

Кан Нелли Юрьевна

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭПШТЕЙНА-
БАРР И ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА НА СИСТЕМУ МОНОНУКЛЕАРНЫХ
ФАГОЦИТОВ У ДЕТЕЙ-РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ИНФЕКЦИОННОГО
МОНОНУКЛЕОЗА**

14.01.09 – Инфекционные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2017 г.

Работа выполнена на кафедре инфекционных болезней у детей педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Научный руководитель:

академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Учайкин Василий Федорович

Официальные оппоненты:

Симованьян Эмма Мкртичевна - доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой детских инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России,

Боковой Александр Григорьевич - доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры клинической подготовки факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства».

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 г в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.114.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора и на сайте: www.crie.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор

Горелов Александр Васильевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Актуальность исследований, посвящённых теме инфекционного мононуклеоза (ИМ) определяется высоким уровнем заболеваемости, широкой циркуляцией возбудителей в популяции и полиотропностью вирусов.

В настоящее время можно выделить три основных патогенетических механизма влияния инфекционных агентов на макроорганизм, когда: инфекционный агент вызывает и поддерживает течение болезни; таковой является триггером, запускающим развитие иммунокомплексного или аутоиммунного заболевания; способствуют развитию иммуносупрессии, оказывая неблагоприятное влияние на течение ранее имевшейся соматической патологии (Мазанкова Л. Н., 2013).

Широкий тканевой тропизм, способность к персистенции и латенции в организме инфицированного человека с помощью различных механизмов «ускользания» от иммунологического надзора позволяют вирусам семейства *Herpesviridae* реализовывать все три вышеуказанных патогенетических механизма (Санталова Г. В., 2005; Powers С., 2013).

Повсеместное распространение Эпштейна-Барр вируса (ЭБВ) и цитомегаловируса (ЦМВ) с одной стороны, подчёркивает значимость данных возбудителей в формировании различной патологии, с другой - порождает многочисленные дискуссии о том, являются ли эти патогены причинно-значимым фактором или являются лишь «немыми свидетелями» описанных патологических состояний.

Особенно важным видится изучение клинических и иммунопатологических проявлений ЭБВ и ЦМВ - инфекций у пациентов в период поздней реконвалесценции ИМ с целью определения характера формирующихся патологических состояний и возможной профилактики их возникновения.

Степень разработанности темы исследования

Основанием для проведения диссертационного исследования послужила актуальность формирования патологических изменений у детей после приобретенного первичного инфицирования ЭБВ и ЦМВ.

Большинство исследований, посвящённых влиянию вирусов семейства герпес на различные системы органов и тканей, как правило, ограничиваются детекцией возбудителя в момент уже сформировавшейся соматической

патологии. Не выявляется причинно-следственная связь между фактом инфицирования вирусом, длительной персистенцией и возникновением соматического заболевания. Соматическое заболевание диагностируется на стадии необратимых последствий, при которых решение проблемы консервативными методами терапии невозможно.

Имеются данные, свидетельствующие о функциональной неполноценности клеток системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) при различных инфекциях, ответственных за эффективность реакций, направленных на элиминацию вирусных антигенов, которые в силу нарушения своей функциональной активности становятся средой для персистенции вирусов и источником для генерализованного поражения тканей (Булгакова В. А., 2012; Покровский В. И., 1993). Принимая во внимание, что клетки СМФ являются одним из главных очагов длительной персистенции для ЦМВ (Taylor R. T., 2005), и гораздо реже, лишь в случае высокой вирусной нагрузки поражаются при ЭБВ (Wang J. J., 2012); закономерно предположить, что у детей-реконвалесцентов ИМ ЭБВ и ЦМВ-этиологии характер формирующейся соматической патологии будет несколько отличаться.

Выполнение комплекса исследований, направленных на изучение характера нарушений фагоцитарной активности клеток СМФ, а также определения патогенетической роли этих нарушений при ЭБВ и ЦМВ инфекциях у детей, позволит углубить представления об иммунопатогенезе, выработать критерии прогнозирования течения и исходов ИМ.

Цель исследования

Изучить значение поражения Эпштейна-Барр вирусом и цитомегаловирусом клеток системы мононуклеарных фагоцитов в формировании соматической патологии у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза.

Задачи исследования

1. Оценить влияние ЭБВ и ЦМВ на систему мононуклеарных фагоцитов у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза
2. Изучить частоту встречаемости и характер соматической патологии, сформировавшейся у детей в течение года после дебюта инфекционного мононуклеоза ЭБВ и ЦМВ-этиологии
3. Изучить взаимосвязь между нарушениями в работе системы мононуклеарных фагоцитов и характером соматической патологии у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза ЭБВ и ЦМВ-этиологии

Научная новизна

Выявлены особенности формирования соматической патологии в зависимости от этиологии герпетической инфекции.

Проведена длительная динамическая оценка состояния СМФ у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ и ЦМВ ИМ.

Определены сроки поражения тканевых макрофагов ЦМВ при первичном приобретенном инфицировании у детей.

Установлена связь между инфицированием ЦМВ и угнетением работы СМФ.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Описан характер соматической патологии, формирующийся у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ. В течение года после клинического дебюта ИМ достоверно увеличивается число часто болеющих детей, число детей с гипертрофическими и окклюзионными заболеваниями ЛОР-органов, а также анемиями и гепатитами.

Описан характер соматической патологии, формирующийся у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ. В течение года после клинического дебюта ИМ достоверно увеличивается число часто болеющих детей, число детей с рецидивирующими гнойными заболеваниями ЛОР-органов, обструктивными заболеваниями дыхательной системы, анемиями и гепатитами.

Полученные в результате исследования данные расширяют представления о патогенетических механизмах формирования соматической патологии у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ.

Методология и методы исследования

Методологической основой для диссертационной работы послужили труды отечественных и зарубежных авторов по теме исследования. Дизайн клинического исследования представляет собой сравнительный анализ с использованием клинических, лабораторных и статистических методов исследования. Полученные данные систематизированы, изложены в главах собственных исследований. Сформулированы выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Положения, выносимые на защиту

1. Различные локусы персистенции для ЦМВ и ЭБВ будут определять различный характер патологических изменений у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза ЦМВ-этиологии и ЭБВ-этиологии.
2. Поражение СМФ у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза

ЦМВ-этиологии обуславливает нарушение механизмов антибактериальной защиты и способствует формированию вторичных бактериальных инфекций.

3. Поражение СМФ у детей-реконвалесцентов реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза ЦМВ-этиологии обуславливает усиление коллагенизации в зоне воспаления и способствует фибротическим изменениям органов и тканей.

