

На правах рукописи

УДИЛОВА ЕЛЕНА ЕВГЕНЬЕВНА

**КЛИНИКА, ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ И
ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ Т – КЛЕТОЧНОГО И
ФАГОЦИТАРНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА ПРИ
ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ У ДЕТЕЙ**

14.00.09 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2007

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» и Муниципальном учреждении «Клинико-диагностический центр» на базе Муниципального учреждения «Городская клиническая больница № 40», г. Екатеринбург

Научный руководитель:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор
вич

Фомин Виталий Васильевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
евна
доктор медицинских наук
новна

Захарова Светлана Юрьевна

Вахлова Ирина Вениаминовна

Ведущее учреждение: Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Челябинск

Защита диссертации состоится «16» октября 2007 г. в 10-00 часов на заседании совета по защите докторских диссертаций Д208.102.02 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, а с авторефератом на сайте академии: www.usma.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2007 г.

Ученый секретарь совета,
доктор медицинских наук, профессор

Рождественская Е.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Возбудитель инфекционного мононуклеоза (ИМ) вирус Эпштейн-Барр (EBV) является одним из самых распространенных вирусов известных на сегодняшний день. До 90% населения инфицированы EBV [Учайкин В.Ф., 2002; Rickinson A.V. et al., 1996]. Доказана роль латентной EBV-инфекции для группы незлокачественных лимфопролиферативных заболеваний, к которым относятся X-сцепленный лимфопролиферативный синдром, хроническая активная EBV-инфекция и острый EBV-ассоциированный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз [Coffey A.J. et al., 1998; Honda K. et al., 2000; Kawa K., 2000]. Имеется достоверная связь EBV с рядом злокачественных новообразований, таких как лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома [Литвиненко Н.Г., 2003; Cohen J.I. 2000; Gibbons D. L. et al., 1994]. Предполагают, что EBV может быть причиной развития внутриутробных аномалий [Беляков В.Д. и др., 2001; Блохина Е.Б., 2003; Kawa K., 2000]. Благодаря научным достижениям, в последние годы углубились представления об этиологии и патогенезе, предложены новые методы лабораторной диагностики и лечения ИМ [Сабурова Е.Б., 2000; Учайкин В.Ф., 2002; Царькова С.А., 1987; Kimura H. et al., 1999; Wurtzler P., 1993]. Многими авторами ИМ рассматривается как болезнь иммунной системы, так как EBV обладает тропностью к иммунокомпетентным клеткам [Larochelle B. et al. 1998; Roberge Ch. et al., 1998; Wutzler P., 1993; Wilson A.D. et al., 1998; Straus S.E. et al., 1993]. Способность EBV к персистенции обусловлена большим набором генов, дающих ему возможность избегать иммунного контроля организма [Брайан В., 1992; Cohen J.I., 1997; Moore K.W. et al., 1990; Hsu D-H. et al., 1990; Tomasi T., 1992].

Опубликованные данные о роли Т-клеточного, фагоцитарного и гуморального звеньев иммунной системы в иммунопатогенезе ИМ довольно

противоречивы [Molesworth S.J. et al., 2000; Taga H. et al., 1995; Wakasugi N. et al., 1990; Foss H.D., 1995; Ritter S. et al., 1996]. Недостаточно информации о роли CD3⁺- лимфоцитов, содержащих эндоплазматические цитокины: IFN γ , IL2, TNF α и IL4 в иммунологической перестройке при ИМ у детей, отсутствуют единые подходы к использованию иммунокорригирующих препаратов в острый период заболевания, нет сведений о сочетанном использовании противовирусной и иммунокорригирующей терапии, что и послужило основанием для проведения настоящей работы.

Цель исследования: выявить клинические особенности, иммунопатогенетические закономерности взаимосвязи фагоцитарного и клеточного звеньев иммунной системы при ИМ у детей и оценить влияние анаферона детского на клинические и иммунологические показатели при изучаемой инфекции.

Задачи исследования:

1. Изучить клинику инфекционного мононуклеоза у детей разных возрастных групп в острый период и период ранней реконвалесценции при тяжелой и среднетяжелой форме болезни.
2. Исследовать функциональные параметры нейтрофилов и моноцитов по данным фагоцитарной активности, бактерицидной активности фагоцитов, спонтанного и стимулированного НСТ - теста в зависимости от возраста и формы тяжести инфекционного мононуклеоза.
3. Выявить особенности функционального состояния CD3⁺- лимфоцитов, содержащих эндоплазматические цитокины: IFN γ , IL2, TNF α и IL4 при изучаемой инфекции.
4. Установить закономерности взаимосвязи фагоцитарного и клеточного звеньев иммунитета в динамике болезни с учетом тяжести заболевания и возраста.

5. Оценить клиническую и иммунологическую эффективность применения анаферона детского при инфекционном мононуклеозе.

Научная новизна исследования. В отличие от ранее опубликованных данных, в работе, представлена динамика содержания CD3⁺-лимфоцитов, продуцирующих цитоплазматические цитокины (IFN γ , IL2, TNF α и IL4) при спонтанном синтезе и в ответ на стимуляцию на протяжении трех недель болезни.

Несмотря на клиническое выздоровление, численность субпопуляций Т-лимфоцитов, продуцирующих провоспалительные (IFN γ , IL2, TNF α) и противовоспалительные (IL4) цитокины оставалась выше нормативной, что не исключает активность инфекционного процесса. Данный феномен не зависит от возраста детей и формы тяжести болезни и отражает одну из общих иммунологических закономерностей.

Инфекционный процесс при инфекционном мононуклеозе не зависит от формы тяжести болезни и возраста и сопровождается высокой фагоцитарной активностью моноцитов и высокими показателями цитотоксических лимфоцитов, что обеспечивает благоприятное течение болезни.

Обоснована целесообразность использования сочетанной терапии анафероном детским и ацикловиром при инфекционном мононуклеозе у детей.

Практическая значимость работы. В результате проведенного исследования, выявлены нарушения иммунного гомеостаза при инфекционном мононуклеозе в острый период и период ранней реконвалесценции независимо от возраста больных и формы тяжести заболевания, которые являются показанием к назначению иммунокорректирующих препаратов.

