

Л.М. Куртасова<sup>1</sup>, А.Е. Толстикова<sup>2</sup>, А.А. Савченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярск, Российская Федерация

## Иммунологические показатели, ферментный профиль лимфоцитов и функциональная активность нейтрофилов крови у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр

42

**Цель исследования:** изучить иммунологические показатели, уровни активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов, параметры интерферонового статуса, фагоцитарной активности и хемилюминесцентного ответа нейтрофилов крови у детей в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр. **Пациенты и методы.** Обследованы 65 детей в возрасте 4–6 лет в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр. Изучены показатели клеточного, гуморального и интерферонового звена иммунитета, уровень активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови, параметры фагоцитарной активности, спонтанной и индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов периферической крови. **Результаты.** У детей с ВЭБ-инфекцией на фоне лейкоцитоза и выраженного лимфоцитоза отмечаются изменения иммунофенотипического спектра и энзиматического статуса лимфоцитов периферической крови. Установлено повышение концентрации IgA, M и G в сыворотке крови. Обнаружено снижение спонтанной продукции IFN  $\alpha$  и уменьшение индуцированной выработки IFN  $\alpha$  и  $\gamma$  мононуклеарами крови. Установлены нарушения фагоцитарной активности и хемилюминесцентного ответа нейтрофилов крови. **Выводы.** У детей в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр, наблюдаются изменения в иммунном статусе, изменяется активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови, отмечаются изменения функционально-метаболического состояния нейтрофилов периферической крови.

**Ключевые слова:** ВЭБ-инфекция, иммунитет, ферменты, интерферон, хемилюминесценция.

### Введение

В настоящее время установлено, что вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) обладает способностью вызывать различные формы заболеваний на фоне иммунной дисфунк-

ции. Инфекционный мононуклеоз — одна из наиболее часто встречающихся форм. Известно, что ВЭБ может оказывать непосредственное цитопатическое действие на клетки иммунной системы и способен инфицировать не только В лимфоциты, как считалось до недавнего

L.M. Kurtasova<sup>1</sup>, A.E. Tolstikova<sup>2</sup>, A.A. Savchenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> Medical Research Institute for Northern Problems of Siberian Division of RAMS, Krasnoyarsk, Russian Federation

## Immunologic Indexes, Enzyme Status of Lymphocytes and Functional Activity of Blood Neutrophils in Children with Infectious Mononucleosis Caused by Epstein–Barr Virus

**Aim.** Explore the immunological parameters, levels of activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases lymphocytes, interferon status parameters, phagocytic activity and chemiluminescence response of neutrophils in the blood of children in the acute phase of infectious mononucleosis caused by the Epstein–Barr virus. **Patients and methods.** 65 children at the age of 4–6 years old with infectious mononucleosis caused by EBV in acute phase were observed. Such indexes as cell-mediated, humoral and interferon immunity, NAD(P)-dependent dehydrogenases activity in blood lymphocyte, phagocytes activity, levels of spontaneous and induced chemiluminescence of peripheral blood neutrophils were studied. **Results.** Children with EVB-infection have immunophenotype spectrum changes and changes of enzymes status of blood lymphocytes against the increasing in leucocytes and the useful increasing in lymphocytes. The useful increasing in IgA, IgM, IgG contenting in serum blood were found. The decreasing of spontaneous production of IFN  $\alpha$  and the decreasing of induced production of IFN  $\alpha$ , IFN  $\gamma$  were determined. The breach of phagocytes activity and chemiluminescent response of blood neutrophils were found. **Conclusions.** The children in the acute phase of infectious mononucleosis caused by the Epstein–Barr virus, there are changes in the immune status, changes the activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases in blood lymphocytes, marked changes in functional and metabolic state of peripheral blood neutrophils.