4. Поражение СМФ у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ обуславливает нарушение транспорта и утилизации железа с формированием анемии.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности результатов проведенного исследования определяется соответствием его критериям доказательной медицины, репрезентативностью выборок обследованных пациентов, достаточным объёмом проведенных наблюдений и использованием современных аналитических методов исследования. Примененные статистические методы адекватны поставленным задачам, а сформулированные положения, выводы и практические рекомендации аргументированы и логически вытекают из анализа полученных данных. Результаты исследования оформлены в тезисах, статьях, внедрены в лекции и практические занятия с педиатрами, инфекционистами и врачами смежных специальностей. Разработанные рекомендации были внедрены в лечебно - диагностический процесс ГБУЗ МДГКБ ДЗМ (главный врач д.м.н., проф. И. Е. Колтунов), ГБУЗ ДГКБ №9 им. Сперанского ДЗМ (главный врач д.м.н., проф. Корсунский А. А.), ФГБУ «РДКБ» (и. о. главного врача к.м.н. Константинов К. В.). Материалы диссертации доложены и обсуждены на 9 конгрессах и научно – практических конференциях, в том числе: на XI Конгрессе детских инфекционистов «Педиатрия и Инфекция» (Москва, 5-7 декабря 2012г.); на XII Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики», (Москва, 11-13 декабря 2013г.); на XIII Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики», (Москва, 11-13 декабря 2014 г.), на XIV Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (Москва, 10-12 декабря 2015г.), на IX Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей» (Москва, 18-19 мая 2016 г.).

По материалам диссертации опубликованы 10 печатных работы, в том числе, 6 статей, опубликованных в ведущих рецензируемых научных журналах

и изданиях, рекомендованных ВАК; тезисы докладов в сборниках специализированных конгрессов, конференций, симпозиумов.

Личное участие автора в получении результатов.

Автором осуществлено планирование, организация и проведение исследований по всем разделам диссертации: отбор пациентов, динамическое наблюдение за пациентами, анализ данных клинического обследования, назначение и контроль терапии, забор биологического материала для исследования, проведение экспериментального исследования. Разработаны схемы и алгоритмы диагностики и лечения герпесвирусных инфекций у детей раннего возраста. Проведены обобщение, анализ и статистическая обработка полученных данных, сформулированы научные положения работы, выводы, практические рекомендации.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 115 страницах, включает введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», 2 главы собственных исследований, обсуждение результатов и заключение, выводы, практические рекомендации, список использованной литературы. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 18 рисунками, 5 выписками из историй болезни.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Общая характеристика больных и методов исследования

Под наблюдением находились 153 ребёнка в возрасте от 9 месяцев до 16 лет, у которых с помощью серологического и молекулярно-генетического («real-time» ПЦР) методов исследований была диагностирована острая первичная ЦМВ/ЭБВ моноинфекция, дебютировавшая в виде инфекционного мононуклеоза. Дети были разделены на две группы в зависимости от этиологии заболевания: в I группу вошли 95 детей с ЭБВ-моноинфекцией, во II группу – 58 детей с ЦМВ-моноинфекцией.

Все дети находились под катamnестическим наблюдением в течение 1 года после дебюта заболевания. Временными точками для контрольного обследования были приняты 3 месяца, 6 месяцев, 9 месяцев и 1 год от начала заболевания.

Обследование находившихся под наблюдением детей носило комплексный характер и включало в себя клинический осмотр, лабораторные (клинические

анализы крови и мочи, биохимические анализы крови и мочи), вирусологические, бактериологические, серологические и инструментальные методы исследования.

Этиологическая расшифровка ИМ проводилась путем использования иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР), детекции антигенов вирусов с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ).

Серологическое обследование включало в себя определение антител классов IgM и IgG к капсидному (VCA) и раннему (EA) антигену ЭБВ (anti VCA IgM, anti VCA IgG, anti EA IgM, anti EA IgG), антител классов IgM и IgG к ЦМВ (anti CMV IgM, anti CMV IgA, anti CMV IgG).

Функциональное состояние клеток системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) с помощью модифицированного метода «кожного окна» (по Rebusck J.W., Crowley J. A.). Данный метод позволяет смоделировать стереотипную асептическую воспалительную реакцию (АВР), в результате чего становится возможным оценить характер течения АВР, степени ее фиброзирования, исследовать состав клеточного экссудата и функциональное состояние его клеток. Решение этой задачи достигается тем, что проводится поверхностная скарификация кожи. Ранку покрывают стерильным стеклом, которое фиксируется лейкопластырем, и экспонируют его в течение 24 часов. Полученный отпечаток экссудата АВР на стекле высушивают и фиксируют 96% этанолом, окрашивают метиленовой синькой и микроскопируют в световом микроскопе с масляной иммерсией. В процессе микроскопии отпечатка АВР оценивается морфология, целостность и стадия созревания клеток СМФ - моноцитов-макрофагов, накопление нейтрофилов, лимфоцитов и фибробластов.

Степень фиброзирования зоны АВР оценивается по объему продукции коллагена в баллах: «0»- отсутствие во всех полях АВР волокнистых структур (рис. 1), «1»- слабое накопление нежных коллагеновых волокон в виде единичных структур (рис. 2), «2»-умеренное накопление коллагена в виде разрозненных волокон во всех полях зрения (рис. 3), «3»- выраженное накопление волокон с видимой продукцией фибробластами коллагена в виде массивных пучков во всех полях зрения при значительном скоплении экссудата и грубой структурной деградации макрофагальных элементов в зоне АВР (рис. 4).

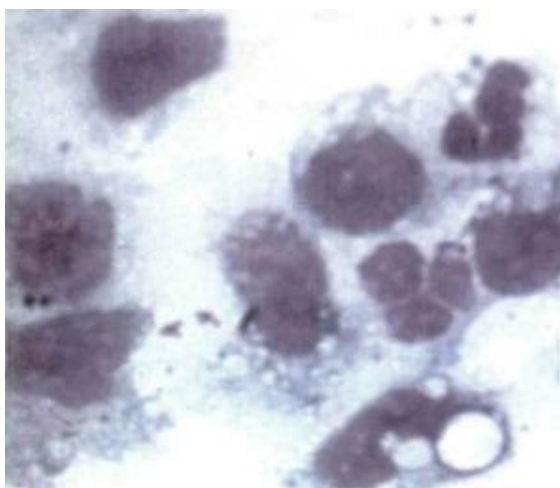


Рисунок 1. Хемотаксис макрофагов в зоне АВР в норме

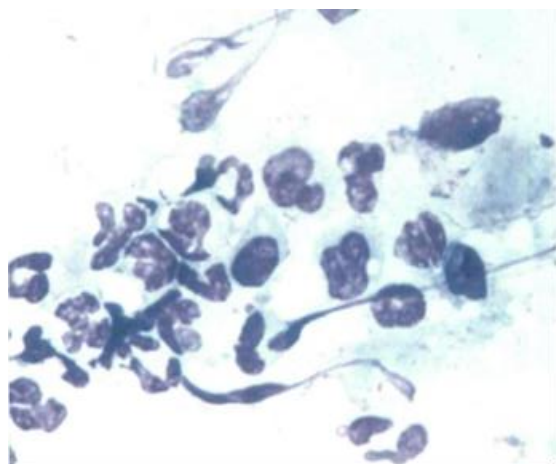


Рисунок 2. Накопление единичных нежных волокнистых структур в зоне АВР. Хемотаксис макрофагов соответствует норме

