



УДК: 616.31-022-098.4

## ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА РОТАВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ

**О. М. Горленко<sup>1</sup>, Н. М. Гема<sup>2</sup>, В. Л. Піріди**

<sup>1</sup>ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра дитячих хвороб з дитячими інфекціями, м. Ужгород

<sup>2</sup>Обласна клінічна інфекційна лікарня, м. Ужгород

### Вступ

Сучасні досягнення в галузі вивчення імунорегуляторних механізмів інфекційного процесу показали, що основну роль в активації і регуляції процесів імунної відповіді, що визначають тяжкість і тривалість хвороби, грають цитокіни [1, 7, 12]. За даними [2, 6], у хворих на РВІ реєструється гіперцитокінемія з дисбалансом прозапальних і протизапальних цитокінів.

Аналіз цитокінового профілю у хворих на РВІ в гострий період хвороби виявив достовірне підвищення рівня прозапального цитокіну IFN $\gamma$  як у місці «вхідних воріт» інфекції, так і на системному рівні, незалежно від тяжкості захворювання [3]. Активація Th1-лімфоцитів, секретуючих IFN $\gamma$  та інші прозапальні цитокіни, супроводжується підвищенням активності макрофагів, стимуляцією фагоцитозу, внутріклітинного кілінгу, антигенпрезентуючої функції моноцитів і синтезу молекул адгезії [15].

Одночасно у всіх хворих спостерігали активацію маркерів Th2-типу імунної відповіді [3]. Так, рівень IL-10, природного антагоніста IFN $\gamma$ , підвищувався в 2-12 разів порівняно з показниками, зареєстрованими у здорових дітей. Вважають, що виявлений протизапальний ефект направлений на запобігання пошкоджувальної дії надмірної клітинної відповіді. Відзначалась залежність між збільшенням рівня IL-10 і тяжкістю перебігу РВІ: при легкій формі захворювання відношення IFN $\gamma$ /IL-10 в сироватці крові і в копрофільтраті хворих залишалося збалансованим і не відрізнялося від показників здорових дітей. При середньоважкій, а особливо, при важкій формі хвороби даний показник знижувався, що свідчило про наростання пріоритету Th2 імунної відповіді. Припускають, це пов'язано з феноменом деструктивної адсорбції, при якій відбувається осідання ротавірусів на бактерійну клітину [4].

В останні роки було доведено, що IL-12 є

ключовим цитокіном у посиленні клітинно-опосередкованої імунної відповіді та ініціації ефективного противірусного захисту [16]. Виявлено [3], що легка форма РВІ супроводжувалась підвищенням секреції фракцій IL-12 у місці локальної запальної реакції, тоді як на системному рівні продукція IL-12 контролювалася альтернативною субпопуляцією макрофагів Th2, продукуючих IL-10. Така спрямованість цитокінового профілю характерна для самолімітуючого перебігу інфекції, при якому розмноження патогенних збудників ефективно контролюється імунною системою [16]. При середньоважкій і важкій формах РВІ у дітей спостерігалася явна гіперпродукція IL-12 локально і в сироватці крові. На ранніх етапах хвороби даний феномен, як вважають, має протективний ефект, опосередкований IFN $\gamma$ -залежними механізмами: посиленою продукцією NO і T-клітинною інфільтрацією, посиленням експресії адгезивних молекул і продукції хемокінів [3, 15].

При дослідженні рівнів цитокінів у динаміці хвороби (7-10 день) у всіх хворих реєстрували зниження концентрації IFN $\gamma$  у копрофільтраті і сироватці крові пропорційно зменшенню клінічних проявів інфекційного процесу. Значне зниження рівнів протизапального IL-10 спостерігали в копрофільтраті, тоді як на системному рівні навіть при легкій формі у хворих зберігалися підвищені значення, що свідчило про незавершеність імунопатологічних реакцій, не дивлячись на купірування клінічних симптомів хвороби [3]. Ступінь активності інтерлейкіносинтезу в дебюті хвороби визначає виразність її клінічних проявів. Ураження ШКТ ротавірусної природи супроводжується підвищенням кількісного вмісту CD19<sup>+</sup> лімфоцитів у крові хворих та зберіганням на фізіологічному рівні кількісних показників CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup> та імуноглобулінів основних класів [8].



