

**РЕАКЦИЯ ЦИТОКИНОВ КРОВИ ДЕТЕЙ,
ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР, ПРИ ЭШЕРИХИОЗЕ****Е.С. Ольховський, С.В. Кузнецов**

Харьковский национальный медицинский университет

(ректор – д.м.н, проф. Лесовой В.Н.)

г. Харьков, Украина

Резюме. У 96 детей раннего возраста, больных эшерихиозом, проведено исследование уровней про- и противовоспалительных цитокинов крови в остром периоде и на этапе ранней реконвалесценции. Выделены 3 группы детей. В первую группу вошли 34 ребенка, больных эшерихиозом на фоне неактивной ВЭБ-инфекции, во вторую – 30 больных эшерихиозом с активной ВЭБ-инфекцией, третью – 32 больных эшерихиозом без сопутствующего вирусного инфицирования (моно-инфекция). Контрольную группу составили 20 практически здоровых детей аналогичного возраста и пола.

Выявлено, что эшерихиоз у детей раннего возраста сопровождается повышением уровня провоспалительных интерлейкинов крови в остром периоде с постепенным снижением в динамике, при этом содержание противовоспалительного интерлейкина – 4 в дебюте эшерихиоза сохраняется на уровне показателей здоровых детей с последующим его повышением к периоду реконвалесценции. У детей, инфицированных ВЭБ, эшерихиоз сопровождается достоверно значимым увеличением уровней провоспалительных интерлейкинов в остром периоде болезни (по сравнению с не инфицированными) и незначительном их снижении в динамике, а также значимым повышением уровня противовоспалительного IL-4 в периоде реконвалесценции ($p \leq 0,05$). Степень выраженности этих изменений прямо пропорциональна активности фоновой ВЭБ-инфекции. По нашему мнению, высокие показатели провоспалительных цитокинов (особенно TNF- α) в остром периоде эшерихиоза у детей на фоне ВЭБ-инфекции с сохранением их повышенных значений в периоде реконвалесценции можно расценивать как иммунный сбой, который может способствовать не только неблагоприятному течению эшерихиоза, но и формировать и поддерживать длительную персистенцию ВЭБ. Выявленные различия цитокинового реагирования детей при эшерихиозе можно использовать как один из дополнительных критериев диагностики инфицирования детей ВЭБ.

Ключевые слова: цитокины крови, вирус Эпштейна-Барр, дети, инфицирование.

**REACTION OF BLOOD CYTOKINES IN CHILDREN INFECTED
WITH ESCHERICHIOSIS AND EPSTEIN-BARR VIRUS****Y. Olkhovskyi, S. Kuznetsov**

Kharkiv National Medical University

(rector – Prof. Lisovoy V.)

Kharkov, Ukraine

Summary. We conducted a study of the levels of pro- and anti-inflammatory blood cytokines in 96 young children in the acute period and the early convalescence stage of Escherichiosis. All children were divided into 3 groups. The first group included 34 children with Escherichiosis on the background of inactive VEB infection, the second group – 30 patients with an Escherichiosis with active VEB infection, the third group – 32 patients with Escherichiosis without concomitant viral infection (mono-infection). The control group consisted of 20 practically healthy children of the same age and sex.

It was found that Escherichiosis in children of early age is accompanied by an increase in the level of proinflammatory interleukins of blood in an acute period with a gradual decrease in dynamics, while the content of anti-inflammatory interleukin-4 in the debut of Escherichiosis is maintained at the level of healthy children with subsequent increase in the period of convalescence. Escherichiosis in children infected with EBV is accompanied by a significant increase in the levels of pro-inflammatory interleukins in the acute period of the disease (in comparison with those who are not infected) and a slight decrease in dynamics, as well as a significant increase in the level of anti-inflammatory IL-4 in the period of convalescence. The degree of expression of these changes is directly proportional to the activity of the background infection.

In our opinion, high rates of proinflammatory cytokines (especially TNF- α) in the acute period of Escherichiosis in children with EBV infection and maintaining their elevated values in the period of convalescence, can

be regarded as an immune malfunction, which can contribute not only to the adverse course of Escherichiosis, but also maintain a long-term persistence of EBV. Monitoring of interleukin levels in children with Escherichiosis may serve as an additional criterion for detecting the EBV- infection in patients.

Key words: blood cytokines, Epstein-Barr virus, children, infection.

В структуре инфекционной патологии детского возраста доминирующую часть составляют кишечные инфекции и среди них – эшерихиоз, который регистрируется преимущественно среди новорожденных и детей раннего возраста. Актуальность исследования эшерихиоза у детей обусловлена возможным развитием жизненно опасных осложнений (дегидратация, сепсис, острая почечная недостаточность) и тяжелыми последствиями (синдром мальабсорбции, дисбактериоз кишечника, гипотрофия и др.) [1, 2].