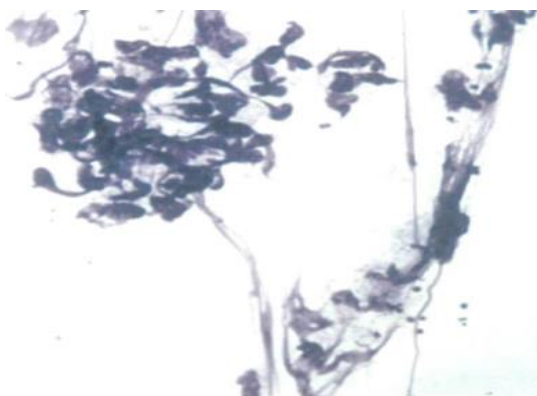


Рисунок 3. Накопление грубых волокон на фоне снижения хемотаксиса макрофагов и их структурной деградации и усилении хемотаксиса фибробластов

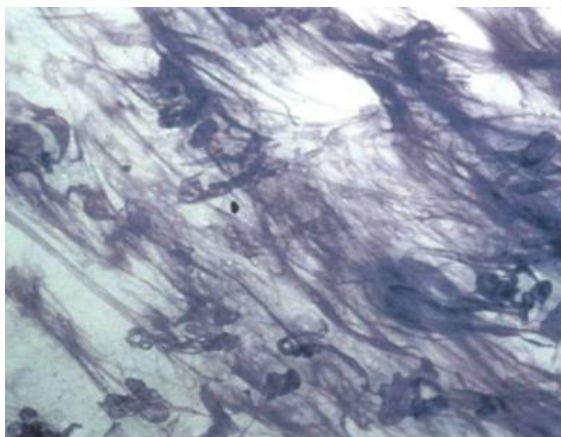


Рисунок 4. Накопление грубых волокнистых структур в виде пучков на фоне значительного накопления фибробластов. Угнетение хемотаксиса макрофагов с признаками их структурной деградации

Для оценки антигенной нагрузки в клетках СМФ нами была модифицирована НРИФ, применяемая ранее в клетках крови: вместо лейкоцитарной плёнки нами был использован клеточный экссудат асептического воспаления, также полученный с помощью метода «кожного окна». Дальнейшая техника постановки РНИФ происходит по той же методике, что и РНИФ для определения антигенов в клетках периферической крови. Методы и объём проводимых исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1. Методы и объём проведённых исследований

Метод	назначение метода	исследуемая среда	Кол-во пациентов	Кол-во исследований
ИФА	определение антител к ЭБВ, ЦМВ	Сыворотка крови	153	765
ПЦР	детекция ДНК ЭБВ, ЦМВ	Клетки крови	153	765
		Слюна	153	765
		Моча	27	100
НРИФ	выявление антигенов ЭБВ, ЦМВ	Лейкоциты крови	153	765
		Отпечаток АВР	106	435
Тест «кожного окна»	Оценка состояния клеток СМФ	Отпечаток АВР	153	765

Результаты исследований обработаны с использованием непараметрических методов вариационной статистики. Программное обеспечение – BIOSTAT 2009. Средние величины представлены с указанием стандартных отклонений ($M \pm SD$). Для анализа статистической значимости различий между группами по

клиническим и лабораторным проявлениям болезни использовался двусторонний критерий Манна-Уитни ($p < 0,05$). Для определения статистической значимости различий в частоте встречаемости анализируемых признаков в изучаемых группах использовался критерий хи-квадрат ($p < 0,05$).

Результаты собственных исследований и их обсуждение.

Поражение системы мононуклеарных фагоцитов у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ и ЦМВ ИМ.

Оценка функционального состояния СМФ у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ в течение года после дебюта заболевания не выявила статистически достоверных изменений: средний процент нормально дифференцированных макрофагов на 3, 6, 9 месяцы и год катamnестического наблюдения составил $70,1 \pm 5,8\%$, $73,2 \pm 4,1\%$, $72,8 \pm 4,9\%$ и $73,1 \pm 5,2\%$ соответственно. Таким образом, уровень статистической значимости при сравнении детей из группы ЭБВ с нормальными показателями ($73 \pm 3,1\%$) для каждой временной точки исследования составил $p > 0,05$.

Также ни у одного из обследуемых детей ни в одной временной точке исследования не были детектированы антигены ЭБВ в клетках СМФ. На рисунке 5 представлены результаты РНИФ для обнаружения антигенов ЭБВ в отпечатке АВР теста кожного окна у ребенка-реконвалесцента ЭБВ ИМ.

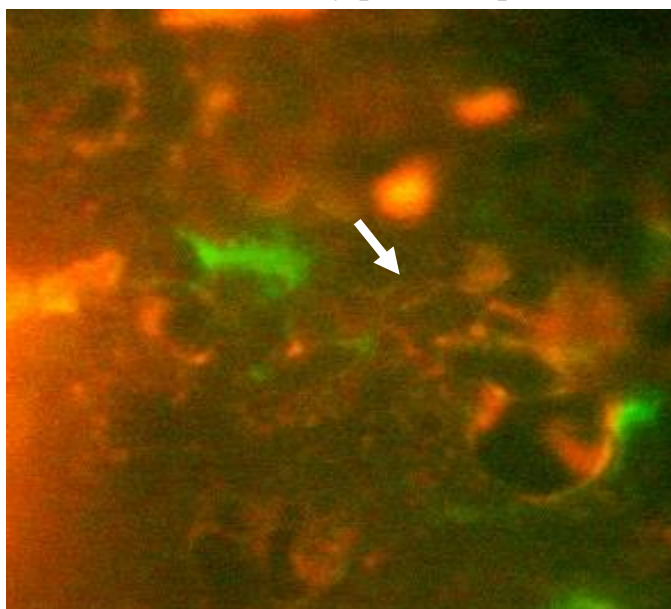


Рисунок 5. Детекция антигенов ЭБВ в отпечатке АВР теста «кожного окна». Стрелкой отмечена морфологически сохранная мононуклеарная клетка, свободная от ЭБВ клетка. «Зеленое свечение» - антигены ЭБВ, детектированные в межклеточном пространстве.