**Key words:** immunity, EVB-infection, enzymes, interferon, chemiluminescence.

времени, но также Т клетки, макрофаги и нейтрофилы [1, 2]. При взаимодействии ВЭБ с клетками иммунной системы возможны изменения их структурно-функциональных характеристик, результирующие в неполноценной инициации и реализации иммунного ответа. Полученные в последние годы данные свидетельствуют о том, что функциональный ответ клеток иммунной системы происходит только при соответствующем изменении их метаболизма [3, 4].

**Цель исследования:** изучить иммунологические показатели, уровни активности никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов, параметры интерфероновой статуса, фагоцитарной активности и хемилюминесцентного ответа нейтрофилов крови у детей в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна—Барр.

### Пациенты и методы

#### Участники исследования

Осуществлено наблюдение за 65 детьми в возрасте от 4 до 6 лет со среднетяжелой формой инфекционного мононуклеоза, вызванной ВЭБ, в острую фазу заболевания (2–5-е сут болезни). Степень тяжести заболевания оценивали с учетом выраженности симптомов общей интоксикации, лимфопролиферативного синдрома, характера поражения рото- и носоглотки, величины паренхиматозных органов, изменений гемограммы. Контрольную группу составили 58 практически здоровых детей аналогичного возраста.

Диагноз «Инфекционный мононуклеоз, вызванный ВЭБ», верифицировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением набора реагентов для выявления дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) ВЭБ в лимфоцитах крови фирмы «ДНК-технология» (Россия) и методом иммуноферментного анализа (ИФА) ELISA с использованием тест-систем фирмы «Human» (Германия): определяли специфические IgM к вирускапсидному антигену (VCA), IgG к раннему антигену (EA-D), IgG к ядерному антигену (NA-1) в сыворотке крови. Все больные имели положительный тест на ДНК ВЭБ в лимфоцитах крови и серологические маркеры острой ВЭБ-инфекции (VCA IgM, EA-D IgG).

Исследования проведены на базе Городской детской инфекционной больницы № 1 и Краевого центра по профилактике и борьбе со СПИДом г. Красноярска. Исследования одобрены Локальным этическим комитетом КрасГМУ (протокол № 19/2009 от 25.11.2009 г.).

#### Методы исследования

Лимфоциты выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина [5]. Затем осуществляли биоломинесцентное определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), НАД- и НАДН-зависимой лактатдегидрогеназы (НАДЛДГ и НАДНЛДГ, соответственно), НАД- и НАДН-зависимой малакдегидрогеназы (НАДМДГ и НАДНМДГ, соответственно), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДНГДГ, соответственно), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФНГДГ, соответственно), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ, соответственно), малакдегидрогеназы декарбоксилирующей (НАДФМДГ) и глутатионредуктазы (ГР) [6]. Активность исследуемых оксидоредуктаз выражали в ферментативных единицах (1Е = 1 мкмоль/мин) на  $10^4$  клеток. Исследование

проводили на ферментативном препарате NAD(P):FMN оксидоредуктаза-люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (полученном в Институте биофизики СО РАН, Красноярск). Измерение уровня биоломинесценции осуществляли на биоломинометре «БЛМ 8801» (Россия).

Методом проточной цитофлуориметрии, используя «FACS-Calibur» (Becton Dickinson, США) и реагенты «Simul Test IMK-lymphocyte Kit» (США), определяли содержание CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>- и CD19<sup>+</sup>- клеток в периферической крови.

Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови оценивали методом радиальной иммунодиффузии в геле [7].

Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови исследовали в реакции с полиэтиленгликолем [8].

В супернатантах мононуклеаров крови, полученных с помощью набора реагентов «Цитокин-Стимул-Бест» (Россия) оценивали уровень спонтанной и стимулированной продукции интерферона (IFN)  $\alpha$  и  $\gamma$  методом твердофазного ИФА с применением соответствующих наборов реагентов производства «Вектор-Бест» (Россия).

Фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови изучали в реакции с частицами латекса. Рассчитывали процентное содержание фагоцитирующих нейтрофилов (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ), т.е. среднее число поглощенных одним нейтрофилом частиц.

