

**В.В. Новицкий, О.И. Уразова, А.П. Помогаева,
Т.В. Перевозчикова, Е.В. Потарская**

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ У ДЕТЕЙ

ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет, Томск

Изучены показатели фагоцитарной активности моноцитов периферической крови при инфекционном мононуклеозе у детей в возрасте 3-6 и 7-14 лет. Установлено, что течение инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), и другой этиологии (индуцированного вирусами простого герпеса, цитомегалии и неуточненной этиологии) у детей сопровождается структурно-функциональной дезорганизацией моноцитов, проявлениями которой являются снижение количества C_{3b} - и F_{cy} -положительных клеток, изменение численности лизосом. Указанные нарушения сохраняются на стадии реконвалесценции и в отдаленном периоде после перенесенного заболевания (через 16-18 месяцев после болезни). Степень их выраженности определяется природой возбудителя инфекции и возрастными особенностями организма — они наиболее значительны и продолжительны при инфекционном мононуклеозе другой (неВЭБ-) этиологии (чем при ВЭБ-мононуклеозе) и у детей в возрасте 7-14 лет (нежели у 3-6-летних пациентов).

Ключевые слова: инфекционный мононуклеоз, моноциты, фагоцитоз

Инфекционный мононуклеоз (ИМ) — антропонозная инфекция, возбудителем которой в большинстве случаев служат вирусы группы герпеса, в том числе вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ). Согласно современным данным, ВЭБ обнаруживается у 90-92% населения всего Земного шара, 60% заболевших ИМ — лица в возрасте от 2 до 20 лет. При этом первичное инфицирование ВЭБ (равно как и другими вирусами герпеса) в 90-95% случаев происходит в раннем возрасте (до трех лет) и лишь у 45% инфицированных сопровождается выраженными клинико-гематологическими проявлениями мононуклеоза [4, 12].

Наиболее чувствительны к действию герпетических вирусов система крови и иммунная система, участвующие в поддержании антигенного гомеостаза макроорганизма, в частности, в элиминации инфицированных и трансформированных клеток. При этом уникальность цитоидного действия вирусов герпеса заключается в способности как разрушать зараженные клетки, так и длительно в них персистировать, вызывая изменение их морфо-функциональных свойств. Особый интерес в обсуждаемом аспекте, на наш взгляд, представляет изучение состояния макрофагального звена иммунитета при ИМ, поскольку моноциты служат не только «мишенью» цитотоксического действия вирусов герпеса, но и (что очень важно) являются ключевыми клетками в инициации и регуляции иммунного ответа при инфекционном процессе,

осуществляют «захват» и инактивацию возбудителя [1, 10, 12, 14].

В связи с этим целью данной работы явилось изучение способности моноцитарных клеток к фагоцитозу у детей 3-6- и 7-14-летнего возраста, больных ИМ, вызванным вирусом Эпштейна-Барр и другими возбудителями (вирусами цитомегалии и простого герпеса и ИМ неуточненной этиологии).

Методика. Под наблюдением находилось 86 детей, больных ИМ средней степени тяжести, с острым началом развития инфекционного процесса и гладким (неосложненным) течением. Диагноз ИМ устанавливали на основании клинико-гематологической картины [4]. Возбудитель инфекции идентифицировали серологическими методами (иммуноферментный анализ, реакция непрямой иммунофлюоресценции) и методом полимеразной цепной реакции. Дети, больные ИМ, в крови которых были обнаружены маркеры Эпштейна-Барр-вирусной инфекции, были включены в группу больных ИМ, вызванным ВЭБ (ИМ-ВЭБ) — всего 40 детей (25 детей в возрасте 3-6 лет и 15 детей 7-14 лет). Больные ИМ, вызванным цитомегаловирусом ($n=6$), вирусом простого герпеса ($n=11$), и ИМ неуточненной этиологии ($n=29$) были объединены в группу больных ИМ другой этиологии (ДИМ) — всего 46 детей (31 ребенок 3-6 лет и 15 детей 7-14 лет). Пациенты были обследованы в острый период болезни, в период реконвалесценции и в катамнезе (через 16-18 месяцев после болезни).

