

УДК 616.921.5:615.371:615.076(047.31)

**ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ  
ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ  
ГЕРПЕСВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ, ЗАЛЕЖНО ВІД  
ВІКУ ТА СТУПЕНЮ ІНФІКОВАНOSTI  
ВІРУСАМИ РІЗНИХ ТИПІВ**

**Волянський А.Ю., Романова О.А., Ігумнова Н.І.,  
Сидоренко Т.А., Юхименко В.І., Конарева К.С.**

**ДУ «Інститут мікробіології та імунології  
ім. І.І. Мечникова  
Національної академії медичних наук України»**

Відомо, що при порушеннях імунного статусу герпесвірусна інфекція (ГІ) розвивається частіше і характеризується більш тяжким перебігом, що пов'язано з недостатністю імунітету або надмірною імунною реакцією. Механізми імунопатології ГІ різноманітні і включають як відповідь на антиген, що персистує, так і неадекватну регуляцію вірусспецифічної імунної відповіді. Серед імунопатологічних станів виділяють реакції, індуковані імуноглобулінами, імунопатологію, що викликана імунними комплексами, а також Т-лімфоцитами [1].

ДНК-віруси типу герпесвірусів застосовують різноманітні механізми, що дозволяють їм збільшити час ефективної реплікації та розповсюдження вірусних часточок. Окрім того, герпесвіруси додатково здатні ухилитися від імунної системи організму хазяїна за рахунок індукції стану латентності [2]. Механізми уникнення вірусом імунної атаки в цілому можуть бути розподілені на три групи: ухилення від розпізнавання компонентами гуморального імунітету за рахунок зміни імунодомінантних епітопів; перешкоджання клітинному імунітету, зокрема, за рахунок пригнічення презентації вірусних пептидів, а також активності ПК-клітин; пригнічення реалізації ефektorних функцій, зокрема, експресії цитокінів, а також апоптозу інфікованих клітин [3].

Герпесвіруси не тільки персистують, але й репродукуються в клітинах імунної системи, обумовлюючи загибель або зниження функціональної активності цих клітин, що сприяє розвитку вторинних імунодефіцитних станів, підтримуючи тривалу персистенцію. Таким чином, виникає своєрідне «хибне коло».

Основною формою захисту організму від вірусних інфекцій є клітинний імунітет. Головними ефекторами клітинного імунітету виступають Т-цитотоксичні клітини з фенотипом CD8+. Окрім цих клітин, у противірусному захисті беруть активну участь ПК- та макрофагальні клітини. Процес трансформації наївних Т-цитотоксичних клітин в ефекторні Т-кілери пов'язаний зі складними метаболічними та структурно-функціональними перетвореннями. Встановлено, що подібна трансформація відбувається під впливом двох активаційних сигналів: одного, антигенного, який Т-клітина отримує від взаємодії з інфікованою клітиною, іншого – у вигляді ІЛ-2, який є фактором проліферації та диференціювання для Т-клітин. Дже-

релом ІЛ-2 можуть бути активовані Т-хелпери (CD4+), а також активовані антигеном Т-цитотоксичні лімфоцити. Сформовані Т-кілери при взаємодії з інфікованою клітиною здатні як лізувати її, так і викликати руйнацію вірусних часточок (вірусної ДНК), таким чином попереджаючи розповсюдження вірусу та інфікування інших клітин [4].

Важливу роль у пригніченні вірусної інфекції відіграють Т-хелпери (CD4+). Як відомо, активовані Т-хелпери беруть участь у формуванні Т-кілерів, а також продукують такі цитокіни як ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$ , ФНП. Зокрема, ІНФ- $\gamma$ , впливаючи на неінфіковані клітини, індукує їх стійкість до вірусного ураження, а також підвищує віруцидну активність макрофагів. Окрім того, ІЛ-2 та ІНФ- $\gamma$  збільшують цитолітичну активність ПК-клітин [5, 6].

*Метою* даного дослідження було вивчення стану клітинного імунітету дітей різного віку з хронічним перебігом герпесвірусної інфекції, викликаній вірусами герпесу I-VI типів, у залежності від їх кількісного навантаження.

Роботу виконано в рамках НДР ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України» «Імунологічні аспекти феномену вірусної персистенції».

**Матеріали та методи дослідження**

Було проведено імунологічне обстеження 73 дітей, хворих на хронічну герпесвірусну інфекцію внаслідок інфікування вірусами герпесу I-VI типів віком від 3-х до 14-ти років, які консультувалися у дитячому медичному центрі «Young Baby» протягом 2013 року. Отримані результати були розподілені за віковими категоріями, що відповідають ступеню дозрілості дитячої імунної системи: 3-5, 6-11 та 12-14 років. У кожній з означених вікових категорій були окремо розглянуті по 2 сформовані групи: 1. Діти, у лейкоцитах яких було виявлено 1-2 типи герпесвірусів; 2. Діти, у лейкоцитах яких було виявлено 3 та більше типів герпесвірусів. Контрольні групи склали загалом 25 дітей віку, відповідного до кожного з досліджених вікових контингентів.

Об'єктом дослідження була периферична кров дітей.

Типи та відсоток герпесвірусів у лейкоцитах було досліджено у реакції імунофлюоресценції (РІФ) з використанням поліклональних МКАТ для виявлення цитоплазматичних антигенів. Застосовували антитіла проти вірусів герпесу I-VI, мічені флуоресцеїнами.