Оценку спонтанной и индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови проводили по методу De Sole и соавт. [9] на хемилюминесцентном анализаторе «CL 3604» (Россия) в течение 90 мин. Определяли следующие показатели: время выхода на максимум ( $T_{max}$ ), максимальное значение ( $I_{max}$ ) и площадь (S) хемилюминесцентной кривой. В качестве индуктора «дыхательного взрыва» использовали опсонизированный зимозан в концентрации 2 мг/мл («Sigma», США). Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном относительно спонтанной, оценивали соотношением  $S_{зим.}/S_{спон.}$  и определяли как индекс активации (ИА).

#### Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов исследования осуществляли при помощи пакета прикладных программ «Statistica v. 8.0» («StatSoft, Ins.», США).

Количественные параметры в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (LQ–UQ), где LQ — 25-й, IQ — 75-й процентиль. Оценку достоверности различий средних проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Проверку гипотезы о нормальности распределения выполняли с использованием критерия Колмогорова–Смирнова на уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

### Результаты

Результаты исследования продемонстрировали у наблюдаемой категории пациентов на фоне высокого содержания лейкоцитов периферической крови увеличение процентного и абсолютного числа лимфоцитов относительно показателей контрольной группы (табл. 1).

Изучение иммунофенотипического спектра лимфоцитов крови показало статистически значимое увеличение относительного и абсолютного числа зрелых Т лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), снижение процентного содержания CD4<sup>+</sup>-клеток, а также увеличение в 2 раза ( $p < 0,001$ ) относительного и в 3,3 раза ( $p < 0,001$ ) абсолютного числа

Таблица 1. Иммунологические показатели у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр (Me, LQ–UQ)

Показатели	Контрольная группа (n=58)		Больные дети (n=65)		p
	Me	LQ–UQ	Me	LQ–UQ	
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	6,30	5,50–7,10	9,90	6,90–14,50	<0,001
Лимфоциты, %	44,0	34,0–55,0	54,0	39,0–64,0	<0,05
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	2,73	1,94–3,50	4,71	3,07–7,47	<0,001
CD3 <sup>+</sup> , %	59,0	57,0–62,0	71,5	62,0–82,0	<0,001
CD3 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	1,62	1,25–2,14	2,72	2,14–5,11	<0,001
CD4 <sup>+</sup> , %	38,0	31,0–40,0	28,5	22,0–33,0	<0,01
CD4 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,90	0,67–1,26	1,21	0,93–1,81	–
CD8 <sup>+</sup> , %	20,0	16,0–24,0	40,0	25,0–55,0	<0,001
CD8 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,47	0,37–0,67	1,56	0,85–3,38	<0,001
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,77	1,19–2,25	0,75	0,47–1,25	<0,001
CD19 <sup>+</sup> , %	19,0	15,0–20,0	6,5	4,0–13,0	<0,001
CD19 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,53	0,39–0,66	0,44	0,20–0,51	<0,05
CD16 <sup>+</sup> /56 <sup>+</sup> , %	15,0	13,0–19,0	11,0	10,5–14,5	<0,05
CD16 <sup>+</sup> /56 <sup>+</sup> , 10 <sup>9</sup> /л	0,38	0,24–0,61	0,68	0,31–1,09	<0,05
IgA, г/л	1,13	0,81–1,39	1,59	1,25–2,00	<0,01
IgM, г/л	0,89	0,76–1,52	1,64	1,19–2,40	<0,05
IgG, г/л	8,43	7,38–11,48	12,03	9,70–15,95	<0,01
ЦИК, о.е.	39,50	33,00–44,00	36,00	22,00–54,00	–
ФИ, %	48,0	42,0–54,0	49,0	42,0–54,0	–
ФЧ, о.е.	7,10	6,30–7,70	5,05	4,50–5,40	<0,001

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: p — достоверность различий по сравнению с показателями контрольной группы. ЦИК — циркулирующие иммунные комплексы, ФИ — фагоцитирующие нейтрофилы, ФЧ — фагоцитарное число.

