

Особенности цитокинового статуса у детей с латентной и персистирующей формами цитомегаловирусной инфекции

Л.Б. Кистенева, В.С. Сускова, В.И. Емец, С.Г. Чешик

The cytokine status in children with latent and persistent cytomegalovirus infection

L.B. Kisteneva, V.S. Suskova, V.I. Emets, S.G. Cheshik

НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН; Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова, Москва

Проведено исследование количественных показателей цитокинов (интерлейкина-4, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α , γ -интерферона) у 41 ребенка с цитомегаловирусной инфекцией (25 детей с латентной формой инфекции и 16 — с персистирующей формой в стадии активной репликации вируса). Проанализированы особенности динамики показателей у детей в возрасте от 3 мес до 3 лет.

Ключевые слова: дети, цитомегаловирусная инфекция, цитокины.

The values of cytokines (interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor- α , and γ -interferon) were studied in 41 children with cytomegalovirus infection (25 children with the latent form of the infection and 16 with its persistent form in a phase of active viral replication). The time course of changes in the indices was analyzed in children aged 3 months to 3 years.

Key words: children, cytomegalovirus infection, cytokines.

В настоящее время для определения особенностей иммунного ответа при персистирующих вирусных инфекциях часто используют показатели содержания цитокинов в биологических жидкостях [1–3]. Целесообразность такого подхода обусловлена, во-первых, универсальностью цитокинов как гуморальных факторов регуляции иммунного ответа, во-вторых, значительными различиями их продукции в зависимости от этиологических и патогенетических механизмов [2–6].

В последнее время в практической медицине для изучения особенностей патологического процесса используют определение нескольких десятков гуморальных факторов [1, 2, 7]. Выбор исследованных нами факторов (интерлейкина-4, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α , γ -интерферона) был обусловлен степенью изученности механизма действия цитокина [8–10], что необходимо для качественной интерпретации полученных результатов, а также его несомненным участием в развитии

противовирусного иммунного ответа.

Целью исследования явился анализ динамики цитокинового статуса детей раннего возраста с разными формами цитомегаловирусной инфекции.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен сравнительный анализ данных, полученных при обследовании 41 ребенка с цитомегаловирусной инфекцией (25 детей с латентной формой, 16 — с персистирующей формой в стадии активной репликации вируса) в динамике от 3 мес до 3 лет. Форма инфекции верифицирована по выявлению антигена цитомегаловируса и специфических антицитомегаловирусных антител в периферической крови. Все дети рождены от женщин с цитомегаловирусной инфекцией.

В качестве маркерных интерлейкинов были выбраны интерлейкин-4 и интерлейкин-6, оказывающие антагонистическое действие в процессе индукции и синтеза специфических антител. Фактор некроза опухоли- α также является провоспалительным цитокином, который оказывает влияние на продукцию антител. В качестве представителя интерферонов был выбран γ -интерферон, антагонистичный по действию интерлейкину-4.

Концентрацию цитокинов и специфических антицитомегаловирусных антител в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Об активности репликации судили по выявлению

© Коллектив авторов, 2009

Ros Vestn Perinatol Pediat 2009; 4:64–68

Адрес для корреспонденции: Кистенева Лидия Борисовна — к.м.н., вед. науч.сотр. НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН

Чешик Святослав Георгиевич — д.м.н., проф.

123098 Москва, ул. Гамалеи, д. 16

Сускова Виктория Сергеевна — д.м.н., проф., рук. сектора иммунокоррекции Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова

Емец Вера Ивановна — к.м.н., науч.сотр.

123182 Москва, ул. Щукинская, д. 1

антигена цитомегаловируса методом иммунофлюоресценции в культуре клеток, зараженных кровью пациентов. Исследования проводились в лаборатории иммунологии НИИ трансплантологии и искусственных органов.

Обследование детей осуществляли в возрасте 3, 6, 12 и 18–36 мес.

Полученные результаты обработаны статистически и представлены в форме медианы, 25-го и 75-го центилей (*Me* [25; 75]).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о динамике концентрации исследованных цитокинов представлены в табл. 1, 2. Показано, что у детей в возрасте 3 мес концентрация интерлейкина-4, интерлейкина-6 и γ -интерферона в сыворотке крови в обеих группах была существенно выше нормы. Среднее значение концентрации фактора некроза опухоли- α превышает нормальный показатель, однако достоверных различий не получено. Содержание исследованных факторов в сыворотке крови детей с разными формами заболевания различается недостоверно (см. табл. 1).

