

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ ПРИ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

А.Н. Оськин, С.Г. Горбунов, Л.Н. Мазанкова, С.А. Луговская, Е.В. Наумова, М.Е. Почтарь
Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва,
Россия

Clinical and immunological efficacy of interferonotherapy in rotavirus infection in infants

A.N. Os'kin, S.G. Gorbunov, L.N. Mazankova, S.A. Lugovskaya, E.V. Naumova, M.E. Pochtar'
Russian Medical Academy of Continuig Professional Education, Moscow, Russia

Резюме

Цель: совершенствование комплексной терапии ротавирусной инфекции у детей раннего возраста посредством включения препарата интерферона и оценки его клинико-иммунологической эффективности.

Материалы и методы. Дети без инфекционной патологии и с ротавирусной инфекцией, находившиеся на стандартной терапии и лечении, включающем стандартную терапию и препарат интерферона (по 20 в каждой группе), обследованы с применением общеклинических методов. Диагностика ротавирусной инфекции проводилась молекулярно-генетическим методом и иммунохроматографически. Показатели клеточного иммунитета определялись методом проточной цитометрии. Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы STATISTICA 8.0 для связанных и независимых выборок с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни и χ^2 .

Результаты. У всех детей с ротавирусной инфекцией заболевание протекало в среднетяжелой форме с симптомами эксикоза II степени. В группе пациентов, получавших в составе комплексной терапии дополнительно препарат интерферона, продолжительность симптомов интоксикации наблюдалась достоверно меньше, а в гемограмме при выписке из стационара относительное содержание нейтрофилов было выше и моноцитов ниже по сравнению с детьми, находившимися лишь на стандартном лечении, что соответствовало норме. В острый период ротавирусной инфекции относительный уровень лимфоцитов снижался, а NK-клеток и T-NK-клеток повышался по сравнению со здоровыми детьми. Относительное количество клеток, экспрессирующих TLR-3, в начале заболевания было ниже, чем в группе контроля. Включение в комплексную терапию препарата интерферона способствует нормализации относительного количества NK-клеток при сохранении повышенного содержания T-NK-клеток как в относительном, так и в абсолютном выражении по сравнению со здоровыми детьми, и пониженного содержания клеток, экспрессирующих TLR-3.

Заключение. В настоящее время ротавирусная инфекция у детей раннего возраста протекает типично, наиболее выраженным и длительно сохраняющимся клиническим симптомом заболевания является водянистая

Abstract

Purpose: to improve the complex therapy of rotavirus infection in infants by including interferon and to evaluate its clinical and immunological effectiveness.

Materials and methods. Infants without infectious pathology and with rotavirus infection, who were on standard therapy and treatment, including standard therapy and interferon (20 in each group), were examined using general clinical methods. The diagnosis of rotavirus infection was carried out by molecular-genetic method and immunochromatography. Indicators of cellular immunity were determined by flow cytometry. Statistical processing of the results was carried out using the STATISTICA 8.0 program for related and independent samples using the nonparametric Mann-Whitney test and χ^2 .

Summary. In all infants with rotavirus infection, the disease occurred in a moderate form with symptoms of grade II exicosis. In the group of patients who received an additional interferon drug as part of complex therapy, the duration of intoxication symptoms was significantly less, and in the hemogram at discharge from the hospital, the relative content of neutrophils was higher and monocytes lower compared to infants who were only on standard treatment, which corresponded to the norm. In the acute period of rotavirus infection, the relative level of lymphocytes decreased, and NK cells and T-NK cells increased compared to healthy infants. The relative number of cells expressing TLR-3 at the beginning of the disease was lower than in the control group. The inclusion of interferon in the complex therapy contributes to normalization of the relative number of NK cells, while maintaining an increased content of T-NK cells in both relative and absolute terms compared to healthy infants, and a reduced content of cells expressing TLR-3.

Conclusion. Currently, rotavirus infection in infants is typical, the most pronounced and long-lasting clinical symptom of the disease is watery diarrhea. The use of interferon in complex therapy helps to reduce the duration of intoxication and normalize the hemogram. Changes in the immune status in the acute period of rotavirus infection indicate increased antigenic stimulation of the cell link and inhibition of the synthesis of pro-inflammatory cytokines, including interferons, under the influence of rotavirus, which is the justification for the use of interferon therapy.

диарея. Применение в комплексной терапии препарата интерферона способствует сокращению длительности интоксикации и нормализации гемограммы. Изменения иммунного статуса в острый период ротавирусной инфекции свидетельствуют о повышенной антигенной стимуляции клеточного звена и угнетении под влиянием ротавируса синтеза провоспалительных цитокинов, в том числе интерферонов, что является обоснованием применения интерферонотерапии.

Ключевые слова: ротавирусная инфекция, клиническая характеристика, интерферонотерапия, клеточный иммунитет, TLR, *gcmi*.

Введение

Одним из наиболее частых заболеваний, особенно в раннем детском возрасте, является ротавирусная инфекция. Несмотря на то, что иммунизация против нее уже в течение нескольких лет введена в Национальный календарь профилактических прививок, заболеваемость ротавирусной инфекцией, хотя и постепенно снижается, но остается еще на довольно высоком уровне [1]. Связано это, вероятно, с тем, что в настоящее время по финансовым причинам нет возможности обеспечить единственной зарегистрированной в России против этого заболевания вакциной зарубежного производства весь подлежащий иммунизации контингент детей, в связи с чем пациенты с ротавирусной инфекцией по-прежнему составляют значительную часть среди госпитализированных в детские инфекционные стационары.

