

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Гузь О.В., Кузнєцов С.В., 2019
УДК [616.98:578.825.13]-053.4/.5:616.21/.22-078:57.083.185:57.083.3:579.862.1
DOI 10.11603/1681-2727.2019.3.10633

О.В. Гузь, С.В. Кузнєцов

ВПЛИВ СТРЕПТОКОКА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ НОСОРОТОГЛОТКИ НА ЦИТОКІНОВУ ВІДПОВІДЬ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЙНИЙ МОНОНУКЛЕОЗ

Харківський національний медичний університет

Мета дослідження – встановити значення наявності стрептокока на слизовій оболонці носоротоглотки в реакції інтерлейкінів крові дітей, хворих на інфекційний мононуклеоз (ІМ).

Пацієнти і методи. Під спостереженням перебувало 60 дітей у віці 3-7 років, хворих на ІМ, які лікувалися в обласній дитячій інфекційній клінічній лікарні м. Харкова. Діагноз ІМ підтверджували на основі позитивних результатів пошуку маркерів захворювання методами ІФА та ПЛР. У 30 дітей (перша група) при бактеріологічному дослідженні слизової оболонки носоротоглотки виділено *Streptococcus pyogenes* в концентраціях 10^5 і вище. Друга група (30 дітей) – на слизовій оболонці носоро- і ротоглотки стрептокок не був виявлений. Імунний статус хворих оцінювався за показниками рівнів інтерлейкінів 1 β , 4, фактора некрозу пухлин (ФНП). Вміст інтерлейкінів у крові хворих визначали в гострий період (1-2-а доба захворювання) і в період ранньої реконвалесценції (7-10-а доба).

Результати досліджень і висновки. Аналіз результатів обстеження встановив, що наявність у хворих стрептокока на слизовій оболонці носоро- і ротоглотки в гострому періоді інфекційного мононуклеозу призводить до яскравішої реакції прозапальних інтерлейкінів їх крові і гальмування відповіді проти-запального інтерлейкіну-4 ($P < 0,05$). Надалі відбувається повільне зниження рівнів інтерлейкіну 1, ФНП- α і гальмування наростання вмісту ІЛ-4.

Ключові слова. Діти, інфекційний мононуклеоз, клініка, стрептокок, імунітет.

Актуальність проблеми інфекційного мононуклеозу визначається високим рівнем інфікування дитячого населення вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ), можливістю розвитку несприятливого перебігу хвороби і формування, в ряді випадків, пролонгованої імуносупресії з дефіцитом Т-клітинної і фагоцитарної ланки імунітету [1].

Специфічна тропність ВЕБ до імунокомпетентних клітин, системне ураження внутрішніх органів, широкий

діапазон клінічних форм захворювання, а також відсутність специфічної профілактики є предметом дослідження багатьох вчених [2, 3]. На сьогодні ІМ розглядається як захворювання імунної системи. Активна проліферація вірусу призводить до структурних змін багатьох органів, чому сприяє зниження реакції імунної системи [4].

Основні функції останньої – розпізнавання та елімінація чужорідних макромолекул [5]. При проникненні в організм людини і впливі на нього будь-якого антигену, в тому числі бактерій і вірусів, відбувається активація фагоцитарної і Т-клітинної системи імунітету і як наслідок – цитокінів, зокрема інтерлейкінів, які визначають ступінь запального процесу [6]. Припускають, що сукупність дії і баланс між ефектами прозапальних (ІЛ-1 β , ФНП- α та ін.) і протизапальних цитокінів (ІЛ-4 та ін.) лежить в основі розвитку і результату інфекційного процесу, а також визначає ступінь тяжкості й прогноз [7].

