

## КЛЕТОЧНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ *IN VITRO* К ИНТЕРФЕРОНУ- $\alpha 2$ В ДИНАМИКЕ ЭПШТЕЙНА – БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

М.Б. Дрыганова<sup>1</sup>, Г.П. Мартынова<sup>1</sup>, Л.М. Куртасова<sup>1</sup>, С.В. Евреимова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск

<sup>2</sup> Городская детская клиническая больница № 1, Красноярск

Cellular sensitivity of white blood cell *in vitro* to interferon- $\alpha 2$  in the dynamics of ebv-infections in children

M.B. Dryganova<sup>1</sup>, G.P. Martynova<sup>1</sup>, L.M. Kurtasova<sup>1</sup>, S.V. Evreimova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk

<sup>2</sup> City Children Clinical Hospital № 1, Krasnoyarsk

**Резюме.** В статье приведены результаты изучения клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в остром периоде Эпштейна – Барр вирусной инфекции и в сроки через 1, 6, 12 месяцев после перенесенного заболевания. Установлено, что изменение клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в динамике заболевания носит индивидуальный характер. Это обуславливает необходимость повторного исследования клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в указанные сроки при назначении повторных курсов интерферонотерапии.

**Ключевые слова:** вирусная инфекция Эпштейна – Барр, клеточная чувствительность, интерферон, лейкоциты крови, дети

**Abstract:** In this study, the cellular sensitivity of white blood cells *in vitro* to interferon- $\alpha 2$  in children with EBV-infection in the acute period of the disease in terms of the 1, 6, 12 months after a previous infection. Found that children in the dynamics of the EBV-infection, preservation of cell sensitivity at the same level at 1 month after the disease is seen in 40,5 % children, 6 months – 27,8 % patients. Lack of cell sensitivity to interferon- $\alpha 2$  blood leukocytes in 12 months after undergoing a EBV-infection observed in 88,9 % of children. During repeated courses interferon-therapy to study cellular sensitivity of blood leukocytes for individual selection of the drug.

**Key words:** EBV-infection, cellular sensitivity, interferon- $\alpha 2$ , white blood cells, children.

### Введение

Последние десятилетия характеризуются нарастающей частотой заболеваний, протекающих с поражением иммунной системы, в том числе инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна – Барр (ВЭБ) [2, 3, 5]. Среди многочисленных факторов, оказывающих непосредственное влияние на иммунную систему, особого внимания заслуживают вирусы семейства герпеса, в частности, ВЭБ, являющегося основным этиологическим агентом инфекционного мононуклеоза у детей. ВЭБ-инфекция имеет особую социальную значимость ввиду ее повсеместной распространенности, значительной частоты стертых форм, высокой степени хронизации процесса, а также отсутствия средств специфической терапии [1, 4, 6, 7, 8]. Потенциальная онкогенность ВЭБ также обуславливает медико-социальную значимость проблемы [12–14].

Современные исследования показывают, что перенесенная ВЭБ-инфекция является одним из факторов риска нарушения иммунологической реактивности, а это ведет к повышению часто-

ты инфекционных заболеваний респираторного тракта и формированию хронической патологии ЛОР-органов [3–7].

Проблема иммунологической коррекции ИМ, вызванного ВЭБ, актуальна для многих больных, причем не только в остром периоде болезни, но и в анамнезе после перенесенного заболевания [12–14]. Однако в ряде случаев терапия препаратами интерферона у больных ИМ, вызванным ВЭБ, имеет низкую эффективность [12–14]. В связи с этим не подлежит сомнению, что коррекция иммунопатологического состояния должна проводиться с учетом конкретных иммунологических нарушений и индивидуальной чувствительности пациента к применяемым препаратам, как в остром периоде заболевания, так и при повторных курсах интерферонотерапии [5, 6, 8–10].

**Цель исследования** – изучение клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  у детей с ИМ, вызванным ВЭБ, в остром периоде заболевания и в сроки через 1, 6, 12 месяцев после перенесенного заболевания.

## Задачи исследования

1. Изучить индивидуальную клеточную чувствительность *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в остром периоде ВЭБ-инфекции и в отдаленные сроки после перенесенного заболевания: через 1, 6, 12 месяцев.

2. Установить варианты изменения диапазона клеточной чувствительности в динамике заболевания.