Напротив, у детей-рековалесцентов ЦМВ ИМ нами было выявлено супрессивное влияние ЦМВ на хемотаксис и дифференцировку макрофагальных клеток. В таблице 2 приведены результаты динамического изучения функционального состояния клеток СМФ в течение 1 года у детей, перенесших ЦМВМ.

Таблица 2. Показатели функционального состояния клеток СМФ у детей, перенесших ЦМВМ (средние значения, n=58)

	Острая фаза	3 мес.	6 мес.	9 мес.	1 год	Норма
Числа лейкоцитов в п/зр	17,8±4,3	18,2±3,8	16,8±1,4	*16,3±1,1	*16,5±1,9	>20
нормально дифференцированные макрофаги, % от общего числа клеток	72,5±5,9	*43,9±5,7	*23,3±3,1	*28,2±1,7	*34,8±3,2	73±3,1
Фиброзирование зоны АВР, баллы	1,1±0,8	1,2±0,4	*1,9±0,5	*2,2±0,3	*2,4±0,7	≤1 б.

Прим. * уровень статистической значимости различий по сравнению с нормой $p < 0,05$

Исследование СМФ в острую фазу заболевания выявило некоторую тенденцию к угнетению хемотаксиса макрофагов (снижении количества лейкоцитов в образце ($17,8 \pm 4,3$ при норме больше 20), процент нормально дифференцированных макрофагальных клеток был сопоставим со значениями в контрольной группе ($72,5 \pm 5,9\%$ в группе детей с ЦМВМ и $73,1 \pm 3,1\%$ у здоровых детей) Необходимо отметить, что на момент первичного обследования статистическое распределение показателей внутри группы было весьма неоднородным (о чём свидетельствуют большие величины стандартных отклонений), что не позволяет говорить о достоверности выявленных изменений. Таким образом, в ходе обследования пациентов в стадию ранней первичной инфекции нами не получено убедительных данных о выраженном угнетении СМФ.

Однако, при дальнейшем наблюдении за данной группой детей были выявлены статистически достоверные различия, свидетельствующие об угнетении СМФ у пациентов-реконвалесцентов ЦМВМ.

Как видно из данных таблицы 2, при повторном обследовании пациентов с ЦМВИ через 3 месяца, количество лейкоцитарных клеток в исследуемых образцах было снижено незначительно ($18,2 \pm 3,8$ клеток и $69,3 \pm 4,9\%$). Однако, процент нормально дифференцированных макрофагальных клеток существенно

уменьшился ($43,9 \pm 5,7\%$ при показателях $73,1 \pm 3,1\%$ у здоровых детей). Большая часть макрофагальных клеток оставалась «незрелыми»: клетки плохо распластывались по стеклу, имели округлое ядро и слабо выраженную цитоплазму, в которой не визуализировались вакуоли. Наиболее выражено это влияние сказывалось через 6 мес.-1 год от дебюта заболевания: в стадию ранней первичной инфекции процент нормально дифференцированных макрофагов составил $72 \pm 8,9\%$ (при средневозрастной норме $73 \pm 3,1\%$), в течение года от инфицирования ЦМВ этот показатель снизился до $34,8 \pm 3,2\%$ (уровень статистической значимости составил $0,01 < p < 0,05$). Через 6 месяцев от дебюта ИМ мы наблюдали умеренное снижение количества лейкоцитарных клеток ($16,8 \pm 1,4$), значительное уменьшение доли макрофагов ($59,1 \pm 4,3\%$) и выраженное падение доли нормально дифференцированных макрофагов ($23,3 \pm 3,1\%$). Клеточный экссудат у большинства детей-реконвалесцентов ЦМВМ в данной временной точке был представлен в основном нейтрофилами и неактивированными макрофагами, а также в «кожном окне» наблюдалось накопление коллагеновых и эластиновых волокон.

Через 9 месяцев от дебюта ЦМВМ количество лейкоцитарных клеток продолжило снижаться ($16,3 \pm 1,1$) за счёт уменьшения макрофагальных клеток в зоне АВР ($29,5 \pm 3,1\%$). Следует отметить, что у 18 детей из 58 наблюдаемых макрофаги в «кожном окне» полностью отсутствовали и визуализировалось выраженное накопление волокон коллагена в виде массивных пучков. У оставшихся 40 доля нормально дифференцированных, «зрелых» макрофагальных клеток оставалась на крайне низком уровне ($28,2 \pm 1,9\%$), у большинства из этих детей коллагеновые волокна накапливались умеренно, однако визуализировались практически во всех полях зрения.

Через год от начала наблюдения основные показатели теста «кожное окно» также свидетельствовали о глубоком угнетении СМФ у большинства пациентов. Однако, у небольшого числа детей (8 человек) отмечалось некоторое улучшение показателей по сравнению с предыдущей временной точкой исследования: увеличилась доля макрофагальных клеток в клеточном экссудате, повысился процент нормально дифференцированных макрофагов, а у 3-х пациентов уменьшилась степень фибротических изменений. За счёт этого средние показатели доли макрофагальных клеток и доли нормально дифференцированных макрофагальных клеток в наблюдаемой группе несколько приблизились к нормальным. В то же время, в группе возросло количество детей с массивным накоплением коллагена в зоне АВР – по сравнению с предыдущей

временной точкой их количество возросло с 18 человек до 27.

Обнаружение антигенов ЦМВ в клетках СМФ было проведено у 43 пациентов. В таблице 3 приведены результаты РНИФ к антигенам ЦМВ, полученные в ходе катamnестического наблюдения в течение 1 года за детьми, перенесшими ЦМВМ.

Таблица 3. Обнаружение антигенов ЦМВ в клетках СМФ у детей-реконвалесцентов ЦМВМ (всего – 43 пациента)

	Острая фаза	3 мес.	6 мес.	9 мес.	1 год
Количество пациентов, у которых были обнаружены АГ ЦМВ в клетках СМФ	4	32	34	29	22

Максимально высокий уровень антигенной детекции отмечался через 3-6 месяцев от дебюта заболевания; через 6 месяцев антигены ЦМВ определялись у 34 из 43 обследуемых детей. На рисунке 6 представлены результаты РНИФ для обнаружения антигенов ЦМВ в отпечатке АВР теста кожного окна у ребенка-реконвалесцента ЦМВ ИМ.