На современном этапе развития человечества все реже регистрируются моно-инфекции, а чаще наблюдается сочетанная патология в виде микстинфекций [3, 4]. Инфицирование человека вирусами, среди которых ведущее место занимают герпес-вирусы, в частности, вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), происходит в течение первых лет его жизни [5, 6]. В дальнейшем это может негативно влиять на физическое развитие ребенка, формирование его иммунного статуса, сроки социализации, течение любого другого заболевания и т.д. [7, 8].

Известно, что формирование любого патологического процесса, в том числе инфекционного, во многом зависит от адекватности и своевременности иммунного ответа детского организма, реакции цитокинов его крови [9]. Отдельные авторы утверждают, что именно совокупность действия и степень физиологичности баланса между эффектами провоспалительных (TNF- α , IL-1 β и др.) и противовоспалительных цитокинов (IL--4 и др.) лежат в основе развития клинической картины, течения и исхода заболевания [10, 11, 12]. Широко распространенная фоновая ВЭБ-инфекция, при которой высока вероятность поражения вирусом иммунных клеток [13, 14], может приводить к изменениям в работе иммунной системы, что, в свою очередь, может влиять на клиническую симптоматику основного заболевания, в том числе и эшерихиоза. Однако, в доступной литературе мы не нашли исследований, посвященных состоянию цитокиновой реактивности при эшерихиозе у детей, инфицированных ВЭБ.

Цель работы - изучение особенностей реакции интерлейкинов (IL) крови детей с различной активностью ВЭБ инфекции при эшерихиозе.

Материалы и методы исследования

На базе областной детской инфекционной клинической больницы г. Харькова обследовано 96 детей в возрасте одного года – трех лет, больных эшерихиозом, которые были разделены на три группы. В первую группу вошли 34 ребенка, больных эшерихиозом на фоне неактивной ВЭБ-инфекции, во вторую – 30 больных эшерихиозом с активной ВЭБ-инфекцией. Третью группу составили 32 больных эшерихиозом без сопутствующего вирусного инфицирования (моно-инфекция). У всех больных диагностирована среднетяжелая форма эшерихиоза, обусловленного преимущественно энтеропатогенными кишечными палочками. Верификация диагноза проводилась с учетом клинического, бактериологического, вирусологического и серологического обследования больных. Персистирующую неактивную ВЭБ-инфекцию диагностировали при наличии в крови больного титров антител к капсидному антигену (EBV CA) класса IgG в динамике болезни (латентная форма). Активная ВЭБ-инфекция определялась по результатам выявления у больного антител к капсидному антигену (EBV CA) класса IgM, при наличии ДНК ВЭБ в крови больного методом ПЦР. Все больные были обследованы на другие герпес-вирусы и при положительных результатах они исключались из дальнейших исследований. Дети всех групп были сопоставимы по возрасту ($19,22 \pm 2,13$; $23,57 \pm 3,35$ и $20,44 \pm 1,62$ мес соответственно в группах, $p > 0,05$) и полу. Наряду с общепринятыми методами обследования всем детям исследованы уровни про- и противовоспалительных интерлейкинов сыворотки в остром периоде (1-2 сутки болезни) и в периоде ранней реконвалесценции эшерихиоза (7-10 сутки болезни) методом твердофазного иммуноферментного контроля. В качестве референтных мы взяли результаты обследования 20 практически здоровых детей аналогичного возраста и пола (контрольная группа). Статическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы Excel и Statistica 6,0.

Результаты исследования и их обсуждение

Показатели уровней цитокинов крови больных в остром периоде эшерихиоза приведены в таблице 1.

Таблица 1

Уровень интерлейкинов сыворотки крови больных в остром периоде эшерихиоза, $M \pm m$, кг/мл

Цитокины	1 группа (n=34)	2 группа (n=30)	3 группа (n=32)	Контрольная группа (n=20)
IL-1 β	13,81 \pm 3,06 ¹	14,50 \pm 3,28 ¹	9,38 \pm 1,04 ¹	5,32 \pm 1,73
TNF- α	8,86 \pm 1,27 ^{1,2}	9,33 \pm 1,24 ^{1,2}	6,11 \pm 0,31 ¹	2,69 \pm 1,67
IL-4	2,42 \pm 0,68	2,35 \pm 0,53	2,11 \pm 0,25	2,06 \pm 0,94

Примечание: 1 – достоверность признака к группе контроля, $p < 0,05$;