Лімфоцити для дослідження отримували з периферичної крові, використовуючи градієнт щільності фіколу-верографіну 1,078 г/мл.

Популяційний та субпопуляційний вміст лімфоцитів периферичної крові визначали за допомогою діагностикуму еритроцитарного для виявлення субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів людини наступних імунофенотипів: CD3, CD4, CD8, CD16, CD21, CD HLA-DR фірми Тов НВЛ «Гранум», Харків.

Кількісне визначення активованих лімфоцитів фенотипу CD25 та лімфоцитів з маркером апоптозу

CD3CD95 разом із загальною кількістю Т-лімфоцитів CD3 проводили за допомогою проточної цитофлуориметрії на приладі FACS Calibur (BD, США) з відповідним програмним забезпеченням Cell Quest - налаштовуваною універсальною програмою для цитометричних досліджень.

Абсолютну кількість різних типів каріоцитів у лейкограмі підраховували морфологічно, враховуючи не менше, ніж 200 клітин у препараті, пофарбованому за Романовським-Гімза.

Спонтанну та ФГА-індуковану бласттрансформацію лімфоцитів вивчали у культурі клітин *in vitro* у реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) [7]. Інтенсивність проліферації клітин оцінювали морфологічно за відносним вмістом формованих

бластних форм лімфоцитів, враховуючи не менше 200 клітин на препарат.

Отримані дані піддавали статистичній обробці з використанням пакету прикладних програм Statgraphics. Для виявлення значущих відмінностей показників, що порівнювалися, використовували t-критерій Стьюдента. Розбіжності вважали достовірними за рівня значень  $p < 0,05$ .

#### Результати та їх обговорення

За розгляду показників крові дітей 3-5 років, хворих на хронічну герпесвірусну інфекцію (ХГВІ) (табл. 1), насамперед привертає увагу зниження загальної кількості лейкоцитів периферичної крові, що має вірогідне відхилення від контролю, у 1-ій групі пацієнтів.

**Таблиця 1- Показники клітинного імунітету дітей 3-5 років, хворих на ХГВІ, з різним ступенем вірусного навантаження лейкоцитів**

Клітини крові та субпопуляції лімфоцитів	Здорові діти (n=12), M±m	Група 1 ХГВІ (1-2 віруси) (n=11), M±m	Група 2 ХГВІ (3 та більше вірусів) (n=14), M±m
Лейкоцити, абс., $\times 10^9$ /л	9,0±0,8	7,4±0,6*	8,1±0,8
Лімфоцити, відн., %	48,0±5,3	46,2±4,8	35,0±4,1*
абс., $\times 10^9$ /л	4,3±0,4	3,4±0,4*	2,8±0,3*
Моноцити, відн., %	9,5±1,0	7,2±0,08*	5,6±0,04***
абс., $\times 10^9$ /л	0,85±0,07	0,53±0,06*	0,45±0,02*
Базофільні гранулоцити, відн., %	41,0±4,2	41,8±3,8	51,6±4,8*
абс., $\times 10^9$ /л	3,7±0,2	3,1±0,3	4,2±0,3**
Еозинофільні гранулоцити, відн., %	1,5±0,2	4,8±0,4*	6,8±0,5***
абс., $\times 10^9$ /л	0,14±0,02	0,35±0,04*	0,55±0,05***
Т-лімфоцити (CD3 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., %	65,0±6,1	57,2±4,6	52,3±5,0*
абс., $\times 10^9$ /л	2,8±0,3	1,9±0,1*	1,5±0,2*
Т-хелпери (CD4 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., %	38,0±3,1	36,7±2,9	35,4±3,0
абс., $\times 10^9$ /л	1,6±0,1	1,2±0,1*	1,0±0,09*
Т-супр./цитотокс. (CD8 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., %	19,0±1,5	20,5±1,8	16,8±1,4***
абс., $\times 10^9$ /л	0,82±0,07	0,70±0,07	0,47±0,03***
Т-активні (HLA-DR <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., %	35,0±3,1	34,5±2,9	32,6±2,9
абс., $\times 10^9$ /л	1,5±0,1	1,1±0,2*	0,9±0,06*
ПК (CD16 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., %	12,7±1,1	13,6±1,0	14,7±0,09
абс., $\times 10^9$ /л	0,55±0,04	0,46±0,03	0,41±0,03

В-лімфоцити (CD21 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	23,0±2,5 0,99±0,08	21,2±2,0 0,72±0,08*	21,8±2,2 0,61±0,06*
РБТЛ спонт., %	5,0±0,9	5,0±0,6	3,5±0,5*
РБТЛ інд. ФГА, %	64,0±5,6	56,6±4,9	47,0±4,3*

Примітки: \* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей між показниками груп 1, 2 та контрольною групою, \*\* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей показників груп 1 та 2 між собою.