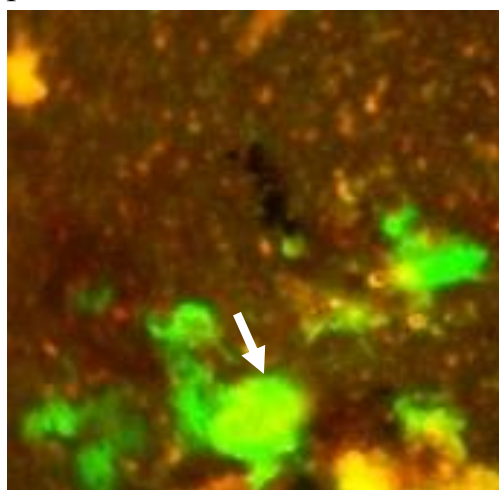


Рисунок 6. Детекция антигенов ЦМВ в отпечатке АВР теста «кожного окна». Стрелкой отмечена поражённая, структурно неполноценная макрофагальная клетка.

Таким образом, согласно нашим данным, наибольшее угнетение СМФ у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ происходило в сроки 6-9 мес. от начала заболевания. Данному состоянию предшествовало заражение мононуклеаров ЦМВ с последующей репликацией вируса внутри клетки и её структурной деградацией.

Анализируя степень фиброзирования зоны АВР, мы выявили ряд особенностей, характерных для различных сроков инфицирования. Так, через 3

мес. от дебюта острого заболевания, когда начинается постепенное проникновение ЦМВ в макрофагальные клетки, в зоне АВР признаков повышенного фиброзирования (коллагенизации) не обнаруживалось, что соответствовало картине острого воспаления. Через 6 мес. от дебюта заболевания, выявлялись грубые нарушения в функциональном состоянии клеток СМФ, на этом фоне происходило значительное накопление фибробластов, активно продуцирующих коллаген в виде массивных пучков грубых волокон. Вышеуказанные признаки повреждения структуры и функции макрофагов зоны АВР, фиброгенная направленность (коллагенизация) в её течении свидетельствовали о воспалительной инфильтрации с зарождающейся программой хронизации воспаления и фиброза.

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают имеющиеся в литературных источниках данные о различных локусах поражения для ЭБВ и ЦМВ. Для ЦМВИ тропной клеткой является макрофаг, что приводит к статистически достоверному снижению количества нормально дифференцированных клеток в АВР, чего не наблюдается при ЭБВ ИМ. Нами проведена динамическая в течение года оценка состояния СМФ и выявлены сроки поражения мононуклеаров при ЦМВИ у детей.

Изменения состояния здоровья у детей-реконвалесцентов им, по данным годового катамнестического наблюдения.

Характер и сроки возникновения патологических изменений состояния здоровья у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ представлены на рисунке 7.

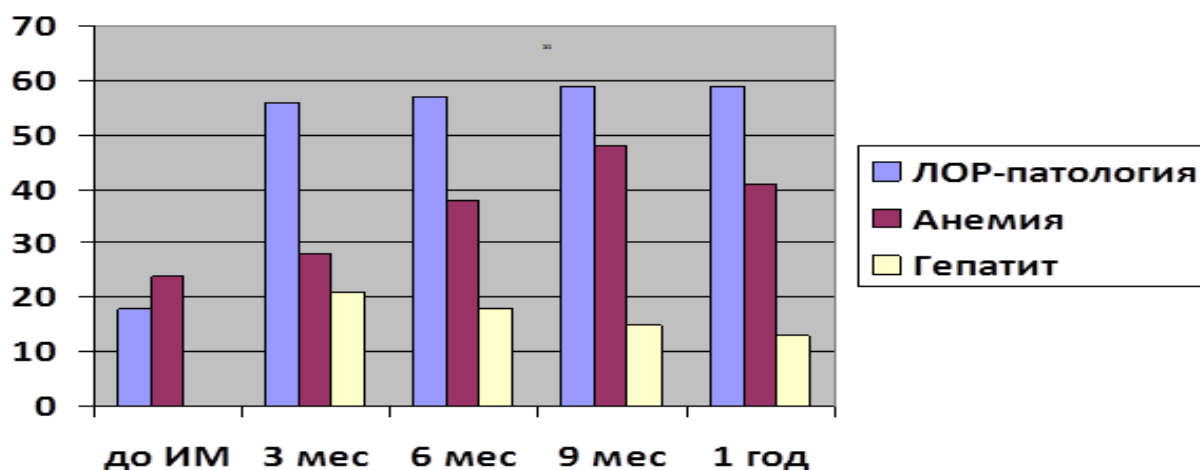


Рисунок 7. Характер и сроки возникновения патологических изменений состояния здоровья у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ (n=95)

Как видно из рисунка, у детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ в катамнезе наиболее часто формировалась патология ЛОР-органов (за год количество детей с данной патологией возросло на 43,16%, уровень статистической значимости различий по сравнению с анамнестическими данными до ИМ составил $p < 0,01$). В первую очередь патология формировалась за счёт гипертрофических изменений со стороны лимфоэпителиального кольца. У подавляющего большинства пациентов эти изменения носили стойкий характер и с течением времени не угасали, а напротив, прогрессировали. Наши наблюдения согласуются с данными отечественных и зарубежных авторов, согласно которым ЭБВ является ведущим инфекционным агентом, вызывающим формирование гипертрофических изменений аденоидов и миндалин. Такое влияние обусловлено длительной персистенцией вируса в клетках лимфоэпителиального кольца и угнетением клеточного апоптоза.

Несмотря на значительное (22,11%) увеличение количества детей с явлениями *гепатита* в первые 3 мес. после дебюта ИМ (уровень статистической значимости различий по сравнению с анамнестическими данными до ИМ составил $p < 0,05$), явления гепатита при ЭБВ, у большинства пациентов напротив, постепенно уменьшались с течением времени. Возможно, такая динамика развития симптомов обусловлена тем, что, по данным различных исследователей, способность ЭБВ оказывать прямое цитотоксическое действие на гепатоциты и длительная персистенция вируса в данных клетках возможны только при высокой степени вирусной нагрузки на организм в целом. У двоих наших пациентов была замечена интересная особенность: после проведения аденоидэктомии (и уменьшении вирусной нагрузки на организм в целом) у этих пациентов на 10 мес. от дебюта ИМ, мы отмечали быстрый регресс симптомов гепатита.

Максимальное количество детей с анемией отмечалось на 9-ом месяце катамнестического наблюдения (частота встречаемости детей с данной патологией возросла на 25,26%, уровень статистической значимости различий по сравнению с анамнестическими данными до ИМ составил $p < 0,05$).

Эти нарушения Фаткуллина Г. Р. (2012 г.) определяют как «анемию хронического заболевания»: при этом анемия носит неспецифический характер и лишь отражает учащение воспалительных процессов, обусловленных возросшей частотой ОРВИ и ЛОР-заболеваний.