Разом з тим, результати вчених, які вивчали реакцію інтерлейкінів крові дітей, хворих на ІМ, вельми суперечливі. Ряд дослідників вважає, що при зазначеному захворюванні рівень прозапальних інтерлейкінів в дебюті захворювання залишається в межах вікових норм [8]. Інші вказують на високі цифри їх вмісту в крові [9]. При цьому перші говорять про незначне зростання їх рівня в динаміці хвороби, другі – про збереження високого їх вмісту з математично мало значущою тенденцією до зниження в період одужання [10]. Суперечливість думок простежується і в аналізі літературних даних за вмістом у крові протизапальних цитокінів у дітей, хворих на ІМ. Так, Ali A. (2015) наводить низькі цифри реакції ІЛ-4 на початку хвороби [11]. У той же час Rostgaard K. (2014) говорить про підвищення його рівня в гострому періоді [12].

Вищевказане є аргументом доцільності подальшого вивчення реакції інтерлейкінів крові хворих на ІМ, що, на наш погляд, може поглибити відомості про патогенез захворювання, удосконалити методи прогнозування перебігу хвороби та її лікування.

Багато вчених вважають, що у формуванні клінічної картини та імунної відповіді велику роль відіграє не тільки ВЕБ, але й бактерії, що знаходяться поблизу вхідних воріт. Завдяки дослідженням останніх років виявлено, що у 60-95 % здорових дітей зі слизової оболонки носо- і ротоглотки висівається стрептокок [13].

Разом з тим, у доступній літературі практично немає робіт, які розглядали б вплив стрептокока на формування цитокінової імунної реакції хворих, а звідси – клінічної картини захворювання, його перебігу та результатів.

Мета дослідження – встановити значення наявності стрептокока на слизовій оболонці носо- та ротоглотки в реакції інтерлейкінів крові дітей, хворих на ІМ.

Пацієнти і методи

Під спостереженням перебувало 60 дітей у віці 3-7 років, хворих на ІМ, які лікувалися в обласній дитячій інфекційній клінічній лікарні м. Харкова. Діагноз ІМ верифікували на основі позитивних результатів пошуку маркерів захворювання методами ІФА (анти-ВЕБ IgM та IgG) і ПЛР (виявлення ДНК ВЕБ у крові). У 30 дітей (перша група) при бактеріологічному дослідженні слизової оболонки носо- і ротоглотки виділено *Streptococcus pyogenes* в концентраціях 10^{-5} і вище. Друга група (30 дітей) – на слизовій оболонці носо- і ротоглотки стрептокок не виявляли. У крові

дітей першої групи антистрептолізини при багаторазовому їх дослідженні виявлені не були. Імунний статус хворих оцінювали за показниками рівнів інтерлейкінів 1 β , 4, ФНП- α . Вміст інтерлейкінів у крові хворих визначали в гострому періоді (1-2-а доба захворювання) і в період ранньої реконвалесценції (7-10-а доба). Для порівняння взяті відповідні показники 30 здорових дітей аналогічного віку та статі. Статична обробка отриманих результатів проведена за допомогою комп'ютерних програм Excel і Statistica 6,0. Достовірність різниці значень виявлялася за допомогою критерію Стьюдента і методу Фішера. Відмінності вважали достовірними при рівні значимості $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

У гострий період ІМ в усіх дітей відзначаються характерні ознаки активації механізмів інтерлейкінової відповіді. Вміст прозапального ІЛ-1 β в дебюті хвороби у представників обох груп був вірогідно вище від показників здорових дітей ($P1 < 0,05$, $P2 < 0,05$). У дітей з додатковим інфікуванням слизової оболонки носо- і ротоглотки стрептококом концентрація ІЛ-1 β становила $(18,66 \pm 1,19)$ нг/мл і була достовірно вище відповідних показників другої групи – $(9,8 \pm 0,91)$ нг/мл ($P3 < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст інтерлейкінів у крові дітей, хворих на ІМ, в дебюті недуги ($M \pm m$)