Для ускорения клинического выздоровления и коррекции иммунологических нарушений предложено использование анаферона детского со-

вместно с ацикловиром в острый период инфекционного мононуклеоза.

Установлено, что дети 3-7 лет больные тяжелой и 7-14 лет среднетяжелой формой инфекционного мононуклеоза являются группой риска по развитию бактериальных осложнений, так как имеют низкие показатели нейтрофильного фагоцитоза в острый период и период ранней реконвалесценции.

В качестве альтернативы антибактериальным препаратам предложено использование анаферона детского с учетом его стимулирующего действия на нейтрофильный фагоцитоз.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Общей иммунологической закономерностью инфекционного мононуклеоза у детей является повышение численности лимфоцитов, моноцитов, $CD3^+$ - лимфоцитов, $CD8^+$ - лимфоцитов, высокие показатели фагоцитарной активности моноцитов и субпопуляций $CD3^+$ - лимфоцитов, содержащих цитоплазматические цитокины ($IFN\gamma$, $TNF\alpha$, $IL4$) при спонтанном и стимулированном их определении.

2. Содружественная синергическая реакция между активно фагоцитирующими моноцитами и $CD8^+$ - лимфоцитами независимо от возраста регистрируется на первой неделе при среднетяжелой форме и на второй неделе при тяжелой форме болезни.

3. Применение анаферона детского в острый период инфекционного мононуклеоза ускоряет клиническое выздоровление, приводит к увеличению $CD3^+/IFN\gamma^+$ - клеток, фагоцитарной активности нейтрофилов и способствует снижению уровня циркулирующих иммунных комплексов.

Апробация работы. Основные положения диссертации обсуждены на научно-практических конференциях МУ ГKB №40 совместно с кафедрой детских инфекционных болезней и клинической иммунологии, 59-й

Межвузовской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. Апробация работы проведена на заседании проблемной комиссии по специальности «Педиатрия» в ГОУ ВПО УГМА Росздрава. По теме диссертации опубликовано 12 работ.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в работу боксового отделения МУ ГКБ №40 и поликлинических отделений детских больниц г. Екатеринбурга. Результаты исследования включены в учебно-методическое пособие для врачей «Стандарты диагностики и лечения инфекционных болезней у детей на этапах оказания медицинской помощи» (Екатеринбург, 2006). Материалы работы используются в учебном процессе кафедрой детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка основной использованной литературы, включающего 201 источник, в том числе 95 отечественных и 106 зарубежных. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 49 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. В работе представлены материалы и результаты открытого ретроспективно-проспективного исследования, проведенного в г. Екатеринбурге в 2003-2006 гг. на базе боксового отделения МУ "ГКБ № 40" и МУ "ДИБ". В исследование были включены 132 ребенка с диагнозом ИМ в возрасте от 3-х до 14 лет, отобранные случайным методом из смещенной выборки (рис. 1.). Клиника изучена в зависимости от степени тяжести и возраста больных. Анализ клинико-

лабораторной картины ИМ проведен на 1-ой, 2-ой и 3-ей неделе заболевания.

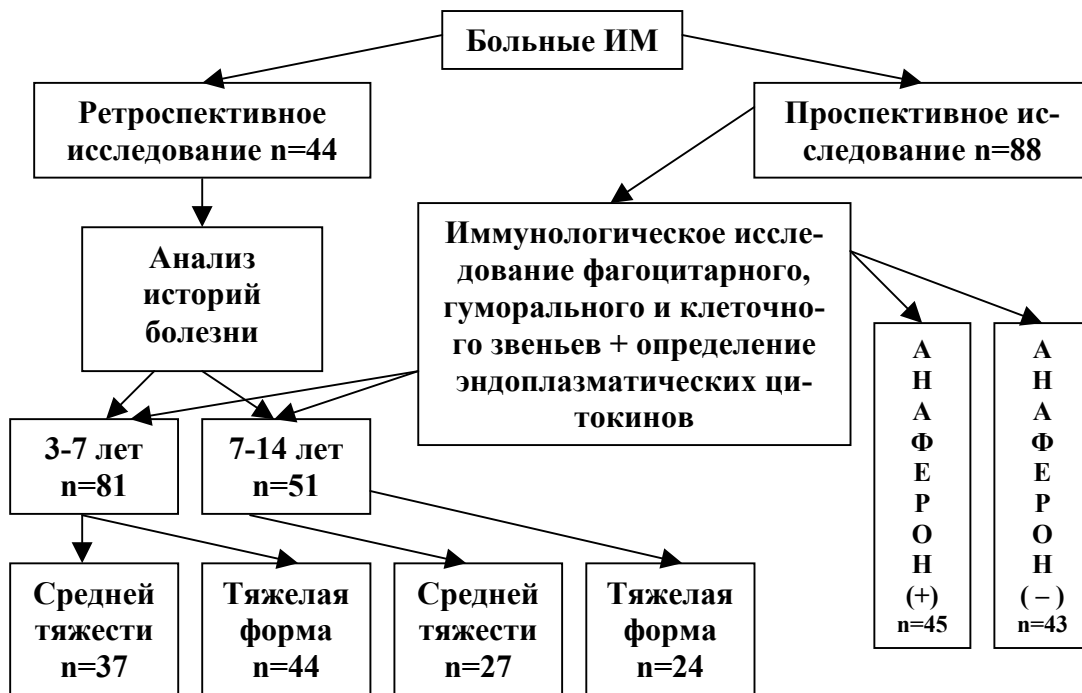


Рис. 1. Дизайн исследования

Всем больным в комплексе параклинического обследования проведено определение общего анализа крови в динамике болезни, биохимических показателей сыворотки крови (билирубина, тимоловой пробы, активности трансаминаз). Биохимические исследования проводились на автоматическом анализаторе «Spectrum-2» фирмы Abbott. В качестве нормативных значений использованы биохимические показатели здоровых детей.