Как было показано в ходе нашего исследования, влияние ЭБВ на клетки СМФ практически не выражено: изменения наблюдаются лишь в острый период

заболевания и нивелируются без назначения каких-либо дополнительных медикаментов. При этом нами не зафиксировано случаев прямого поражения макрофагальных клеток ЭБВ.

По данным катamnестического наблюдения за детьми-реконвалесцентами ЦМВ ИМ, в течение года от клинического дебюта ИМ статистически достоверно увеличивалось число лиц с рецидивирующими обструктивными заболеваниями респираторного тракта, рецидивирующими гнойными заболеваниями ЛОР-органов, гепатитом, анемией. Характер и сроки возникновения патологических изменений состояния здоровья у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ представлены на рисунке 8.

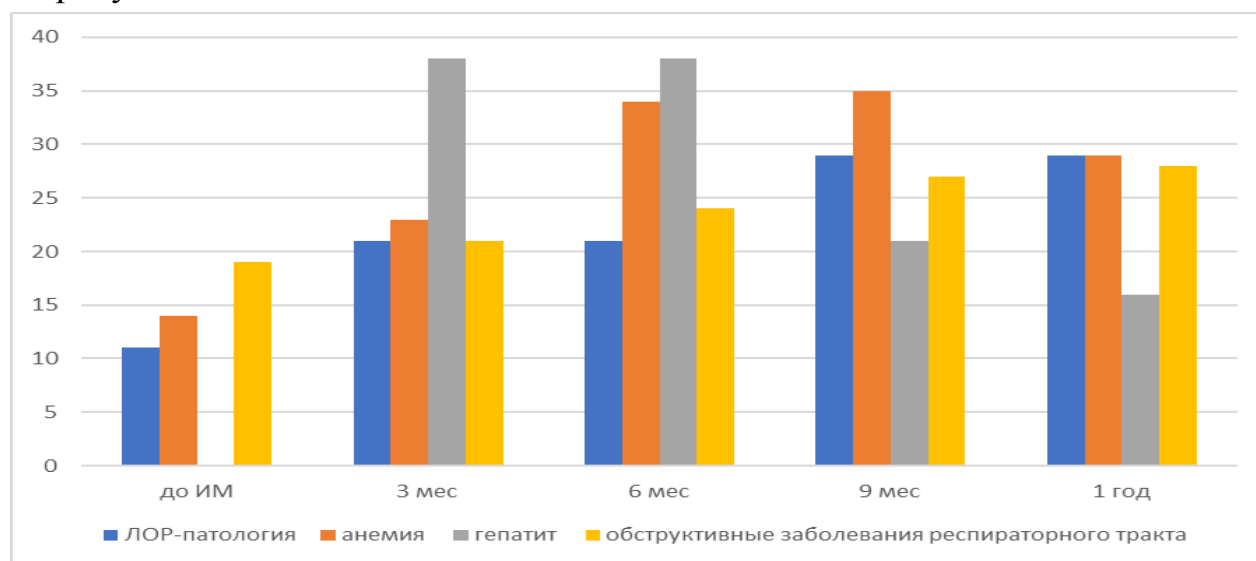


Рисунок 8. Характер и сроки возникновения патологических изменений состояния здоровья у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ

Как видно из диаграммы, у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ в катamnезе за год количество детей с патологией ЛОР-органов возросло на 31,03% (уровень статистической значимости различий по сравнению с анамнестическими данными до ИМ составил $0,01 < p < 0,05$). В отличие от пациентов с ЭБВ, гипертрофические изменения аденоидов и миндалин носили нестойкий характер: количество детей с такими изменениями неуклонно снижалось в ходе наблюдения и к году составило всего 10 человек (до ИМ эта патология отмечалась у 6 человек, уровень статистической значимости различий составил $p > 0,05$). В первую очередь ЛОР-патология формировалась за счёт повторных и рецидивирующих гнойных заболеваний (отитов и синуситов). Согласно данным литературы, ЦМВ, не вызывая активной пролиферации клеток лимфоэпителиального кольца, в первую очередь угнетает клетки СМФ. Учитывая, что макрофагальная клетка является центральным звеном

антибактериального иммунитета, что обусловлено целый комплексом бактерицидных факторов (стимуляция окислительного метаболизма по типу респираторного взрыва, кислая среда внутри фагосом, лизоцим, лактоферин, неферментные катионные белки и гидролитические ферменты лизосом), можно сделать предположение, что формирующаяся ЛОР-патология в данном случае является лишь частным проявлением развившихся иммунологических нарушений.

По данным наших наблюдений, максимальное число детей с гепатитом при ЦМВ отмечалось через 3 мес. после дебюта ИМ у 34 из 58 пациентов-реконвалесцентов ЦМВ ИМ гепатит носил характер острого процесса, при котором патологические изменения со стороны печени отмечались лишь в первый месяц после дебюта болезни. Однако, у 16 детей из 58 явления гепатита были стойкими, прогрессировали с течением времени и сопровождались достаточно быстрым развитием фибротических изменений (по данным УЗИ, фибротеста и фиброэластометрии).

Мы предполагаем, что изменения, выявленные в первые 3 месяца катарального наблюдения, можно расценить в первую очередь как «отголоски» острого инфекционного процесса, при котором, на фоне высокой вирусной нагрузки ЦМВ способен оказывать прямое цитопатическое действие на гепатоцит.; изменения, формирующиеся у пациентов через год от дебюта заболевания связаны, в первую очередь, с поражением ретикулоэндотелиальной системы и нарушениями, развивающимися в строме органа (о чём косвенно свидетельствуют данные УЗИ и фиброэластометрии). Такие изменения носят стойкий характер, меняют структуру органа и, при отсутствии терапии, прогрессируют со временем. Дело в том, что в основе стромальной структуры печени лежат клетки ретикулоэндотелиальной системы. Угнетение же макрофагального звена иммунитета приводит к увеличению в структуре коллагеновых и эластиновых волокон, а значит, быстрому фиброзированию.