Несмотря на хорошо изученный механизм развития диареи при ротавирусной инфекции, остаются не вполне ясными причины тяжелого течения и неблагоприятных исходов и последствий этого заболевания [2]. Одной из наиболее вероятных версий таких особенностей течения ротавирусной инфекции является состояние иммунной системы и, в частности, клеточного звена иммунитета, обеспечивающего защиту макроорганизма от различных инфекционных агентов. Так, известно, что иммунитет детей раннего возраста не в состоянии полностью защитить макроорганизм от большинства патогенов, поскольку необходимое для этого количество плазматических клеток наблюдается лишь на 2-м году жизни [3].

Важную протективную роль среди всех Т-хелперов играют CD4+ клетки, поскольку именно они контролируют запуск и клеточно-, и гуморально-опосредованного адаптивного иммунного ответа. Установлено, что CD4+ клетки и антиротавирусные антитела максимально способствуют элиминации ротавируса из макроорганизма, при этом CD4+ клетки оказывают этот эффект быстрее, что сопровождается выраженным снижением у детей с ротавирусной инфекцией как данной субпопуляции, так и Т-хелперов в целом, приводя

Key words: rotavirus infection, clinical characteristics, interferonotherapy, cellular immunity, TLR, infants.

к дисбалансу Т-хелперного ответа [4]. CD4+ клетки важны как при первичном инфицировании ротавирусом, так и при повторной инфекции, а также при вакцинации против этого заболевания [5]. Установлено, что у детей, в отличие от взрослых, при ротавирусной инфекции отмечается достаточно низкое содержание CD4+ клеток, которые вырабатывают γ -интерферон, а их функциональная активность также невелика [6].

Как удалось выяснить в эксперименте на мышах, незрелые NK-клетки обладают низкой цитотоксичностью к холангиоцитам, инфицированным ротавирусом, что вызывает персистенцию данного микроорганизма в желчных путях. По мере старения животных NK-клетки созревали, и их цитотоксичность по отношению к инфицированным ротавирусом клеткам увеличивалась, итогом чего являлось формирование атрезии желчных путей [7].

До сих пор не вполне понятна роль мононуклеаров периферической крови (лимфоцитов, моноцитов и дендритных клеток) в защите организма от ротавируса. Исследование изменения экспрессии генов в мононуклеарах периферической крови было проведено у новорожденных макаков-резус, которым внутривентрикулярно вводили штамм ротавируса Monkey SA11 (G3P[2]) и человеческий дикий штамм ротавируса ZTR-68 (G1P[8]). Наблюдавшийся в результате этого патологический процесс характеризовался соответствующими изменениями в тонкой кишке с развитием цитокиновых и хемокиновых «бурь», в результате чего ротавирус стремился ускользнуть от реакции на него иммунной системы [8].

Распознавание РНК-содержащих вирусов, в том числе и ротавируса, происходит посредством активации toll-like рецепторов в основном 2 типов — TLR-3, TLR-7, что обеспечивает последующий адекватный врожденный и адаптивный иммунный ответ. TLR экспрессируются на многих типах клеток, но в основном на антигенпрезентирующих клетках, например, моноцитах, макрофагах и дендритных клетках. Лигандами для TLR-3 и TLR-7 являются, соответственно, двухцепочечная

и одноцепочечная вирусные РНК, которые они способны распознавать во время репликации. Активация TLR индуцирует продукцию интерферона типа I через несколько сигнальных путей, которые приводят к противовирусным и провоспалительным ответам цитокинов и индукции адаптивных иммунных реакций. В целом, TLR являются одними из наиболее мощных модуляторов клеточного звена иммунитета [9].

Взаимодействие между клетками слизистой оболочки кишечника и иммунокомпетентными клетками при ротавирусной инфекции изучалось у новорожденных детей с естественным течением заболевания и в эксперименте на мышах, зараженных этим возбудителем. В обоих случаях наблюдалась активация в клетках ЖКТ TLR-3 с последующим синтезом провоспалительных цитокинов, приводящих к увеличению локального повреждения тканей и иммунопатологии [10]. В клетках эпителия слизистой оболочки ЖКТ в острый период ротавирусной инфекции резко возрастает уровень экспрессии TLR-3, но не TLR-7, что носит, вероятно, защитный характер. Применение метода биопсии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки у детей старше 5 лет позволило продемонстрировать достоверно более высокий уровень экспрессии TLR-3, коррелирующий с высокой резистентностью к ротавирусу [2].

У мышей, не имевших TLR-3, отмечался более высокий уровень нагрузки организма ротавирусом по сравнению с животными в естественных условиях [11]. Проявления колита были существенно менее выражены при введении мышам агонистов TLR-3, TLR-7 или инактивированного ротавируса. Мыши, у которых наблюдался дефицит TLR-3 и TLR-7, оказались более восприимчивы к повреждающему действию декстрансульфата натрия на колоноциты. Выделенные из пораженного кишечника мышей плазмацитоидные дендритные клетки вырабатывали β -интерферон с участием TLR-3 и TLR-7, что способствовало протективному эффекту в отношении клеток слизистой оболочки ЖКТ и подчеркивало важное значение TLR-3 и TLR-7 в механизмах иммунного ответа при подобных состояниях [12]. Показано, что в инфицированных ротавирусами клетках бычьего кишечного эпителия происходила TLR-3-опосредованная иммунная реакция с индукцией β -интерферона и регуляцией синтеза провоспалительных цитокинов [13].