Те же закономерности сохранялись, когда детей обследовали в возрасте 6 мес: концентрация ин-

терлейкина-4 и интерлейкина-6 в сыворотке крови в обеих группах детей была выше соответствующей нормы, а концентрация фактора некроза опухоли- α у детей с латентной формой инфекции имела четкую тенденцию к увеличению. Концентрация γ -интерферона у детей с персистирующей формой заболевания превышала контрольное значение в 7,1 раза, а в группе с латентным течением — в 1,66 раза. Величина этого показателя у детей с активной репликацией вируса была достоверно выше, чем у детей с латентной формой инфекции (см. табл. 2).

В возрасте 12 мес у детей с персистирующей формой цитомегаловирусной инфекции концентрация интерлейкина-4 была выше нормы. Содержание γ -интерферона в сыворотке крови было значительно выше нормы в обеих группах детей независимо от формы инфекционного процесса. Концентрация γ -интерферона у детей с активной репликацией цитомегаловируса в среднем была в 1,75 раза ниже, чем у детей с латентной формой инфекции (см. табл. 2). В этом возрасте отмечалась инверсия большинства показателей: средний уровень всех исследованных факторов, за исключением фактора некроза опухоли- α , у детей с персистирующей формой цитомегаловирусной инфекции был ниже, чем при латентной (рис. 1).

Таблица 1. Концентрация гуморальных факторов (в пг/мл) в сыворотке крови детей в возрасте 3 и 6 мес с латентной формой цитомегаловирусной инфекции и персистирующей формой в стадии активной репликации вируса (*Me* [25; 75])

Цитокины	Норма	Возраст 3 мес		Возраст 6 мес	
		дети с латентной формой (<i>n</i> =25)	дети с персистирующей формой (<i>n</i> =16)	дети с латентной формой (<i>n</i> =24)	дети с персистирующей формой (<i>n</i> =12)
Интерлейкин-4	23,5 [9,3; 24,9]	32,1** [28,3; 42,3]	39,0** [30,8; 47,6]	33,2** [31,3; 43,4]	40,0** [32,0; 47,6]
Интерлейкин-6	29,0 [28,5; 30,5]	68,0* [28,6; 95,5]	42,6** [35,6; 46,9]	140,0* [24,0; 224,4]	48,0** [38,1; 56,2]
Фактор некроза опухоли- α	33,0 [29,0; 37,0]	78,8 [11,5; 129,6]	30,7 [11,0; 59,0]	67,7 [21,6; 176,5]	22,0 [11,0; 46,0]
γ -Интерферон	24,0 [20,5; 28,5]	50,3** [28,3; 81,4]	45,9** [35,0; 47,9]	39,8*** [38,4; 44,9]	170,0*** [51,0; 192,0]

Примечание. * Здесь и в табл. 2: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — достоверное различие показателей по сравнению с нормой; # — $p < 0,01$ — достоверное различие показателей у детей с разными формами цитомегаловирусной инфекции.

Таблица 2. Концентрация гуморальных факторов (в пг/мл) в сыворотке крови детей в возрасте 12 и 18–36 мес с латентной формой цитомегаловирусной формы инфекции и персистирующей формой в стадии активной репликации вируса (*Me* [25; 75])

Цитокины	Возраст 12 мес		Возраст 18–36 мес	
	дети с латентной формой (<i>n</i> =25)	дети с персистирующей формой (<i>n</i> =14)	дети с латентной формой (<i>n</i> =22)	дети с персистирующей формой (<i>n</i> =16)
Интерлейкин-4	29,2** [26,7; 31,1]	26,6 [20,4; 31,8]	33,6*** [26,2; 44,1]	22,4** [20,5; 24,4]
Интерлейкин-6	29,3 [19,2; 35,3]	19,0 [12,0; 35,0]	127,3* [24,5; 137,5]	39,5* [32,3; 46,9]
Фактор некроза опухоли- α	22,5 [18,8; 32,3]	24,0 [14,0; 39,0]	117,8# [22,4; 141,6]	17,8** # [15,2; 20,2]
γ -Интерферон	90,1** [35,3; 141,9]	51,5** [48,0; 53,5]	174,5** # [45,5; 206,6]	46,7** # [35,0; 56,8]