Максимальное количество детей с анемией, как и при ЭБВ, отмечалось на 9-ом месяце катарального наблюдения (частота встречаемости детей с данной патологией возросла на 18,97%, уровень статистической значимости различий по сравнению с анамнестическими данными до ИМ составил $0,01 < p < 0,05$). При этом у 14 детей анемия являлась железодефицитной, и хорошо поддавалась лечению с помощью коррекции питания и дополнительного приёма препаратов железа. Как и при ЭБВ, данные нарушения были расценены нами как «анемию хронического воспаления». Однако, у 13 человек с наиболее

тяжелой анемией лечение препаратами железа и витаминотерапия эффекта не дали, и лишь при назначении специфической противовирусной и иммуномодулирующей терапии мы отмечали выраженную положительную динамику. У всех 13 пациентов данные нарушения отмечались на фоне сильной депрессии СМФ, что позволило предположить у них нарушение утилизации гемосидерина в связи с неспособностью макрофагальной клетки адекватного её поглощения и транспорта (данный механизм описан в работе Фаткуллиной Г. Р. с соавторами в 2014 г.). Таким образом, при прогрессивном угнетении СМФ без специфического противовирусного лечения степень анемии будет лишь нарастать.

Частота встречаемости обструктивных заболеваний респираторного тракта в группе пациентов с ЦМВ возросла на 15,52% (уровень статистической значимости различий по сравнению с анамнестическими данными до ИМ составил $0,01 < p < 0,05$). Можно предположить, что этот факт обусловлен в первую очередь увеличением частоты острых респираторных заболеваний в целом. Однако, в группе пациентов с ЭБВ, в которой также отмечался существенный рост заболеваемости респираторными инфекциями, статистически значимой тенденции к увеличению частоты обструктивных заболеваний не наблюдалось. По нашему мнению, увеличение частоты обструктивных заболеваний респираторного тракта может быть связано не только с увеличением частоты ОРЗ, но и с развитием фибротических изменений в зоне воспалительной реакции на фоне угнетения работы СМФ (что подтверждается усилением коллагенизации в зоне АВР «кожного окна» у данных пациентов). Вышеуказанные признаки повреждения структуры и функции макрофагов зоны АВР, фиброгенная направленность (коллагенизация) в её течении свидетельствовали о воспалительной инфильтрации с зарождающейся программой хронизации воспаления и фиброза, что давало основание полагать об аналогичном течении воспалительного процесса и его исходов в дыхательных путях у детей с обструктивными заболеваниями дыхательной системы.

Понимание роли макрофагальной клетки как центральной клетки-мишени при ЦМВ-инфекции, позволяет надеяться что снижение антигенной нагрузки на макрофагальную клетку путём назначения специфической противовирусной терапии (специфического иммуноглобулина – нецитотекта, ацикловира и его аналогов), в сочетании с дифференцированным подходом иммунокорректирующей терапии, направленной на стимуляцию клеточного

звена иммунитета помогут предотвратить развитие необратимых структурных нарушений у детей-реконвалесцентов ЦМВ -инфекционного мононуклеоза.

Клинико-патогенетическое значение поражения клеток системы мононуклеарных фагоцитов ЦМВ у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза представлено на рисунке 9.

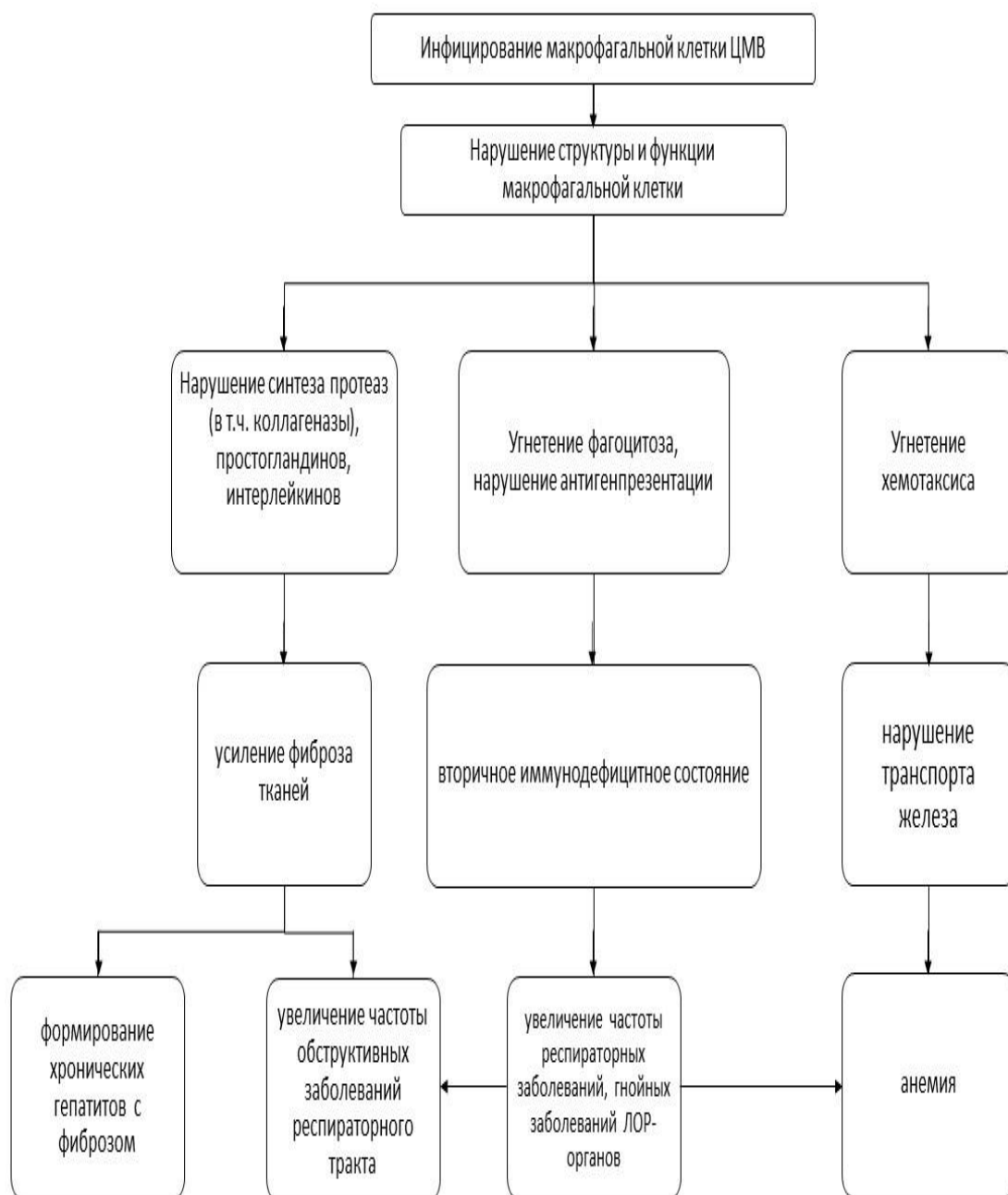


Рисунок 9. Клинико-патогенетическое значение поражения клеток системы мононуклеарных фагоцитов ЦМВ у детей-реконвалесцентов инфекционного мононуклеоза