## Материалы и методы

Объектом исследования явились 73 ребенка в возрасте от 3 до 6 лет, находившихся на стационарном лечении в Городской детской клинической больнице № 1 г. Красноярск с диагнозом «Инфекционный мононуклеоз (ВЭБ), типичный, средне-тяжелая форма» за период с 2007 по 2010 г. Среди наблюдаемых детей было 61,6% (85 чел.) мальчиков и 38,4% (53 чел.) девочек.

Диагноз ИМ ВЭБ-этиологии был выставлен на основании комплексного обследования больных, включающего сбор жалоб, анамнеза заболевания, клинического осмотра и данных лабораторных методов исследования. Все больные в остром периоде заболевания имели положительный тест на ДНК ВЭБ в лимфоцитах крови и серологические маркеры активной ВЭБ-инфекции (VCA IgM (+), EA IgG (+)).

Клеточную чувствительность лейкоцитов крови *in vitro* к различным дозам интерферона- $\alpha 2$  (500 тыс. МЕ, 1 млн МЕ, 1,5 млн МЕ) изучали способом Л.М. Куртасовой с соавт. (2007) [11].

Исследование клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к различным дозам (500 тыс. МЕ, 1 млн МЕ, 1,5 млн МЕ) интерферона- $\alpha 2$  в остром периоде ВЭБ-инфекции проведено у 73 пациентов, которые были разделены на две подгруппы. В подгруппу Ia (**n = 58**) вошли пациенты, у которых была выявлена чувствительность

к различным дозам интерферона- $\alpha 2$ . Подгруппу Ib (**n = 15**) составили дети, у которых отсутствовала индивидуальная клеточная чувствительность к исследуемым дозам интерферона- $\alpha 2$ . В качестве контрольной группы обследовано 35 практически здоровых детей.

## Результаты и обсуждение

В результате изучения клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в остром периоде заболевания было установлено, что чувствительность к минимальной исследуемой дозе интерферона- $\alpha 2$  (500 тыс. МЕ) имела место у  $8,2 \pm 3,2\%$  больных, к средней (1 млн МЕ) — у  $9,6 \pm 3,4\%$ , к максимальной (1,5 млн МЕ) — у  $4,1 \pm 2,3\%$  детей. Одновременно чувствительность к минимальной и к средней дозам регистрировалась у  $11 \pm 3,7\%$  больных, к минимальной и максимальной дозам — у  $6,8 \pm 3,0\%$  пациентов. У  $12,3 \pm 3,8\%$  больных имела место чувствительность к средней и максимальной дозам используемого препарата, у  $27,4 \pm 5,2\%$  детей была выявлена индивидуальная клеточная чувствительность *in vitro* ко всем исследуемым дозам интерферона- $\alpha 2$ . Таким образом, у преобладающего большинства пациентов в остром периоде заболевания была выявлена клеточная чувствительность к различным дозам используемого препарата, что убедительно свидетельствует о целесообразности введения экзогенного интерферона при данной инфекции (табл.).

Анализируя исходы и варианты течения ИМ ВЭБ-этиологии, а также заболеваемость детей в катанезе ВЭБ-инфекции, мы установили, что в ряде случаев, даже в отдаленный период после перенесенного заболевания, больные нуждаются в назначении иммунотерапии, которую целесообразно осуществлять в индивидуально подобранных дозах, в соответствии с результатами исследования клеточной чувствительности лейкоцитов

Таблица

**Индивидуальная клеточная чувствительность *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  у больных ВЭБ-инфекцией в остром периоде заболевания**

Индивидуальная клеточная чувствительность <i>in vitro</i> к интерферону-α2	Наблюдаемые дети						Р по критерию χ²
	Контрольная группа (n = 30)		Ib-группа (n = 15)		Ia-группа (n = 58)		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Наличие индивидуальной клеточной чувствительности	24	80±7,3	0	0,0	58	100±0,0	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
Отсутствие индивидуальной клеточной чувствительности	6	20±7,3	15	100±0,0	0	0±0,0	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001

$p_1$  — статистически достоверные различия между показателями у пациентов Ia- и Ib-группы;

$p_2$  — статистически достоверные различия между показателями у пациентов Ia-группы и контрольной группы;

$p_3$  — статистически достоверные различия между показателями у пациентов Ib-группы и контрольной группы.