У ряді досліджень показано, що вже на початковому періоді захворювання РВІ у дітей виявляється дефіцит (до 2-3 ступеня вираженості) по Т-лімфоцитах (71,4%), Т-хелперах (46,4%), вмісту IgA і фагоцитарного показника [5, 13]. Аналогічні зміни показників імунітету, що свідчать про пригнічення клітинної, головним чином Т-хелперної ланки, зниження активності фагоцитоза і резервних можливостей фагоцитарно-метаболическої активності нейтрофільних лейкоцитів у гострий період ГКІ отриманий і іншими авторами [20, 22]. Встановлене значне зниження фагоцитарної активності нейтрофілів. Дефіцит фагоцитозу у понад 81,0% хворих корелює із слабкою системною продукцією IFN $\gamma$  та IFN $\alpha$ , що обумовлене, як вважають, імуносупресивною дією вірусу в гострому періоді хвороби [10, 11].

Отже, у хворих на кишкову ротавірусну інфекцію функціонування імунної системи проходить у режимі нормокompенсації [8]. При середньо-тяжких формах ротавірусної інфекції відбувається максимальне підвищення рівня ендogenous інтерферону у гострий період хвороби з подальшим зниженням його рівня до періоду реконвалесценції, при тяжких формах – низький рівень інтерферону підвищується у період реконвалесценції [9].

Проведені дослідження дозволили виявити різну спрямованість змін цитокінового профілю у дітей, хворих на РВІ, залежно від тяжкості захворювання. Легка і середньоважка форми РВІ у дітей характеризується домінуванням Th1-відповіді на ранніх етапах хвороби з обмеженням надмірної продукції прозапальних цитокінів до періоду ранньої реконвалесценції, що сприяє благополучному перебігу захворювання у більшості хворих. У хворих із важкою формою РВІ в перші дні хвороби спостерігається превалюючий Th1-тип диференціювання хелперної відповіді із зсувом балансу цитокінів у бік Th2 до періоду ранньої реконвалесценції, що уповільнює санацію вогнища запалення.

Після перенесеної РВІ у людини виникає імунітет до ротавірусу. Як клінічно виражена, так і безсимптомна РВІ супроводжується утворенням специфічних антитіл, що визначаються в різних біологічних рідинах і екскретах організму. Зокрема, після інфекції в сироватці крові і шлунково-кишковому тракті виявляються антитіла, що захищають від розвитку важкої діареї при повторному інфікуванні ротавірусом [21, 24]. Вирішальну роль у форму-

ванні імунітету до ротавірусів грають інтестинальні IgA-антитіла і сироваткові IgG-антитіла [19, 23].

В перші дні захворювання в крові з'являються IgM-антитіла, титр яких поступово збільшується, досягаючи найбільших значень на 10-14 день від початку захворювання, через 6-10 тижнів вони вже не виявляються. Пізні антитіла класу IgG з'являються в крові наприкінці 1 тижня хвороби, титр їх сягає максимальних значень через 3-4 тижні і, поступово знижуючись, зберігається впродовж 40 тижнів і більше. Враховуючи динаміку антитілоутворення, для серологічної діагностики РВІ сироватку крові відбирають двічі: в гострий період та в період реконвалесценції (через 2-3 тижні від початку захворювання) [14].

Секреторні антитіла класу IgA з'являються через 2 тижні після початку захворювання, досягають піку через кілька тижнів і в подальшому їх рівень поступово знижується. Секреторні IgA генеруються місцево на поверхні епітеліальних клітин [14].