Распределение детей, больных ИМ-ВЭБ и ДИМ, в зависимости от сроков обследования представлено в *таблице 1*.

Контрольную группу составили 36 условно здоровых детей (12 детей в возрасте 3-6 лет и 24 ребенка 7-14 лет).

Исследования проведены в соответствии с этическими нормами. Материалом исследования являлась периферическая кровь.

Выделение моноцитарных клеток из цельной крови производили на градиенте плотности фико-л-урографина ($1,082 \text{ г/см}^3$) [3].

Для оценки способности моноцитов периферической крови к фагоцитозу исследовали:

- количество C_{3b} -несущих клеток (%) методом ЕАС-розеткообразования [7];

- количество F_{cy} -несущих клеток (%) методом ЕА-розеткообразования [6];

- интенсивность поглощения клетками частиц 0,1% нейтрального красного методом фотокolorиметрии с помощью КФК-2 при длине волны 540 нм (результаты выражали в единицах оптической плотности — опт. ед.) [2];

- количество лизосом методом «раздавленной капли» с помощью микроскопа МБИ-15 в люминесцентном режиме при использовании 0,04% раствора акридинового оранжевого (для выражения результатов рассчитывали показатель суммарной люминесценции — %) [13].

Статистическую обработку результатов исследования при нормальном распределении переменных выполняли с использованием t-критерия Стьюдента для зависимых либо независимых выборок. В случае отсутствия согласия данных с нормальным распределением применяли непараметрические критерии Вилкоксона и U Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Анализ функциональной активности моноцитов периферической крови в острый период ИМ-ВЭБ позволил выявить увеличение количества лизосом в моноцитах у детей в возрасте 7-14 лет и, напротив, снижение — у детей младшей возрастной группы относительно таковых в контроле. У больных ДИМ в данный период наблюдения фиксировали пониженное (по сравнению с нормой) процентное содержание C_{3b}^+ -моноцитов (у пациентов в возрасте 3-6 лет) и клеток, экспрессирующих F_{cy} -рецепторы (у 7-14-летних пациентов). При этом в фазу разгара ДИМ относительное количество F_{cy} -несущих моноцитарных клеток и количество лизосом (у детей младшего возраста), а также уровень поглощения частиц красителя моноцитами (у детей старшей возрастной группы) оказались значительно выше аналогичных показателей у пациентов с ВЭБ-мононуклеозом соответствующего возраста (*Таблица 1*).

В период клинического выздоровления содержание лизосомных гранул в моноцитах (у детей обеих возрастных групп с ИМ-ВЭБ) и относительное число C_{3b} - и F_{cy} -позитивных клеток (соответственно у 3-6- и 7-14-летних пациентов с ДИМ) нормализовались. Количество лизосом в моноцитах у ДИМ-реконвалесцентов старшей возрастной группы повышалось по сравнению с контрольными значениями. Однако содержание моноцитов, экспрессирующих C_{3b} -рецепторы (у 7-14-летних пациентов при ИМ-ВЭБ и ДИМ) снижалось ниже нормы (*Таблица 1*). При сравнительной оценке способности моноцитов к фагоцитозу при различных этиологических вариантах ИМ было установлено, что на стадии клинической реабилитации поглотительная активность (у детей младшей возрастной группы) и процентное содержание C_{3b} -несущих моноцитов (у детей 7-14 лет) при ИМ-ВЭБ оказались выше, а уровень захвата частиц красителя у детей старшего возраста с ИМ-ВЭБ, напротив, существенно ниже таковых у пациентов с ДИМ аналогичного возраста (*Таблица 1*).