44

CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов по сравнению с контрольными величинами (см. табл. 1). Нарушение процентного соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> в периферической крови приводило к снижению индекса дифференцировки. Одновременно с отмеченными изменениями установлено достоверное снижение процентного содержания и увеличение абсолютного числа CD16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>-клеток периферической крови относительно параметров контрольной группы. Следует отметить, что у детей с ВЭБ-инфекцией снижено относительное и абсолютное число клеток, экспрессирующих антиген CD19<sup>+</sup> по сравнению с показателями контроля (см. табл. 1).

Реакция гуморального звена иммунитета характеризовалась повышением концентраций IgA, M и G в сыворотке крови относительно параметров контрольной группы. Содержание ЦИК в крови статистически значимо от контрольных величин не отличалось (см. табл. 1).

Анализ данных позволил установить, что у детей с ВЭБ-инфекцией имеют место изменения показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови. Так, обнаружено повышение активности Г6ФДГ, которая является иницирующим ферментом пентозофосфатного цикла и непосредственно участвует в перераспределении части глюкозы с энергетических нужд клетки на пластические процессы [10]. При этом Г6ФДГ продуцирует НАДФН, являющийся коферментом в реакции ГР. Повышение активности ГР в 2,3 раза (p < 0,01) наблюдается в лимфоцитах крови у детей с ВЭБ-инфекцией. В то же время известно, что ГР — фермент, который входит в систему глутатион-зависимой антиоксидантной защиты клеток и в определенной степени модулирует пролиферативную активность лимфоцитов [11].

Лимфоциты являются клетками, в которых энергетические реакции складываются из интенсивности как анаэробных, так и аэробных процессов. При этом цикл трикарбоновых кислот не только определяет интенсивность дыхательной цепи митохондрий (за счет наработки необходимых интермедиатов), но и является связующим звеном между белковым, углеводным и липидным обменом.

Обнаружено, что уровень активности НАДИЦДГ — фермента, в значительной степени определяющего интенсивность субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, — в лимфоцитах периферической крови у детей с ВЭБ-инфекцией повышен по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 2). Кроме того, в лимфоцитах крови у детей с ВЭБ-инфекцией относительно группы контроля выявлено значительное снижение активности НАДФМДГ, являющейся ключевым ферментом липидного анаболизма и шунтирующей «медленные» реакции цикла Кребса [12, 13]. У детей с ВЭБ-инфекцией в 12,8 раза (p < 0,05) повышена активность НАДГДГ в лимфоцитах периферической крови, что отражает высокий уровень НАД-зависимого окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты (см. табл. 2).

Следует отметить, что в лимфоцитах крови у детей с ВЭБ-инфекцией увеличена активность ГЗФДГ — фермента, участвующего в передаче продуктов липидного катаболизма на гликолиз. В то же время повышенный уровень активности ГЗФДГ в лимфоцитах крови предполагает и более активную работу глицерофосфатного водородного шунта.

Известно, что одной из метаболических систем, поддерживающих водородный градиент, является малатаспаратный шунт, ключевую реакцию которого осуществляет НАДНМДГ [14, 15]. В лимфоцитах периферической крови у детей с ВЭБ-инфекцией зафиксировано повышение активности НАДНМДГ в 3,3 раза (p < 0,001) по сравнению с показателями контрольной группы (см. табл. 2).

Высокий уровень интенсивности субстратного потока по циклу Кребса в лимфоцитах крови у детей с ВЭБ-инфекцией, очевидно, определяет увеличение оттока интермедиатов через НАДНГДГ на реакции аминокислотного обмена (см. табл. 2).

В ходе исследования установлено, что у больных ВЭБ-инфекцией значительно снижена спонтанная продукция IFN α мононуклеарами крови по сравнению с показателями контрольной группы. В то же время показатели

спонтанной выработки IFN  $\gamma$  у детей с ВЭБ-инфекцией не имеют статистически значимых различий с параметрами контроля (табл. 3).