Немногочисленные попытки использовать препараты интерферона с целью коррекции иммунных нарушений у детей при ротавирусной инфекции предпринимались ранее отдельными исследователями. Так, например, в работе Майковой И.Д. (2007 г.) была показана роль системы интерферонов и ряда других факторов гуморального

иммунитета, а также фагоцитоза в защите организма ребенка как в острый период ротавирусной инфекции, так и в период ранней реконвалесценции, а также продемонстрированы возможности коррекции выявленных нарушений в иммунитете препаратом человеческого рекомбинантного α_{2b} -интерферона [14]. Сохранение низкого уровня α/γ -интерферонов, индуцированных при клиническом выздоровлении детей, в том числе и раннего возраста, как показано автором, свидетельствует о низкой функциональной активности интерферонов и длительности процессов иммуносупрессии, что влияет на выбор тактики иммунотерапии с применением препаратов интерферона как в остром периоде ротавирусной инфекции, так и в периоде реконвалесценции. Было показано, что человеческий рекомбинантный α_{2b} -интерферон в качестве дополнения к базисной терапии снижает содержание провоспалительных цитокинов — интерлейкина-1 и интерлейкина-6 — и повышает количество индуцированного α/γ -интерферона до нормы у детей с ротавирусной инфекцией, что сопровождалось достоверно более быстрым купированием симптомов интоксикации по сравнению со стандартной терапией. При этом каких-либо нежелательных побочных эффектов при применении интерферонотерапии у детей различного возраста, в том числе и 1-го года жизни, зарегистрировано не было. Это послужило основанием рекомендовать применение человеческого рекомбинантного α_{2b} -интерферона детям любого возраста в комплексе этиопатогенетической терапии ротавирусной инфекции.

Новокшеновым А.А. (2010 г.) рекомендовалось к использованию лекарственное средство, представляющее собой комбинацию комплексного иммунного препарата (КИП) с человеческим рекомбинантным α -интерфероном у детей в возрасте от 1 месяца в комплексной терапии острых кишечных инфекций (ОКИ) различной этиологии, в том числе и ротавирусной инфекции [15].

Цель исследования – совершенствование комплексной терапии ротавирусной инфекции у детей раннего возраста посредством включения препарата интерферона и оценка его клинико-иммунологической эффективности.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением в Детской городской клинической больнице (ДГКБ) № 9 им. Г.Н. Сперанского и Детской городской больнице (ДГКБ) им. З.А. Башляевой в 2020–2021 гг. находилось 60 детей от 1 месяца до 3 лет, которые были разделены на 3 группы, сопоставимые между собой по возрасту и полу: 20 пациентов с ротавирусной

инфекцией в исследуемой группе, находившихся на стандартном лечении, еще 20 больных, получавших, наряду с общепринятой, дополнительно интерферонотерапию, и такое же количество детей без инфекционной патологии, госпитализированных в соматические отделения указанных стационаров, составивших группу контроля. Диагноз ротавирусной инфекции устанавливался путем обнаружения в фекалиях РНК ротавируса методом ПЦР и антигена данного микроорганизма методом иммунохроматографии в лабораториях указанных стационаров.

Субпопуляции иммунокомпетентных клеток определялись методом проточной цитометрии на приборе «Navios™ BC» с использованием реагентов фирмы «Beckman Coulter» сотрудниками кафедры клинической лабораторной диагностики Академического образовательного центра Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО) (профессор С.А. Луговская, доцент Е.В. Наумова, доцент М.Е. Почтарь) у пациентов с ротавирусной инфекцией дважды (при поступлении и в динамике при выписке из стационара), а у детей контрольной группы — однократно. Кроме того, всем детям с ротавирусной инфекцией проводилось общеклиническое динамическое обследование, клинические анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, ионограмма, определение кислотно-щелочного состояния (КЩС), бактериологический посев кала, копрограмма, УЗИ органов брюшной полости, по показаниям пациенты консультированы аллергологом, оториноларингологом, пульмонологом.

У всех обследуемых детей исключались сопутствующие тяжелые соматические заболевания в стадии декомпенсации, наследственные генетические заболевания, иммунодефицитные состояния, а также прием антибактериальных и/или иммуномодулирующих препаратов, пробиотиков за 1 месяц до настоящего исследования. Пациенты с ротавирусной инфекцией получали лечение согласно официально утвержденным стандартам и клиническим рекомендациям, а также дополнительно препарат человеческого рекомбинантного α_2 -интерферона (ВИФЕРОН®, ООО «Ферон», Россия) по 150 тысяч МЕ 2 раза/сутки курсом 5 дней ректально. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом.

Количественные признаки выражали в виде среднего значения показателей (M) и стандартной ошибки (m). Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы STATISTICA 8.0 для связанных и независимых выборок с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни и χ^2 .

Результаты и обсуждение

Пациенты с ротавирусной инфекцией в исследуемой группе были госпитализированы в стационар на 1–2-е сутки от начала заболевания. Их средний возраст оказался $20,1 \pm 1,9$ месяца. Из 20 детей было 9 мальчиков (45%) и 11 девочек (55%). У 65% детей болезнь развилась на неблагоприятном преморбидном фоне, из них по 5% отмечалась анемия смешанной этиологии легкой степени, пищевая аллергия и внебольничная очаговая пневмония, а также у 50% — ОРВИ, что достоверно чаще относительно 5% в группе пациентов на стандартной терапии (при $p = 0,001$ по критерию χ^2). Анамнестические данные свидетельствуют о том, что 15% детей вакцинированы не полностью, как все остальные, а по индивидуальному календарю. Семейный контакт с больным ОКИ отмечался у 15% пациентов, что достоверно реже, чем у 50% детей, получавших общепринятое лечение ($p = 0,05$ по критерию χ^2).