Показник	Перша група, n=30	P1	Друга група, n=30	P2	Контрольна група, n=30	P3
ІЛ-1 β , нг/мл	$18,66 \pm 1,19$	$< 0,05$	$9,80 \pm 0,91$	$< 0,05$	$5,32 \pm 1,73$	$< 0,05$
ІЛ-4, нг/мл	$3,66 \pm 0,24$	$> 0,05$	$5,40 \pm 0,30$	$< 0,05$	$2,06 \pm 0,94$	$< 0,05$
ФНП- α , нг/мл	$11,20 \pm 1,43$	$< 0,05$	$6,90 \pm 1,12$	$< 0,05$	$2,69 \pm 1,67$	$< 0,05$

Примітки (тут і далі): P1 – достовірність показників дітей першої групи відносно групи контролю; P2 – достовірність показників дітей другої та контрольної груп; P3 – достовірність показників між дітьми груп спостереження.

Початковий період мононуклеозу супроводжується істотним підвищенням у крові хворих рівня ФНП- α порівняно зі значеннями у здорових дітей ($P1 < 0,05$, $P2 < 0,05$). При цьому рівень прозапального ФНП- α хворих першої групи був достовірно вище відповідних показників дітей другої групи ($P3 < 0,05$).

При вивченні рівнів ІЛ-4 у сироватці крові дітей досліджуваних груп було виявлено підвищення його вмісту порівняно зі здоровими дітьми, однак, достовірна відмінність стосувалася лише показників представників другої та контрольної груп ($P2 < 0,05$). І хоча у хворих першої групи спостерігалось підвищення рівня ІЛ-4 в крові, воно було менш значущим, ніж у дітей другої групи ($P3 < 0,05$).

Все вищевказане свідчить, що у дітей, хворих на ІМ з наявністю і відсутністю стрептокока на слизовій оболонці носо- і ротоглотки, відзначаються однотипні зміни цитокінового гомеостазу у вигляді підвищення в гострому періоді хвороби рівнів про- і протизапальних інтерлейкінів. Однак ступінь зазначеного підвищення залежить від наявності стрептокока. У дітей, на слизовій оболонці назофарингеальної зони яких виявляється стрептокок, реакція прозапальних інтерлейкінів більш значуща, а реакція протизапального інтерлейкіну-4 менш суттєва. Мабуть, це можна пояснити підтримкою запального процесу на мінімальному, субклінічному рівні локального назофарингеального вогнища внаслідок стрептококової інфекції, в результаті чого рівень

прозапальних інтерлейкінів починає стартувати вже з підвищеного їх вмісту, а протизапальних гальмується через пригнічення, ймовірно, клітинних факторів імуні-

тету. Однак наші припущення вимагають подальшого вивчення.

Таблиця 2

Рівень інтерлейкінів крові дітей, хворих на ІМ в період ранньої реконвалесценції (M±m)

Показник	Перша група (n=30)	P1	Друга група (n=30)	P2	Контрольна група (n=30)	P3
ІЛ-1β, нг/мл	15,03±1,28	<0,05	8,9±0,94	>0,05	5,32±1,73	<0,05
ІЛ-4, нг/мл	4,60±0,85	>0,05	6,30±0,62	<0,05	2,06±0,94	>0,05
ФНП-α, нг/мл	7,9±0,42	<0,05	5,6±0,49	>0,05	2,69±1,67	<0,05

До періоду реконвалесценції відзначали більш суттєве зниження рівнів ІЛ-1β, ФНП-α у дітей другої групи (P3<0,05), в яких різниці показників зазначених інтерлейкінів у крові порівняно зі здоровими дітьми не встановлено (P2>0,05).

В той же час у представників першої групи рівень прозапальних інтерлейкінів до періоду реконвалесценції залишався на високих цифрах (P1<0,05).

Вміст протизапального інтерлейкіну-4 у крові дітей до періоду їх одужання перевищував відповідні показники гострого періоду. Однак в період реконвалесценції лише у дітей другої групи відзначалась достовірна різниця його вмісту порівняно зі здоровими (P2<0,05).