Этиологический диагноз подтвержден выявлением IgM к капсидному (VCA), IgG к ядерному (NA) и раннему (EA) антигенам EBV на основе ИФА тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест». 25 больных были обследованы методом ПЦР на EBV. Обнаружение ДНК EBV в крови больных проводилось с использованием тест-систем «ДНК-сорб-В» (Россия), с последующей амплификацией специфических фрагментов вируса ПЦР-тест-системой «АмплиСенс-100-R» (Россия).

Иммунологические исследования проводились на базе Диагностического центра лабораторной диагностики ВИЧ, инфекционной патологии и болезней матери и ребенка (главный врач, д.м.н., профессор Я. Б. Бейкин). Параметры общего анализа крови регистрировались с помощью гематологического анализатора Cobas Micros 60 («ABX»). Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли с использованием моноклональных антител CD3-FITC/CD20-PE, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD16+56-PE («IO Test») методом проточной цитофлуориметрии на цитометре FACScan («Becton Dickinson»). Количество иммуноглобулинов классов M, G, A в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаровом геле, предложенным G. Mancini (1965). Содержание циркулирующих иммунных комплексов определяли методом преципитации их в 4 % растворе ПЭГ-6000 по V. Naskova в модификации Ю. А. Гриневич (1981). Результаты оценивали в единицах экстинции с помощью спектрофотометрии на аппарате СФ-46. Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали при помощи спонтанного НСТ - теста (Демин, 1981).

Для оценки внутриклеточного синтеза цитокинов мононуклеары периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фиколл-верографина ($1,077 \text{ г/см}^3$). Спонтанную продукцию ИЛ2, ИЛ4, ИФН γ и ФНО α Т-лимфоцитами оценивали по истечении 4 часов инкубации в присутствии брэфельдина А при 37 °С, в атмосфере 5 % CO $_2$. В качестве активатора для стимуляции внутриклеточного синтеза использовали РМА («Sigma», 50 ng/ml) плюс иономицин («Sigma», 1 $\mu\text{g/ml}$). Иммунофенотипирование проводили с использованием ФИТЦ-меченых анти-CD3-моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва) реконъюгированных анти-ИЛ2-, ИЛ4-, ИФН γ - и ФНО α -антител (Caltag).

Для оценки внутриклеточного киллинга (бактерицидной активности (БА) лейкоцитов, завершенности фагоцитоза) использовался метод, разра-

ботанный в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии МЗ РФ [Пинегин Б.В., 2000]. Лейкоциты выделяли в 3% растворе желатина в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). В опытную лунку вносили 90 мкл живых ФИТЦ-меченых бактерий (*St. Aureus Cowan 1*), 20 мкл аутосыворотки и 90 мкл лейкоцитов в концентрации 2 млн в 1 мл. Смесь инкубировали 20 мин при 37°C, лейкоциты осаждали в течение 1 мин при 200g, 2 раза отмывали ФСБ от несвязавшихся бактерий, ресуспендировали в 200 мкл ФСБ и инкубировали 1 час при 37°C. После остановки киллинга лейкоциты разрушали в течение 10 мин и ресуспендировали в 200 мкл ФСБ с 2,5 мкг пропидиум иодида («Sigma»), окрашивающего только убитые клетки. Через 30 – 40 мин пробы анализировали на проточном цитометре «FACSCan» (Becton Dickinson). Для оценки поглотительной активности (АФ) нейтрофилов и моноцитов использовался метод, разработанный в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии МЗ РФ [Пинегин Б. В., 2000]. Лейкоциты выделяли в 3% растворе желатина в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). В опытную лунку вносили 90 мкл живых ФИТЦ-меченых бактерий (*St. Aureus Cowan 1*), 20 мкл аутосыворотки и 90 мкл лейкоцитов в концентрации 2 млн в 1 мл. После 30-минутной инкубации при 37°C лейкоциты осаждали в течение 1 мин при 200g, 2 раза отмывали ФСБ от несвязавшихся бактерий, ресуспендировали в 200 мкл ФСБ и вносили 5 мкл анти-CD 14 (PE) моноклональных антител («Caltag») для оценки мембранной экспрессии CD 14 рецептора на моноцитах. Инкубировали 15 мин при комнатной температуре, затем вносили 200 мкл лизирующего раствора FacsLysing (Becton Dickinson), через 5 – 12 мин однократно отмывали 200 мкл ФСБ и ресуспендировали в 200 мкл раствора ФСБ. Анализ проб проводился на проточном цитометре «FACSCan» (Becton Dickinson). Оценивали процент клеток среди нейтрофилов и моноцитов, положительных по зеленой флюоресценции (поглотивших ФИТЦ-меченые бактерии).

Полученные иммунологические показатели были сопоставлены с показателями у здоровых детей соответствующих возрастных групп, представленными в сборнике научных статей «Адаптационно-компенсаторные иммунологические реакции в норме и патологии у детей» (Екатеринбург, 2003).

Анализ преимущественной направленности иммунного ответа по Th1 или Th2 типу проведен с использованием индекса поляризации (ИП), который рассчитывался по формуле [Богданова Л.В., Лагерева Ю.Г., 2003]:

$$\text{ИП} = \frac{\text{CD3}^+/\text{IFN}\gamma^+ - \text{CD3}^+/\text{IL4}^+}{\text{CD3}^+/\text{IL4}^+}$$

Положительные значения ИП свидетельствовали о преобладании клеточно-опосредованных механизмов в иммунном ответе, отрицательные значения указывали на ведущую роль гуморального звена.

Базисная терапия ИМ включала противовирусный препарат ацикловир, антигистаминные препараты и антипиретики.

В соответствии с применяемой иммуномодулирующей терапией пациенты были рандомизированы по группам лечения. Детям в основной группе (n=45) назначался предложенный нами анаферон детский. Анаферон детский – отечественный препарат, который представляет собой сверхмалые дозы антител к интерферону- γ человека. Препарат прошел полный цикл экспериментальных и клинических исследований в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения РФ, был зарегистрирован в Российской Федерации и разрешен к применению (регистрационное удостоверение № РN000372/01-2001 от 05.04.2001). Анаферон детский применялся на фоне базисной терапии с 1-7 дня болезни в течение 7 дней ежедневно перорально по 1 таблетке 3 раза в день, затем в течение месяца по 1 таблетке 1 раз в день.