Аналізуючи вміст окремих складових лейкоцитарної сукупності, можна зазначити, що подібне зменшення забезпечують лімфоїдні та моноцитарні клітини (табл. 1). Поряд з тим, відмітною рисою картини периферичної крові дітей молодшого віку, хворих на ХГВІ з ураженням 1-2 герпесвірусами, є значне (у 3,2 рази) зростання відсотку еозинофільних лейкоцитів, а також їх абсолютного числа. Стосовно 2-ої групи дітей, хворих на ХГВІ, з більш вагомим ураженням лейкоцитів (3 та більше типів вірусів), складові їх периферичної крові виявилися зміненими дещо глибше, ніж у дітей 1-ої групи. Так, незважаючи на загальну кількість лейкоцитів, що не має вірогідних відмінностей від норми, абсолютна чисельність лімфоцитів та моноцитів має тенденцію до ще більшого спаду, ніж у дітей з малочисельним герпесвірусним ураженням клітин крові, а рівень еозинофілів, як у відсотковому, так і в абсолютному значеннях, достовірно перевищує такий у хворих групи порівняння. Відмітною рисою лейкоцитарного складу хворих дітей 2-ої групи є також вірогідне зростання питомої ваги гранулоцитарних клітин у порівнянні з аналогічним показником контрольної групи, а також їх абсолютного значення порівняно з 1-ою групою хворих. Це, скоріше за все, може бути обумовлено реакцією на супутнє бактеріальне інфікування, що часто спостерігається у дітей з хронічною формою ГВІ.

Суттєве зниження кількості моноцитів та лімфоцитів периферичної крові в обох групах малолітніх дітей, хворих на ХГВІ, є показником низької адаптативної можливості імунної системи, не здатної до адекватного реагування на вірусний інфектант. Враховуючи, що дані клітини є основними продуцентами інтерферонів – цитокінів з прямим протівірусним впливом, які забезпечують як першу лінію захисту, так і подальший імунний процес знешкодження вірусного агенту, їх недостатність може сприяти персистенції вірусів герпесу в організмі [8]. Окрім того, недостатність моноцитарних клітин обмежує і макрофагальну популяцію, яка здійснює елімінацію вірусу, попередниками якої вони виступають.

Зниження абсолютної, а у випадку 2-ої групи – і відносної кількості загальної популяції лімфоїдних клітин у дітей 2-5 років, хворих на хронічну ГВІ, здійснює негативний вплив на клітинний протівірусний захист. Незважаючи на відсутність вірогідної відмінності між питомою вагою Т-лімфоцитів (CD3<sup>+</sup>) дітей контрольної групи та хворих на ХГВІ, інфікованих 1-2 герпесвірусами, їх абсолютний вміст

у цій групі був достовірно меншим ( $p < 0,05$ ) за аналогічний показник здорових дітей (табл. 1). В той же час обидва параметри (відносна та абсолютна) кількості CD3<sup>+</sup>-лімфоцитів групи хворих, інфікованих 3 та більше типами вірусів герпесу, демонстрували достовірне зниження порівняно з групою здорових дітей.

Треба зазначити, що всі інші досліджені субпопуляції Т-лімфоцитів (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>) у групах дітей з ХГВІ вікової категорії 3-5 років підлягали загальній тенденції достовірного зниження абсолютного числа клітин, причому в більшій мірі – у осіб, інфікованих множинною герпесвірусною сукупністю (3 та більше типів вірусів). Значна недостатність абсолютної кількості Т-супресорів/цитотоксичних клітин (CD8<sup>+</sup>), основної субпопуляції лімфоцитів, що забезпечує протівірусний захист і в даному випадку неодмінно призводить до сприяння персистенції герпесвірусів, може також виступати одною з вірогідних причин прояву сенсibilізації, про яку свідчить багаторазове (у 3,2 рази – у 1-ій групі хворих на ХГВІ та у 4,5 рази – у 2-ій групі) зростання кількості еозинофілів, що має місце в обох групах.

Зниження кількісного вмісту активованих Т-лімфоцитів (від числа всіх Т-лімфоцитів), що мають імунофенотип HLA-DR ( $p < 0,05$ ), свідчить про пригнічення розпізнавання та реалізації імунної відповіді щодо чужорідної інформації, що само по собі може сприяти подальшій тривалості персистенції вірусу.

Кількість CD16<sup>+</sup>-лімфоцитів, що виконують переважно кілерну функцію, та які прийнято вважати природними кілерами, достовірно не відрізнялася від показників здорових дітей в обох групах спостережень. Відомо [8], що природним кілерам в основному відводиться роль у протипухлинному захисті. При вірусних інфекціях, зокрема ГВІ, ця субпопуляція клітин має певне значення на початковому етапі розвитку захворювання, можливо, тому у групах хворих, що спостерігалися, вміст CD16<sup>+</sup>-клітин суттєво не відрізнявся від норми.

За оцінки проліферативної реакції Т-лімфоцитів хворих на ХГВІ як показника їх функціональної можливості, було виявлено тенденцію до зниження індукованої ФГА реакції бласттрансформації (РБТЛ) у пацієнтів 1-ої групи та достовірне зменшення значень спонтанної та індукованої ФГА РБТЛ у дітей 2-ої групи (табл. 1). Отримані дані свідчать про неповноцінне функціонування клітин Т-компарменту, яке, безперечно, не дозволяє їм у

повній мірі виконувати свою роль головних факторів нейтралізації вірусів, а отже сприяє персистенції останніх.

Значне зменшення в обох досліджених групах хворих з ХГВІ дітей віком 3-5 років абсолютної кількості В-лімфоцитів, що мають фенотип CD21 і відповідають за синтез антитіл, вірогідно, призводить до низької продукції протигерпетичних імуноглобулінів, що також може підтримувати персистенцію вірусних антигенів.

За дослідження клітинного імунітету більш старшої категорії дітей, що потерпають від хронічної

герпесвірусної персистенції (віковий інтервал 6-11 років), ми мали можливість спостерігати картину, досить відмітну від тої, що характеризувала попередню, ранньовікову групу. Перед усім, в даному випадку загальна чисельність лейкоцитів периферичної крові у досліджуваних групах вже не мала достовірних відхилень від показника здорових дітей (табл. 2), хоча 2-а група дітей з ХГВІ все ж демонструвала тенденцію до зниження загального числа каріоцитів.