Снижение при ИМ количества C_{3b} - и F_{cy} -несущих моноцитов в периферической крови, по-видимому, может обуславливаться, во-первых, компенсаторным поступлением в периферический кровоток молодых клеток, не экспрессирующих указанные рецепторы на поверхностной мембране; во-вторых, способностью инфекционных возбудителей, в частности вирусов герпеса, ингибировать синтез и экспрессию, а также блокировать рецепторы иммунокомпетентных клеток, необходимые для реализации их иммунных функций [1, 9]. Что касается лизосомных гранул, то увеличение их численности у 7-14-летних пациентов с ИМ-ВЭБ и ДИМ, с одной стороны, можно рассматривать как проявление возмещения возможного дефицита переваривающей функции незрелых и зараженных клеток, с другой (что наиболее вероятно) — как следствие вирусной стимуляции инфицированных моноцитов, поскольку лизосомальные гидролазы способны формировать дополнительный внутриклеточный фонд свободных аминокислот и мононуклеотидов, необходимых для биосинтеза вирусоспецифических протеинов и нуклеиновых кислот, облегчая тем самым процесс вирусной репродукции [1, 8].

Вместе с этим, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что в целом ВЭБ оказывает менее выраженное дезорганизующее влияние на моноциты по сравнению с другими возбудителями ИМ. При этом у пациентов с ИМ-ВЭБ и ДИМ в возрасте 7-14 лет уровень «рецепторной недостаточности» моноцитарных клеток существенно превышал таковой у пациентов младшей возрастной группы (*Таблица 1*). На роль возрастного фактора в формировании резистентности моноцитов/макрофагов к цитотоксическому действию

Таблица 1

**Фагоцитарная активность моноцитов периферической крови
у здоровых детей и у детей, больных инфекционным мононуклеозом**

(3-6 лет — числитель, 7-14 лет — знаменатель), $\bar{X} \pm t$

Группы исследования		C _{зб} +-клетки, %	F _{cy} +-клетки, %	Поглотительная активность (опт.ед.)	Количество лизосом, %
Здоровые дети, n=12 n=24		19,17±1,7 22,25±1,96	16,75±2,29 22,08±1,2 P ₁ <0,05	66,25±15,14 55,50±8,31	29,58±5,09 18,08±1,78 P ₁ <0,05
Дети, больные инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна-Барр	Острый период болезни, n=18 n=9	14,67±1,85 22,67±2,88 P ₄ <0,05	12,56±1,55 19,67±2,71 P ₄ <0,05	91,67±7,20 45,33±5,84 P ₄ <0,001	12,43±1,36 29,00±5,95 P ₄ <0,05 P ₄ <0,01
	Период реконвалесценции, n=20 n=7	15,40±1,31 14,29±1,67 P ₁ <0,05 P ₂ <0,05	17,65±1,47 20,57±0,90 P ₂ <0,01	82,22±9,19 40,00±4,88 P ₄ <0,05	23,05±2,68 20,60±3,26 P ₂ <0,01
	Через 16-18 месяцев после болезни, n=7 n=6	16,86±1,03 13,00±1,32 P ₁ <0,05 P ₄ <0,05	20,43±4,52 23,33±2,11	55,71±3,85 45,00±9,13 P ₃ <0,05	26,14±3,28 28,67±8,02
Дети, больные инфекционным мононуклеозом другой этиологии	Острый период болезни, n=24 n=7	12,08±1,55 P ₁ <0,01 16,71±3,46	16,58±1,29 P ₂ <0,05 15,57±3,42 P ₁ <0,01	82,92±14,69 75,71±13,47 P ₅ <0,05	26,45±2,81 P ₂ <0,001 17,66±1,89
	Период реконвалесценции, n=8 n=7	18,00±1,64 P ₂ <0,05 7,86±1,99 P ₁ <0,001 P ₂ <0,05 P ₄ <0,01 P ₅ <0,05	17,63±3,06 20,29±3,29	37,14±7,49 P ₂ <0,01 80,71±16,74 P ₁ <0,05 P ₅ <0,05	28,67±5,40 32,43±10,10 P ₁ <0,05
	Через 16-18 месяцев после болезни, n=7 n=8	17,43±1,56 18,63±2,80 P ₃ <0,01	23,71±2,48 16,38±2,07 P ₁ <0,05 P ₁ <0,05 P ₅ <0,05	57,86±12,34 65,63±12,26	11,14±2,02 P ₁ <0,05 P ₃ <0,05 P ₃ <0,01 18,18±3,12

