відповіді в бік Th1 клітин. Крім того, підвищення кількості лімфоцитів, що несуть рецептор до ІЛ-2 (CD25⁺) у гострому періоді ІМ, вочевидь свідчить про активацію імунної системи і збільшення кількості клітин, відповідаючих на ІЛ-2.

В періоді реконвалесценції вірогідне зменшення відзначалося тільки стосовно відносного вмісту лімфоцитів з $57,67 \pm 2,81$ до $45,65 \pm 2,32$ % та $5,74 \pm 0,65$ до $3,6 \pm 0,38 \times 10^9$ ($p < 0,05$), показників CD3⁺ – $87,21 \pm 3,34$ до $79,21 \pm 2,29$ % ($p < 0,05$). Інші кластери лімфоцитів мали тенденцію до зниження вмісту порівняно з аналогічними у розпалі ІМ ($p > 0,05$) та не відрізнялися вірогідністю порівняно з

даними періоду реконвалесценції ($p > 0,05$). Слід зазначити, що в даному періоді вірогідні відмінності з показниками контрольних даних мали відносний вміст лімфоцитів $45,65 \pm 2,32$ проти $30,1 \pm 1,75$ % та $3,6 \pm 0,38$ проти $2,55 \pm 0,18 \times 10^9$ ($p < 0,05$); рівні CD3⁺ – $79,21 \pm 2,29$ проти $65,85 \pm 3,5$ % ($p < 0,05$); CD8⁺ – $36,6 \pm 2,7$ проти $29,4 \pm 1,9$ % ($p < 0,05$); CD20⁺ – $16,11 \pm 0,6$ проти $13,5 \pm 0,5$ % ($p < 0,05$) та CD25⁺ – $19,41 \pm 0,86$ проти $16,0 \pm 0,65$ % ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що в цьому періоді розподіл вмісту показників згідно контрольних даних характеризувався різноспрямованістю, що на нашу думку підтверджує досить повільну регресію клінічної симптоматики при ІМ та існування дисбалансу як в гострому періоді, так і в періоді реконвалесценції.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на ІМ у періоді розпалу хвороби встановлені вірогідні порушення з боку клітинної ланки імунітету, що характеризувалося збільшенням кількості клітин з киллерною активністю: зрілих Т-лімфоцитів (CD3⁺), цитотоксичних Т-супресорних клітин (CD8⁺), клітин, що експресують активаційний маркер CD25⁺ (рецептор ІЛ-2) та різке падіння співвідношення Th1/Th2.

2. У періоді реконвалесценції ІМ у більшій кількості хворих виявлено превалювання Th2-типу імунної відповіді, що свідчить про затяжний період реконвалесценції та схильності до затяжного та хронічного перебігу захворювання.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