**Таблиця 2. Показники клітинного імунітету дітей 6-11 років, хворих на ХГВІ, з різним ступенем вірусного навантаження лейкоцитів**

Клітини крові та субпопуляції лімфоцитів	Здорові діти (n=9), M±m	Група 1 ХГВІ (1-2 віруси) (n=14), M±m	Група 2 ХГВІ (3 та більше вірусів) (n=11), M±m
Лейкоцити, абс., ×10 <sup>9</sup> /л	6,6±0,8	6,7±0,7	5,7±0,6
Лімфоцити, відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	34,5±3,0 2,3±0,3	39,2±3,8 2,6±0,3	36,2±3,1 2,01±0,2**
Моноцити, відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	8,1±1,0 0,53±0,06	5,5±0,07* 0,37±0,04*	7,7±0,08** 0,44±0,03**
Гранулоцити, відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	56,0±6,0 3,7±0,3	51,0±5,3 3,4±0,3	51,5±4,9 2,9±0,2*
Еозинофільні лейкоцити, відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	1,2±0,1 0,08±0,01	4,2±0,05* 0,28±0,02*	4,5±0,04* 0,26±0,02*
Т-лімфоцити (CD3 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	65,0±6,1 1,5±0,1	56,3±5,3 1,5±0,1	52,0±5,4* 1,0±0,08**
Т-хелпери (CD4 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	38,0±3,1 0,86±0,09	35,3±3,0 0,88±0,09	33,5±2,8 0,67±0,08**
Т-супр./цитотокс. (CD8 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	20,0±2,0 0,46±0,05	21,0±2,4 0,55±0,05	18,5±2,0 0,37±0,04**
Т-активні (HLA-DR <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	34,0±2,5 0,78±0,06	32,8±3,0 0,85±0,08	29,7±2,4 0,60±0,07**
ПК (CD16 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., ×10 <sup>9</sup> /л	13,8±1,2 0,32±0,02	12,7±1,0 0,33±0,02	12,3±0,09 0,25±0,02**
В-лімфоцити (CD21 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів),			

відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	19,0 $\pm$ 1,5 0,44 $\pm$ 0,03	19,8 $\pm$ 1,7 0,51 $\pm$ 0,04	19,2 $\pm$ 1,6 0,38 $\pm$ 0,04**
РБТЛ спонт., %	5,5 $\pm$ 0,4	4,8 $\pm$ 0,5	3,6 $\pm$ 0,4*
РБТЛ інд. ФГА, %	64,0 $\pm$ 5,7	57,8 $\pm$ 5,5	48,4 $\pm$ 3,9*

Примітки: \* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей між показниками груп 1, 2 та контрольною групою, \*\* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей показників груп 1 та 2 між собою.

Зміненими відносно контролю рисами лейкограм обох груп дітей з ХГВІ, що відрізнялися ступенем навантаження різними вірусними антигенами, були лише достовірне зниження питомої ваги та абсолютних значень кількості моноцитарних клітин у 1-ій групі та еозинофільних гранулоцитів – в обох групах, що підлягали обстеженню.

Що стосується складу лімфоїдних субпопуляцій, відмітність їх значень виявилася характерною тільки для групи хворих на ХГВІ з множинним антигенним навантаженням, причому як по відношенню до контролю, так і до паралельної групи (1-2 вірусних антигена), хоча і мала більш «стерті» риси, ніж у категорії молодших дітей (3-5 років) (табл. 1, 2). Так, абсолютна кількість загальної популяції лімфоцитів дітей 2-ої групи демонструвала чітку тенденцію до зниження порівняно з параметрами здорових дітей, а також достовірне зменшення відносно 1-ої групи. Абсолютна чисельність субпопуляцій лімфоцитів з фенотипами CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> хворих 2-ої групи була достовірно меншою від такої як у контрольній, так і

1-ій дослідній групах (табл. 2). Зміни у функціональній активності Т-лімфоцитів майже повторювали такі у дітей вікової категорії 3-5 років, за виключенням тенденції до зменшення показника РБТЛ не тільки стимульованої ФГА, але й спонтанної (табл. 2). Поряд з тим, у даної вікової категорії дітей обох груп спостерігається нормалізація чисельності Т-активних лімфоцитів HLA-DR<sup>+</sup>, а також популяції В-лімфоцитів, проте, з тенденцією зниження у хворих на ХГВІ з множинним антигенним навантаженням.

В цілому, можна зазначити, що проведені дослідження скісно свідчать про включення у більш дозрілому дитячому віці (6-11 років) певних компенсаторних механізмів, які, вірогідно, сприяють зменшенню ушкоджуючого впливу герпесвірусної персистенції на клітини імунної системи.

Дослідження клітинних параметрів периферичної крові та імунітету дітей з ХГВІ віком 12-14 років на фоні певної нормалізації низки показників, що розглядалися вище, також висвітлили деякі зміни в окремих ланках клітин 1-ої та 2-ої груп (табл. 3).