Заболевание характеризовалось лихорадкой у 85% пациентов, достигавшей в среднем $38,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$ и сохранявшейся на протяжении $2,5 \pm 0,3$ суток. Интоксикация наблюдалась у 100% детей в среднем в течение $2,7 \pm 0,1$ суток, что достоверно менее продолжительно относительно пациентов, получавших лишь стандартное лечение без иммунотерапии (табл. 1). Симптомы эксикоза II степени (сухость кожи, губ и языка, снижение тургора мягких тканей, жажда) отмечались у всех больных в среднем $2,0 \pm 0,2$ суток. Рвота регистрировалась в 80% случаев, максимально $5,6 \pm 1,0$ раз/сутки в течение $1,5 \pm 0,2$ суток. Боли в животе без возможности определения их четкой локализации вследствие раннего возраста пациентов беспокоили лишь 5% из них на протяжении $3,0 \pm 0,0$ суток. Метеоризм зафиксирован у всех детей в среднем $2,8 \pm 0,2$ суток. Водянистая диарея наблюдалась в 100% случаев, максимально $6,1 \pm 1,0$ раза/сутки. Стул у пациентов нормализовывался в среднем на $5,4 \pm 0,4$ сутки. У 85% больных в стуле была слизь и у 65% — зелень, у 5% — примесь крови, что свидетельствовало о микст-инфекции, когда к ротавирусу присоединялись бактериальные патогены, определить которые не удалось, поскольку во всех указанных случаях бактериологический посев кала роста не дал. У 95% детей в стуле присутствовали непереваренные комочки, у 85% отмечался кислый запах испражнений. Олигурия, развивающаяся, как и описанные выше симптомы, при эксикозе, наблюдалась в 100% случаев в среднем на протяжении $1,2 \pm 0,1$ суток.

По данным клинического анализа крови у пациентов с ротавирусной инфекцией при госпитализации лейкоцитоз зафиксирован у 35% в среднем на уровне $9,5 \pm 1,0 \times 10^9/\text{л}$. К моменту выписки из стационара только у 5% детей количество лейко-

цитов периферической крови превышало норму, в среднем же оно составило $6,7 \pm 0,9 \cdot 10^9/\text{л}$. Нейтрофилез в первые дни болезни наблюдался у половины пациентов в среднем $51,8 \pm 3,7\%$, в динамике содержание нейтрофилов в лейкоцитарной формуле оставалось повышенным лишь у 10%, а среднее значение нормализовалось — $39,4 \pm 5,8\%$, что достоверно выше, чем в группе детей на стандартной терапии — $16,6 \pm 3,1\%$. Лимфоцитоз при поступлении пациентов в стационар отмечался у 10% при среднем количестве лимфоцитов $24,1 \pm 3,5\%$, тогда как при выписке он наблюдался у 25% при возрастании среднего содержания клеток до $49,6 \pm 6,1\%$, что характерно для ранней реконвалесценции при

вирусных инфекциях. Моноцитоз зарегистрирован в начале болезни у 35% детей в среднем на уровне $6,8 \pm 0,8\%$, а на 5-е сутки — у 15% в количестве $7,9 \pm 2,0\%$ (табл. 2).

С-реактивный белок (СРБ) в момент госпитализации был повышен у 35% пациентов в среднем до $10,3 \pm 6,3 \text{ мг/л}$, при выписке он вернулся к нормальным значениям у всех детей — $0,2 \pm 0,1 \text{ мг/л}$. Отклонений в концентрации Na^+ , K^+ и Cl^- в ионограмме не зафиксировано. Метаболический ацидоз наблюдался при поступлении в 5% случаев, а в динамике у всех детей уровни pH и BE возвращались к нормальным значениям — $7,3 - 7,42$ и от -2 до -7 соответственно.

Таблица 1

Частота развития и длительность основных клинических симптомов ротавирусной инфекции

Симптом	Дети на стандартной терапии, n = 20		Дети на стандартной и интерферонотерапии, n = 20	
	Частота развития, %	Длительность, сутки	Частота развития, %	Длительность, сутки
Лихорадка	80	$2,5 \pm 0,3$	85	$2,5 \pm 0,3$
Интоксикация	100	$3,1 \pm 0,1$	100	$2,7 \pm 0,1^*$
Сухость губ и языка	100	$2,3 \pm 0,2$	100	$2,2 \pm 0,2$
Сухость кожи	100	$2,3 \pm 0,2$	100	$1,9 \pm 0,1$
Снижение тургора мягких тканей	100	$2,0 \pm 0,2$	100	$1,8 \pm 0,1$
Жажда	100	$2,3 \pm 0,1$	100	$2,2 \pm 0,2$
Рвота	95	$1,8 \pm 0,2$	80	$1,5 \pm 0,2$
Боли в животе	25	$0,9 \pm 0,3$	5	$3,0 \pm 0,0$
Метеоризм	95	$3,1 \pm 0,2$	100	$2,8 \pm 0,2$
Диарея	100	$4,8 \pm 0,6$	100	$5,4 \pm 0,4$
Олигурия	90	$1,4 \pm 0,2$	100	$1,2 \pm 0,1$

* — $p < 0,05$ по критерию χ^2 к группе детей на стандартной терапии.

Таблица 2

Гемограмма у пациентов с ротавирусной инфекцией

Показатель	Дети на стандартной терапии, n = 20		Дети на стандартной и интерферонотерапии, n = 20	
	Частота развития, %	Среднее значение	Частота развития, %	Среднее значение
Лейкоцитоз при поступлении	50	$10,3 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$	35	$9,5 \pm 1,0 \times 10^9/\text{л}$
Лейкоцитоз при выписке	0	$7,3 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$	5	$6,7 \pm 0,9 \times 10^9/\text{л}$
Нейтрофилез при поступлении	65	$61,1 \pm 3,6\%$	50	$51,8 \pm 3,7\%$
Нейтрофилез при выписке	0	$16,6 \pm 3,1\%$	10	$39,4 \pm 5,8\%^{**}$
Лимфоцитоз при поступлении	20	$25,4 \pm 4,2\%$	10	$24,1 \pm 3,5\%$
Лимфоцитоз при выписке	20	$54,1 \pm 5,7\%$	25	$49,6 \pm 6,1\%$
Моноцитоз при поступлении	55	$11,7 \pm 1,0\%$	35	$6,8 \pm 0,8\%^{***}$
Моноцитоз при выписке	40	$14,8 \pm 1,4\%$	15	$7,9 \pm 2,0\%^{**}$

** — $p < 0,01$ по критерию χ^2 , *** — $p < 0,001$ по критерию χ^2 , # — $p < 0,05$ по критерию Манна – Уитни, ** — $p < 0,01$ по критерию Манна – Уитни, *** — $p < 0,001$ по критерию Манна – Уитни к группе детей на стандартной терапии.