Антитіла IgM та IgG нейтралізують вірус у крові, IgA антитіла – при попаданні вірусу на слизові оболонки. При повторній РВІ в крові практично одночасно з'являються імуноглобуліни всіх трьох класів, що є діагностичним критерієм відмінностей між первинною інфекцією та реінфікуванням [14, 17].

Імунітет після перенесеної РВІ є серотип-специфічним. Захисний потенціал перехресного імунітету залишається неясним, інфікування одним серотипом не запобігає захворюванню на ротавірусний гастроентерит з іншим серотипом [23, 24, 25]. При дослідженні особливостей формування імунітету до РВІ у 200 мексиканських дітей з народження до 2 років [25], з'ясували, що діти, що перенесли одну, дві або три ротавірусні інфекції, мали значно менший ризик захворювання і діареї. Крім того, у разі повторного захворювання ротавірусний гастроентерит протікав значно легше, ніж первинна інфекція, і зазвичай був обумовлений ротавірусом іншого G-серотипу. Це дослідження дозволило зробити висновок, що антиротавірусний імунітет зростає з кожною перенесеною інфекцією, причому він ефективно запобігає розвитку важкої ротавірусної діареї в подальшому і у меншій мірі захищає від легкого або безсимптомного перебігу хвороби.

Імунітет до ротавірусів, що набувається в дитинстві є неповним, у зв'язку з чим дорослі можуть переносити гастроентерит неоднора-



зово. Разом з тим, багато випадків ротавірусної інфекції у дорослих протікає безсимптомно або в дуже легкій формі. Найчастіше хворіють дорослі, які контактують з маленькими дітьми, часто мандрівники, або ті, хто має імунodefіцит. У ряді досліджень було продемонстровано, що ротавірусний гастроентерит у дорослих не має типової сезонності, як у дітей [18].

За даними [6], перебіг періоду реконвалесценції РВІ у дітей, залежить від ряду факторів (наявність поєднаної бактерійної флори, внутрішньолікарняна інфекція) і проявляється тривалими гастроінтестинальними дисфункціями у 12,2% хворих, астеновегетативним синдромом – у 10,2%, персистенцією ротавірусу – 5,1% реконвалесцентів. Зниження імунорезистентності організму після перенесеної РВІ супроводжується підвищенням інфекційної захворюваності у 46,9% хворих, схильністю до загостренням або розвитку алергічних захворювань у 10,2% дітей.

#### Мета дослідження

Вивчення особливостей цитокінового профілю в досліджуваних груп дітей, хворих на ротавірусну інфекцію, одна з яких знаходилася на базовому лікуванні, а інша отримувала імунотерапію корекцію.

#### Матеріали і методи

Матеріалом для вивчення цитокінового профілю слугували зразки сироватки хворих дітей на ротавірусну інфекцію, які знаходились на лікуванні в Обласній клінічній інфекційній лікарні, відділенні для дітей.

Стан гуморального імунітету, а саме показники концентрації ІЛ-1, ІЛ-6 та динаміку сироваткових Іg М, Іg G, інтерферонів  $\alpha$ ,  $\gamma$  у сироватці крові визначали з використанням твердофазного імуоферментного аналізу (тест-система фірми „Вектор-Бест”, м. Новосибірськ, РФ).

За допомогою комп'ютерних програм Microsoft Office 2007 і „Statistica 6” (StatSoft Inc., США) опрацьовано отримані цифрові дані з використанням описового, категоріального, порівняльного та кореляційного аналізу. Обчислюючи статистичні величини, вираховували середню арифметичну вибірки (M), середньоквадратичне відхилення (S) і стандартну помилку (m). Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за допомогою коефіцієнту Ст'юдента (нормальний розподіл величин) або з використанням тесту Мана-Уїтні і коефіцієнтів Пірсона (для непараметричних даних). Для ствердження вірогідності відмінностей (підтвердження або спростовування „нульової гіпотези”) використовували загальноприйняту у медикобіологічних дослідженнях величину ймовірності похибки (p) –  $p < 0,05$ .