2 – достоверность признака к третьей группе, $p < 0,05$;

В остром периоде эшерихиоза у всех больных наблюдалось повышение содержания в крови провоспалительных интерлейкинов IL-1 β и TNF- α ($p < 0,01$). В то же время определялась разница цитокинового реагирования в зависимости от активности фоновой инфекции. Наиболее значимое повышение интерлейкина IL-1 β при эшерихиозе наблюдалось у больных с активной формой ВЭБ-инфекции, у которых концентрация IL-1 β повышалась в 2,73 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Менее значимое повышение IL-1 β отмечено у детей на фоне персистирующей неактивной ВЭБ-инфекции – в 2,59 раза ($p < 0,01$), в то время, как у детей без фонового инфицирования это повышение было только в 1,76 раза ($p < 0,05$). Подобные изменения касались и показателей содержания TNF- α , которые повышались во второй и первой группах в 3,47 и 3,29 раза ($p < 0,001$) соответственно. У больных без фонового инфицирования содержание TNF- α составляло $6,11 \pm 0,31$ пкг/мл и было в 2,27 раза выше показателей группы контроля ($p < 0,01$).

Полученные нами результаты совпадают с результатами исследований других ученых [15, 16, 17]. Повышение уровней провоспалительных интерлейкинов мы объясняем тем, что IL-1 β и TNF- α секретируются преимущественно макрофагами и моноцитами и имеют ведущее значение в развитии воспалительного процесса, играя главную роль в повышении температуры тела, развитии нейтрофилии и тромбоцитоза, продукции кортиколиберина, острофазовых белков. В совокупности с другими провоспалительными цитокинами, IL-1 β и TNF- α регулируют также реакцию клеточного звена иммунного ответа.

Нами выявлено, что повышение уровня TNF- α у больных эшерихиозом на фоне ВЭБ-инфекции

существенно отличалось не только по сравнению с референтными значениями, а и с показателями детей третьей группы, ($p < 0,05$). По нашему мнению, более высокие уровни провоспалительных цитокинов при эшерихиозе у детей на фоне ВЭБ-инфекции обусловлены гиперреактивным типом иммунного ответа, работой системы цитокинов в режиме напряжения. Выявленные различия цитокиновой реактивности больных эшерихиозом детей на фоне инфицирования ВЭБ не противоречат ранее полученным нами данным по клинико-лабораторным особенностям течения эшерихиоза у этих больных и объясняют патогенетические механизмы развития инфекционного процесса [18].

Определение уровней IL-4 выявило его повышение в крови у всех больных эшерихиозом, но разница в содержании цитокина между группами была не достоверной ($p > 0,05$). Полученные результаты не совпадают с данными К.А. Копачевской и В.П. Молочного [19], которые указывают на достоверное повышение уровня IL-4 при бактериальных кишечных инфекциях. В то же время, наши данные не противоречат результатам, полученным другими авторами [20], которые не обнаружили существенной разницы в содержании провоспалительных цитокинов у детей при бактериальных инфекциях и здоровых детей. Таким образом, данные цитокинового профиля у больных эшерихиозом носят дискуссионный характер, а исследований по цитокиновому реагированию больных эшерихиозом детей, инфицированных ВЭБ-инфекцией, в доступных нам источниках не найдено.

Содержание интерлейкинов в крови больных эшерихиозом в периоде реконвалесценции приведено в таблице 2.

Таблица 2

Уровень интерлейкинов крови больных в периоде реконвалесценции, (M±m, пкг/мл)

Цитокины	1 группа (n=34)	2 группа (n=30)	3 группа (n=32)	Контрольная группа (n=20)
IL-1β	9,84±1,27 ¹	10,15±1,57 ¹	7,27±1,23	5,32±1,73
TNF-α	6,37±1,51	6,86±1,08 ¹	4,35±0,72	2,69±1,67
IL-4	4,11±1,04 ²	5,83±0,48 ^{1,2}	8,64±1,08 ¹	2,06±0,94

Примечание: 1 – достоверность признака к группе контроля, $p < 0,05$;

2 – достоверность признака к третьей группе, $p < 0,05$;

В динамике заболевания уровни провоспалительных цитокинов имели тенденцию к снижению. Нами не выявлено достоверной разницы показателей IL-1β в сыворотке детей с эшерихиозом в группах наблюдения ($p \geq 0,05$), но при сравнении этих показателей с группой контроля определяли достоверно более высокие уровни IL-1β при эшерихиозе у детей на фоне ВЭБ-инфекции независимо от активности процесса, ($p < 0,05$). Содержание TNF-α в крови также снижалось к периоду ранней реконвалесценции эшерихиоза, достоверной разницы этого показателя между группами мы не наблюдали, ($p > 0,05$). В то же время, уровень TNF-α у детей первой и второй групп были выше по сравнению с референтными значениями, хотя достоверная разница показателя обнаружена только у детей с активной формой ВЭБ-инфекции, ($p < 0,01$).