В копрограмме отмечалась креаторея (мышечные волокна повышены у 95%), стеаторея II типа (жирные кислоты в избытке у 55%), амилорея (содержания крахмала выше нормы у 80%). Непереваренная клетчатка обнаружена при микроскопии во всех исследуемых образцах кала, йодофильная флора, косвенно свидетельствующая о дисбиозе микрофлоры ЖКТ, в 65% и повышение количества лейкоцитов в пределах 7–25 в поле зрения у 15% детей.

В среднем дети провели в стационаре $5,4 \pm 0,4$ койко-дня. Инфузионную терапию глюкозо-солевыми растворами с целью регидратации и коррекции эксикоза II степени получали 85% пациентов в среднем на протяжении $2,7 \pm 0,4$ суток. Антибиотики вводили в 35% случаев (цефтриаксон и цефотаксим по 10%, фуразолидон – 15%) в среднем в течение $5,3 \pm 0,3$ суток.

Изучение показателей клеточного иммунитета у пациентов с ротавирусной инфекцией, получав-

ших, наряду со стандартным лечением, интерферонотерапию, в динамике показало следующие результаты (табл. 3).

Общее количество лейкоцитов при поступлении сохранялось на уровне верхней границы нормы, а в динамике несколько снижалось, не выходя за допустимые рамки. Относительное содержание лимфоцитов в начале заболевания достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой, но на 5-й день подрастало, не достигая, однако, значений, аналогичных у детей без инфекционной патологии. Абсолютное содержание лимфоцитов как до лечения, так и после проведенного курса терапии было немного выше, чем у здоровых детей, эти различия оказались незначимы.

Количество CD3+ (Т-лимфоциты) в относительных величинах в дебюте ротавирусной инфекции несколько уменьшалось относительно детей группы контроля, а затем возрастало практически

Таблица 3

Показатели клеточного звена иммунитета у детей раннего возраста с ротавирусной инфекцией, получавших стандартное лечение и интерферонотерапию

Показатель	Группа контроля, n = 20	Дети с ротавирусной инфекцией, n = 20	
		при поступлении	при выписке
Лейкоциты (абс.)	$8,2 \pm 0,4$	$9,1 \pm 0,8$	$7,5 \pm 0,6$
Лимфоциты (отн.)	$56,7 \pm 2,0$	$40,4 \pm 4,7^* \#$	$47,9 \pm 4,8$
Лимфоциты (абс.)	$4,7 \pm 0,9$	$5,3 \pm 1,5$	$5,2 \pm 1,5$
CD3+ (отн.)	$62,4 \pm 1,5$	$55,3 \pm 2,5$	$60,4 \pm 2,5$
CD3+ (абс.)	$2,9 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,8$	$6,4 \pm 3,3$
CD4+ (отн.)	$39,5 \pm 1,6$	$34,3 \pm 2,4$	$36,8 \pm 2,2$
CD4+ (абс.)	$1,8 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,6$	$1,9 \pm 0,5$
CD8+ (отн.)	$18,7 \pm 1,2$	$16,9 \pm 1,2$	$18,7 \pm 2,0$
CD8+ (абс.)	$0,9 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,5$
CD4+ /CD8+	$2,3 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,3$
CD16,CD56+ (отн.)	$11,8 \pm 1,1$	$19,0 \pm 3,2^* \#$	$13,0 \pm 2,0^{**}$
CD16,CD56+ (абс.)	$0,5 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,6$	$2,4 \pm 1,1$
CD3/CD16,CD56+ (отн.)	$5,6 \pm 0,9$	$9,8 \pm 0,8^* \#$	$10,8 \pm 1,4^* \#$
CD3/CD16,CD56+ (абс.)	$0,2 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,4 \#$
CD19+ (отн.)	$25,0 \pm 1,5$	$29,6 \pm 2,5$	$25,2 \pm 2,7$
CD19+ (абс.)	$1,2 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,5$	$2,3 \pm 1,4$
CD4+CD25+ (отн.)	$8,1 \pm 0,5$	$8,3 \pm 0,7$	$9,4 \pm 0,6$
CD4+CD25+ (абс.)	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,2$
CD3+ /HLA-DR+ (отн.)	$8,9 \pm 0,7$	$10,5 \pm 0,8$	$11,2 \pm 0,8$
CD3+ /HLA-DR+ (абс.)	$0,4 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,2$
CD3+ TLR-3 (отн.)	$13,4 \pm 1,2$	$9,3 \pm 0,7^* \#$	$10,3 \pm 0,9^* \#$
CD3+ TLR-3 (абс.)	$0,6 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,1$
CD3+ TLR-7 (отн.)	$13,8 \pm 1,5$	$12,9 \pm 1,5$	$11,8 \pm 1,6$
CD3+ TLR-7 (абс.)	$0,7 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,2$

* – $p < 0,05$ по критерию χ^2 к группе контроля, # – $p < 0,05$ по критерию Манна – Уитни к группе контроля, ** – $p < 0,05$ по критерию χ^2 к исследованию при поступлении в стационар.

до нормальных значений. В абсолютном выражении этот показатель оставался при поступлении пациентов в стационар таким же, как у здоровых детей, в динамике увеличивался более чем в 2 раза, но это не было значимо.

