

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Колектив авторів, 2007  
УДК 616.988.55-058.8-07

### Т.І. Коляда, В.М. Козько, Н.Ф. Меркулова, Е.О. Белкіна, О.Н. Коляда КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ПАРАЛЕЛІ ІНФЕКЦІЙНОГО МОНОНУКЛЕОЗУ ЗА РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України,  
Харківський державний медичний університет

*При обстеженні 65 хворих з ВЕБ-інфекцією було встановлено зв'язок між тяжкістю клінічних проявів і тривалістю захворювання, а також з особливостями імунної відповіді організму в зіставленні з відповідними показниками контрольної групи. Схильність до пригнічення клітинно-опосередкованих механізмів і посилення гуморальних механізмів імунної відповіді була негативною прогностичною ознакою.*

**Ключові слова:** *інфекційний мононуклеоз, клінічні особливості, імунітет.*

Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ) є одним з найбільш розповсюджених з відомих на сьогодні. Первинна ВЕБ-інфекція перебігає найчастіше безсимптомно (до 90 % людей інфіковані ВЕБ) і тільки у ряді випадків, частіше в юнацькому віці, проявляється як інфекційний мононуклеоз (ІМ) [1-4]. У разі проникнення в організм вірусу відбувається його реплікація в епітеліоцитах слизової оболонки з наступним або одночасним ураженням лімфоцитів; кількість інфікованих лімфоцитів, які несуть вірусну ДНК, у здорових людей постійна і становить приблизно  $10^5$ - $10^6$  [2, 4-9]. У деяких імунокомпетентних осіб інфікування ВЕБ може призвести до формування хронічної активної інфекції, яка характеризується тяжким ступенем недуги з розвитком ускладнень, які загрожують життю, таких як вірус-асоційований гемофагоцитарний синдром (ГФС), інтерстиціальна пневмонія, аневризми коронарних артерій і порушення з боку центральної нервової системи. Роль латентної ВЕБ-інфекції доведена як для груп незлоякісних лімфопроліферативних захворювань, до яких належать Х-зчеплений лімфопроліферативний синдром, так і для багатьох злоякісних лімфопроліферативних захворювань: рак носоглотки, шлунку та деяких лімфом, у тому числі лімфому Беркіта [1, 10].

На жаль, деталі й тонкі механізми особливостей цієї взаємодії, що обумовлюють, у свою чергу,

своєрідність перебігу і клінічних проявів інфекційного процесу в різних людей, досі багато в чому не з'ясовані. Іноді антитіла не забезпечують захисного ефекту, а, навпаки, стимулюють інфекцію – так, молекула імуноглобуліну G у складі лімфоцитів може неспецифічно зв'язуватися через рецептори для Fc-фрагмента і забезпечувати тісний контакт між клітинною поверхнею і вірусною оболонкою, полегшуючи тим самим проникнення вірусу в клітину [11]. З іншого боку, імуноглобуліни блокують NK-клітинну цитотоксичність, відповідно, імунітет не «знешкоджує» інфіковані клітини. При інфікуванні імунокомпетентні клітини можуть синтезувати розчинні імуномодулюючі речовини, які гальмують імунну відповідь організму людини, наприклад, вірус Епштейна-Барр кодує аналог інтерлейкіну-10, що гальмує синтез  $\alpha$ -інтерферону [12]. Як видно, ключову роль у генезі дисбалансу імунної рівноваги відіграє участь вірус-індукованих змін в імунокомпетентних клітинах [2, 4, 6-9].

Завданням цієї роботи було вивчення особливостей клініки та імунного статусу у дорослих з визначенням закономірностей перебігу хвороби залежно від фази і тяжкості захворювання.

#### Матеріали і методи

Спостерігали 65 хворих на ІМ віком від 17 до 28 років, які були поділені на дві групи залежно від ступеня тяжкості основних симптомів: 37 хворих з відносно легкою формою хвороби та 28 – з тяжким її ступенем. Контрольну групу становили 22 практично здорові особи відповідного віку. Обстеження проводили двічі: у гостру фазу (перший тиждень перебування у стаціонарі) і у фазу ранньої реконвалесценції (14-20 днів).

Фенотипування мембранних антигенів лімфоцитів проводили із використанням моноклональних антитіл до диференційованих антигенів CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD95, CD25 («Медбіоспектр», Москва). Концентрації сироваткових імуноглобулінів IgM, IgG, IgA досліджували методом раді-

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

альної імунодифузії за *Manchini* з монорецепторними сироватками в агаровому гелі (*Difco*, США). Реакцію бласттрансформації Т-лімфоцитів на ФГА здійснювали морфологічним методом. Концентрації в крові IgE, специфічних антитіл IgM та IgG до ВЕБ оцінювали за допомогою імуноферментної тест-системи виробництва BEST (Новосибірськ).