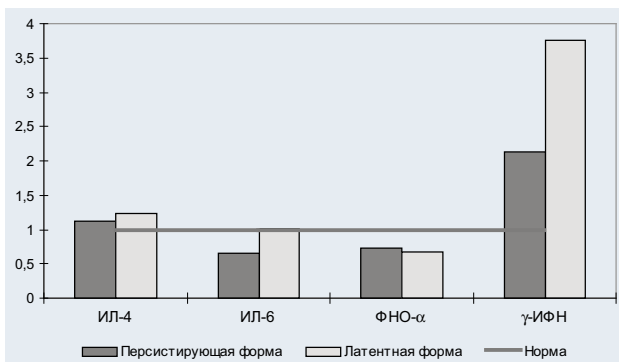


Рис. 1. Инверсия концентрации гуморальных факторов в сыворотке крови детей в возрасте 12 мес с латентной и персистирующей формами цитомегаловирусной инфекции.

ИЛ — интерлейкин; ФНО-α — фактор некроза опухоли-α; γ-ИФН — γ-интерферон.

Здесь и на рис. 2: нормальные показатели данных цитокинов приняты за 1.

Динамические изменения проявлялись в еще большей степени в возрасте 1,5–3 лет. У детей с активной репликацией вируса концентрация интерлейкина-4 и фактора некроза опухоли-α в сыворотке крови была ниже соответствующей нормы, концентрация интерлейкина-6 незначительно выше, содержание γ-интерферона существенно выше. При латентном течении инфекции концентрация всех исследованных факторов была выше со-

ответствующей нормы, а содержание интерлейкина-4, фактора некроза опухоли-α и γ-интерферона достоверно превышало показатели, полученные при обследовании детей с персистирующей формой заболевания (см. табл. 2).

При исследовании динамики концентрации каждого из факторов получен ряд закономерностей (рис. 2). Концентрация интерлейкина-4, противовоспалительного цитокина, у детей до 1 года с активной репликацией вируса значительно превышала этот показатель у детей с латентным течением цитомегаловирусной инфекции, а в возрасте 1 года существенно снизилась. У детей с латентной формой болезни содержание интерлейкина-4 в сыворотке крови за время наблюдения мало изменилось.

Концентрация интерлейкина-6 у детей с латентной формой заболевания в течение всего периода наблюдения была выше, чем у детей с активной репликацией вируса. Характер динамических кривых в обеих группах был аналогичен, но у детей с латентным течением инфекции динамические изменения показателя были выражены в большей степени, чем в группе с реактивацией инфекции.

Содержание фактора некроза опухоли-α в крови у детей с активной репликацией вируса в период наблюдения, за исключением возраста 12 мес, была ниже данного показателя у детей с латентной формой цитомегаловирусной инфекции.