Количество CD4+ клеток (Т-хелперы) на протяжении всего периода наблюдения оставалось без существенной динамики, практически не отличаясь от группы контроля. Аналогичным было содержание CD8+ клеток (цитотоксические Т-лимфоциты) с той лишь разницей, что на фоне лечения абсолютное их количество увеличивалось в 1,5 раза, превышая уровень контрольной группы, но эти различия оказались недостоверны. Соотношение CD4+/CD8+ клеток (иммунорегуляторный индекс) у пациентов с ротавирусной инфекцией во все периоды заболевания было сопоставимо с таковым у здоровых детей.

Относительное количество CD16,CD56+ (NK-клетки) в первые дни от начала заболевания было достоверно выше по сравнению со здоровыми детьми, а затем на фоне комплексного лечения, включающего интерферонотерапию, возвращалось до уровня, соответствующего группе контроля ($p < 0,05$ по критерию χ^2), тогда как в абсолютном выражении сохранялась тенденция к росту, но достоверных различий не наблюдалось. Содержание CD3+/CD16,CD56+ (Т-NK-клетки) как в относительном, так и в абсолютном выражении достоверно возрастало по сравнению с детьми без инфекционной патологии.

У пациентов с ротавирусной инфекцией в острый период заболевания количество CD19+ клеток (В-лимфоциты) в относительных величинах слегка увеличивалось по сравнению с контрольной группой и затем возвращалось к исходным значениям, тогда как в абсолютных цифрах тенденция к росту в динамике сохранялась, но это не было значимо. Количество CD4+CD25+ клеток (регуляторные Т-лимфоциты) и CD3+/HLA-DR+ (активированные Т-лимфоциты) у пациентов с ротавирусной инфекцией как в относительном, так и в абсолютном выражении также имело незначительную тенденцию к постоянному росту в сравнении с детьми без инфекционной патологии.

Количество иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих TLR-3, у пациентов с ротавирусной инфекцией с первых дней болезни уменьшалось и оставалось на низком уровне и далее в сравнении с контрольной группой, причем в относительном выражении эти различия были достоверны. Количество клеток с экспрессией TLR-7 в относительном значении у пациентов с ротавирусной инфекцией, получавших, наряду с традиционной, и интерферонотерапию, на протяжении всего периода наблюдения постепенно снижалось, но это не было значимо, а в абсолютном выражении оставалось практически без динамики.

На основании полученных данных четко видно, что ротавирусная инфекция у детей раннего возраста протекает типично, преимущественно в среднетяжелой форме с острым началом и последующим развертыванием характерной клинической симптоматики с максимальной выраженностью на 2–3-е сутки от начала заболевания. При этом диарея купировалась дольше всех остальных симптомов ротавирусной инфекции. Тяжесть состояния пациентов определялась, в основном, эксикозом II степени, о чем свидетельствовали сухость кожи, губ и языка, снижение тургора мягких тканей, жажда, олигурия и что согласуется с мнением других авторов [16].

Изменения в гемограмме, выражающиеся в нейтрофильном лейкоцитозе у 50% пациентов с последующим некоторым возрастанием количества лимфоцитов, а также умеренное повышение СРБ в начале болезни свойственны и другим вирусным инфекциям, особенно герпетической и энтеровирусной этиологии [17]. В нашем исследовании оказалось нехарактерным развитие обменно-метаболических нарушений, поскольку у детей в острый период ротавирусной инфекции не было зарегистрировано патологических изменений в ионограмме и наблюдались минимальные признаки метаболического ацидоза всего лишь в 5% случаев, что, возможно, объясняется немногочисленностью выборки или является чертой, присущей именно пациентам раннего возраста, что требует тщательного анализа и дополнительного изучения. Изменения в копрограмме соответствовали клинической картине заболевания, что отмечают и другие специалисты [18].

Весьма интересными оказались результаты, касающиеся клеточного звена иммунитета у детей с ротавирусной инфекцией. Нами установлено, что в первые дни заболевания количество лимфоцитов в целом было снижено по сравнению с детьми без инфекционной патологии, что согласуется с прочими авторами [19], тогда как содержание NK-клеток (натуральных киллеров) в эти сроки, наоборот, повышалось, что говорит об активации неспецифической иммунной защиты, в динамике оно уменьшалось практически до нормальных значений.

Количество Т-NK-клеток как до начала применения комбинации стандартной и интерферонотерапии, так и особенно в конце курса лечения прогрессивно нарастало и в относительном, и в абсолютном выражении. Такие изменения свидетельствуют о длительном персистировании антигенов ротавируса в организме и выраженной ответной иммунной реакции [20].

Трактовка экспрессии TLR-3 на Т-лимфоцитах у пациентов раннего возраста с ротавирусной инфекцией позволяет однозначно говорить об их

снижении в острый период заболевания по сравнению с группой контроля и сохранении этой тенденции на фоне проводимого комплексного лечения, включающего применение общепринятой схемы и интерферонотерапию, что свидетельствует об угнетении интерфероногенеза за счет иммуносупрессивных свойств возбудителя [21] и требует проведения соответствующей коррекции.

Дополнительное назначение детям раннего возраста с ротавирусной инфекцией в комплексе лечебных мероприятий интерферонотерапии способствует достоверному сокращению у них симптомов интоксикации, что отмечалось и другими авторами [14], а также неспецифической активации клеточного звена иммунитета, направленной на мягкую коррекцию выявленных иммунных нарушений в условиях высокой нагрузки антигенами ротавируса и иммуносупрессивного действия возбудителя, особенно на систему интерферона.

Выводы

1. В настоящее время ротавирусная инфекция у детей раннего возраста протекает типично, наиболее выраженным и длительно сохраняющимся клиническим симптомом заболевания является водянистая диарея.