На наш погляд, це пов'язано з додатковим антигенним впливом, яке надає стрептокок нехай навіть на місцевому рівні у дітей першої групи, про що розповідалося нами вище.

Таким чином, отримані нами дані свідчать, що в гострий період інфекційного мононуклеозу в групах спостереження відбувається підвищення рівня прозапальних цитокінів (ІЛ-1β, ФНП-α) у сироватці крові (P1<0,05, P2<0,05). У хворих першої групи це підвищення було більш значущим і достовірно відрізнялося від показників дітей другої групи (P3<0,05). В динаміці інфекційного мононуклеозу у дітей без фонового інфікування відзначалося швидке і статистично достовірне зниження рівнів прозапальних цитокінів, тоді як в осіб з наявністю стрептокока на слизовій оболонці носо- і ротоглотки в концентраціях 10⁻⁵ і вище, утримувався підвищений вміст прозапальних цитокінів (P1<0,05, P3<0,05).

У період ранньої реконвалесценції у дітей другої групи виявлено вищі рівні ІЛ-4 сироватки крові порівняно з хворими, які мають фонове інфікування. Встановлена відсутність суттєвої динаміки вмісту ІЛ-4 у дітей першої групи в різні періоди хвороби може свідчити про розбалансування в системі цитокін-опосередкованих механізмів регуляції запалення. Виявлений дисбаланс відповіді цитокінів у хворих, в яких на слизовій оболонці носо- і ротоглотки був виділений стрептокок в концентраціях 10⁻⁵ і вище, призводить до дефіциту компенсації гомеостазу цитокінів, а тому може бути одним з факторів, який підтримує патологічний стан, сприяючи запаленню.

Висновки

1. Наявність у хворих стрептокока на слизовій оболонці носо- і ротоглотки в гострий період інфекційного мононуклеозу призводить до значнішої реакції прозапальних інтерлейкінів і гальмування відповіді протизапального ІЛ-4 (P<0,05). Надалі відбувається повільне зниження рівнів ІЛ-1, ФНП-α і гальмування наростання вмісту ІЛ-4.

2. *Streptococcus pyogenes* у концентрації 10⁻⁵ і вище на слизовій оболонці носо- і ротоглотки при ІМ, ймовірно може сприяти формуванню несприятливих наслідків захворювання.

3. Результати проведеного дослідження підтвердили значення мікробної флори слизової оболонки носо- і ротоглотки у формуванні цитокінової реакції дітей, хворих на ІМ, що дозволяє на ранніх етапах захворювання вірогідно прогнозувати перебіг хвороби і може служити перспективним напрямком удосконалення терапії хворих.