При изучении стимулированной продукции IFN  $\alpha$  и  $\gamma$  мононуклеарами крови обнаружено, что концентрация данных цитокинов после индукции циклофероном в группе контроля достоверно превышала величины у больных ВЭБ-инфекцией (см. табл. 3). Следовательно, у детей в остром периоде инфекционного мононуклеоза, вызванного ВЭБ, наблюдается снижение компенсаторных возможностей интерферон-продуцирующей системы.

Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови продемонстрировало снижение поглотительной способности на фоне нормального числа фагоцитирующих клеток у детей с ВЭБ-инфекцией (см. табл. 1).

Результаты изучения показателей фоновой хемилюминесценции нейтрофилов периферической крови у детей с ВЭБ-инфекцией показали статистически значимое уменьшение времени выхода на пик и снижение максимального значения хемилюминесцентной кривой по сравнению с аналогичными параметрами контрольной группы (табл. 4).

При индукции хемилюминесцентной реакции опсонизированным зимозаном у наблюдаемых пациентов отмечена выраженная тенденция к повышению максимума «дыхательной» вспышки и достоверное увеличение площади хемилюминесцентной кривой относительно показателей контроля (см. табл. 4).

Кроме того, у больных с инфекционным мононуклеозом, вызванным ВЭБ, обнаружено повышение ИА в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольными величинами, что свидетельствует о достаточно высоких компенсаторных возможностях к генерации активных форм кислорода нейтрофилов периферической крови.

Таким образом, результаты исследований показали, что у детей в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного ВЭБ, на фоне выраженного лимфоцитоза отмечаются изменения иммунофенотипического спектра лимфоцитов и увеличение концентрации IgA, M и G в сыворотке крови.

Ферментный профиль лимфоцитов периферической крови характеризуется повышением субстратного потока по лимонному циклу, вносящего наибольший вклад в процессы энергообразования, повышением интенсивности рибозо-5-фосфат и НАДФН-зависимых пластических процессов, а также роли малатаспартатного шунта в энергетике клетки и высокой активностью ГР.

Кроме того, установлено снижение спонтанной продукции IFN  $\alpha$  мононуклеарами крови и уменьшение индуцированной продукции IFN  $\alpha$  и  $\gamma$ . Необходимо отметить также снижение поглотительной способности нейтрофилов периферической крови и изменение кинетики и интенсивности хемилюминесцентного ответа на фоне сохраненных компенсаторных метаболических возможностей данных клеточных популяций.

**Таблица 2.** Показатели активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) лимфоцитов крови у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр (Me, LQ–UQ)

Показатели	Контрольная группа (n=58)		Больные дети (n=37)		p
	Me	LQ–UQ	Me	LQ–UQ	
Г6ФДГ	1,79	0,83–3,75	4,01	1,40–13,26	<0,05
ГЗФДГ	0,11	0,01–0,24	0,23	0,01–1,05	<0,05
НАДЛДГ	21,25	9,15–32,48	21,83	3,54–45,76	–
НАДФМДГ	9,30	3,48–15,84	0,04	0,01–0,09	<0,001
НАДФГДГ	0,29	0,01–2,09	0,12	0,01–0,93	–
НАДФИЦДГ	12,60	6,65–38,29	35,38	4,84–45,73	–
НАДМДГ	24,69	13,42–27,96	21,93	0,01–62,44	–
НАДГДГ	1,07	0,01–1,67	13,69	0,63–36,21	<0,05
НАДИЦДГ	2,45	0,81–4,48	7,91	0,41–18,36	<0,05
НАДНЛДГ	11,50	4,09–37,62	9,38	0,01–94,71	–
НАДНМДГ	43,56	16,37–67,62	141,89	98,05–252,29	<0,001
ГР	7,01	5,00–14,69	16,46	4,17–32,01	<0,01
НАДНГДГ	19,60	7,04–99,72	53,32	4,87–124,97	<0,05
НАДФНГДГ	42,57	12,90–54,49	39,51	23,40–53,27	–