2. Применение в комплексной терапии препарата интерферона способствует сокращению длительности интоксикации и нормализации гемограммы.

3. Изменения иммунного статуса в острый период ротавирусной инфекции свидетельствуют о повышенной антигенной стимуляции клеточного звена и угнетении под влиянием ротавируса синтеза провоспалительных цитокинов, в том числе интерферонов, что является обоснованием применения интерферонотерапии.

Источник финансирования исследования

Исследование выполнено при финансовой поддержке ООО «Ферон», которому была предоставлена возможность ознакомиться с предварительной версией этой публикации на предмет фактической точности, но авторы несут полную ответственность за окончательное содержание и интерпретацию.

Литература

1. Kyu H.H. Global and national burden of diseases and injuries among children and adolescents between 1990 and 2013. Findings from the global burden of disease 2013 study. / Kyu H.H., Pinho C., Wagner J.A., Brown J.C. // JAMA Pediatrics. 2016; 170(3): 267-287.
2. Абатуров, О.Е. Ротавирус-индуцированная активация механизмов защиты адаптивной иммунной системы организма ребенка / О.Е. Абатуров, Ю.Ю. Степанова // Гастроэнтерология. — 2015. — Т. 1, № 55. — С. 56–61.
3. Духовлинов И.В. Исследование протективной активности кандидатной вакцины против ротавирусной инфекции на основе рекомбинантного белка FliCVP6VP8 / И.В.

Духовлинов [и др.] // Медицинская иммунология. — 2016. — Т. 18, № 5. — С. 417–424.

4. Dong H. Changes in the cytokine expression of peripheral Treg and Th17 cells in children with rotavirus enteritis. / Dong H., Qu S., Chen X. et al. // Exp. Ther. Med. 2015; 10(2): 679-682.

5. Parra M. Circulating rotavirus-specific T-cells have a poor functional profile. / Parra M., Herrera D., Jacome M.F. et al. // Virology. 2014; 468-470: 340-350.

6. Луцкий, А.А. Интерферон-γ: биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа / А.А. Луцкий [и др.] // Журнал инфектологии. — 2015. — Т. 7, № 4. — С. 10–22.

7. Qiu Y. HMGB1-promoted and TLR2/4-dependent NK cell maturation and activation take part in rotavirus-induced murine biliary atresia. / Qiu Y., Yang J., Wang W. et al. // PLOS Pathogens. 2014; 10, Issue 3: 1-15.

8. Zhou Y. Immune and cytokine/chemokine responses of PBMCs in rotavirus-infected rhesus infants and their significance in viral pathogenesis. / Zhou Y., Qiao H., Yin N. et al. // J. Med. Virol. 2019; 91(8): 1448-1469.

9. Xu J. Expression of Toll-like receptors and their association with cytokine responses in peripheral blood mononuclear cells of children with acute rotavirus diarrhoea. / Xu J., Yang Y., Sun J. et al. // Clin. Exp. Immunol. 2006; 144(3):376-81.

10. Villena J. Intestinal innate antiviral immunity and immunobiotics: beneficial effects against rotavirus infection. / Villena J., Vizoso-Pinto M.G., Kitazawa H. // Front. Immunol. 2016; 7: 563.

11. Patel M.C. Novel drugs targeting toll-like receptors for antiviral therapy. / Patel M.C., Shirey K.A., Pletneva L.M. et al. // Future Virology. 2014; 9(9): 811-829.

12. Yang J.-Y. Enteric viruses ameliorate gut inflammation via toll-like receptor 3 and toll-like receptor 7 — mediated interferon- production. / Yang J.-Y., Kim M.-S., Kim E. et al. // Immunity. 2016; 44: 889-900.

13. Kobayashi H. Development of an in vitro immunobiotic evaluation system against rotavirus infection in bovine intestinal epitheliocytes. / Kobayashi H., Kanmani P., Ishizuka T. et al. // Beneficial Microbes. 2017; 8(2): 309-321.

14. Майкова, И.Д. Эффективность иммунобиологических препаратов при острых кишечных инфекциях у детей / И.Д. Майкова, Л.Н. Мазанкова, Т.А. Чеботарева // Материалы VI конгресса детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики». — СПб., 2007. — С. 99.

15. Новокшенов, А.А. Этиопатогенетическая терапия ОКИ вирусной этиологии у детей / А.А. Новокшенов // Медицинский совет. — 2010. — № 11–12. — С. 71–77.

16. Parashar U.D. Diagnosis, management, and prevention of rotavirus gastroenteritis in children. / Parashar U.D., Nelson E.A.S., Kang G. // BMJ. 2013; 347: f7204.

17. Ботвиньева, В.В. Современные возможности диагностики, профилактики и лечения энтеровирусной инфекции Коксаки у детей / В.В. Ботвиньева [и др.] // Педиатрическая фармакология. — 2012. — Т. 9, № 3. — С. 40–44.

18. Тимченко, В.Н. Особенности течения и лечения ротавирусной инфекции у детей / В.Н. Тимченко, Е.Б. Павлова, М.Д. Субботина // Лечащий врач. — 2011. — № 8. — С. 107–108.

19. Dong H. Changes in the cytokine expression of peripheral Treg and Th17 cells in children with rotavirus enteritis. / Dong H., Qu S., Chen X. et al. // Exp. Ther. Med. 2015; 10(2): 679-682.

20. Тхакушинова, Н.Х. Ротавирусная инфекция у детей / Н.Х. Тхакушинова // Эпидемиол. и инф. болезни. — 2012. — № 2. — С. 56–59.

21. Yang J.-Y. Enteric viruses ameliorate gut inflammation via toll-like receptor 3 and toll-like receptor 7 – mediated interferon- production. / Yang J.-Y., Kim M.-S., Kim E. et al. // Immunity. 2016; 44: 889-900.