Статистичне опрацювання даних проводили з використанням програми *Microsoft Excel XP* для *Microsoft Windows XP*.

### Результати досліджень та їх обговорення

У більшості випадків хворі зверталися в клініку з різними клінічними проявами та з такими діагнозами, як ангіна (31), ГРЗ (15), гострий вірусний гепатит (9), гарячка неясного генезу (5), і тільки 5 хворих з діагнозом ІМ. У перші 3-5 днів недуги був госпіталізований 21 хворий, після 7-го дня – 29, між 10-16 днями – 10, а 5 – після 3 тижнів від початку захворювання. Найбільш постійним синдромом у більшості випадків (49 хворих) була гарячка від субфебрильної до високої, тривалість якої коливалася в різних межах: протягом 7 днів – у 21 хворого, 10-14 – у 28, в інших – більш ніж три тижні.

Одним з провідних синдромів при ІМ була генералізована лімфаденопатія або локалізований лімфаденіт. Частина хворих (21 пацієнт) після місячного перебування у стаціонарі була виписана з явищами лімфаденопатії.

За нашими спостереженнями, у більш ніж половини випадків виявляється гепатолієнальний синдром, а при поєднанні його з високою гарячкою, як правило, виникала необхідність диференціації із сепсисом, системними захворюваннями крові. Всіх їх було госпіталізовано до стаціонару з попереднім діагнозом «гострий вірусний гепатит». У цілому жовтяничний період тривав від 5 до 8 днів і був слабо або помірно вираженим. Незважаючи на змінені функціональні проби печінки, маркери гепатиту не виявлялися.

З боку серцево-судинної, нервової та дихальної систем патології виявлено не було. Клініка гастроентериту (у 3 осіб) в основному спостерігалася в перший тиждень недуги. Копрологічні, бактеріологічні та серологічні дослідження допомогли виключити кишкову патологію.

Специфічним для діагностики ВЕБ-інфекції є ІФА: визначення IgG до антигену EBNA (ядерний) та EA (ранній), а також IgM до VCA (капсидного). У всіх пацієнтів були виявлені високі титри IgM до VCA в гострій фазі, у фазі реконвалесценції – IgG до антигену EBNA незалежно від клінічних проявів.

У постановці діагнозу ІМ значне місце займає гемограма: лейкоцитоз із зсувом білої крові вправо за рахунок лімфоцитозу (збільшення кількості лімфоцитів становило від 40 до 90 %) й при цьому наявність атипичних мононуклеарів у досить значній кількості – більше 5 %, збільшення ШОЕ. У 25 % хворих поява атипичних мононуклеарів затримувалася, вони з'являлися на 2-й і 3-й тиждень хвороби, що значно ускладнювало діагностику. З початком періоду реконвалесценції збільшувалась кількість моноцитів на тлі зниження загальної кількості лімфоцитів. Атипичні мононуклеари зберігалися досить довго, поступово зменшуючись у кількості (від  $15,2 \pm 1,8$  до  $6,9 \pm 1,0$ ) на тлі загального лімфоцитозу (від  $65,1 \pm 2,7$  до  $41,0 \pm 3,5$ ). У клініці захворювання між ступенем спленомегалії, лімфаденіту і показниками лімфоцитозу простежується пряма залежність.

Фенотипування лімфоцитів виявило достовірні розбіжності у гострій фазі хвороби в обох групах. Якщо перша група хворих (з легким ступенем ІМ) характеризується високим вмістом у крові CD19, CD8, CD16, CD95 і рівнем стимуляції Т-лімфоцитів на ФГА, то порівняно з другою групою (з тяжким ступенем хвороби) відсотки цих субпопуляцій лімфоцитів, навпаки, були зменшені. Т-лімфоцити другої групи в обидві фази хвороби виявляли знижену спроможність до проліферації, стимульованої ФГА. У той же час гуморальна ланка імунної системи в цих хворих активніша, про що свідчила активація синтезу IgM, IgG, IgA, IgE, а також посилене накопичення ЦІК (табл. 1).

Паралельно до зростання тяжкості клінічних проявів ІМ у крові збільшувався відсоток CD19 лімфоцитів і навпаки – знижувалася кількість Т-лімфоцитів із цитотоксичними функціями (CD8, CD16). Цьому сприяло зниження експресії Fas (CD95) – показника активації клітин і одночасно їхньої готовності до апоптозу.

Основним механізмом імунного захисту вважають вірусоспецифічні CD8+ цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ). Проте контроль поширення ВЕБ *in vivo* можуть здійснювати не тільки CD8+ ЦТЛ, але й CD4+ Т-клітини, що викликають опосередкований Fas-FasL-взаємодією апоптоз уражених В-лімфоцитів.