**Таблиця 3. Показники клітинного імунітету дітей 12-14 років, хворих на ХГВІ, з різним ступенем вірусного навантаження лейкоцитів**

Клітини крові та субпопуляції лімфоцитів	Здорові діти (n=4), M $\pm$ m	Група 1 ХГВІ (1-2 віруси) (n=6), M $\pm$ m	Група 2 ХГВІ (3 та більше вірусів) (n=5), M $\pm$ m
Лейкоцити, абс., $\times 10^9/\text{л}$	6,0 $\pm$ 0,8	7,0 $\pm$ 0,6	6,6 $\pm$ 0,6
Лімфоцити, відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	29,0 $\pm$ 3,0 1,7 $\pm$ 0,1	29,0 $\pm$ 3,0 2,0 $\pm$ 0,2	26,5 $\pm$ 2,4 1,7 $\pm$ 0,1
Моноцити, відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	7,5 $\pm$ 0,8 0,45 $\pm$ 0,03	6,0 $\pm$ 0,6 0,42 $\pm$ 0,04	8,0 $\pm$ 0,7** 0,53 $\pm$ 0,04**
Гранулоцити, відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	62,0 $\pm$ 6,0 3,7 $\pm$ 0,4	60,0 $\pm$ 6,2 4,2 $\pm$ 0,4	56,5 $\pm$ 6,1 3,7 $\pm$ 0,3
Еозинофільні лейкоцити, відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	1,0 $\pm$ 0,1 0,07 $\pm$ 0,006	10,0 $\pm$ 1,8* 0,7 $\pm$ 0,05*	9,0 $\pm$ 1,1* 0,6 $\pm$ 0,06*
Т-лімфоцити (CD3 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	63,0 $\pm$ 4,9 3,8 $\pm$ 0,5	51,0 $\pm$ 5,1* 3,6 $\pm$ 0,5	52,0 $\pm$ 4,3 3,4 $\pm$ 0,3
Т-хелпери (CD4 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., %	38,0 $\pm$ 2,9	36,0 $\pm$ 3,1	35,0 $\pm$ 2,6

абс., $\times 10^9/\text{л}$	0,7 $\pm$ 0,06	0,7 $\pm$ 0,07	0,6 $\pm$ 0,06
Т-супр./цитотокс. (CD8 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	20,0 $\pm$ 1,5 0,4 $\pm$ 0,03	15,0 $\pm$ 1,7* 0,3 $\pm$ 0,02*	17,0 $\pm$ 1,2* 0,3 $\pm$ 0,02*
Т-активні (HLA-DR <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	34,0 $\pm$ 4,0 0,7 $\pm$ 0,05	29,0 $\pm$ 2,6 0,6 $\pm$ 0,05	30,0 $\pm$ 2,9 0,5 $\pm$ 0,04*
ПК (CD16 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	14,4 $\pm$ 1,2 0,2 $\pm$ 0,01	13,7 $\pm$ 1,0 0,3 $\pm$ 0,02*	13,3 $\pm$ 1,4 0,2 $\pm$ 0,01**
В-лімфоцити (CD21 <sup>+</sup> ) (від числа лімфоцитів), відн., % абс., $\times 10^9/\text{л}$	22,0 $\pm$ 2,5 0,4 $\pm$ 0,03	21,0 $\pm$ 2,2 0,4 $\pm$ 0,03	21,5 $\pm$ 2,0 0,4 $\pm$ 0,03
РБТЛ спонт., %	6,0 $\pm$ 0,5	6,0 $\pm$ 0,6	6,0 $\pm$ 0,6
РБТЛ інд. ФГА, %	64,0 $\pm$ 5,6	61,5 $\pm$ 6,1	65,0 $\pm$ 5,9

Примітки: \* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей між показниками груп 1, 2 та контрольною групою, \*\* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей показників груп 1 та 2 між собою.

Зокрема, це стосується зниження абсолютної кількості Т-цитотоксичних та Т-активних лімфоцитів на фоні достовірного зростання чисельності природних кілерів у хворих 1-ої групи. У даної вікової категорії хворих на ХГВІ дітей, як і в молодших групах, зберігається високий рівень сенсibiliзації, одною з причин якої може виступати недостатність Т-супресорів/цитотоксичних клітин з імунофенотипом CD8<sup>+</sup>.

З метою отримання більш конкретної інформації про стан активації Т-лімфоїдного компартменту, який відіграє основну роль у клітинному протівірусному захисті та імунологічному нагляді, частина дітей вікових груп 3-5 та 6-11 років, хворих на ХГВІ, була обстежена високоточним та інформативним методом проточної цитометрії (табл. 4).

**Таблиця 4. Вміст активованих лімфоцитів Т-компартменту клітинного імунітету дітей, хворих на ХГВІ, з різним ступенем вірусного навантаження лейкоцитів**

Субпопуляції Т-лімфоцитів, абс. число/1 мкл	Здорові діти		Група 1 ХГВІ (1-2 віруси), M $\pm$ m		Група 2 ХГВІ (3 та більше вірусів), M $\pm$ m	
	Вік 3-5 років (n=5)	Вік 6-11 років (n=6)	Вік 3-5 років (n=12)	Вік 6-11 років (n=12)	Вік 3-5 років (n=9)	Вік 6-11 років (n=11)
Т-лімфоцити (CD3 <sup>+</sup> )	1983,6 $\pm$ 178,5	2000,5 $\pm$ 150,6	1401,3 $\pm$ 86,9 *	1884,4 $\pm$ 94,9	1127,3 $\pm$ 69,4 *	1301,3 $\pm$ 81,8 *
Активовані Т-лімфоцити з ІЛ-2 рецептором (CD25 <sup>+</sup> )	114,5 $\pm$ 15,2	106,0 $\pm$ 12,3	291,4 $\pm$ 19,2 *	90,6 $\pm$ 9,4**	328,3 $\pm$ 24,8 *	355,6 $\pm$ 29,4 *
Активовані Т-лімфоцити з маркером апоптозу (CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> )	590,4 $\pm$ 39,5	615,3 $\pm$ 31,2	227,2 $\pm$ 23,4 *	544,0 $\pm$ 43,4**	106,6 $\pm$ 14,4 *	189,6 $\pm$ 26,8 ***

Примітки: \* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей між показниками груп 1, 2 та контрольною групою, \*\* -  $p < 0,05$  – достовірність відмінностей показників груп 1 та 2 між собою.