Література

- Dunmire S. K. Infectious Mononucleosis / S. K. Dunmire, K. A. Hogquist, H. H. Balfour // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2015. – Vol. 390 (Pt 1). – P. 211–240.
- Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and multiple sclerosis susceptibility: A multiethnic study / A. Langer-Gould, J. Wu, R. Lucas [et al.] // *Neurology.* – 2017. – Vol. 89 (13). – P. 1330-1337.
- Epstein-Barr virus: Clinical and epidemiological revisits and genetic basis of oncogenesis / A. S. Ali, M. Al-Shraim, A. M. Al-Hakami, I. M. Jones // *Open Virol. J.* – 2015. – Vol. 9. – P. 7-28.
- Cunha B. A. Fever of unknown origin (FUO) in an elderly adult due to Epstein-Barr virus (EBV) presenting as “typhoidal mononucleosis,” mimicking a lymphoma / B. A. Cunha, A. Petelin, S. George // *Heart Lung.* – 2013. – Vol. 42 (1). – P. 79-81.
- CD8⁺ T cell responses to lytic EBV infection: late antigen specificities as subdominant components of the total response / R. J. Abbott, L. L. Quinn, A. M. Leese [et al.] // *J. Immunol.* – 2013. – Vol. 191. – P. 5398-5409. doi: 10.4049/jimmunol.1301629.
- Bobruk S. V. The degree of indicators level violation of local immunity in children with infectious mononucleosis / S. V. Bobruk // *Journal of Education, Health and Sport.* – 2017. – N 3. – P. 576-585.
- Human natural killer cells prevent infectious mononucleosis features by targeting lytic Epstein-Barr virus infection / O. Chijioke, A. Muller, R. Feederle [et al.] // *Cell Rep.* – 2013. – Vol. 5. – P. 1489-1498. doi: 10.1016/j.celrep.2013.11.041.
- Role for early-differentiated natural killer cells in infectious mononucleosis / T. Azzi, A. Lunemann, A. Murer [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 124. – P. 2533-2543. doi: 10.1182/blood-2014-01-553024.
- Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students / H. H. Jr. Balfour, O. A. Odumade, D. O. Schmeling [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 207. – P. 80-88. doi: 10.1093/infdis/jis646.
- Clinically severe Epstein-Barr virus encephalitis with mild cerebrospinal fluid abnormalities in an immunocompetent adolescent: a case report / I. Engemann, H. Nasser, S. Belmiloudi [et al.] // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 76 (2). – P. 232-234.
- Rickinson A. B. Epstein-Barr virus and infectious mononucleosis: what students can teach us / A. B. Rickinson, C. P. Fox // *J. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 207 (1). – P. 6-8.
- Rostgaard K. A genetic basis for infectious mononucleosis: evidence from a family study of hospitalized cases in Denmark / K. Rostgaard, J. Wohlfahrt, H. Hjalgrim // *Clin. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 58 (12). – P. 1684-1689.
- Complete genomic sequence of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma cell line C666-1 / K. K. Tso, K. Y. Yip, C. K. Mak [et al.] // *Infect. Agent. Cancer.* – 2013. – Vol. 8 (1). – P. 29. doi: 10.1186/1750-9378-8-29.

References

- Dunmire, S.K., Hogquist, K.A., & Balfour, H.H. (2015). Infectious mononucleosis. *Curr. Top Microbiol. Immunol.*, 390 (Pt 1), 211-240.
- Langer-Gould, A., Wu, J., Lucas, R., Smith, J., Gonzales, E., & Amezcua, L. (2017). Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and multiple sclerosis susceptibility: A multiethnic study. *Neurology*, 89 (13), 1330-1337.
- Ali, A.S., Al-Shraim, M., Al-Hakami, A.M., & Jones, I.M. (2015). Epstein-Barr virus: Clinical and epidemiological revisits and genetic basis of oncogenesis. *Open Virol. J.*, 9, 7-28.
- Cunha, B.A., Petelin, A., & George, S. (2013). Fever of unknown origin (FUO) in an elderly adult due to Epstein-Barr virus (EBV) presenting as «typhoidal mononucleosis», mimicking a lymphoma. *Heart Lung*, 42 (1), 79-81.
- Abbott, R.J., Quinn, L.L., Leese, A.M., Scholes, H.M., Pachnio, A., & Rickinson, A.B. (2013). CD8⁺ T cell responses to lytic EBV infection: late antigen specificities as subdominant components of the total response. *J. Immunol.*, 191, 5398-5409. doi: 10.4049/jimmunol.1301629.
- Bobruk, S.V. (2017). The degree of indicators level violation of local immunity in children with infectious mononucleosis. *Journal of Education, Health and Sport*, 3, 576-585.
- Azzi, T., Lunemann, A., Murer, A., Ueda, S., Beziat, V., Malmberg, K.J. ... Nadal, D. (2014). Role for early-differentiated natural killer cells in infectious mononucleosis. *Blood*, 124, 2533-2543. doi: 10.1182/blood-2014-01-553024.
- Balfour, H.H.Jr., Odumade, O.A., Schmeling, D.O., Mullan, B.D., Ed, J.A., Knight, J.A. ... Hogquist, K.A. (2013). Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students. *J. Infect. Dis.*, 207, 80-88. doi: 10.1093/infdis/jis646.
- Chijioke, O., Muller, A., Feederle, R., Barros, M.H., Krieg, C., Emmel, V. ... Munz, C. (2013). Human natural killer cells prevent infectious mononucleosis features by targeting lytic Epstein-Barr virus infection. *Cell Rep.*, 5, 1489-1498. doi: 10.1016/j.celrep.2013.11.041.
- Engemann, I., Nasser, H., Belmiloudi, S., Le Guern, R., Dewilde, A., Valle, L., Hober, D. (2013). Clinically severe Epstein-Barr virus encephalitis with mild cerebrospinal fluid abnormalities in an immunocompetent adolescent: a case report. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 76(2):232-4.
- Rickinson, A.B., & Fox, C.P. (2013). Epstein-Barr virus and infectious mononucleosis: what students can teach us. *J. Infect. Dis.*, 207 (1), 6-8.
- Rostgaard, K., Wohlfahrt, J., Hjalgrim, H. (2014). A genetic basis for infectious mononucleosis: evidence from a family study of hospitalized cases in Denmark. *Clin. Infect. Dis.*, 58(12):1684-9. [Medline].
- Tso, K.K., Yip, K.Y., Mak, C.K., Chung, G.T., Lee, S.D., Cheung, S.T. ... Lo, K.W. Complete genomic sequence of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma cell line C666-1. *Infect. Agent. Cancer.*, 8 (1), 29. doi: 10.1186/1750-9378-8-29.