*in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  [1, 8, 10]. При этом далеко не всегда, как в остром периоде болезни, так и в катамнезе заболевания, у больных имеет место чувствительность к вводимому препарату [1, 8, 10]. В связи с этим мы сочли целесообразным проследить динамику изменения индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  у детей в катамнезе ИМ, вызванного ВЭБ.

Исследование индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  через месяц после перенесенного заболевания было проведено у 47 пациентов, при этом у  $71,4 \pm 7,0\%$  (30 чел.) больных Ia-группы сохранялась клеточная чувствительность *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$ , тогда как у  $28,6 \pm 7,0\%$  (12 чел.) она отсутствовала. В то же время у троих больных, не имеющих чувствительности к исследуемым дозам препарата в остром периоде заболевания (подгруппа Ib), отмечалось ее возникновение.

Через полгода после перенесенного заболевания исследование индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  было проведено у 44 пациентов, из которых  $81,8 \pm 5,8\%$  (36 чел.) относились к Ia-подгруппе, а  $18,2 \pm 5,8\%$  (8 чел.) — к Ib-подгруппе. При анализе показателей индивидуальной клеточной чувствительности к различным дозам исследуемого препарата в этот период у  $27,8 \pm 7,5\%$  (10 чел.) пациентов подгруппы Ia выявлена индивидуальная клеточная чувствительность *in vitro* ко всем дозам интерферона- $\alpha 2$ . Чувствительность к минимальной дозе отмечалась у 2 больных, к средней — у 1 ребенка, к максимальной дозе — у 2 человек. Одновременно наличие индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  как к минимальной, так и к средней дозам выявлено только у одного больного, к минимальной и максимальной дозам — у двоих пациентов. Индивидуальная клеточная чувствительность *in vitro* при введении средней и максимальной доз исследуемого препарата отмечена также только у одного больного.

При исследовании индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  у пациентов с отсутствием клеточной чувствительности лейкоцитов крови к исследуемым дозам интерферона- $\alpha 2$  (Ib-подгруппа) в остром периоде заболевания выявлено, что спустя 6 мес. у  $62,5\%$  (5 чел.) детей по-прежнему не отмечалось клеточной чувствительности лейкоцитов крови к вводимому препарату. Ни у одного больного не было выявлено клеточной чувствительности ни к минимальной, ни к средней дозам интерферона- $\alpha 2$ . У двоих больных появилась клеточная чувствительность лейкоцитов крови только к максимальной дозе. У одного пациента отмечалась клеточная чувствительность при введении минимальной и средней доз интерферона- $\alpha 2$ .

Через 12 месяцев после перенесенного заболевания исследование индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  проводилось у 22 пациентов. При этом у  $88,9 \pm 7,4\%$  (16 чел.) больных Ia-подгруппы отсутствовала индивидуальная клеточная чувствительность лейкоцитов крови *in vitro* к исследуемым дозам интерферона- $\alpha 2$  и только у  $11,1 \pm 7,4\%$  (2 чел.) имела место клеточная чувствительность к исследуемым дозам препарата. У 2 пациентов Ib-подгруппы была выявлена клеточная чувствительность лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$ , а у 2 детей она отсутствовала. При этом наличие клеточной чувствительности у больных Ia-группы отмечалось только к максимальной дозе (1 чел.) и у такого же количества — к средней и максимальной дозам вводимого препарата.

У 2 больных Ib-группы не было выявлено клеточной чувствительности лейкоцитов крови к интерферону- $\alpha 2$ , у 1 ребенка отмечалась индивидуальная клеточная чувствительность *in vitro* при введении интерферона- $\alpha 2$  в средней и максимальной дозах и еще у 1 пациента — ко всем исследуемым дозам препарата.

Изучение клеточной чувствительности лейкоцитов крови к препаратам интерферона в остром периоде ИМ, вызванного ВЭБ, и в течение 12 месяцев периода реконвалесценции позволили выявить четыре типа изменения клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в динамике ВЭБ-инфекции.

К I типу мы отнесли случаи, при которых индивидуальная клеточная чувствительность лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  отмечалась в остром периоде заболевания и сохранялась в катамнезе ВЭБ-инфекции. Такой вариант клеточной чувствительности лейкоцитов крови регистрировался в  $36,1 \pm 6,1\%$  (22 чел.) случаев.