Стосовно молодшої вікової групи з меншим вірусним навантаженням (1-2 віруси), було виявлено зниження у 2,6 разів числа активованих Т-лімфоцитів, що

несуть апоптичний маркер CD95 серед CD3<sup>+</sup>-клітин, у порівнянні з нормою, тоді як у цій же віковій групі з більшим вірусним навантаженням подібна кратність

дорівнювала 5,5 (табл. 4). Ці дані свідчать про передчасну загибель значної частки імунокomпетентних клітин, зокрема Т-лімфоцитів, що беруть участь у противірусному захисті. Можливо, віруси герпесу мають здатність індукувати гени апоптозу Т-лімфоцитів, тим самим забезпечуючи самозбереження в організмі. У дітей 6-11 років з ХГВІ при меншому вірусному навантаженні лейкоцитів кількість CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>-клітин відповідала фізіологічній нормі, тоді як при зростанні вірусної присутності вона у 3,2 рази поступалася нормальній. Таким чином, можна стверджувати, що недостатність лімфоцитів Т-комpartменту, що спостерігається у дітей 3-5 років в обох групах незалежно від вірусного навантаження, а також у 2-ій групі (з ураженням лейкоцитів більше, ніж 3 герпесвірусами) дітей 6-11 років (табл. 1,2) спричинюється переходом значної їх кількості до апоптозу під впливом, скоріше за все, внутрішньоклітинно персистуючих вірусів герпесу. При цьому частка клітин, що відходить до апоптозу, корелює з множинністю вірусного ураження організму, а також з віком пацієнтів, хворих на ХГВІ, а саме - у старшій віковій групі дітей спостерігається достовірне зменшення частки Т-лімфоцитів, яка переходить до апоптичного стану.

Зміст Т-лімфоцитів, що експресують IL-2 рецептори (від числа CD3<sup>+</sup>-клітин) імунотипу CD25<sup>+</sup>, які відповідають за активацію та проліферацію цитотоксичних Т-лімфоцитів, був достовірно збільшений порівняно з нормою у всіх досліджених групах дітей, окрім 6-11-річних пацієнтів з низьким кількісним вмістом персистуючих герпесвірусів в лейкоцитах (табл. 4). Кількісний вміст CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів з цитотоксичними властивостями як у молодшої (3-5 років), так і у більш старшої групи дітей (6-11 років) демонструє однакову тенденцію від незмінності їх числа у випадку меншого герпесвірусного навантаження до достовірного зниження у групах, чії лейкоцитарні клітини уражені трьома або більше вірусів герпесу різних типів (табл. 1, 2). Окрім того, як показали дослідження, в обох вікових групах з підвищеним герпесвірусним навантаженням має місце виражена функціональна недостатність Т-лімфоцитів або тенденція до неї у пацієнтів з виявленими 1-2 збудниками, визначена у реакції, що оцінює потенційний бластогенез (табл. 1, 2). Виходячи з вищенаведеного, можна припустити, що, незважаючи на підвищену активацію у відповідь на стимул, яким виступає вірусний антиген, CD8<sup>+</sup>-клітини не можуть ні функційно, ні кількісно забезпечити цитотоксичність по відношенню до нього, що може бути пов'язано з їх більш прискореним переходом до апоптичного стану і наступною загибеллю.

Таким чином, ГВІ характеризується недостатністю клітинної ланки імунітету, вірогідно обумовленою як зменшенням тривалості життя клітин, так і зниженням вмісту деяких фенотипів імунокomпетентних одиниць, а також їх функціональної здатності. Сукупність імунологічних змін, виявлених у різних вікових груп дітей з ХГВІ, у різному ступені інфікованих множинними герпесвірусними агентами, може сприяти

персистенції вірусів герпесу в організмі та рецидивуючому перебігу захворювання.

В умовах послабленого імунологічного контролю повна елімінація внутрішньоклітинно розташованих вірусів з організму стає не тільки неможливою, але і створюються сприятливі умови для розповсюдження вірусу від клітини до клітини по клітинним місткам або екстрацелюлярним шляхом.

Проте, доволі помітною подією із зростанням віку дітей, хворих на ХГВІ, стає менша вираженість досліджених ознак клітинного імунітету, які можуть сприяти довготривалій персистенції вірусів. Зокрема, нормалізується кількість одиниць як Т-клітинних субпопуляцій, що забезпечують противірусну цитотоксичність та сприяють повноцінній імунній відповіді на вірусний антиген, так і В-лімфоцитів, що відповідають за гуморальну ланку в сенсі його нейтралізації, а також повертається до фізіологічної норми функціональна характеристика клітин Т-лімфоїдного компартменту (табл. 1-3). Механізми виявленої вікової компенсації недостатності клітинного імунітету за персистенції герпесвірусів потребують поглибленого дослідження з метою розширення інформаційного надбання з природи такого явища як вірусна персистенція взагалі.