References

- Kyu H.H., Pinho C., Wagner J.A., Brown J.C. Global and national burden of diseases and injuries among children and adolescents between 1990 and 2013. Findings from the global burden of disease 2013 study. JAMA Pediatrics. 2016; 170(3): 267-287.
- Abaturuv O.Ye., Stepanova Yu.Yu. Rotavirus-induced activation of defense mechanisms of the adaptive immune system of the child's body. Gastroenterologiya. 2015; 1(55): 56-61.
- Dukhovlinov I.V., Bogomolova E.G., Fedorova E.A., Simbirtsev A.S. Study of protective activity of candidate vaccine against rotavirus infection based on recombinant protein FliCVP6VP8. Meditsinskaya immunologiya. 2016; 18(5): 417-424.
- Dong H., Qu S., Chen X. et al. Changes in the cytokine expression of peripheral Treg and Th17 cells in children with rotavirus enteritis. Exp. Ther. Med. 2015; 10(2): 679-682.
- Parra M., Herrera D., Jacome M.F. et al. Circulating rotavirus-specific T-cells have a poor functional profile. Virology. 2014; 468-470: 340-350.
- Lutskiy A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu. et al. Interferon- γ : biological function and significance for the diagnosis of cellular immune response. Zhurnal Infektologii. 2015; 7(4): 10-22.
- Qiu Y., Yang J., Wang W. et al. HMGB1-promoted and TLR2/4-dependent NK cell maturation and activation take part in rotavirus-induced murine biliary atresia. PLOS Pathogens. 2014; 10, Issue 3: 1-15.
- Zhou Y., Qiao H., Yin N. et al. Immune and cytokine/chemokine responses of PBMCs in rotavirus-infected rhesus infants and their significance in viral pathogenesis. J. Med. Virol. 2019; 91(8): 1448-1469.
- Xu J., Yang Y., Sun J. et al. Expression of Toll-like receptors and their association with cytokine responses in peripheral blood mononuclear cells of children with acute rotavirus diarrhoea. Clin. Exp. Immunol. 2006; 144(3):376-81.
- Villena J., Vizoso-Pinto M.G., Kitazawa H. Intestinal innate antiviral immunity and immunobiotics: beneficial effects against rotavirus infection. Front. Immunol. 2016; 7: 563.
- Patel M.C., Shirey K.A., Pletneva L.M. et al. Novel drugs targeting toll-like receptors for antiviral therapy. Future Virology. 2014; 9(9): 811-829.
- Yang J.-Y., Kim M.-S., Kim E. et al. Enteric viruses ameliorate gut inflammation via toll-like receptor 3 and toll-like receptor 7 – mediated interferon- production. Immunity. 2016; 44: 889-900.
- Kobayashi H., Kanmani P., Ishizuka T. et al. Development of an in vitro immunobiotic evaluation system against rotavirus infection in bovine intestinal epitheliocytes. Beneficial Microbes. 2017; 8(2): 309-321.
- Maykova I.D., Mazankova L.N., Chebotareva T.A. The effectiveness of immunobiological drugs in acute intestinal infections in children. Materials of the VI congress of children's infectious diseases of Russia «Actual issues of infectious pathology and vaccine prevention». Saint-Petersburg, 2007: 99.
- Novokshonov A.A. Etiopathogenetic therapy of AII of viral etiology in children. Meditsinskiy sovet. 2010; 11-12: 71-77.
- Parashar U.D., Nelson E.A.S., Kang G. Diagnosis, management, and prevention of rotavirus gastroenteritis in children. BMJ. 2013; 347: f7204.
- Botvin'eva V.V., Namazova-Baranova L.S., Gordeeva O.B. et al. Modern possibilities of diagnosis, prevention and treatment of Coxsackie enterovirus infection in children. Pediatricheskaya farmakologiya. 2012; 9(3): 40-44.
- Timchenko V.N., Pavlova E.B., Subbotina M.D. Features of the clinic and treatment of rotavirus infection in children. Lechaschiy vrach. 2011; 8:107-108.
- Dong H., Qu S., Chen X. et al. Changes in the cytokine expression of peripheral Treg and Th17 cells in children with rotavirus enteritis. Exp. Ther. Med. 2015; 10(2): 679-682.
- Tkhakushinova N.Kh. Rotavirus infection in children. Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. 2012; 2: 56-59.
- Yang J.-Y., Kim M.-S., Kim E. et al. Enteric viruses ameliorate gut inflammation via toll-like receptor 3 and toll-like receptor 7 – mediated interferon- β production. Immunity. 2016; 44: 889-900.

Авторский коллектив:

Оськин Александр Николаевич – аспирант кафедры детских инфекционных болезней Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования; тел.: +7-915-198-69-69, e-mail: alksandr_oskin@mail.ru

Горбунов Сергей Георгиевич – профессор кафедры детских инфекционных болезней Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, д.м.н., доцент; тел.: +7-919-100-41-37, e-mail: gsgsg70@mail.ru

Мазанкова Людмила Николаевна – заведующая кафедрой детских инфекционных болезней Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, д.м.н., профессор; тел.: +7-903-628-92-42, e-mail: mazankova@list.ru

Луговская Светлана Алексеевна – профессор кафедры клинической лабораторной диагностики Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, д.м.н., профессор; тел.: +7-916-619-67-94, e-mail: slugovskaya@mail.ru

Наумова Елена Владимировна – доцент кафедры клинической лабораторной диагностики Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, к.м.н., доцент; тел.: +7(906)780-60-50, e-mail: e_naum@mail.ru

Почтарь Маргарита Евгеньевна – доцент кафедры клинической лабораторной диагностики Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, к.м.н., доцент; тел.: +7-916-515-56-73, e-mail: pochtar_m@mail.ru