Примечание: достоверность различий: P₁ — по сравнению с аналогичными показателями у здоровых детей соответствующего возраста, P₂ — у детей соответствующего возраста, больных инфекционным мононуклеозом той же этиологии, в острый период болезни, P₃ — у детей соответствующего возраста, больных инфекционным мононуклеозом той же этиологии, в период реконвалесценции, P₄ — у детей 3-6 лет соответствующей группы исследования, P₅ — у детей, больных инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна-Барр, соответствующего возраста и группы исследования

вирусов указывают Б.Ф. Семенов и соавт. [5]. Однако следует иметь в виду, что помимо моноцитов и вместе с ними в противовирусной защите участвуют и другие эффекторные механизмы, например система интерферонов, с повышенной продукцией которых в организме связывают устойчивость моноцитов/макрофагов к инфекции. В то же время, поскольку первичное заражение герпесвирусами происходит в подавляющем большинстве случаев в раннем возрасте и дети старшего возраста обычно заболевают ИМ на фоне уже имеющегося инфицирования, очевидно, что вирусопосредованный дефект системы интерферонов у детей 7-14 лет, больных ИМ, может быть более значимым, чем у пациентов с ИМ 3-6-летнего возраста, а уровень выработки цитокина недостаточным для обеспечения невосприимчивости моноцитарных клеток к инфекционному повреждению [7, 12].

В отдаленном периоде (через 16-18 месяцев) после перенесенного ИМ-ВЭБ количество C_{зб} +-моноцитов у 7-14-летних детей оставалось по-прежнему сниженным по сравнению с нормой. Ниже контрольного уровня оказалась также численность лизосом в моноцитах у детей младшего возраста, перенесших ДИМ. Процентное же содержание F_{cy} -позитивных моноцитарных клеток у пациентов 7-14 лет и количество лизосом в моноцитах у 3-6-летних детей, перенесших ВЭБ-инфекцию, были достоверно выше аналогичных значений у пациентов соответствующего возраста, переболевших ДИМ (Таблица 1).

Установлено, что проникновение вирусов в моноциты может осуществляться несколькими способами: путем «захвата» инфицированных клеток с адсорбированными на их поверхности вирусными частицами или виропексиса («заглатывания»

вируса), а также характерным для высокоорганизованных вирусов, в том числе возбудителей цитомегалии и простого герпеса, трансмембранным способом — путем фузии — слияния мембран вируса и клетки [1]. При этом доказано, что попавшие в моноциты герпесвирусы вне зависимости от способа их проникновения в клетку, как правило, не утрачивают своей жизнеспособности, проявляя высокую устойчивость к внутриклеточным микробицидным факторам и лизосомальным протеазам, и могут длительно персистировать и даже репродуцироваться в моноцитарных клетках [7]. Согласно A.R. Brautigam et al. [14], вирусы герпеса одинаково легко проникают и реплицируются в нативных и стимулированных моноцитах. Тем не менее, в первом случае размножение вируса может быть блокировано на поздних стадиях репликативного цикла. Вероятно, данный механизм имеет место при ВЭБ-мононуклеозе, поскольку известно, что моноциты не несут на своей поверхности специфических рецепторов к ВЭБ и являются скорее «резервуаром» вируса, чем его источником [11]. Вместе с тем ВПГ и ЦМВ обладают не только ярко выраженным тропизмом к моноцитам/макрофагам, но и способностью к активной в них репродукции с формированием как литической, так и латентной инфекции [5], что, очевидно, и обуславливает более продолжительное сохранение дефекта рецепторного аппарата моноцитов при ДИМ, нежели при ИМ-ВЭБ.

Выводы

1. Течение ИМ ВЭБ- и другой (герпесвирусной и неуточненной) этиологии у детей 3-14-летнего возраста сопровождается угнетением фагоцитарной активности моноцитов, признаки которого сохраняются на стадии реконвалесценции и в отдаленном периоде (через 16-18 месяцев) после перенесенного заболевания.