Слід також зазначити, що виявлені порушення в клітинному імунному статусі дітей різних вікових груп зберігаються як у фазі рецидиву, так і у фазі ремісії, що необхідно враховувати за лікування хворих на ХГВІ.

## Висновки

1. У всіх досліджених вікових категоріях дітей, хворих на ХГВІ, більш значні зміни у кількісному складі лейкоцитів та лімфоїдних субпопуляцій спостерігаються у групах з множинною персистенцією вірусів герпесу різних типів в лейкоцитах у порівнянні з пацієнтами, лейкоцити яких уражені 1-2 типами герпесвірусів.
2. Клітинний імунітет та лейкоцитарний склад категорії дітей віком 3-5 років характеризується найбільш чисельними зрушеннями порівняно з пацієнтами більш старшого віку. В обох групах, незалежно від вірусного навантаження, спостерігається достовірна ( $p < 0,05$ ) недостатність абсолютної чисельності лімфоцитів, зокрема популяцій Т-лімфоцитів (CD3<sup>+</sup>), Т-хелперів (CD4<sup>+</sup>), В-лімфоцитів (CD20<sup>+</sup>) та моноцитарних клітин поряд з багаторазовим зростанням числа еозинофільних гранулоцитів.
3. Характерними для хворих на ХГВІ з множинною персистенцією герпесвірусів (більше 3-х) різних типів всіх досліджених вікових категорій є достовірна ( $p < 0,05$ ) чисельна недостатність клітин субпопуляцій Т-цитотоксичних (CD8<sup>+</sup>) та Т-активних (HLA-DR<sup>+</sup>) лімфоцитів, що відіграють основну роль у клітинному противірусному захисті.
4. У пацієнтів з ХГВІ спостерігається багаторазове зростання кількості Т-активованих лімфоцитів (CD25<sup>+</sup>): 2,5- та 2,9-кратне у 1-ій та 2-ій групах дітей віку 3-5 років, 3,3-кратне – у 2-ій групі дітей 6-11 років, на фоні значного зменшення Т-лімфоцитів з маркером апоптозу (CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>): у 2,6 та 5,5 разів у

1-й і 2-й групах наймолодшого контингенту та у 3,2 рази – у дітей 6-11 років.

5. Т-лімфоцити хворих на ХГВІ з множинним (більше 3-х типів) ураженням лейкоцитів вірусами герпесу різних типів (окрім віку 12-14 років) мають достовірно ( $p < 0,05$ ) знижену функціональну здатність як до спонтанного, так і до стимульованого ФГА бластогенезу.

6. Найбільш глибокі зміни клітинного імунітету за хронічної герпесвірусної інфекції спостерігаються у дітей молодшого вікового контингенту (3-5 років), з інфікованістю як 1-2 типами вірусів, так і більшою їх кількістю. По мірі зростання віку дітей, хворих на ХГВІ, зменшується об'єм змінених показників клітинного імунітету, відповідальних за протівірусний захист. При цьому швидша і повніша їх нормалізація спостерігається у пацієнтів, інфікованих 1-2 типами вірусів герпесу.

## References

1. Brown, Z. Effect of serologic status and cesarean delivery on transmission rates of herpes simplex virus from mother to infant [Text] / Z. Brown, A.Wald, R. Morrow // JAMA – 2003. – V.289. – P. 203-209.
2. Kasymova, E.B. Infectious mononucleosis associated with herpes virus types 4 and 5 in children [Text] / E.B. Kasymova, O.A. Bashkina, Kh.M. Galimzyanov, S.Zh. Netalieva // Infectious Diseases. – 2012. - V.10, №3. – P. 44-47.
3. Corey, L. Maternal and neonatal herpes simplex virus infections [Text] / L. Corey, A.Wald // N. Engl. J. Med. – 2009. – V.361. – P. 1376-1382.
4. Marin, M.N. Varicella among adults: data from an active surveillance project, 1995-2005 [Text] / M.N.Marin, T.L.Watson, S.S. Chaves // J. Infect. Dis. – 2008. - V.197, Suppl 2. - S94.
5. Hulo, Ch. Viral Zone: a knowledge resource to understand virus diversity [Text] / Ch.Hulo, E. de Castro, P. Masson // Nucleic Acids Res. – 2011. – V.39, S.11. – P. 576-582.
6. Popov, N.N. Molecular and cellular mechanisms of antiviral immunity [Text] / N.N. Popov, E.A. Romanova // Annals of Mechnikov's Institute. – 2008. - №3-4. – P. 70-72.
7. Clinical immunology. / ed. A.V.Karaulov. – M.: Medical Information Agency, 1999. – 342 p.
8. Yershov F.I., Kiselyov O.I. Interferons and their inducers (from molecules to medicine). M.:GEOTAR-Media, 2005. – 356 p.