При наличии индивидуальной клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в остром периоде ИМ и при исчезновении клеточной чувствительности к исследуемым дозам препарата в катамнезе заболевания регистрировался II тип изменения. Данный тип реагирования на введение экзогенного интерферона- $\alpha 2$  встречался наиболее часто — у  $44,3 \pm 6,4\%$  (27 чел.) пациентов.

Отсутствие индивидуальной клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в остром периоде болезни с последующим появлением чувствительности в катамнезе заболевания (III тип) имело место только у  $8,2 \pm 3,5\%$  (5 чел.) детей. Выявлено, что у  $11,5 \pm 4,1\%$  (7 чел.) больных наблюдался IV тип изменения чувствительности к исследуемому препарату: при отсутствии индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в остром периоде не

отмечалось ее появления и в отдаленные сроки после перенесенного заболевания.

При исследовании индивидуальной клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  было выявлено, что через месяц после перенесенного ИМ, вызванного ВЭБ, у больных имеют место четыре типа изменения клеточной чувствительности к интерферону- $\alpha 2$ .

Первый тип изменения клеточной чувствительности лейкоцитов крови характеризовался сохранением чувствительности лейкоцитов крови к дозе, назначенной больному в остром периоде заболевания. Такой вариант встречался у  $40,5 \pm 7,6\%$  (17 чел.) наблюдаемых детей. Второй по частоте встречаемости вариант изменения индивидуальной клеточной чувствительности *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  заключался в исчезновении чувствительности к исследуемым дозам через месяц после перенесенного заболевания и имел место у  $28,6 \pm 7,0\%$  (12 чел.) больных. У  $21,4 \pm 6,3\%$  (9 чел.) больных отмечалось снижение клеточной чувствительности. При этом чувствительность наблюдалась к более высокой, чем в остром периоде, дозе интерферона- $\alpha 2$ . Повышение уровня клеточной чувствительности и, соответственно, наличие индивидуальной клеточной чувствительности к меньшей дозе исследуемого препарата отмечалось только у  $9,5 \pm 4,5\%$  (4 чел.) пациентов.

При анализе уровня индивидуальной клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  через 6 месяцев после перенесенного заболевания установлено, что снижение уровня клеточной чувствительности, характеризующееся положительным ответом на введение большей дозы препарата, отмечалось у  $11,1 \pm 5,2\%$  (4 чел.) детей, повышение уровня клеточной чувствительности — у  $13,9 \pm 5,8\%$  (5 чел.). Преобладающий вариант изменения индивидуальной клеточной чувствительности заключался в исчезновении положительного ответа лейкоцитов крови на воздействие всех исследуемых доз интерферона- $\alpha 2$ . Такой вариант имел место у  $47,2 \pm 8,3\%$  (17 чел.). Сохранение чувствительности на прежнем уровне отмечалось у  $27,8 \pm 7,5\%$  (10 чел.) детей.

При анализе уровня индивидуальной клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  в отдаленные сроки после перенесенной ВЭБ-инфекции (12 мес.) было выявлено, что только у  $11,1 \pm 7,4\%$  (2 чел.) пациентов наблюдалось снижение чувствительности, у преобладающего большинства —  $88,9 \pm 7,4\%$  (16 чел.) детей отмечалось отсутствие клеточной чувствительности лейкоцитов крови на все исследуемые дозы интерферона- $\alpha 2$ .

Следовательно, у преобладающего числа реконвалесцентов ИМ, вызванного ВЭБ, в катamnезе

заболевания отмечается исчезновение клеточной чувствительности лейкоцитов крови к исследуемым дозам интерферона- $\alpha 2$  либо снижение уровня клеточной чувствительности. Вероятно, это обусловлено снижением «потребности» клетки к введению экзогенного интерферона и косвенно свидетельствует о восстановлении интерферонного звена иммунной системы. Таким образом, мы полагаем, что исчезновение клеточной чувствительности к интерферону- $\alpha 2$ , а также снижение уровня клеточной чувствительности можно расценивать как благоприятное для данного конкретного больного.

## Выводы

1. Изменение клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  у детей в остром периоде ИМ, вызванного ВЭБ, и в катamnезе носит индивидуальный характер, при этом сохранение клеточной чувствительности на прежнем уровне через 1 месяц после перенесенного заболевания отмечается у  $40,5 \pm 7,6\%$  детей, через 6 месяцев — у  $27,8 \pm 7,5\%$  пациентов. Через 12 месяцев после перенесенной ВЭБ-инфекции у  $88,9 \pm 7,4\%$  детей отсутствует клеточная чувствительность лейкоцитов крови к исследуемым дозам интерферона- $\alpha 2$ .