Выводы

1. Наибольшее угнетение системы мононуклеарных фагоцитов при ЦМВ-инфекции происходит в срок 6-9 мес. от начала заболевания. Данному состоянию предшествует заражение макрофагов ЦМВ, с последующей репликацией вируса внутри клетки и нарушением её дифференцировки.
2. Не получено убедительных доказательств прямого цитопатического действия ЭБВ на клетки системы мононуклеарных фагоцитов как в острый период заболевания, так и в течение года от момента инфицирования.
3. У детей-реконвалесцентов ЭБВ ИМ наблюдается статистически достоверное увеличение частоты гипертрофических изменений аденоидов и миндалин (на 43,16%), доброкачественных гепатитов без формирования фиброза (на 22,11%), анемией (на 25,26%).
4. У детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ наблюдается статистически достоверное увеличение частоты рецидивирующих гнойных заболеваний ЛОР-органов (на 31,03%) , гепатитов (на 58,62%), в том числе с формированием фиброза (в 12%), обструктивных заболеваний респираторного тракта (на 15,52%).
5. Сроки формирования и характер осложнений у детей-реконвалесцентов ЦМВ ИМ позволяют расценивать угнетение работы системы мононуклеарных фагоцитов при данной инфекции как ведущий патогенетический механизм формирования отдалённых патологических изменений состояния здоровья у данных пациентов.

Практические рекомендации

1. Выявление антигенов ЦМВ в клетках системы мононуклеарных фагоцитов асептической воспалительной реакции в первые три месяца от клинического дебюта ЦМВ-мононуклеоза говорит о высоких рисках развития тяжёлой соматической патологии и, в комплексе с другими клиническими факторами, может служить критерием необходимости назначения специфической противовирусной терапии (атипических нуклеозидов)
2. Рецидивирующие гнойные заболевания ЛОР-органов, микроцитарные гипохромные анемии (особенно торпидные к препаратам железа и фолатам), повышение эхоплотности печени по данным УЗИ, рецидивирующие обструктивные заболевания респираторного тракта,

частые респираторные инфекции с апирогенным течением требуют комплексного обследования (количественного определения антител к ЦМВ, РНИФ для определения антигенов ЦМВ в клетках крови и тканевых макрофагах), ПЦР для определения ДНК в клетках крови с целью исключения активной ЦМВ-инфекции.

3. Обнаружение активной ЦМВ-инфекции у детей с вышеописанной патологией является показанием для назначения атипических нуклеозидов, специфических иммуноглобулинов (с целью уменьшения антигенной нагрузки), а также длительной иммунокорректирующей терапии

Перспективы дальнейшей разработки темы

1. Разработка схем патогенетической иммунокорректирующей терапии с учётом локуса персистенции герпесвируса
2. Изучение влияния ВГЧ 6 типа на систему мононуклеарных фагоцитов
4. Уточнение влияния ЦМВ на систему мононуклеарных фагоцитов путём изучения клинико-диагностической ценности обнаружения различных видов антигенов ЦМВ в клетках системы мононуклеарных фагоцитов с помощью моноклональных антител.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кан, Н.Ю. Значение персистирующей герпесвирусной инфекции в формировании вторичного иммунодефицита у часто болеющих детей / Н.Ю. Кан // *Детские инфекции* – 2008.- Т.7 - №2 – С.64-67.
2. Кан, Н.Ю. Состояние здоровья детей-реконвалесцентов цитомегаловирусного мононуклеоза / Н.Ю. Кан, Ф.С. Харламова, В.Ф. Учайкин, Л.Н. Гусева // *Материалы X Конгресса детских инфекционистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики»*. – 2011. - С.41.
3. Кан, Н.Ю. Данные годового катамнестического наблюдения за детьми-реконвалесцентами инфекционного мононуклеоза / Н.Ю. Кан, Ф.С. Харламова, В.Ф. Учайкин, Л.Н. Гусева // *Материалы X Конгресса детских инфекционистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики»*. – 2011. - С.41.
4. Рыбалкина, Т.Н. Роль оппортунистических инфекций в возникновении осложнений у детей / Т.Н. Рыбалкина, Н.В. Каражас, М.Ю. Калугина, М.Н. Корниенко, Р.Е. Бошнян, Е.А. Мамедова, Т.В.

- Половцева, М.К. Хадисова, Т.М. Лебедева, Н.Ю. Кан // *Детские инфекции* – 2013.- Т.12 - №2 – С.43-46
5. Рыбалкина, Т.Н. Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций при длительных субфебрилитетах и обструктивных бронхитах у детей при микст инфекциях/ Т.Н. Рыбалкина, Н.В. Каражас, М.Ю. Калугина, М.Н. Корниенко, В.Ф. Учайкин, Т.М. Лебедева, Н.Ю. Кан, Л.В. Феклисова, М.К. Хадисова, А.М. Карамзин// *Детские инфекции* – 2013.- Т.12 - №3 – С.40-43
 6. Кан, Н.Ю. Состояние системы мононуклеарных фагоцитов при герпесвирусных инфекциях / Н.Ю. Кан, В.Ф. Учайкин, Ф.С. Харламова, Н.В. Каражас, М.Ю. Калугина, Т.Н. Рыбалкина// *Материалы Всероссийского ежегодного конгресса инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика.* – 2014. - С.59.
 7. Калугина, М. Ю. Проблемы диагностики и лечения заболеваний, вызванных β -герпесвирусами, на современном этапе/ М.Ю. Калугина, Н.В. Каражас, Е.В. Мелёхина, Р.Е. Бошьян, Т.Н. Рыбалкина, Л.В. Феклисова, И.Б. Репина, Т.М. Лебедева, Н. Ю. Кан// *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2015. Т. 17. № 1. С. 11-17.
 8. Минасян, В.С. Особенности течения рецидивирующих средних гнойных отитов у детей, имеющих маркеры герпетических инфекций/В.С. Минасян, М.М. Полуниин, Л.С. Титарова, И.А. Сотников, Н.Ю. Кан// *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* - 2015. - №1-С.165-166
 9. Кан Н.Ю. Состояние системы мононуклеарных фагоцитов у детей-реконвалесцентов цитомегаловирусного мононуклеоза / Н.Ю. Кан, Ф.С. Харламова, В.Ф. Учайкин, И.Е. Колтунов, А.А. Корсунский// *Материалы XIV Конгресса детских инфекционистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики».* – 2015. - С.34.
 10. Титарова, Л.С. Патогенетическая значимость герпетических инфекций в формировании рецидивирующего среднего гнойного отита у детей/ Л.С. Титарова, В.С. Минасян, И.А. Сотников, Н.Ю. Кан// *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* - 2015. - № 3 – С. 74-78