**УДК 616.921.5:615.371:615.076(047.31)**

## **ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ГЕРПЕСВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ, ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ ТА СТУПЕНЮ ІНФІКОВАНІСТІ ВІРУСАМИ РІЗНИХ ТИПІВ**

**Волянський А.Ю., Романова О.А., Ігумнова Н.І., Сидоренко Т.А., Юхименко В.І., Конарева К.С.**

Досліджено основні параметри клітинного імунітету та лейкоцитарного складу периферичної крові дітей, хворих на ХГВІ, спричинену вірусами герпесу I-VI типів, вікових груп 3-5, 6-11, 12-14 років, що відпові-

ають різному ступеню дозрілості імунної системи. Виявлено, що незалежно від віку, більш значні зміни у кількісному складі лейкоцитів та лімфоїдних субпопуляцій спостерігаються у групах пацієнтів з персистенцією 3-х та більше вірусів герпесу різних типів у лейкоцитах. Характерними для таких хворих всіх досліджених вікових категорій є недостатність клітин субпопуляцій Т-цитотоксичних ( $CD8^+$ ) та Т-активних ( $HLA-DR^+$ ) лімфоцитів та зниження функціональної здатності Т-лімфоцитів (окрім хворих 12-14 років) як до спонтанного, так і до стимульованого ФГА бластогенезу. Найбільш чисельними зрушеннями характеризується клітинний імунітет наймолодших дітей з ХГВІ (3-5 років). Незалежно від вірусного навантаження, у всіх хворих 3-5 років, а також у групі 6-11 років з більш високим навантаженням спостерігається багаторазове зростання кількості Т-активованих лімфоцитів ( $CD25^+$ ) на фоні значного зменшення Т-лімфоцитів з маркером апоптозу ( $CD3^+CD95^+$ ). По мірі зростання віку дітей, хворих на ХГВІ, зменшується об'єм змінених показників клітинного імунітету, відповідальних за протівірусний захист. При цьому швидша і повніша їх нормалізація спостерігається у пацієнтів, інфікованих 1-2 типами вірусів герпесу.

**Ключові слова:** ХГВІ, клітинний імунітет

**УДК 616.921.5:615.371:615.076(047.31)**

## **ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И СТЕПЕНИ ИНФИЦИРОВАННОСТИ ВИРУСАМИ РАЗНЫХ ТИПОВ**

**Волянский А.Ю., Романова Е.А., Игумнова Н.И., Сидоренко Т.А., Юхименко В.И., Конарева Е.С.**

Исследованы основные параметры клеточного иммунитета и лейкоцитарного состава периферической крови детей, страдающих ХГВИ, вызванной вирусами герпеса I-VI типов, возрастных групп 3-5, 6-11, 12-14 лет, отвечающих разной степени зрелости иммунной системы. Независимо от возраста, более значительные изменения в количественном составе лейкоцитов и лимфоидных субпопуляций наблюдаются в группах пациентов с персистенцией 3-х и более типов вирусов герпеса в лейкоцитах. Характерными для таких больных всех обследованных возрастных категорий являются недостаточность клеток субпопуляций Т-цитотоксических ( $CD8^+$ ) и Т-активных ( $HLA-DR^+$ ) лимфоцитов и снижение функциональной способности Т-лимфоцитов (кроме больных 12-14 лет) как к спонтанному, так и стимулированному ФГА бластогенезу. Наиболее многочисленными нарушениями характеризуется клеточный иммунитет младших детей с ХГВИ (3-5 лет). Независимо от вирусной нагрузки, у всех больных 3-5 лет, а также в группе с высокой вирусной нагрузкой 6-11 лет наблюдается многократный рост числа Т-активированных лимфоцитов ( $CD25^+$ ) на фоне значительного уменьшения Т-лимфоцитов с маркером апоптоза ( $CD3^+CD95^+$ ). По мере увеличения возраста детей, больных ХГВИ, объем измененных показателей клеточного иммунитета, ответственных за



антивирусную защиту, уменьшается. При этом более быстрая и полная нормализация наблюдается у пациентов, инфицированных 1-2 вирусами герпеса.

**Ключевые слова:** ХГВИ, клеточный иммунитет

**UDC 616.921.5:615.371:615.076(047.31)**  
**FEATURES OF CELLULAR IMMUNITY IN CHILDREN WITH CHRONIC HERPES VIRUS INFECTION DEPENDING ON THE AGE AND DEGREE OF EXPOSURE TO THE DIFFERENT TYPES VIRUSES**

**Volyanskiy A.Yu., Romanova E.A., Igumnova N.I., Sidorenko T.A., Yuchimenko V.I., Konareva K.S.**

The basic parameters of cellular immunity and leukocyte composition of peripheral blood of children suffering HGVI caused by herpes viruses of I-VI types, age groups 3-5, 6-11, 12-14 years, corresponding to different degrees of maturity of immune system, were studied. Regardless of age, a significant change in the quantity and composition of lymphoid subpopulations of leukocytes observed

in patients with persistent groups of 3 or more types of herpes viruses in leukocytes. Typical for these patients all surveyed age groups are lack of cell subpopulations of T-cytotoxic (CD8+) and T-active (HLA-DR +) lymphocytes and decreased functional capacity of T-lymphocytes (except for patients 12-14 years old) as a spontaneous and stimulated PHA blastogenesis. The most numerous irregularities characterized by cellular immunity HGVI with younger children (3-5 years). Regardless of the viral load in all patients 3-5 years, and a group with high viral load is observed 6-11 multiple increase of activated T-lymphocytes (CD25 +) against a significant reduction of T lymphocyte apoptosis markers (CD3 + CD95 +). With increasing age of the children with the HGVI, the amount of the changed parameters of cellular immunity in charge of anti-virus protection is reduced. Thus more rapid and complete normalization observed in patients infected with 1-2 herpes viruses.

**Key words:** HGVI, cellular immunity.