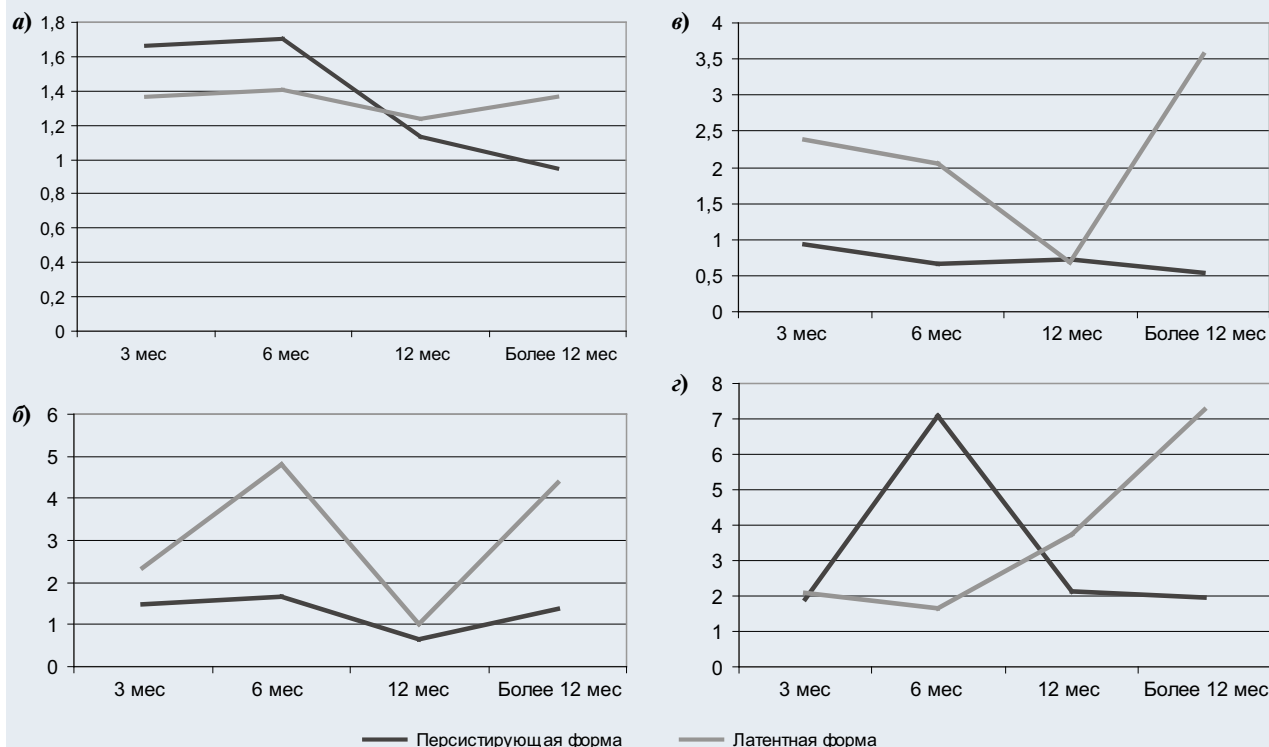


Рис. 2. Динамика концентрации интерлейкина-4 (а), интерлейкина-6 (б), фактора некроза опухоли-α (в), интерферона-γ (г) в сыворотке крови детей с латентной и персистирующей формами цитомегаловирусной инфекции.

У детей с персистирующей формой цитомегаловирусной инфекции с активной репликацией вируса концентрация интерферона- γ увеличивалась только в течение первого полугодия жизни и до возраста 12 мес превышала соответствующие показатели, полученные при обследовании детей с латентным течением заболевания. У последних, напротив, после 6-месячного возраста отмечалось непрерывное увеличение содержания интерферона в крови.

По данным современной литературы, доля цитомегалии среди внутриутробных инфекций составляет 20–50% [11, 12], а трансплацентарная передача цитомегаловируса происходит у 0,2–14% новорожденных [13–17]. Цитомегаловирус человека характеризуется тканевым тропизмом, способностью к персистентной или латентной форме болезни [18].

Патогенез цитомегаловирусной инфекции тесно связан с состоянием иммунной системы ребенка. Известно, что цитомегаловирус способен оказывать неблагоприятное воздействие на функции иммунных клеток. Существуют данные, что наиболее выраженные изменения при этом касаются субпопуляции Т-хелперов, уровень которых снижается. В то же время уровень супрессоров/киллеров увеличивается, активность естественных киллеров снижается. Одновременно нарушается гуморальная регуляция иммунного звена вследствие повреждения системы интерлейкинов. Во внутриутробном периоде вирус может вызвать клональную элиминацию созревающих Т- и В-лимфоцитов, что нарушает развитие иммунного ответа на данный вирус. Преждевременная внутриутробная стимуляция иммунной системы может привести к поликлональной активности В-лимфоцитов, синтезу аутоантител и иммунных комплексов [19].

Однако сведения о конкретном характере формирующегося при манифестной и особенно субклинической цитомегаловирусной инфекции иммунного дефекта весьма немногочисленны и неоднозначны [20]. Реализация инфекции во многом зависит от исходного состояния иммунной системы, становление которой у детей в течение первого года жизни имеет свои особенности и во многом определяет характер дальнейшего патологического процесса [21, 22]. Повышенную восприимчивость новорожденных и детей младшего возраста к вирусным инфекциям обуславливают незрелость Т-лимфоцитов, низкий уровень естественных киллеров и отсутствие адекватного гуморального регуляторного сигнала на антигенный стимул [21, 23–28].

Одной из основных систем регуляции неспецифической противовирусной защиты является система интерферона. Она служит первым барьером, ограничивающим развитие вирусной инфекции [29–34]. В частности, известно, что низкий уровень синтеза γ -интерферона у новорожденных обуславливает их высокую чувствительность к инфекции [35, 36]. В некоторых работах показано, что в ходе инфекционного процесса происходит снижение противовирусной активности интерферонов [37–39], что соответствует результатам нашего исследования. Однако динамика продукции большинства цитокинов у детей первых лет жизни на фоне цитомегаловирусной инфекции по-прежнему остается малоизученной.