Обратные закономерности в периоде реконвалесценции были определены при исследовании уровней IL-4, которые у всех больных эшерихиозом имели тенденцию к повышению, а у детей второй и третьей групп существенно отличались от референтных показателей, ($p < 0,01$). Нами выявлено достоверную разницу уровня IL-4 при эшерихиозе у детей на фоне ВЭБ-инфекции и без фонового инфицирования: максимально высокое содержание IL-4 было у детей с моно-инфекцией, ($p < 0,05$).

Анализ полученных результатов показывает, что острый период эшерихиоза сопровождается достоверным повышением уровней провоспалительных IL-1β и TNF-α крови с существенным их повышением в случае инфицирования детей ВЭБ, ($p < 0,05$). К периоду ранней реконвалесценции эшерихиоза у детей без фонового инфицирования показатели IL-1β и TNF-α снижаются, достоверно не отличаясь от референтных значений, ($p < 0,05$), в то время как у детей на фоне ВЭБ-инфекции эти показатели остаются более высокими по сравнению с группой контроля, ($p < 0,05$). Достоверность снижения провоспалительных цитокинов в динамике эшерихиоза обнаружена по показателю TNF-α у детей без фонового инфицирования (в 1,4 раза, $p < 0,05$).

Течение эшерихиоза сопровождается существенной динамикой концентрации IL-4 у детей второй ($p < 0,01$) и третьей группы ($p < 0,001$), а в периоде реконвалесценции эшерихиоза наиболее высокие уровни IL-4 наблюдаются у детей без фонового инфицирования ВЭБ, ($p < 0,05$).

По нашему мнению, высокие показатели провоспалительных цитокинов (особенно TNF-α) в остром периоде эшерихиоза у детей на фоне ВЭБ-инфекции с сохранением их повышенных значений в периоде реконвалесценции можно расценивать как иммунный сбой, который может способствовать не только неблагоприятному течению эшерихиоза, но и формировать и поддерживать длительную персистенцию ВЭБ. Выявленные различия цитокинового реагирования детей при эшерихиозе, по нашему мнению, можно использовать как один из дополнительных критериев диагностики инфицирования детей ВЭБ.

Выводы

1. При эшерихиозе у детей раннего возраста (вне зависимости от наличия или отсутствия фонового инфицирования ВЭБ) наблюдается повышение уровня провоспалительных интерлейкинов крови в остром периоде болезни с постепенным снижением его в динамике, при этом содержание противовоспалительного интерлейкина-4 в дебюте болезни сохраняется на уровне здоровых детей с последующим его повышением к периоду реконвалесценции.
2. Особенностью реакции провоспалительных интерлейкинов крови детей, инфицированных ВЭБ, при эшерихиозе является более значимое (по сравнению с не инфицированными) увеличение их уровня в остром периоде болезни и менее существенное снижение их содержания к периоду реконвалесценции
3. Уровень противовоспалительного IL-4 в крови больных эшерихиозом в дебюте болезни сохраняется на физиологическом уровне. По мере выздоровления детей содержание данного интерлейкина повышается.
4. Содержание про- и противовоспалительных интерлейкинов в крови детей, больных эшерихиозом, в течении заболевания зависит от

наличия и активности фоновой ВЭБ инфекции.

5. На наш взгляд, цифровые характеристики уровней интерлейкинов крови детей при эшерихиозе и их динамика могут служить дополнительными критериями диагностики инфицированности больных ВЭБ.

Таким образом, эшерихиоз у детей раннего возраста сопровождается значительными изменениями уровней про- и противовоспалительных интерлейкинов. Существенное влияние на динамику IL-1 β , TNF- α и IL-4 крови больных, как в остром периоде эшерихиоза, так и в периоде реконвалесценции, играет инфицирование детей ВЭБ. Выявленные результаты расширяют наши знания об иммуно-патогенетических механизмах развития и течения эшерихиоза у детей на фоне ВЭБ-инфекции, в дальнейшем могут быть применены при разработке тактики лечения таких больных.