2. Степень выраженности функциональной дезорганизации моноцитов при ИМ определяется типом возбудителя заболевания и возрастными особенностями организма.

3. Наиболее существенные и продолжительные изменения фагоцитарных свойств моноцитов вызывают возбудители «неВЭБ»-мононуклеоза. При этом они более значительны у детей в возрасте 7-14 лет, нежели у 3-6-летних пациентов.

Phagocytosis activity of peripheral blood monocytes at infectious mononucleosis in children

V.V. Novizkiy, O.I. Urazova, A.P. Pomogaeva, T.V. Per-evozhikova, E.V. Potarskya

The indicators of phagocytosis activity of peripheral blood monocytes at infectious mononucleosis in children at the age of 3-6 and 7-14 are studied. It is noticed, that course of infectious mononucleosis, induced by virus Epstein-Barr (EBV), and mononucleosis, in-

duced by other infectious agents (infectious mononucleosis of herpes simplex virus, cytomegalovirus and non specified etiology), is accompanied by structural and functional disorganization of monocytes, which show by decrease in the number of C_{3b} - and F_{cy} -positive cells and by change in the number of lysosomes. This anomalies being preserved at convalescence and at a later period (16-18 months after disease). The degree of their manifestation is determined by the nature of a pathogen and the age features of an organism — they are more evident and longer in mononucleosis of other (non-EBV -) etiology (than in EBV-associated mononucleosis) and in children at the age of 7-14 (than in 3-6-year-old patients).

Литература

1. Букринская А.Г. Молекулярные основы патогенности вирусов / А.Г. Букринская, В.М. Жданов. — М., 1991.
2. Методы исследования активности моноцитов периферической крови человека: Методические рекомендации / Т.В. Михеенко, Н.Ю. Громыкина, В.А. Козлов, В.Н. Лозовой. — Новосибирск, 1990.
3. Новиков А.К. Клеточные методы иммунодиагностики / А.К. Новиков, В.И. Новикова. — Минск, 1979.
4. Руководство по инфекционным болезням у детей. / Под ред. В.Ф. Учайкина. — М., 1999.
5. Семенов Б.Ф. Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета / Б.Ф. Семенов, Д.Р. Каулен, И.Г. Баландин. — М., 1982.
6. Усовершенствованный метод выделения моноцитов крови / В.М. Земсков, С.В. Родионов, В.М. Пантин и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 1985. — № 3. — С. 24-28.
7. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов / И.С. Фрейдлин. — М., 1984.
8. Buchmeier N.A. Suppression of monocyte function by human cytomegalovirus / N.A. Buchmeier, N.R. Cooper // Immunology. — 1989. — Vol. 66. — № 2. — P. 278-283.
9. Carney W.P. Mechanisms of immunosuppression on cytomegalovirus mononucleosis. II. Virus monocyte interaction / W.P. Carney, M.S. Hirsch // J. Infect. Dis. — 1981. — Vol. 144. — № 1. — P. 47-54.
10. Cozad J. Infectious mononucleosis / J. Cozad // Nurse Pract. — 1996. — Vol. 21. — № 3. — P. 14-16, 23, 27-28.
11. Increased expression of CD23 on peripheral blood B cells and macrophages/monocytes during acute infectious mononucleosis / S. Furukawa, T. Motohashi, T. Matsubara et al. // J. Infect. Dis. — 1992. — Vol. 166. — № 3. — P. 691-692.
12. Infectious mononucleosis: 2nd ed. / Ed. by D. Schlossberg. — New York, 1989.
13. Khavkina J.H. Method of colouring of lysosomes / J.H. Khavkina, I.S. Freidlin // Acta microbiol. Acad. Sci. Hun. — 1977. — № 24. — P. 281-291.
14. Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection / Brautigam A.R., Dutko F.J., Olding L. et al. // J. Gen. Virol. — 1979. — Vol. 44. — P. 349-359.