*Примечание.* Г6ФДГ — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, ГЗФДГ — глицерол-3-фосфатдегидрогеназа, НАДЛДГ — НАД-зависимая лактатдегидрогеназа, НАДФМДГ — малатдегидрогеназа декарбоксилирующая, НАДФГДГ — НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа, НАДФИЦДГ — НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа, НАДМДГ — НАД-зависимая малатдегидрогеназа, НАДГДГ — НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа, НАДИЦДГ — НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа, НАДНЛДГ — НАДН-зависимая лактатдегидрогеназа, НАДНМДГ — НАДН-зависимая малатдегидрогеназа, ГР — глутатионредуктаза, НАДНГДГ — НАДН-зависимая глутаматдегидрогеназа, НАДФНГДГ — НАДФН-зависимая глутаматдегидрогеназа.

**Таблица 3.** Показатели IFN  $\alpha$  и  $\gamma$  (нг/мл) в мононуклеарах крови у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр (Me, LQ–UQ)

Показатели	Контрольная группа (n=24)		Больные дети (n=30)		p
	Me	LQ–UQ	Me	LQ–UQ	
<b>Спонтанная продукция</b>					
IFN $\alpha$	54,35	42,22–66,22	29,15	21,82–39,95	<0,001
IFN $\gamma$	133,05	116,65–150,27	128,95	114,77–167,77	–
<b>Индукцированная продукция</b>					
IFN $\alpha$	94,50	76,30–121,40	39,75	21,55–45,05	<0,001
IFN $\gamma$	178,65	142,75–193,85	140,55	118,65–178,07	<0,05

**Таблица 4.** Показатели хемилюминесценции нейтрофилов крови у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр (Ме, LQ–UQ)

Показатели	Контрольная группа (n =36)		Больные дети (n =47)		p
	Ме	LQ–UQ	Ме	LQ–UQ	
<b>Спонтанная хемилюминесценция</b>					
Tmax, с	973,5	343,5–1777,0	469,0	194,0–1025,0	<0,01
I <sub>max</sub> , о.е.*10 <sup>3</sup>	6,44	2,87–9,67	3,56	2,16–7,95	<0,05
S, о.е.*10 <sup>5</sup>	1,40	0,78–3,05	1,57	0,65–3,05	–
<b>Индукционная хемилюминесценция</b>					
Tmax, с	1403,0	1030,5–1815,0	1539,0	1189,0–2235,0	–
I <sub>max</sub> , о.е.*10 <sup>3</sup>	18,07	11,76–24,21	22,36	5,92–41,80	0,1<p<0,05
S, о.е.*10 <sup>5</sup>	3,34	2,53–5,58	7,08	1,90–16,60	<0,01
S <sub>1</sub> /S <sub>2</sub>	2,22	1,18–5,29	4,18	2,07–6,90	<0,05

**Заключение**

Анализ результатов проведенного исследования установил у детей в острый период инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр, изменения показателей Т-клеточного и гуморального звена иммунитета. Кроме того, наблюдается изменение энзиматической активности лимфоцитов крови, являющихся основным структурно-функциональным элементом иммунной системы.

Необходимо отметить значительное уменьшение спонтанной продукции IFN α мононуклеарами крови, а также снижение резервных возможностей мононуклеаров крови к выработке IFN α и γ. В острый период ВЭБ-инфекции у детей обнаружены изменения фагоцитарной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов периферической крови. Полученные нами данные следует учитывать при разработке схем и режимов иммуномодулирующей терапии у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным ВЭБ.