Нормалізація абсолютних і відносних значень CD4-, CD8-лімфоцитів відбувалась повільно, у багатьох хворих (у 40 із 64) у період реконвалесценції ці показники зберігались зміненими.

# ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1

Показники імунного статусу у хворих на гострий ІМ різного ступеня тяжкості (M±m)

Показник	Легкий ступінь (n=37)		Тяжкий ступінь (n=28)		Контроль (n=22)
	Гостра фаза	Фаза одужання	Гостра фаза	Фаза одужання	
CD3, %	67,0±2,1	72,1±3,5	64,5±1,3	71,2±3,1	61,4±1,2
CD4, %	40,5±2,3	49,5±1,8*	50,3±1,8*	55,3±2,7*	40,5±1,5
CD8, %	26,3±1,8*	22,3±2,5	16,3±2,1**	15,8±1,2**	20,7±1,3
CD16, %	18,0±1,7	14,1±1,1	11,5±1,2**	10,5±1,8**	16,0±1,1
CD19, %	10,4±1,5	11,3±1,3	21,5±2,3*	17,5±2,4	12,5±2,1
CD25, %	15,1±1,8	17,1±0,8	13,0±2,1	13,9±0,9	16,6±1,2
CD95, %	27,1±1,5*	31,2±2,0*	21,3±1,8**	19,3±1,2**	20,3±2,2
IgM, г/л	2,8±0,1*	1,2±0,1	3,5±0,1*	3,1±0,1*	0,9±0,1
IgA, г/л	1,1±0,0	1,2±2,5	2,5±0,1*	2,4±2,5*	1,3±0,1
IgE, г/л	45±5	45±5	185±25*	155±25*	60±20
IgG, г/л	11,5±0,9	15,4±1,2	16,2±1,5*	18,3±0,9**	10,5±1,1
РБТЛ на ФГА, %	81,0±2,5	79,0±3,5	66,0±1,8*	61,0±5,5*	82,0±2,5
ЦІК, ум.од.	112±10	109±8	145±12	212±9**	105±8

Примітки: \* – дані достовірно (P<0,05) відрізняються від групи контролю; \*\* – від 1-ї групи.

Отримані дані дозволяють припустити, що зростання тяжкості клінічних симптомів ІМ пов'язано з переключенням фенотипу активованих Т-лімфоцитів із Th-1, контролюючих розвиток клітинно-опосередкованих механізмів імунітету, на Th-2-хелпери антитілоутворення і ГНТ. Схильність до пригнічення клітинно-опосередкованих механізмів і посилення гуморальних механізмів імунної відповіді при тяжких формах гострих інфекцій і прогресування хронічних констатована в численних експериментальних і клінічних дослідженнях [3-7]. Це пояснюється зміною фенотипу Th при збільшенні вірусного навантаження. Наростаюча яскравість клінічних симптомів гострого ІМ у хворих асоційована зі зміною головного профілю механізмів імунного захисту, зниженням експресії Fas/CD95 [5, 13-15]. Встановлено, що ряд вірусів захищає від апоптозу інфіковані клітини, одночасно посилюючи прояви апоптозу неуражених клітин, що можна пояснити вірусоміндукованою імуносупресією.

Назріла необхідність перегляду багатьох сформованих уявлень про характер і механізми порушень у системі крові при ІМ.

## Висновки

1. Незалежно від клінічних проявів у всіх пацієнтів були виявлені високі титри IgM до VCA (капсидного антигену) у гострій фазі ІМ, у фазі реконвалесценції – IgG до антигену EBNA. Атипіві

мононуклеари та лімфоцитоз зберігалися досить довго; простежується пряма залежність від ступеня спленомегалії, лімфаденіту.

2. Лімфопроліферативна відповідь у крові в гострій фазі ВЕБ-інфекції відбувалась повільно у всіх хворих. Зростання популяції зрілих лімфоцитів (CD3) за рахунок субпопуляції цитотоксичних (CD8) лімфоцитів було позитивною прогностичною ознакою.

3. Перша група хворих порівняно з другою характеризувалася високим рівнем стимуляції Т-лімфоцитів на ФГА, нижчим рівнем синтезу IgM, IgE, IgA і накопичення ЦІК, що свідчить про переважно клітинно-опосередковану спрямованість імунної відповіді.