Дети контрольной группы (n=43) получали соответствующую базис-

ную терапию.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Office» и STATISTICA 6,0 фирмы StatSoft Inc. (США) для персонального компьютера на базе процессора Intel Celeron 1200. Производился расчет следующих параметров: число наблюдений, среднее значение, стандартное отклонение, стандартная ошибка среднего, минимум и максимум, размах. Сравнение двух независимых групп выполнялось с использованием параметрического метода проверки статистических гипотез – t-критерия Стьюдента для независимых выборок и непараметрических методов проверки статистических гипотез – критерии Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова, Вальда-Вольфовица. В сравнении двух зависимых групп применялся параметрический метод – t-критерий для зависимых выборок и непараметрический метод – вычисление критерия Вилкоксона. Сравнение групп по качественному признаку реализовалось с метода – χ^2 по Пирсону. Для описания взаимосвязи признаков допускались методы параметрического корреляционного анализа Пирсона (r) и непараметрические методы: Спирмена (r), Кендалла (τ). Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05 [Реброва О.Ю., 2002]. Единицы измерений приведены в системе СИ.

Результаты исследования и их обсуждение. Для решения поставленных задач нами было обследовано 132 ребенка с ИМ в возрасте от 3-х до 14 лет. Среди обследованных больных преобладали дети в возрасте 3-7 лет – 61,4%, дети 7-14 лет составили 38,6%. Среднетяжелая форма болезни отмечена в 48,5% (64 больных), тяжелая в 51,5% (68 детей).

Основной клинический симптомокомплекс ИМ сохранял свои типичные черты и соответствовал данным предыдущих исследователей [Чирешкина Н.М., 1973, Гаспарян М.О., 1975, Царькова С.А., 1987, Сабурова

Е.Б., 2000]. У больных отмечались: повышение температуры тела до фебрильных (89,9%) или субфебрильных (10,1%) цифр, лакунарная ангина (95%), проявления инфекционного токсикоза (87,1%), увеличение лимфатических узлов шейной группы (97,8%), затруднение носового дыхания (88,5%), увеличение печени (78,4%) и селезенки (66,2%).

Со стороны биохимических показателей регистрировалось увеличение активности трансаминаз – 52,2% (69 человек) и повышение тимоловой пробы 89,3% (118 детей).

В периферической крови наблюдалось нарастание количества лимфоцитов, появлялись атипичные мононуклеары ($p < 0,05$).

Иммунологическое обследование позволило выявить в острый период болезни увеличение популяции Т – лимфоцитов, цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров ($p < 0,05$) (рис. 2.).

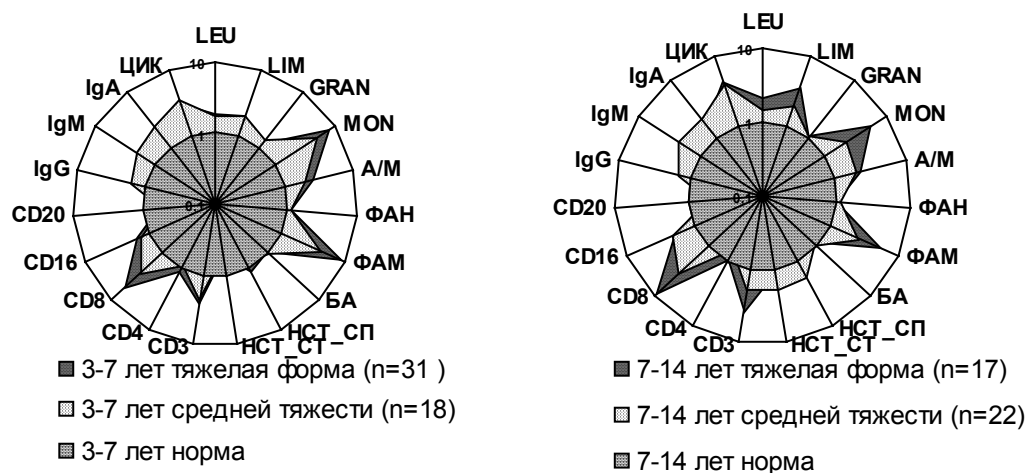


Рис. 2. Относительные показатели гемо- и иммунограммы в острый период ИМ (по отношению к норме)

Проведенное нами впервые при ИМ исследование субпопуляций $CD3^+$ - лимфоцитов, содержащих в цитоплазме провоспалительные ($IFN\gamma$, $IL2$, $TNF\alpha$) и противовоспалительные ($IL4$) цитокины, позволило установить, что общей закономерностью иммунологической перестройки субпопуляции $CD3^+$ - клеток в острый период ИМ является увеличение числа $CD3^+$ - лимфоцитов спонтанно продуцирующих $IFN\gamma$, $IL2$, $TNF\alpha$, $IL4$ и

CD3⁺- лимфоцитов, секретирующих IFN γ , TNF α , IL4 в ответ на стимуляцию *in vitro* и снижение коэффициента стимуляции CD3⁺/TNF α ⁺, CD3⁺/IL4⁺, CD3⁺/IL2⁺- клеток по сравнению с нормативными значениями ($p < 0,05$) (рис. 3.).

Одновременно с реакцией клеточного иммунитета при ИМ выявлялись изменения в гуморальном звене. Отмечено снижение численности В – лимфоцитов ($p < 0,05$). Параллельно с нарастанием уровня IgA, IgM, IgG ($p < 0,05$), определялось повышение ЦИК ($p < 0,05$). Проведенный корреляционный анализ выявил прямую зависимость между IgM и ЦИК ($r = 0,56$, $p < 0,05$) и IgG и ЦИК ($r = 0,77$, $p < 0,05$), которая не исключает участие обоих классов иммуноглобулинов в формировании циркулирующих иммунных комплексов при ИМ.