**REFERENCES**

1. Blokhina E.B. Role of latent infection induced by Epstein-Barr virus in development of lymphoproliferative diseases. *Voprosy gematologii/ onkologii i immunopatologii v pediatrii - Pediatrics Hematology /Oncology and immunopathology*. 2003; 2 (3): 65–70.
2. Zheleznikova G.F. Infection and Immunity: strategies from both sides. *Meditsinskaya immunologiya - Medical immunology*. 2006; 8 (5–6): 597–614.
3. Bortell R., Moss J., McKenna R.C., Rigby M.R., Niedzwiecki D., Stevens L.A., Patton W.A., Mordes J.P., Greiner D.L., Rossini A.A. Nicotinamide adenine dinucleotide (nad) and its metabolites inhibit T lymphocyte proliferation: role of cell surface nad glycohydrolase and pyrophosphatase activities. *J. Immunol*. 2001; 167 (4): 2049–2059.
4. Kumaraguru U., Rouse R.J., Nair S.K., Bruce B.D., Rouse B.T. Involvement of an ATP-dependent peptide chaperone in cross-presentation after DNA immunization. *J. Immunol*. 2000; 165 (2): 750–759.
5. Boyum A. Isolation of lymphocytes from blood and bone marrow. *Scand. Clin. Lab. Invest.* 1968; 21 (Suppl. 97): 77–80.
6. Savchenko A.A., Suntsova L.I. Highly sensitive determination of the dehydrogenase activity in peripheral blood lymphocytes using a bioluminescent method. *Laboratornoe delo - Laboratory work*. 1989; 11: 23–25.
7. Mancini G., Carbanaro A.O., Haremans J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion. *Immunochemistry*. 1965; 2 (3): 235–255.
8. Haskova V., Kaslik J., Rina J., Rovensky J. Simple method of circulating immune complex detection in human sera by polyethylene glycol precipitation. *J. Immunol*. 1978; 154: 399–406.
9. De Sole P., Lippa S., Lixxarru G. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to access oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.* 1983; 3: 391–400.
10. Norris M.G., Malys N. What is the true enzyme kinetics in the biological system? An investigation of macromolecular crowding effect upon enzyme kinetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 405 (3): 388–392.
11. Kalinina E.V., Chernov N.N., Aleid R., Novichkova M.D., Saprin A.N., Berezov T.T. Current views on the antioxidant role of glutathione and glutathione-dependent enzymes. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk - Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2010; 3: 46–54.
12. Heart E., Cline G.W., Collis L.P., Pongratz R.L., Gray J.P., Smith P.J. Role for malic enzyme, pyruvate carboxylation, and mitochondrial malate import in glucose-stimulated insulin secretion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 296 (6): 1354–1362.
13. Wang B., Wang P., Zheng E., Chen X., Zhao H., Song P., Su R., Li X., Zhu G. Biochemical properties and physiological roles of NADH-dependent malic enzyme in Escherichia coli. *J. Microbiol.* 2011; 49 (5): 797–803.
14. Abbrescia D.I., La Piana G., Lofrumento N.E. Malate-aspartate shuttle and exogenous NADH/cytochrome c electron transport pathway as two independent cytosolic reducing equivalent transfer systems. *Arch. Biochem. Biophys.* 2012; 518 (2): 157–163.
15. Contreras L., Satrustegui J. Calcium signaling in brain mitochondria: interplay of malate aspartate NADH shuttle and calcium uniporter/mitochondrial dehydrogenase pathways. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (11): 7091–7099.

**FOR CORRESPONDENCE**

**Kurtasova Lyudmila Mikhailovna**, PhD, Professor, Department of Clinical Immunology, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky  
**Address:** 660022, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyaka St., 1/1; **tel.:** (391) 227-24-13, **e-mail:** office@aims.krsn.ru  
**Savchenko Andrei Anatol'evich**, PhD, Professor, Head of the Molecule-cellular Physiology and Pathology Laboratory, Medical Research Institute for Northern Problems Siberian Branch of RAMS  
**Address:** 660022, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyaka St., 3G; **tel.:** (391) 212-52-63, **e-mail:** aasavchenko@yandex.ru  
**Tolstikova Anna Evgen'evna**, PhD student for the Degree of Candidate of Biological Sciences, Medical Research Institute for Northern Problems Siberian Branch of RAMS  
**Address:** 660022, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyaka St., 3G; **tel.:** (391) 212-52-63, **e-mail:** a-golovanova@mail.ru