#### Результати досліджень

Реактивність імунної системи в значній мірі визначає важкість будь-якого інфекційного процесу. При цьому різні ланки імунної системи тісно взаємозв'язані між собою. Для виявлення взаємозв'язків складових імуногенезу нами були проведені наступні дослідження, що відображено в таблиці 1.

Таблиця 1

#### Імунологічний статус у динаміці

Параметри	1 група		2 група	
	До лікування (n=48) M±m	Після лікування (n=40) M±m	До лікування (n=60) M±m	Після лікування (n=40) M±m
ІЛ -1 (Од/мл)	1,81±0,39	0,47±0,10**	0,67±0,13	0,33±0,02*
ІЛ - 6 (Од/мл)	6,49±0,87	1,62±0,22**	5,19±±0,64	1,39±0,08*
Заг ІgG (Од/мл) 12,3±2,97	16,26±1,94	6,37±1,11**	15,12±0,80	5,98±0,38**
Заг ІgM (Од/мл) 1,63 ± 0,46	2,20±0,50	1,45±0,40	1,83±0,33	1,32±0,15
ІФ- $\alpha$ (пг/мл)	23,42±2,26	18,62±1,59 <sup>o</sup>	25,32±3,12**	46,18±2,12 <sup>o**</sup>
ІФ- $\gamma$ (пг/мл)	32,81±1,18	33,54 ± 1,54	29,92±1,23*	37,37±1,92*

Примітка: <sup>o</sup> <0,01 між групами, \* <0,05 в групах, \*\*<0,01 в групах.



Досліджуючи рівні IgM, IgG, ми проаналізували реакцію імунної системи на присутність ротавірусу та були виявлені наступні зміни. IgM переважно моделює первинну імунну відповідь, утворюючись на ранніх термінах інфекційного процесу відіграє важливу роль в елімінації збудника з кров'яного русла та активації фагоцитоза. У наших дослідженнях рівень IgM варіював у максимальних рівнях референції і складав  $2,20 \pm 0,500$  д/мл та  $1,83 \pm 0,330$  д/мл по групах відповідно та знижувався на 30% після лікування також в обох групах.

IgG забезпечує тривалий гуморальний імунитет до інфекцій, активно захищає кишківник і весь організм від поступлення та розмноження інфекції у дитячий організм. Синтез IgG і його рівень у сироватці крові зростає у відповідь на інфікування, що ми і спостерігаємо у нашому дослідженні, яке представлено кількісними показниками IgG у двох групах ( $16,26 \pm 1,940$  д/мл та  $15,12 \pm 0,800$  д/мл по групах відповідно). Спостерігається визначальний достовірний ефект зниження рівнів IgG в 3 рази після лікування ( $p < 0,05$ ).

За даними таблиці 1 у хворих з РВІ при поступленні рівень ІФ- $\alpha$  був знижений і складав  $23,42 \pm 2,26$  пг/мл та  $25,32 \pm 3,12$  пг/

мл відповідно по групах, рівень ІФ- $\gamma$  ідентифікований у більших концентраціях і складав  $32,81 \pm 1,18$  пг/мл та  $29,92 \pm 1,23$  пг/мл по групах. Після лікування рівень ІФ $\alpha$  у дітей 2 групи підвищився на 21 пг/мл і складав  $46,18 \pm 2,12$  пг/мл, коли у дітей, які приймали тільки базову терапію, спостерігається зниження рівня на 4 пг/мл. Рівень ІФ- $\gamma$  у обох групах мав тенденцію до незначного підвищення з превалюванням результатів у 2 групі (на 8 пг/мл і складав  $37,37 \pm 1,92$  пг/мл).