Развитие острого воспалительного процесса при изучаемой инфекции сопровождалось изменениями неспецифического звена иммунитета, регистрировалось увеличение общего числа моноцитов и повышение их поглотительной активности ($p < 0,05$).

Установлены положительные корреляционные связи между CD8⁺-лимфоцитами и моноцитами ($r = 0,82$, $p < 0,05$), CD8⁺- лимфоцитами и фагоцитарной активностью моноцитов ($r = 0,75$, $p < 0,05$), которые отражали кооперативное взаимодействие между клеточным и фагоцитарным звеньями иммунитета в ходе иммунного ответа при ИМ.

Выявленная прямая корреляционная зависимости между количеством цитотоксических лимфоцитов и активностью АЛТ ($r = 0,65$, $p < 0,47$) и уровнем ЦИК и активностью АЛТ ($r = 0,55$, $p < 0,05$), не позволяет исключить, как повреждающее действие CD8⁺- лимфоцитов на мембрану гепатоцитов, так и иммунокомплексный механизм повреждения мембран гепатоцитов.

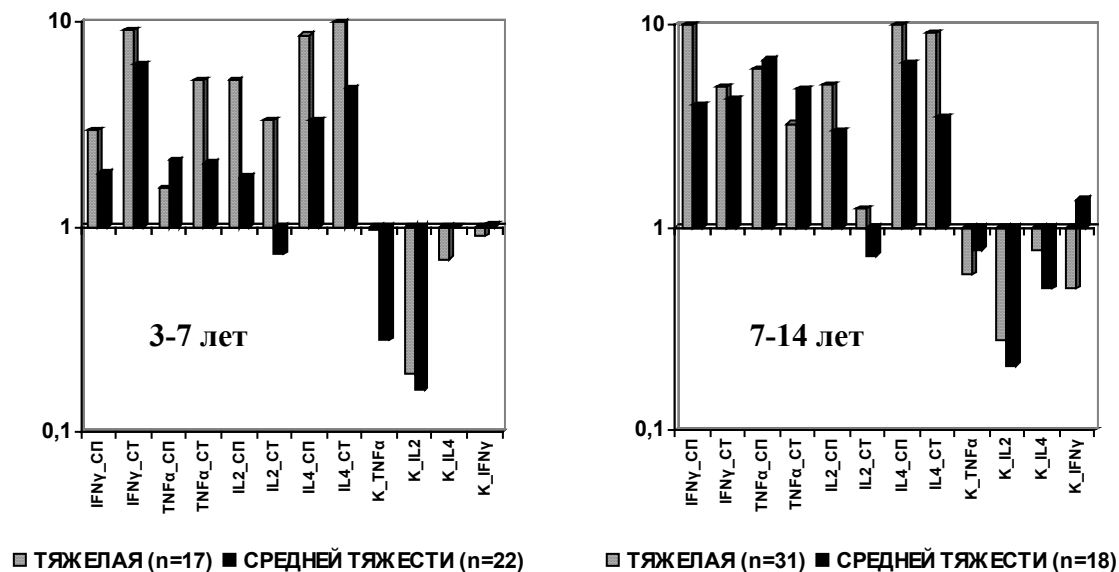


Рис. 3. Относительные показатели цитоплазматических цитокинов в острый период ИМ (по отношению к норме)

Тяжелую форму ИМ независимо от возраста отличала большая степень выраженности и большая продолжительность основных клинических симптомов: лихорадки ($p < 0,001$), ангины ($p < 0,001$), лимфаденопатии ($p < 0,001$), гепатоспленомегалии ($p < 0,001$). Уровень АЛТ и АСТ ($p < 0,05$), количество атипичных мононуклеаров и моноцитов ($p < 0,05$), значения фагоцитарной активности моноцитов, $CD8^+$ -лимфоцитов ($p < 0,05$), $CD3^+$ -лимфоцитов содержащих $IFN\gamma$, IL4 и IL2 при спонтанной и стимулированной секреции были выше, чем при среднетяжелой форме ($p < 0,05$). Кооперация между фагоцитарным и клеточным звеном иммунитета при тяжелой форме болезни наступала с опозданием, положительные корреляционные связи между $CD8^+$ -лимфоцитами и моноцитами ($r=0,82$, $p < 0,05$), $CD8^+$ -лимфоцитами и числом активно фагоцитирующих моноцитов ($r=0,75$, $p < 0,05$) определялись, начиная со второй недели заболевания.

Возрастные особенности клинической картины ИМ, характеризовались большей частотой встречаемости гепатолиенального синдрома при среднетяжелой форме у детей 3-7 лет (86,5%) по сравнению с 33,3% в группе 7-14 лет ($p < 0,05$). Экзантема при тяжелой форме болезни в 2,4 раза

чаще регистрировалась у детей 7-14 лет ($p < 0,05$). Повышение активности печеночных трансаминаз чаще определялось у детей 7-14 лет ($p < 0,05$), в этой же возрастной группе отмечались более высокие значения уровней АСТ и АЛТ при тяжелой форме заболевания ($p < 0,05$).

В иммунном статусе детей 3-7 лет в острый период ИМ наблюдалось снижение количества В – лимфоцитов ($p < 0,05$), низкие значения спонтанного и стимулированного НСТ - теста ($p < 0,05$) и стимулированной цитокинпродуцирующей способности $CD3^+/IL2^+$ - лимфоцитов ($p < 0,05$).

Период реконвалесценции ИМ характеризовался положительной динамикой со стороны основных клинических симптомов, но у части детей, перенесших тяжелую форму, сохранялись изменения со стороны лимфоидной ткани в виде увеличения лимфатических узлов (18,7%) и ретикулярной ткани, которые проявлялись гепатолиенальным синдромом (15,1%).

Независимо от возраста и формы тяжести нормализации показателей периферической крови и фагоцитарного звена иммунитета не происходило, число лимфоцитов и моноцитов превышало нормативные значения ($p < 0,05$), определялись атипичные мононуклеары ($p < 0,05$), выявлялась гранулоцитопения ($p < 0,05$). Помимо уменьшения общего количества гранулоцитов отмечалось снижение их функциональной активности, которое проявлялось угнетением фагоцитарной активности нейтрофилов ($p < 0,05$). Сохранялась высокая фагоцитарная активность моноцитов ($p < 0,05$).