В рамках даної наукової роботи цікавими і перспективними є дослідження, спрямовані на медикаментозну корекцію виявлених порушень з боку клітинної ланки імунітету у хворих на ІМ і вивчення впливу останніх на наслідки захворювання, розвиток ускладнень і активність процесу, що стане предметом подальшого вивчення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Li L. Clinical features of mononucleosis because of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus co-infection in adult patients / L. Li, F. Lin, Y. Jia, J. J. Liang, J. Xu // *Zhonghua yi xue za zhi*. – 2017. – № 97(39). – С. 3068–3071.
2. Боднар В. А. Удосконалення діагностики хронічних форм інфекції, зумовленої вірусом Епштейна-Барр / Боднар В. А. // *Проблемы экологии и медицины*. – 2013. – № 17(5–6).
3. Kolesnik Y. Clinical and immunological criteria for the adverse course of infectious mononucleosis in children / Y. Kolesnik, T. Zharkova, O. Rzhetskaya, T. Kvaratskheliya, O. Sorokina // *Georgian medical news*. – 2018. – № 278. – С. 132–138.
4. Plank L. Infectious Mononucleosis, Tonsils / Plank L. // *Head and Neck Pathology*. – 2016. – С. 153–157.
5. Aslan N. Severity of acute infectious mononucleosis correlates with cross-reactive influenza CD8 T-cell receptor repertoires / N. Aslan, L. B. Watkin, A. Gil, R. Mishra, F. G. Clark, R. M. Welsh, & L. K. Selin // *MBio*. – 2017. – № 8 (6). – e01841–17.
6. Elena C. The role of cytomegalovirus in the development of opportunistic infections / C. Elena & B. Emilia // *The Moldovan Medical Journal*. – 2019. – № 62 (1). – P.50–56.
7. Xie J. An analysis of immunophenotyping of peripheral lymphocytes in adult patients with infectious mononucleosis and chronic active Epstein-Barr virus infection / J. Xie, H. L. Wang, Z. F. Qiu & T. S. Li // *Zhonghua nei ke za zhi*. – 2016. – № 55 (6). – P.455–459.
8. Kakalacheva K. Infectious mononucleosis triggers generation of IgG auto-antibodies against native myelin oligodendrocyte glycoprotein / K. Kakalacheva, S. Regenass, S. Wiesmayr, T. Azzi, C. Berger, R. Dale, ... & J. Lünemann // *Viruses*. – 2016. – № 8(2) – P. 51.
9. Balfour H. H. Infectious mononucleosis / H. H. Balfour, S. K. Dunmire, & K. A. Hogquist // *Clin Transl Immunology*. – 2015. – № 4 (2): e33.
10. Münz C. Role of human natural killer cells during Epstein-Barr virus infection / C. Münz // *Critical Reviews™ in Immunology*. – 2014. – № 34 (6). – P. 501–507.
11. Лядова, Т. И. Исследование профиля специфических аутоантител при различных формах ВЭБ-инфекции / Т. И. Лядова // *Science Rise*. – 2016. – № 8 (4). – С. 36–42.
12. Лядова, Т. И. Типы иммунного ответа при различных формах Эпштейна-Барр вирусной инфекции / Т. И. Лядова, О. В. Волобуева, Н. В. Шепилева, О. В. Гололобова // *Международный медицинский журнал*. – 2017. – № 1(23). – С. 70–76.
13. Azzi T. Role for early-differentiated natural killer cells in infectious mononucleosis / T. Azzi, A. Lünemann, A. Murer, S. Ueda, V. Béziat, K. J. Malmberg & O. Chijioke // *Blood*. – 2014. – № 124 (16). – P. 2533–2543.
14. Liadova, T. I. The Research of Dynamics of Immune Responsibility Indicators in Patients with Epstein-Barr Virus (EBV) Infections / T. I. Liadova, & K. V. Pavlikova // *European Journal of Medicine and Natural Sciences*. – 2019. – № 3 (1). – P. – 29–32.
15. Tracy S. I. Persistence of Epstein-Barr virus in self-reactive memory B cells / S. I. Tracy, K. Kakalacheva, J. D. Lünemann, K. Luzuriaga, J. Middeldorp & D. A. Thorley-Lawson // *Journal of virology*. – 2012. – № 86 (22). – P. 12330–12340.
16. Popov M. Cytokine production peculiarities in different forms of epstein-barr virus infection / M. Popov, T. Lyadova, O. Volobuyeva, N. Shepileva, A. Kozlov & O. Sorokina // *Georgian medical news*. – 2017. – № 263. – P. 55–59.

REFERENCES

1. Li, L., Lin, F., Jia, Y., Liang, J. J., & Xu, J. (2017). Clinical features of mononucleosis because of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus co-infection in adult patients. *Zhonghua yi xue za zhi*, 97(39), 3068–3071.
2. Bodnar, V. A. (2013). The improvement of diagnosis of chronic Epstein-Barr virus infection. *Problems of ecology and medicine*, 17, 5–6. [in Ukrainian].
3. Kolesnik, Y., Zharkova, T., Rzhetskaya, O., Kvaratskheliya, T. & Sorokina, O. (2018). Clinical and immunological criteria for the adverse course of infectious mononucleosis in children. *Georgian medical news*, 278, 132–138.
4. Plank, L. (2016). Infectious Mononucleosis, Tonsils. *Head and Neck Pathology*, 153–157.
5. Aslan, N., Watkin, L. B., Gil, A., Mishra, R., Clark, F. G., Welsh, R. M. & Selin, L. K. (2017). Severity of acute infectious mononucleosis correlates with cross-reactive influenza CD8 T-cell receptor repertoires. *MBio*, 8 (6), e01841–17.
6. Elena, C. & Emilia, B. (2019). The role of cytomegalovirus in the development of opportunistic infections. *The Moldovan Medical Journal*, 62 (1). 50–56.