Підвищена продукція ІЛ-6 при проникненні і реплікації вірусу приводить до активації більшості імунокомпетентних клітин і різкого посилення продукції противірусних антитіл, що знайшло підтвердження у нашому дослідженні, коли рівень Іл-6 до лікування складав  $6,49 \pm 0,87$  та  $5,19 \pm 0,64$  відповідно по групах. Після лікування рівні Іл-6 знижувалися в 3-4 рази в обох групах. Існує зв'язок між підвищеним рівнем ІЛ-6 і ступенем ушкодження тканин.

### Висновки

Було вивчено особливості цитокинового профілю в досліджуваних груп дітей, хворих на ротавірусну інфекцію, одна з яких знаходилася на базовому лікуванні, а інша отримувала імуномінералобіокорекцію.

**Резюме.** Таким чином, інфекційні захворювання шлунково-кишкового тракту у дітей характеризуються порушенням чинників місцевого імунітету, розвитком дисбалансу цитокинової мережі, забезпечуючи тяжкість перебігу і активність запального процесу. Застосування в комплексній терапії захворювань шлунково-кишкового тракту вірусної природи препаратів, що володіють імуномінералобіотропною активністю, патогенетично обґрунтовано, сприяє корекції імунних порушень і швидкому клінічному і мікробіологічному одужанню, підвищуючи якість медичної допомоги дітям.

**Ключові слова:** діти, ротавірусна інфекція, цитокиновий профіль.

### Cytokine profile in the children with rotavirus infection

*O.M. Horlenko, N.M. Nema*

**Summary.** Infectious diseases of the gastrointestinal tract in children characterized by the violation of local immunity factors, development of cytokine network, providing the severity of inflammation and activity. Used in complex therapy of diseases of the gastrointestinal tract of viral nature of drugs, possessing immunomineralobiotropic activity was recommended for the correction of immune disorders and rapid clinical and microbiological recovery and increased the quality of medical care in the children.

**Key words:** children, rotavirus infection, cytokine profile.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Абдуллина Н.Н. Цитокиновый статус при острых кишечных инфекциях у детей, проживающих в Каракалпакстане / Н.Н. Абдуллина, Д.А. Мусаходжаева, А. Т. Камилова // Мед. иммунология. – 2006. – № 2/3. – С.361.
2. Бениова С.Н. Цитокиновый профиль у детей с инфекцией / С.Н. Бениова, Е.М. Жидков, Е.В. Маркелова // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2005. – № 7. – С.71–72.