Значения $CD3^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ - лимфоцитов оставались выше нормативных ($p < 0,05$). Количество $CD3^+$ - лимфоцитов, продуцирующих цитокины ($IFN\gamma$, $IL4$, $TNF\alpha$) при спонтанном синтезе и в ответ на стимуляцию было повышено, регистрировалось снижение коэффициента стимуляции $CD3^+/IFN\gamma^+$, $CD3^+/IL2^+$, $CD3^+/TNF\alpha^+$ - лимфоцитов.

Тяжелую форму ИМ в период реконвалесценции от среднетяжелой отличали более высокие значения лейкоцитов, лимфоцитов ($p < 0,05$), популяции $CD3^+$ и $CD8^+$ - лимфоцитов ($p < 0,001$), фагоцитарной активности

моноцитов ($p < 0,05$), низкий уровень гранулоцитов ($p < 0,05$) и повышенный уровень $CD3^+/IFN\gamma^+$ и $CD3^+/IL2^+$ - клеток ($p < 0,05$) (рис. 4.).

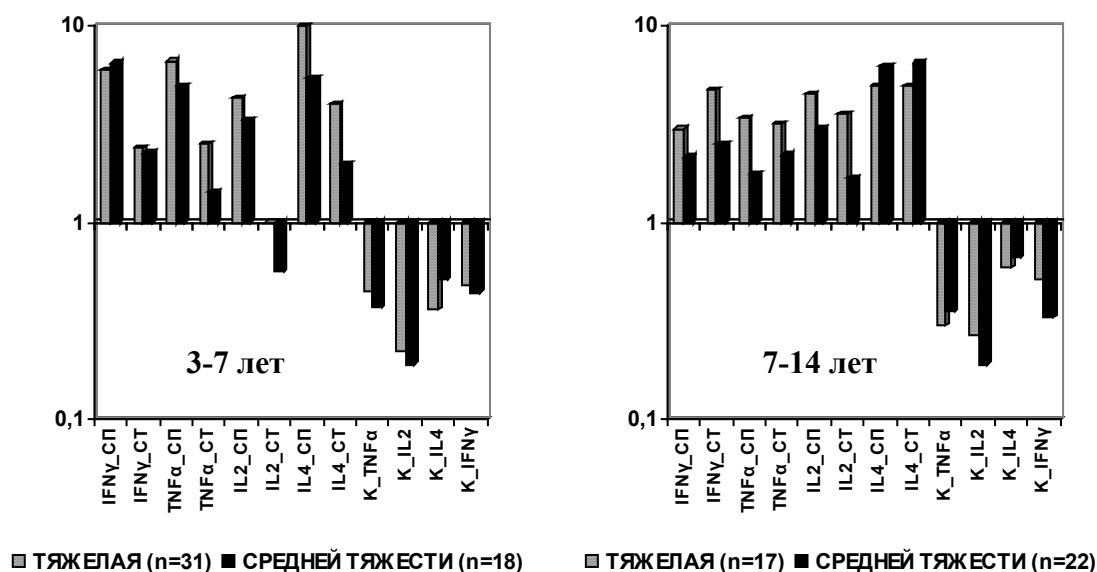


Рис. 4. Относительные показатели цитоплазматических цитокинов в период реконвалесценции ИМ (по отношению к норме)

Дети 3-7 лет в период реконвалесценции имели низкие значения спонтанного и стимулированного НСТ - теста ($p < 0,05$ по сравнению с нормой). Так как у детей данного возраста регистрировалось снижение не только общего числа гранулоцитов, поглотительной функции нейтрофилов, но и их резервных возможностей (реакции в ответ на стимуляцию) и метаболической активности они являются группой риска по развитию бактериальных осложнений.

Индекс поляризации, отражающий преимущественную направленность иммунного ответа, в период реконвалесценции имел положительные значения при среднетяжелой форме ИМ в группе детей 3-7 лет и при тяжелой форме у детей 7-14 лет, что свидетельствовало о преобладании клеточно-опосредованных механизмов иммунного ответа. Отрицательные значения ИП регистрировались при тяжелой форме у детей 3-7 лет и среднетяжелой форме в группе детей 7-14 лет и указывали на преобладание гуморального иммунитета.

По мнению некоторых авторов, дисбаланс субпопуляций Th1/Th2 клеток в сторону Th2, приводит к персистентному течению инфекции, в то время как преобладание цитокинов Th1 лимфоцитов ведет к циклическому течению болезни [Иванова В.В., 2005; Juiius M. et al., 1993]. Таким образом, формирование персистирующей EBV – инфекции можно ожидать у детей 3-7 лет, перенесших тяжелую форму и 7-14 лет среднетяжелую форму ИМ.

Т.о. комплексное клинико-иммунологическое исследование позволило выявить основные механизмы адаптивно-компенсаторной реакции при ИМ у детей. В ответ на внедрение EBV происходит активация клеточного иммунитета, что проявляется увеличением числа цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров, повышается синтез, как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов CD3⁺- лимфоцитами. В результате лизиса CD8⁺- и CD16⁺- лимфоцитами инфицированных EBV клеток, развивается вирусемия, с последующей нейтрализацией вируса специфическими антителами, повышается уровень IgM, IgG, формируется большое количество циркулирующих иммунных комплексов. Развитию иммунокомплексного процесса препятствует активация моноцитарно-макрофагального звена иммунитета, в результате чего образовавшиеся циркулирующие иммунные комплексы элиминируются макрофагами, что способствует выздоровлению (рис.5.).

Нарушения иммунного гомеостаза при ИМ, снижение функциональной активности Т – лимфоцитов диктуют использование в комплексной терапии больных иммуноориентированных лекарственных средств, способствующих коррекции дисбаланса различных звеньев иммунитета.

В нашей работе с целью иммунокоррекции использовался индуктор эндогенного интерферона анаферон детский в острый период заболевания.