7. Xie, J., Wang, H. L., Qiu, Z. F. & Li, T. S. (2016). An analysis of immunophenotyping of peripheral lymphocytes in adult patients with infectious mononucleosis and chronic active Epstein-Barr virus infection. *Zhonghua nei ke za zhi*, 55 (6), 455–459.
8. Kakalacheva, K., Regenass, S., Wiesmayr, S., Azzi, T., Berger, C., Dale, R., & Lünemann, J. (2016). Infectious mononucleosis triggers generation of IgG auto-antibodies against native myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Viruses*, 8 (2), 51.
9. Balfour, H. H., Dunmire, S. K. & Hogquist, K. A. (2015). Infectious mononucleosis. *Clin Transl Immunology*, 4 (2):e33. [doi: 10.1038/cti.2015.1](https://doi.org/10.1038/cti.2015.1)
10. Münz, C. (2014). Role of human natural killer cells during Epstein-Barr virus infection. *Critical Reviews™ in Immunology*, 34 (6), 501–507.
11. Liadova, T. I. (2016). Research of the profile of specific autoantibodies in different forms of EBV-infection. *Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science»*, 8 (4), 36–42. [in Russian].
12. Liadova, T. I., Volobuieva, O. V., Gololobova, O. V., Shepylieva, N. V. (2017). The types of immune response in different forms of Epstein – Barr virus infection. *Infectious diseases*, 1 (23), 70–76. [in Russian].
13. Azzi, T., Lünemann, A., Murer, A., Ueda, S., Béziat, V., Malmberg, K. J. & Chijioke, O. (2014). Role for early-differentiated natural killer cells in infectious mononucleosis. *Blood*, 124 (16), 2533–2543.
14. Liadova, T. I. & Pavlikova, K. V. (2019). The Research of Dynamics of Immune Responsibility Indicators in Patients with Epstein–Barr Virus (EBV) Infections. *European Journal of Medicine and Natural Sciences*, 3 (1), 29–32.
15. Tracy, S. I., Kakalacheva, K., Lünemann, J. D., Luzuriaga, K., Middeldorp, J. & Thorley-Lawson, D. A. (2012). Persistence of Epstein-Barr virus in self-reactive memory B cells. *Journal of virology*, 86(22), 12330–12340.
16. Popov, M., Lyadova, T., Volobuyeva, O., Shepileva, N., Kozlov, A. & Sorokina, O. (2017). Cytokine production peculiarities in different forms of Epstein-Barr virus infection. *Georgian medical news*, (263), 55–59.

RESEARCH OF DYNAMICS OF IMMUNE RESPONSE INDICATORS IN PATIENTS WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS CAUSED BY EPSTEIN-BARR VIRUS

Liadova T. I., Volobuieva O. V., Pavlikova K. V., Sorokina O. G., Gololobova O. V., Kozlov O. P.

Objective. The article is devoted to the study of the content of the main immune parameters in patients with infectious mononucleosis (IM) in the dynamics of the disease.

Materials and methods. A clinical examination of IM patients (n = 60) and patients of the control group (n = 20) included the study of complaints, epidemiological history, history of disease and life, objective examination, standard instrumental and laboratory studies in dynamics, detection of EBV DNA in saliva and blood serum, and a comprehensive analysis of immune parameters. The main subpopulations of peripheral blood lymphocytes (CD3 +; CD4 +; CD8 +; CD16 +; CD8 + CD28 +; CD8 + CD28-; CD20 +; CD25 +) were determined by flow laser cytometry on a FACS-Calibur apparatus (USA) using monoclonal antibodies. For identification of INF- γ (Th1-cells), IL-4 (Th2-cells) in the cytoplasm of T-lymphocytes, monoclonal antibodies INF- γ -PC-5, IL-4-PE (eBioscience, Beckman Coulter, R & D System) were used.

Results. A comprehensive study of the state of the subpopulations of reacting immune cells revealed significant violations of cellular parts of the immune response compared to the control group. It was established that the immune response in patients with IM during the height of the disease is characterized by an imbalance in the cell link (as evidenced by an increase in the content of CD3⁺, CD4⁺, and a simultaneous increase in the content of CD16⁺, CD25⁺). In the period of convalescence, violations have been identified that will persist without reaching the levels of the control group in a larger number of IM patients.

Conclusion. The results obtained indicate significant changes in the structural characteristics of the cellular immunity system and the multidirectional immune response in IM. The progressive character of changes in immune parameters in IM indicates the formation of a secondary cellular immune imbalance, a change in the balance of immunoregulatory mediators towards the Th2 link during the formation of protracted and chronic forms of EBV-infection.

