

# Изучение Т-клеточного иммунитета, интерфероногенеза, медиаторов воспаления у детей с инфекцией, вызванной вирусом *Varicella zoster*

О. А. САБУРОВА, Д. М. СОБЧАК, К. А. ОТМАХОВА

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

**Цель:** Изучить содержание медиаторов иммунного ответа, показатели клеточного иммунитета у больных с инфекцией, вызванной вирусом *Varicella Zoster* с различными клинико-лабораторными показателями.

**Материалы и методы.** Определение ДНК VZV методом полимеразной цепной реакции проводилось на базе ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной».

**Результаты исследования.** Было показано, что у больных с опоясывающим герпесом (ОГ) значительно чаще регистрировалась ДНК VZV. У пациентов с ОГ содержание ИНФ- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ , CD-8+ было значительно ниже по сравнению с пациентами с неосложненным течением ветряной оспы.

**Обсуждение.** У больных с ветряной оспой, осложненной бактериальной инфекцией, уровень ИЛ-1 $\beta$  и CD-4+ был значительно ниже по сравнению с соответствующими показателями при неосложненном течении болезни. Это подтверждало формирование слабого иммунного ответа у больных с осложненными формами ветряной оспы, что способствовало присоединению вторичной инфекции.

**Выводы.** Снижение содержания медиаторов иммунного ответа и показателей клеточного иммунитета у детей с инфекцией, вызванной вирусом *Varicella Zoster*, свидетельствует о необходимости вакцинопрофилактики и профилактики бактериальных осложнений со стороны кожных покровов.

**Ключевые слова:** varicella zoster, провоспалительные медиаторы, интерфероны, интерлейкины, клеточный иммунитет

## Study of T-cell immunity, interferogenesis, inflammatory mediators in children with *Varicella zoster* virus infection

O. A. Saburova, D. M. Sobchak, K A Otmakhova

Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, Russia

**The aim of the study.** Determination of immune response mediators in patients with infection caused by the Varicella Zoster virus with various clinical and laboratory parameters. Materials and methods. Determination of VZV DNA by the polymerase reaction method. The blood content of proinflammatory mediators was assessed using the ELISA method using monoclonal antibodies (Protein contour, Petersburg).

**Research result.** In patients with VZV the content of INF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , CD-8+ was significantly lower than in patients with a typical form of the disease. In patients with a typical course of the disease, the DNA of the virus was less often determined.

**Discussion.** In patients with pustular chickenpox, the level of IL-1 $\beta$  and CD-4+ was significantly lower than in the typical course of the disease.

**Conclusions.** A decrease in the content of immune response mediators and indicators of cellular immunity in children with chickenpox is an indication for vaccination.

**Keywords:** varicella zoster, Pro-inflammatory mediators, interferons, cytokines, polymerase chain reaction, cellular immunity

**Для цитирования:** Сабурова О. А., Собчак Д. М., Отмахова К. А. Изучение Т-клеточного иммунитета, интерфероногенеза, медиаторов воспаления у детей с инфекцией, вызванной вирусом *Varicella zoster*. Детские инфекции. 2022; 21(1):41-44, doi.org/10.22627/2072-8107-2022-21-1-41-44

**For citation:** Saburova O. A., Sobchak D. M., Otmakhova K.A. Study of T-cell immunity, interferogenesis, inflammatory mediators in children with *Varicella zoster* virus infection. Detskie Infektsii=Children Infections. 2022; 21(1):41-44, doi.org/10.22627/2072-8107-2022-21-1-41-44

### Информация об авторах:

**Собчак Девора Михайловна (D. Sobchak, MD, Professor)**, д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней, Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород; sobchak\_devora@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3828-9316>

**Сабурова Оксана Андреевна (O. Saburova)**, аспирант, Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород; Saburova.oxani@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9046-5802>

**Отмахова Ксения Андреевна (K. Otmakhova)**, студент стоматологического факультета, Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород; Otmachovaia@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2235-7644>

Герпесвирусы способны поражать практически все органы и системы человека, вызывая различные клинические формы инфекции [1, 2, 3, 4].

Ветряная оспа и опоясывающий герпес обусловлены одним и тем же вирусом *Varicella Zoster* (VZV), относящимся к семейству *Herpesviridae*.

Геном VZV состоит из двуспиральной молекулы ДНК и липидной оболочки. Вирус репродуцируется в ядре инфицированных клеток, малоустойчив в окружающей среде. Под действием ультрафиолетового излучения, нагревания и солнечных лучей вирус быстро инактивируется [1, 3, 5].