Независимо от возраста и формы тяжести при использовании анаферона детского получен положительный клинический эффект, который за-

ключался в сокращении продолжительности лихорадки и ангины ($p < 0,05$).

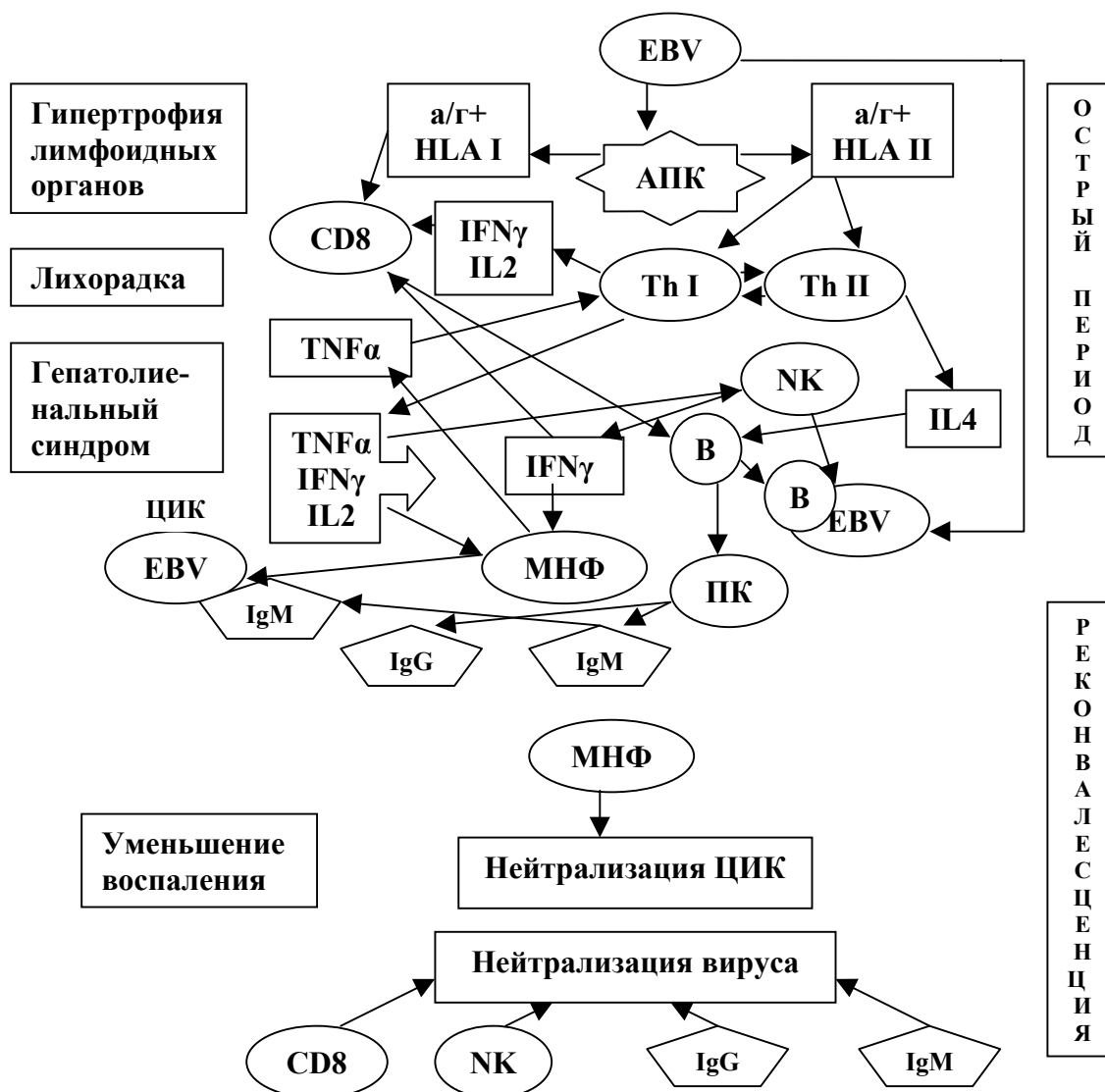


Рис. 5. Схема иммунопатогенеза ИМ

Дети, получавшие анаферон детский, имели более высокий уровень гранулоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов и $CD3^+/IFN\gamma^+$ -лимфоцитов по сравнению с детьми, получавшими базисную терапию ($p < 0,05$) и более низкие значения ЦИК и $CD3^+/IL4^+$ - лимфоцитов ($p < 0,05$), а так же положительные значения индекса поляризации.

Более высокие значения $CD3^+/IFN\gamma^+$ - лимфоцитов у детей основной группы и положительные значения индекса поляризации в данной группе детей свидетельствуют о направленности иммунного ответа по Th1 типу.

Низкие показатели ЦИК у детей основной группы по сравнению с контрольной косвенно могут свидетельствовать об активирующем влиянии анаферона детского на элиминационную функцию макрофагов. Более высокий уровень гранулоцитов и фагоцитарной активности нейтрофилов в период реконвалесценции у детей, получавших анаферон детский, способствует предотвращению развития бактериальных инфекций. Поэтому, анаферон детский может стать альтернативой антибактериальным препаратам при ИМ.

Согласно литературным данным основным патогенетическим механизмом осложненного, затяжного или хронического течения инфекций является неэффективность клеточной формы иммунной защиты, обусловленная супрессией макрофагального звена и нарушением активации и пролиферации Th1- подобных клонов Т – лимфоцитов [Иванова В.В., 2005; Juius M. et al., 1993]. Следовательно, использование анаферона детского в острый период ИМ предотвращает развитие бактериальных осложнений и формирование затяжного и хронического течения болезни.

Выводы:

1. Основной клинический симптомокомплекс инфекционного мононуклеоза сохраняет типичные черты и разворачивается на первой – второй неделе заболевания. Особенностью клинической картины инфекционного мононуклеоза у детей 3-7 лет является большая частота встречаемости гепатолиенального синдрома, у детей 7-14 лет чаще наблюдаются экзантема и повышение активности печеночных трансаминаз.
2. При инфекционном мононуклеозе независимо от возраста больных и формы тяжести на протяжении всего периода наблюдения отмечается повышение фагоцитарной активности моноцитов, в период реконвалесценции – снижение фагоцитарной активности нейтрофилов; де-

ти 3-7 лет в острый период и период реконвалесценции имеют низкие значения спонтанного и стимулированного НСТ - теста.