INFLUENCE OF STREPTOCOCCUS OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE NASOPHARYNX ON THE CYTOKINE RESPONSE OF CHILDREN WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

O.V. Huz, S.V. Kuznietsov

Kharkiv National Medical University

SUMMARY. *The aim of the study* – to determine the value of the presence of streptococcus in the nasal and oropharyngeal mucosa in the blood interleukins of children with MI.

Patients and methods. *The study included 60 children aged three to seven years, patients with mononucleosis who were hospitalized at Kharkiv Regional Children's Infectious Clinical Hospital. The diagnosis of mononucleosis was confirmed on the basis of positive results of the search for disease markers by ELISA and PCR. In 30 children (group 1), bacterial examination of the nasal and oropharyngeal mucosa isolated Streptococcus pyogenes in concentrations of 10^5 and above. The group 2 (30 children) was not detected on the nasal and oropharyngeal mucosa. The immune status of patients was assessed by the levels of interleukins 1β , 4, TNF. Determination of the content of interleukins in the blood of patients with mononucleosis of children was carried out in the acute period (1-2 days of the disease) and in the period of early convalescence (7–10 days).*

Results and conclusions. *Analysis of the results of the survey found that the presence of streptococcus patients with mucous membrane of the nasal and oropharynx in*

the acute period of infectious mononucleosis leads to a more pronounced reaction of proinflammatory interleukins of their blood and – inhibition of the response of anti-inflammatory interleukin 4 ($P < 0.05$). In the future – there is a slow decrease in the levels of interleukin 1, TNF- α and inhibition of the increase in the content of IL-4.

Key words: *children; infectious mononucleosis; clinic; streptococcus; immunity.*

Відомості про авторів:

Гузь Олена Валеріївна – аспірант кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету; e-mail: guz.elena.doctor@gmail.com

Кузнецов Сергій Володимирович – д. мед. н., професор, завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету; e-mail: diknmu@gmail.com

Information about authors:

Huz O.V. – Ph.D student of the department of Pediatric Infectious Diseases, Kharkiv National Medical University; e-mail: guz.elena.doctor@gmail.com

Kuznietsov S.V. – MD, Professor, head of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Kharkiv National Medical University; e-mail: diknmu@gmail.com

Конфлікт інтересів: немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 10.09.2019 р.