Итак, проведенные нами исследования позволили сформулировать ряд положений, касающихся характера воспалительного процесса у детей с различными формами цитомегалии, родившихся у матерей с цитомегаловирусной инфекцией:

1. Внутриутробное воздействие цитомегаловируса приводит к увеличению концентрации как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, независимо от активности репликации вируса у ребенка в постнатальном периоде, по сравнению с нормальным уровнем, по крайней мере, до 1 года.
2. Активная репликация цитомегаловируса у детей ассоциируется с существенным преобладанием противовоспалительного цитокина интерлейкина-4 над провоспалительными — интерлейкином-6 и фактором некроза опухоли- α . В то же время отсутствие активной репликации цитомегаловируса, напротив, характеризуется существенным преобладанием провоспалительных цитокинов над противовоспалительным, кроме возраста, соответствующего 1 году, когда наблюдается либо инверсия, либо значительное изменение исследованных показателей. Данный возраст, по-видимому, является «критическим периодом», в течение которого в значительной степени ослабевает влияние переданных трансплацентарно материнских гуморальных факторов на иммунную систему ребенка и усиливается воздействие на его организм как эндогенных, так и экзогенных вирусных антигенов.
3. У детей с обеими формами цитомегаловирусной инфекции отмечается значительное увеличение концентрации γ -интерферона, максимальный уровень которого при активной репликации вируса наблюдается в первые полгода жизни, а при латентной форме — после 6-месячного возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miles D.J., Sande M., Kaye S. et al. CD4(+) T cell responses to cytomegalovirus in early life: a prospective birth cohort study // J. Infect. Dis. 2008. Vol. 197, № 5. P. 658—662.
2. Casazza J.P., Betts M.R., Price D.A. et al. Acquisition of direct antiviral effector functions by CMV-specific CD4+ T lymphocytes with cellular maturation // J. Exp. Med. 2006. Vol. 203, № 13. P. 2865—2877.
3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М.: МИА, 2003. С. 604.
4. Жибурт Е.Б., Серебряная Н.Б., Каткова И.В. и др. Физиология: Цитокины в кроветворении, иммуногенезе и воспалении. Терра Медика Нова, 1996. № 3. С. 38.
5. Torigoe S., Campbell D.E., Starr S.E. Cytokine released by human peripheral blood mononuclear cells inhibit the production of early and late cytomegalovirus protein // Microbiol. Immunol. 1997. Vol. 41, № 5. P. 403—413.
6. Paul W.E., Seder R.A. Lymphocyte response and Cytokines // Cell. 1994. Vol. 76. P. 241—251.
7. Tu W., Chen S., Sharp M. et al. Persistent and selective deficiency of CD4+ T cell immunity to cytomegalovirus in immunocompetent young children // J. Immunol. 2004. Vol. 172, № 5. P. 3260—3267.
8. Maecker H.T., Maino V.C. Analyzing T-cell responses to cytomegalovirus by cytokine flow cytometry // Hum. Immunol. 2004. Vol. 65, № 5. P. 493—499.
9. Finkelman F., Di Maliszewski Ch. Enhancing cytokine effects in vivo // Immunologist. 1997. Vol. 5, № 1. P. 10—14.
10. Scott M.E., Kubin M., Kohe S. High level interleukin-12 production, but diminished interferon-gamma production, by cord blood mononuclear cells // Pediatr. Res. 1997. Vol. 41, № 4. P. 547—553.
11. Zawilinska B., Kruszezowska M., Stopyrova J. et al. Congenital and acquired cytomegalovirus infection in infants confirmed by virologic studies. Przegl. Lek. 1995. Vol. 52, № 7. P. 354—357.
12. Кубергер М.Б., Ширяева Т.Л. Цитомегаловирусная инфекция у детей периода новорожденности // МРЖ. 1989. № 9. С. 1882.
13. Bello C., Whittle H. Cytomegalovirus infection in Gambian mothers and their babies // J. Clin. Pathol. 1991. Vol. 44, № 5. P. 366—369.
14. Calvani Jr.M. Congenital asymptomatic cytomegalovirus infection // Minerva Pediatr. 1991. Vol. 43, № 9. P. 595—600.
15. Pekhem C.S. Cytomegalovirus infection: congenital and neonatal disease // Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 1991. Vol. 80. P. 82—87.