3. Общей закономерностью иммунологической перестройки субпопуляции $CD3^+$ -клеток в острый период инфекционного мононуклеоза и период реконвалесценции является увеличение числа $CD3^+$ -лимфоцитов спонтанно продуцирующих $IFN\gamma$, $IL2$, $TNF\alpha$, $IL4$ и $CD3^+$ -лимфоцитов, секретирующих $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, $IL4$ в ответ на стимуляцию *in vitro* и снижение коэффициента стимуляции $CD3^+/TNF\alpha^+$, $CD3^+/IL4^+$, $CD3^+/IL2^+$ -клеток по сравнению с нормативными значениями.
4. Взаимосвязь между показателем фагоцитарной активности моноцитов и числом $CD8^+$ -лимфоцитов не зависит от возраста и устанавливается при среднетяжелой форме на первой неделе, при тяжелой форме на второй неделе острого периода инфекционного мононуклеоза.
5. Использование анаферона детского в комплексной терапии острого периода инфекционного мононуклеоза приводит к сокращению продолжительности лихорадки, ангины, снижению уровня циркулирующих иммунных комплексов, увеличению числа $CD3^+$ -лимфоцитов, продуцирующих $IFN\gamma$, гранулоцитов, активно фагоцитирующих нейтрофилов.

Практические рекомендации:

1. Дети 3-7 лет, перенесшие тяжелую форму инфекционного мононуклеоза и 7-14 лет – среднетяжелую форму, являются группой риска по формированию персистирующей EBV-инфекции, что является показанием к иммунологическому обследованию и назначению иммунокорректирующей терапии.

2. Развитие бактериальных осложнений инфекционного мононуклеоза наиболее вероятно у детей 3-7 лет, что требует настороженности со стороны педиатра.
3. В острый период инфекционного мононуклеоза, учитывая снижение функциональной активности CD3⁺- лимфоцитов, рекомендовано использование совместно с ацикловиром индуктора интерферона – анаферон детский.
4. Реконвалесцентам инфекционного мононуклеоза показано проведение иммунокорригирующей терапии, в связи со снижением функционального состояния клеточного звена и нейтрофилов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Тункина Е.Е. Оценка эффективности анаферона при лечении детей, больных тяжелыми формами инфекционного мононуклеоза // Материалы 59-й межвуз. научн.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием.- Екатеринбург. 2004. – С .136-137.
2. Тункина Е.Е. Использование нестероидных противовоспалительных препаратов в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза / Е.Е. Тункина, Н.Е. Сергеева // Материалы 59-й межвуз. научн.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием.- Екатеринбург. 2004. – С .138.
3. Анаферон и циклоферон в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Тункина, Е.Б. Сабурова, И.Ю. Горельшева, Ю.Г. Лагерева // Инфекционные заболевания у детей: проблемы, поиски, решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – СПб., 2004. – С147.
4. Фомин В.В. Клинико-иммунологическая оценка эффективности анаферона в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Тункина, Е.Б. Сабурова, Ю.Г. Лагерева, И.Ю. Го-

- рельшева // Russian Journal of Immunology: Тез. докл. объедин. иммунол. форума – 2004. – Vol. 9. suppl. 1 – P. 185.
5. Фомин В.В. Функциональное состояние фагоцитарного звена иммунитета при инфекционном мононуклеозе / В.В. Фомин, Е.Е. Тункина, И.Ю. Горельшева, Ю.Г. Лагерев // Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей (инфекция и иммунитет): Материалы Третьего Конгр. детских инфекционистов. М., 2004. – С. 245.
 6. Тункина Е.Е. Клинические особенности инфекционного мононуклеоза у подростков / Е.Е. Тункина, Н.А. Бацкалевич, И.Ю. Горельшева, Е.К. Шемякина // Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей (инфекция и иммунитет): Материалы Третьего Конгр. детских инфекционистов. М., 2004. – С. 232.
 7. Опыт применения ацикловира и анаферона детского при инфекционном мононуклеозе у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Тункина, И.Ю. Горельшева, Ю.Г. Лагерев, Е.Б. Сабурова, Е.Ю. Старокорова, Н.А. Бацкалевич // Вестник Уральской Государственной Медицинской Академии. – 2004. – Выпуск 14. – С. 54-56.
 8. Фомин В.В. Состояние цитокиновой системы при инфекционном мононуклеозе у детей и обоснование иммунокорректирующей терапии в острый период заболевания / В.В. Фомин, Я.Б. Бейкин, Е.Е. Тункина, Ю.Г. Лагерев // Актуальные проблемы лабораторной диагностики и клинической иммунологии инфекционных и соматических заболеваний: Сб. науч. тр. – Екатеринбург, 2005. – С. 185-190.
 9. Тункина Е.Е. Состояние цитокиновой системы при инфекционном мононуклеозе у детей / Е.Е. Тункина, Ю.Г. Лагерев // Материалы 60-й межвуз. научн.-практ. конф. молодых ученых и студентов. – Екатеринбург. 2005. – С. 137-138.
 10. Патогенетическое обоснование иммунокорректирующей терапии при инфекционном мононуклеозе у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Удилова,

Я.Б. Бейкин, Ю.Г. Лагерева // Детские инфекции. – 2006. - № 3. – С. 23-26.

11. Фомин В.В. Состояние цитокиновой системы и применение анаферона при инфекционном мононуклеозе у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Удилова, Ю.Г. Лагерева // Сборник материалов XIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство»: Тез. докл. – М., 2006. – С. 315.

12. О возможных механизмах гиперчувствительности немедленного типа при инфекционном мононуклеозе у детей / В.В. Фомин, Е.Е. Удилова // Уральский медицинский журнал. – 2007. - №3. – С. 14-20.