Литература

1. Горелов А.В. Эволюция эшерихиозов у детей за 25 лет / А.В. Горелов, А.В. Бондарева // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2013. - №5. - С. 46-50.
2. Dickinson B. Infectious diarrhea: an overview / B. Dickinson, C. M. Surawicz // Current Gastroenterology Reports. - 2014. - V. 16, №8. - P. 399.
3. Частота обнаружения маркеров герпесвирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией / [Р.Р. Климова и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2014. - Т. (93). - №1. - С. 44-49.
4. Патогенез формирования частых респираторных заболеваний у детей с Эпштейна-Барр вирусной и цитомегаловирусной инфекцией / [И.В. Бабаченко и др.] // Журнал инфектологии. - 2011. - №4. - С. 67-42.
5. Горейко Т.В. Современные представления об иммунопатогенезе инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр / Т.В. Горейко, Н.М. Калинина, Л.Б. Дрыгина // Инфекция и иммунитет. - 2011. - Т.(1). - №2. - С. 121-130.
6. Крамарев С.А. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей / С.А. Крамарев, О.В. Виговская // Актуальная инфектология. - 2013. - №1. - С. 73-78.
7. Ващура Л.В. Герпес 6-го типа (эпидемиология, диагностика, клиника) / Л.В. Ващура, М.С. Савенкова // Лечащий врач. - 2014. - №11. - С. 18-25.
8. Роль герпесвирусных инфекций в формировании патологии у детей. Особенности течения, диагностика и лечение инфекции, ассоциированной с вирусом герпеса человека 6 типа у детей / [Е.В. Мелёхина и др.] // Методические рекомендации. - 2014. - С. 50.
9. Тагирова З.Г. Уровень и динамика цитокинов у больных острой бактериальной дизентерией / З.Г. Тагирова, Д.Р. Ахмедов, С.М. Омарова, А.С. Абусуева // Вестник Дагестанской государственной медицинской академии. - 2016. - №2 (19). - С. 21-25.
10. Калуцкий П.В. Состояние прооксидантной системы и содержание цитокинов у детей при острых кишечных инфекциях различной этиологии / П.В. Калуцкий, Л.Ю. Зайцева, И.Г. Хмелевская // Современные проблемы науки и образования. - 2016. - №6. - URL: <https://science-education.ru/pdf/2016/6/25470.pdf>
11. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г. Ф. Железникова // Цитокины и воспаление. - 2009. - Т.8. - №1. - С. 10-17.
12. Мазанкова Л.Н. Цитокиновый статус и эффективность иммунобиологической терапии при ротавирусной инфекции у детей / Л.Н. Мазанкова, Т.А. Чеботарева, И.Д. Майкова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. - 2014. - №24. - С. 6-13.
13. Крамарев С.А. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей / С.А. Крамарев, О.В. Виговская // Актуальная Инфектология. - 2013. - №1(1). - С. 73-78.
14. Барычева Л.Ю. Факторы и механизмы иммуносупрессии при Эпштейна-Барр вирусной инфекции / Л.Ю. Барычева, М.В. Голубева, А.В. Волкова // Детские инфекции. - 2014. - №2. - С. 28-33.
15. Копачевская К.А. Динамика содержания неоптерина и некоторых цитокинов в крови детей раннего возраста, больных острыми кишечными инфекциями / К.А. Копачевская, В.П. Молочный // Дальневосточный медицинский журнал. - 2016. - № 4. - С. 42-46.
16. Смирнов И.Е. Цитокиновый профиль при бактериальной и вирусной инфекции у детей / И.Е. Смирнов, И.Л. Митюшин, А.Г. Кучеренко, М.Д. Баградзе // Российский педиатрический журнал. - 2014. - Т. 17. - №4. - С. 14-19.
17. Guliyeva S.V. Study of the cytokine status in acute intestinal infections in children and its correction / S.V. Guliyeva, V.G. Halilov // European Journal of Biomedical and Life Sciences. - 2016. - №4. - С. 43-45.
18. Ольховский Е.С. Особенности клинического течения эшерихиоза у детей, инфицированных вирусом Эпштейна-Барр / Е.С. Ольховский, С.В. Кузнецов // Экспериментальная и клиническая медицина. - 2016. - №4(73). - С. 73-78.
19. Копачевская К.А. Динамика содержания неоптерина и некоторых цитокинов в крови детей раннего возраста, больных острыми кишечными инфекциями / К.А. Копачевская, В.П. Молочный // Дальневосточный медицинский журнал. - 2016. - №4. - С. 42-46.
20. Маянский Н.А. Мультиплексный анализ цитокинов у детей с фебрильными инфекциями / Н.А. Маянский, А.С. Мельничук, Е.Г. Филянская, А.Е. Зиновьева, Т.В. Куличенко // Вопросы диагностики в педиатрии. - 2011. - Т.3. - №4. - С. 15-19.