16. Peckham C. Cytomegalovirus in the neonate // J. Antimicrob. Chemother. 1989. Vol. 23. Suppl. P. 17—21.
17. Stagno S. Cytomegalovirus infection. Infection the fetus and newborn. New York, 1990. P. 543.
18. Pignatelli S., Monte D., Zini N. et al. Immunoelectron microscopy analysis of HCMV gp UL 73 (gV) localisation // Arch. Virol. 2002. Vol. 147. P. 1247—1256.
19. Орехов К.В., Голубева М.В., Барычева Л.Ю. Врожденная цитомегаловирусная инфекция // Детские инфекции. 2004. № 1. С. 49—55.
20. Reddenose M.R., Mutter W., Munch K. et al. CD8-positive T-lymphocytes specific for murine cytomegalovirus immediate-early antigens mediate protective immunity // J. Virol. 1987. Vol. 61, № 10. P. 3102—3108.
21. Володин Н.Н., Дегтярева М.В., Дегтярев Д.Н. и др. Особенности иммунологической адаптации у новорожденных детей в норме, при респираторном дистресс-синдроме и при пневмонии бактериальной этиологии // Int. J. Immunorehabil. 1999. № 11. С. 82—89.
22. Самодова О.В. Клинико-лабораторная характеристика и исходы внутриутробных инфекций. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2006. С. 46.
23. Стефани Д.В., Вельтищев Ю.Е. Иммунология и иммунопатология детского возраста. Руководство для врачей. М.: Медицина, 1996. С. 384.
24. Таболин В.А., Володин Н.Н., Дегтярева М.В. и др. Иммунокоррекция при бактериальных инфекциях у новорожденных детей: реальность и перспективы // Int. J. Immunorehabil. 1998. № 10. С. 174—181.
25. Таболин В.А., Володин Н.Н., Дегтярева М.В. и др. Актуальные вопросы перинатальной иммунологии // Int. J. Immunorehabil. 1997. № 6. С. 112—122.
26. Чернышев В.П., Слухвин И.И. Анализ субпопуляций Т-лимфоцитов и естественных киллеров методом проточной цитофлуорометрии у новорожденных детей // Педиатрия. 1993. № 5. С. 15—17.
27. Bot A., Antohi S., Bona C. Immune response of neonates elicited by somatic transgene vaccination with naked DNA // Frontiers in Bioscience. 1997. № 2. P. 193—188.
28. Raes M., Alliet P., Gillis P. et al. Lymphocyte subpopulations in healthy newborn infants: comparison of cord blood values with values five days after birth // J. Pediatr. 1993. Vol. 123, № 3. P. 792—798.
29. Finkelman F., Di Maliszewski Ch. Enhancing cytokine effects in vivo // Immunologist. 1997. Vol. 5, № 1. P. 10—14.
30. Hampl M., Friese K., Pracht I. et al. Determination of cytokines and cytokine receptors in premature labor // Geburtshilfe. Frauenheilkd. 1995. Vol. 55, № 9. P. 483—489.
31. Konstek P., Konstekova E. Forty years of interferon // Acta Virol. 1997. Vol. 41, № 6. P. 349—353.
32. Taylor J.L., Little S.D., O'Brien W.J. The comparative anti-herpes simplex virus effects of human interferons // J. Interferon Cytokine Res. 1998. Vol. 18, № 3. P. 159—165.
33. Vaughan P.S., Van Wijnen A.J., Stein J.L. Interferon regulatory factors: growth control and histone gene regulation not just interferon anymore // J. Mol. Med. 1997. Vol. 75, № 5. P. 348—359.
34. Ершов Ф.И., Тазулахова Э.Б. Иммуномодулирующие свойства индукторов интерферона // Вopr. вирусол. 1989. Т. 34, № 4. С. 270—276.
35. Scott M.E., Kubin M., Kohl S. High level interleukin-12 production, but diminished interferon-gamma production, by cord blood mononuclear cells // Pediatr. Res. 1997. Vol. 41, № 4. P. 547—553.
36. Кешишян Е.С., Касохов Т.Б. Система интерферона и ее возрастные особенности. Применение препаратов интерферона в неонатальном периоде // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. 1993. № 2. С. 15—17.
37. Ершов Ф.И. Лекарства против вирусов // Materia medica. 1996. № 2. С. 5—13.
38. Dianzani F., Antonelli G., Capobianchi M.R. The biological basis for clinical use of interferon // J. Hepatol. 1990. Vol. 11. Suppl. 1. S. 5—10.
39. Шабалина Н.В., Длин В.В., Малиновская В.В. Интерфероновая система человека: биологическая роль и взаимосвязь с иммунной системой // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. 1995. № 5. С. 29—35.

Поступила 16.04.09