4. Паралельно до наростання тяжкості клінічних проявів ІМ у крові зростає вміст зрілих В-лімфоцитів, і, навпаки, знижувалась кількість лімфоцитів з цитотоксичними функціями CD8. Т-лімфоцити хворих другої групи (з тяжким ступенем хвороби) проявляли знижену здатність до проліферації, стимульованої ФГА. Дослідження гуморального імунітету виявило підвищення у гострій фазі хвороби вмісту імуноглобулінів класів М, G, A, E, а також посилене накопичення ЦІК.

## Література

1. Скули Р. Инфекции, вызываемые вирусом Эпштейна-Барр, включая инфекционный мононуклеоз // Внутренние болезни: Пер. с англ. / Под ред. Е. Браунвальда и др. – М., Медицина, 1994. – Книга 4. – С. 101-109.

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

2. Возіанова Ж.І. Инфекционный мононуклеоз // Інфекційні і паразитарні хвороби. – Т. 1. – К., Здоров'я, 2000. – С. 180-198.
3. Шевченко Л.Ю., Покровська Т.В., Бельдій В.І., Алексанян Т.І. Особливості клінічного перебігу інфекційного мононуклеозу в дорослих // Інфекційні хвороби. – 2005. – № 3. – С. 26-30.
4. Юлиш Є.І., Волосовець О.П., Кривопустов С.П. та ін. Роль вірусу Епштейна-Барр у стані здоров'я дітей, які часто і тривало хворіють // Там само. – 2005. – № 2. – С. 34-39.
5. Уразова О.И., Новицкий В.В., Литвинова Л.С., Помогаева А.П. Хромосомные нарушения, апоптоз и активность репарации ДНК в лимфоцитах периферической крови при инфекционном мононуклеозе у детей // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 323-326.
6. Andersson J. Clinical and immunological considerations in Epstein-Barr virus-associated diseases // Scand. J. Infect. Dis. – 1996. – V. 100, Suppl. – P. 72-82.
7. Balfour H., Holman J., Hokanson K. et al. A prospective clinical study of Epstein-Barr virus and host interactions during acute infectious mononucleosis // J. Infect. Dis. – 2005. – V. 192. – P. 1505-1512.
8. Woodberry T., Suscovich T., Henry L. et al. Differential targeting and shifts in the immunodominance of Epstein-Barr virus-specific CD8 and CD4 T cell responses during acute and persistent infection // Ibid. – 2005. – V. 191. – P. 1513-1524.
9. Wagner H.J., Scott R.S., Buchwald D., Sixbey J.W. Peripheral blood lymphocytes express recombination-activating genes 1 and 2 during Epstein-Barr virus-induced infectious mononucleosis // Ibid. – 2004. – V. 190, N 5. – P. 979-984.
10. Komano J., Sugiura V., Takada K. Epstein-Barr virus contributes to the malignant phenotype and to apoptosis resistance in Burkitts lymphoma cell line Acata // J. Virol. – 1998. – V. 72. – P. 9150-9156.
11. Wallace P.K., Howell A.L., Fanger M.W. Role of Fc gamma receptors in cancer and infectious disease // J. Leukoc. Biol. – 1994. – V. 55, N 6. – P. 816-826.
12. Ryon J.J., Hayward S.D., MacMahon E.M. et al. In situ detection of lytic Epstein-Barr virus infection: expression of the Not-1 early gene and viral interleukin-10 late gene in clinical specimens // J. Infect. Dis. – 1993. – V. 168, N 2. – P. 345-351.
13. Kimura H., Hoshino Y., Hara Sh. et al. Differences between T cell-type and natural killer cell-type chronic active Epstein-Barr virus infection // Ibid. – 2005. – V. 191. – P. 531-539.
14. Colombrino E., Rossi E., Ballon G. et al. Human immunodeficiency virus type 1 Tat protein modulates cell cycle and apoptosis in Epstein-Barr virus-immortalized B cells // Exp. Cell Res. – 2004. – V. 295. – P. 539-548.
15. Kenney J.L., Guinness M.E., Curiel T., Lacy J. Antisense to the Epstein-Barr virus (EBV) encoded latent membrane protein 1 (LMP-1) suppresses LMP-1 and bcl-2 expression and promotes apoptosis in EBV-immortalized B cells // Blood. – 1998. – V. 92. – P. 1721-1727.

### CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARALLELS OF INFECTIOUS MONONUCLEOSIS ACCORDING TO DEGREE OF SEVERITY

T.I. Kolyada, V.M. Kozko, N.F. Merkulova, O.O. Belkina, O.N. Kolyada

*SUMMARY. The connection between severity of course, disease duration and immune response features was determined in 65 patients with EBV-infection in comparison with similar parameters of control group. A tendency to depression of cell-dependent mechanisms and enhancement of humoral immune response mechanisms was a negative prognostic symptom.*

**Key words:** *infectious mononucleosis, clinical features, immunity.*