3. Бениова С.Н. Роль цитокинов в патогенезе ротавірусної інфекції у дітей / С.Н. Бениова, Е.М. Жидков, Е.В. Маркелова // Мед. иммунология. – 2007. – № 6. – С. 627–630.
4. Васильев Б.Я. Острые кишечные заболевания: Ротавирусы и ротавирусная инфекция / Б.Я. Васильев, Р.И. Васильева, Б.В. Лобзин. – СПб. : Лань, 2000. – 268с.
5. Вирусные диареи у детей: особенности клинического течения и тактика терапии / О.В. Тихомирова, Н.В. Сергеева, А. К. Сироткин [и др.] // Детские инфекции. – 2003. – № 3. – С.7–11.
6. Жидков Е.М. Клинико-патогенетические особенности течения ротавирусной инфекции у детей на современном этапе : автореф. дис. канд. мед. наук : спец. 14.00.09 / Е.М. Жидков. – Хабаровск, 2008. – 25с.
7. Значение цитокинового статуса в изучении иммунопатогенеза инфекционных болезней / В.А. Иванис, Е.В. Маркелова, Л.Ф. Скляр [и др.] // Тихоокеанский мед. журнал. – 2004. – № 2. – С.36–39.
8. Кірсанова Т.О. Клініко-імунологічні особливості ротавірусно-бактеріальної інфекції у дітей : автореф. дис. канд. мед. наук : спец. 14.01.10 / Т.О. Кірсанова. – Харків, 2008. – 20с.
9. Кривуша О.Л. Клініко-імунологічні аспекти гострих кишкових інфекцій у дітей та особливості відновлення мікрофлори кишечника у постінфекційний період : автореф. дис. канд. мед. наук : спец. 14.01.10 / О.Л. Кривуша. – Дніпропетровськ, 2004. – 20 с.
10. Кузнецов С.В. Імунна відповідь дітей, хворих на ротавірусну моно- та мікст-інфекцію / С.В. Кузнецов, Т.О. Кірсанова // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 4. – С.33–36.
11. Майкова И.Д. Особенности иммунного статуса и иммунокорректирующая терапия при острых кишечных инфекциях у детей : автореф. дис. канд. мед. наук : спец. 14.00.10 / И.Д. Майкова. – М., 2008. – 24с.
12. Ольховська О.М. Особливості клініки кишкових інфекцій з різним варіантом перебігу та цитокинове реагування хворих / О.М. Ольховська // Інфекційні хвороби. – 2010. – № 1. – С.37–40.
13. Противовирусный препарат «Арбидол» как перспектива этиотропной терапии ротавирусной инфекции у детей / В.Ф. Учайкин, А.А. Новокшенов, О.Н. Тихонова [и др.] // Детские инфекции. – 2004. – № 3. – С.34–39.
14. Ротавірусна інфекція: клініка, діагностика і комплексна терапія : (метод рекомендації) / уклад. : Є.Є. Шунько, І.В. Дзюблик, С.П. Катоніна [та ін.] ; КМАПО. – К., 2003. – 25с.
15. Фрейдлин И.С. Прикладные аспекты современного учения о цитокинах / И.С. Фрейдлин // Тихоокеанский мед. журнал. – 1999. – № 3. – С.13–19.
16. Фрейдлин И.С. Интерлейкин-12 – ключевой цитокин иммунорегуляции / И.С. Фрейдлин // Иммунология. – 1999. – № 4. – С.5–9.
17. Шостакович-Корецька Л.Р. Основні тенденції відновлення мікрофлори кишкового тракту у дітей реконвалесцентів гострих кишкових інфекцій / Л.Р. Шостакович-Корецька, О.Л. Кривуша // Інфекційні хвороби. – 2002. – № 2. – С.36–40.
18. Anderson E.J. Rotavirus infection in adults / E.J. Anderson, S.G. Weber // Lancet Infect. Dis. – 2004. – Vol. 4, № 2. – P 91–99.
19. Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis / R.F. Bishop, G.P. Davidson, I.H. Holmes, B.J. Ruck // Lancet. – 1974. – Vol. 1, № 7849. – P.149–151.
20. Defining T-cell-mediated immune responses in rotavirus-infected juvenile rhesus macaques / K.Sestak, M.M. McNeal, A.Choi [et al.] // J. Virol. – 2004. – Vol. 78, № 19. – P.10258–10264.
21. Fields virology / editors-in-chief : D.M. Knipe, P.M. Howley. – 4th ed. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2001. – 3087p.
22. Frequencies of virus-specific CD4(+) and CD8(+) T lymphocytes secreting gamma interferon after acute natural rotavirus infection in children and adults M.C. Jaimes, O.L. Rojas, A.M. González [et al.] // J. Virol. – 2002. – Vol. 76, № 10. – P.4741–4749.
23. Offit P.A. Immunologic determinants of protection against rotavirus disease / P.A. Offit // Curr. Top Microbiol. Immunol. – 1994. – Vol. 185. – P.229–254.
24. Yiang B. The role of serum antibodies in the protection against rotavirus disease: an overview / B. Jiang, J.R. Gentsch, R.I. Glass // Clin. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 34, № 10. – P.1351–1361.
25. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections / F.R. Velázquez, D.O. Matson, J.J. Calva [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1996. – Vol. 335, № 14. – P.1022–1028.