2. При формировании неблагоприятных вариантов течения болезни и необходимости повторных курсов интерферонотерапии в катamnезе заболевания необходимо исследование клеточной чувствительности лейкоцитов крови *in vitro* к интерферону- $\alpha 2$  для назначения препарата в дозе, соответствующей выявленной чувствительности.

## Литература

1. Баркова, Е.П. Экспрессия рецепторов для человеческих  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов на поверхности мононуклеарных клеток периферической крови при вирусных инфекциях / Е.П. Баркова, Ф.Г. Нагиева, В.П. Кузнецов // Вопр. вирусологии. — 1999. — № 1. — С. 16–18.
2. Богомолов, С.В. Система интерферона: современные представления о структуре, организации и роли в реализации иммунитета / С.В. Богомолов // Инфекционные болезни. — 2009. — № 1. — С. 49–53.
3. Боковой, А.Г. Герпетические инфекции как ведущий фактор формирования вторичных иммунодефицитов в детском возрасте / А.Г. Боковой // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2007. — № 6. — С. 34–38.
4. Боковой, А.Г. Роль герпесвирусных инфекций в формировании контингента часто болеющих детей / А.Г. Боковой // Детские инфекции. — 2007. — № 3. — С. 3–7.
5. Вирусы семейства герпеса и иммунитет / Ф.С. Харламова [и др.] // Детские инфекции. — 2006. — № 3. — С. 3–10.
6. Виферон: руководство для врачей / В.В. Малиновская [и др.]. — М.: Б. и., 2006. — 56 с.
7. Гульман, Л.А. Клинико-серологические критерии инфекционного мононуклеоза у детей / Л.А. Гульман, Л.М. Куртасова, А.А. Андреева // Детские инфекции. — 2004. — № 3. — С. 27–30.



8. Дрыганова, М.Б. Оценка эффективности иммунотерапии инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна — Барр, у детей с учетом индивидуальной клеточной чувствительности к интерферону-альфа2 / М.Б. Дрыганова, Г.П. Мартынова, Л.М. Куртасова // Инфекционные болезни. — 2011. — № 2. — С. 93—96.

9. Дранник, Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. — М.: Мед. информ. агентство, 2003. — 604 с.

10. Зайцева, И.А. Инфекционный мононуклеоз у детей / И.А. Зайцева, С.А. Хмилевская, И.А. Бережнова // Детские инфекции. — 2004. — № 3. — С. 65—68.

11. Пат. 2293988 Российская Федерация. Способ оценки чувствительности к интерферону у больных раком почки / Л.М. Куртасова [и др.] — №. 2005100610/15; Заявл. 11.01.2005; Оpubл. 20.02.07. Изобретения. Полезные модели. — 2007. — Бюл. № 5. — 5 с.

12. Baron, S. Immune and interferon systems / S. Baron, S.E. Grossberg, G.R. Klimpel. — New York : Raven Press, 1984. — 123 p.

13. Baron, S. The interferons. Mechanism of action and clinical applications / S. Baron, S.K. Tying, W.R. Fleishmann // JAMA. — 1991. — V. 266, № 11. — P. 1375—1383.

14. Biology of Epstein-Barr virus during infectious mononucleosis / D.L. Sitki-Green [et al.] // J. Infect. Dis. — 2004. — V. 189, № 3. — P. 483—492.

*Авторский коллектив:*

*Дрыганова Мария Борисовна* — ассистент кафедры детских инфекционных болезней с курсом ПО Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, к.м.н.; тел. 8-902-912-91-41 e-mail: mar-dryganova@yandex.ru;

*Мартынова Галина Петровна* — заведующая кафедрой детских инфекционных болезней с курсом ПО Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, д.м.н., профессор; тел. 89135348527, e-mail: doc-martynova@yandex.ru;

*Куртасова Людмила Михайловна* — профессор кафедры клинической иммунологии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, д.м.н., профессор; тел. 8(391)220-15-52, e-mail: sibmed-obozrenie@yandex.ru;

*Евреимова Светлана Викторовна* — заведующая I ДИО инфекционного стационара Городской детской клинической больницы № 1; тел. 8-902-929-94-292;