KEY WORDS: Epstein-Barr virus; Infectious mononucleosis; indicators of the immune response; adults

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Liadova Tetiana I., MD, PhD, Full Professor, Head of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine 61022, e-mail: t.lyadova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>

Volobueva Olga V., MD, PhD, Associate Professor, Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022, e-mail: o.volobueva@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-5569-1748>

Pavlikova Kseniia V., MD, Assistant, Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1228-4915>

Sorokina Olga G., MD, PhD, Assistant, Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022, e-mail: o.sorokina@karazin.ua, ID ORCID <https://orcid.org/0000-0001-6646-544X>

Gololobova Olesya V., MD, PhD, Associate Professor, Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022, e-mail: o.gololobova@karazin.ua, ID ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1713-2988>

Kozlov Oleksandr P., MD, PhD, Associate Professor, Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022, e-mail: kozlov@karazin.ua, ID ORCID <https://orcid.org/0000-0003-0320-1505>

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ, ВЫЗВАННЫМ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР

Лядова Т. И., Волобуева О. В., Павликова К. В., Сорокина О. Г., Гололобова О. В., Козлов А. П.

Цель. Статья посвящена изучению содержания основных иммунных показателей у больных инфекционным мононуклеозом (ИМ) в динамике заболевания.

Материалы и методы. Клиническое обследование больных ИМ (n = 60) и пациентов контрольной группы (n = 20) предусматривало изучение жалоб, эпидемиологического анамнеза, анамнеза заболевания и жизни, объективный осмотр, стандартные инструментальные и лабораторные исследования в динамике, выявление ДНК ВЭБ в слюне и сыворотке крови и комплексный анализ иммунных показателей. Основные субпопуляции лимфоцитов периферической крови (CD3⁺; CD4⁺; CD8⁺; CD16⁺; CD8⁺CD28⁺; CD8⁺CD28⁻; CD20⁺; CD25⁺) определяли с помощью проточной лазерной цитометрии на аппарате FACS-Calibur (США) с использованием моноклональных антител. Для идентификации в цитоплазме Т-лимфоцитов ИНФγ (Th1-клетки), ИЛ-4 (Th2-клетки) использовали моноклональные антитела ИНФγ-РС-5, ИЛ-4 – PE (eBioscience, Beckman Coulter, R & D System).

Результаты. Комплексное исследование состояния субпопуляций реагирующих иммунных клеток выявило значительные нарушения со стороны клеточного звена иммунного ответа по сравнению с показателями контрольной группы. Установлено, что иммунный ответ у больных ИМ в период разгара заболевания характеризуется дисбалансом клеточного звена (о чем свидетельствует повышение содержания CD3⁺, CD4⁺, и одновременным повышением содержания CD16⁺, CD25⁺). В периоде реконвалесценции выявлены нарушения сохраняющиеся не достигая уровней контрольной группы у большего числа больных ИМ.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о значительных изменениях структурных характеристик системы клеточного звена иммунитета и разнонаправленность иммунного ответа при ИМ. Прогрессирующий характер изменений иммунных показателей при ИМ указывает на формирование вторичного клеточного иммунного дисбаланса, изменение равновесия иммунорегуляторных медиаторов в сторону Th2-звена при формировании затяжных и хронических форм ВЭБ-инфекции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вирус Эпштейна-Барр; инфекционный мононуклеоз; показатели иммунного ответа; взрослые

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Лядова Татьяна Ивановна, д.мед.н., профессор, кафедра общей и клинической иммунологии и аллергологии, медицинский факультет, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, 61022, Харьков, Украина, e-mail: t.lyadova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9255-6019>

Волобуева Ольга Викторовна, к.мед.н., доцент, кафедра общей и клинической иммунологии и аллергологии, медицинский факультет, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, 61022, Харьков, Украина, e-mail: o.volobueva@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5569-1748>

Павликова Ксения Вячеславовна, ассистент, кафедра общей и клинической иммунологии и аллергологии, медицинский факультет, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, 61022, Харьков, Украина, e-mail: k.pavlikova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1228-4915>

Сорокина Ольга Георгиевна, к.мед.н., ассистент, кафедра общей и клинической иммунологии и аллергологии, медицинский факультет, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, 61022, Харьков, Украина, e-mail: o.sorokina@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6646-544X>

Гололобова Олеся Васильевна, к.мед.н., доцент, кафедра общей и клинической иммунологии и аллергологии, медицинский факультет, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, 61022, Харьков, Украина, e-mail: o.golobova@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1713-2988>

Козлов Александр Петрович, к.мед.н., доцент, кафедра общей и клинической иммунологии и аллергологии, медицинский факультет, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, 61022, Харьков, Украина, e-mail: kozlov@karazin.ua, ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0320-1505>