Основной путь передачи вируса воздушно-капельный. Возможен трансплацентарный путь передачи инфекции. Источником инфекции является больной человек.

Вирус попадает в верхние дыхательные пути, проникает в кровь, эпителий кожи и слизистых оболочек дыхательных путей, ротоглотки. Возможно поражение центральной нервной системы и межпозвоночных ганглиев. При генерализации инфекции происходит поражение внутренних органов.

Вирусы герпеса репродуцируются в ядре инфицированных клеток. Вирусы герпеса могут сорбироваться на липопротеинах клеточных рецепторов. Происходит синтез вирусного белка, который взаимодействует с ДНК вируса, что приводит к формированию новых вирусных частиц [5].

Вирус может пожизненно персистировать в организме человека. При реактивации инфекции, при иммунодефицитных состояниях возникает опоясывающий герпес.

Ведущая роль в иммуногенезе герпесвирусных инфекций принадлежит активации механизмов клеточного имму-

нитета. Т-лимфоциты синтезируют интерлейкины и интерфероны, что приводит к активации клеточного и гуморального иммунитета. Ключевым медиатором иммунного ответа является интерлейкин-1 (ИЛ-1) [6, 7].

ИЛ-1 вырабатывают макрофаги и моноциты, эндотелиальные клетки, кератиноциты, фибробласты, микроглия, естественные киллеры, Т-лимфоциты, нейтрофилы. Главными индукторами синтеза ИЛ-1 являются пептидогликаны, липополисахариды, эндотоксины. Дополнительными индукторами ИЛ-1 являются цитокины, иммунные комплексы, продукты аутолиза, ФНО- $\alpha$ , интерферон- $\alpha$  и интерферон- $\beta$ , а также сам ИЛ-1 $\beta$  [6, 7].

ИЛ-1 $\beta$  активирует выработку медиаторов воспаления, эндогенный интерферон, рост и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов и естественных киллеров. ИЛ-1 $\beta$  способствует развитию воспалительной реакции, активизирует нервную и эндокринную систему, стимулирует костномозговое кроветворение, регенерацию поврежденных тканей. ИЛ-1 $\beta$  увеличивает синтез ИЛ-6 и интерферонов. Совместно с интерфероном- $\alpha$  он усиливает противовирусную защиту на клеточном уровне [4, 6, 7].

Интерлейкин 6 (ИЛ-6) является очень важным медиатором острой фазы воспаления. ИЛ-6 секретируется макрофагами, фибробластами, клетками сосудистого эндотелия, Т-клетками, глиальными и эпителиальными клетками, кератиноцитами кожи. ИЛ-6 стимулирует пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток, лейкопоэз [4, 7].

Интерфероны — это белки, сходные по своим структурным элементам и выделяемые клетками организма человека в ответ на вторжение вируса. Интерфероны индуцируют синтез клеточных белков, которые блокируют репликацию вируса.

Интерфероны подразделяют на группы в зависимости от типа клеток, в которых они образуются:  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  [3, 4, 7].

В ответ на воздействие интерферона клетки вырабатывают большое количество протеинкиназы R. Этот фермент фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF-2, синтез рибонуклеазы L, которая расщепляет клеточные РНК. Кроме того, интерфероны способны активировать сотни генов, играющих роль в защите клетки от вирусов. Интерферон также активирует белок p53, что приводит к активации апоптоза клеток [8, 9, 10].

Интерферон вызывает активацию и синтез молекул HLA I и II клеток, что обеспечивает презентацию вирусных антигенов цитотоксическим Т-лимфоцитам, натуральным киллерам, Т-хелперам, которые синтезируют медиаторы иммунного ответа [8, 9, 10].

CD4 — мономерный трансмембранный гликопротеин. У человека он кодируется геном CD4. Является маркером Т-хелперов. Выполняет роль ко-рецептора, участвует в распознавании молекул антигенов, представляемых антиген-презентирующими клетками. Экспрессируются на тимоцитах (80—90%), зрелых Т-лимфоцитах (65% Т-хелперов), моноцитах, макрофагах, клетках Лангерганса, дендритных клетках, а также микроглии [8, 10].

CD8 — Т-киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты, — вид Т-лимфоцитов, который осуществляет лизис поврежденных клеток собственного организма. Мишени Т-киллеров — это клетки, пораженные внутриклеточными парази-

тами (к которым относятся вирусы и некоторые виды бактерий), опухолевые клетки. Т-киллеры являются основным компонентом антивирусного иммунитета [8, 10].

Т-киллеры непосредственно контактируют с поврежденными клетками и разрушают их. В отличие от НК-клеток, Т-киллеры распознают определённый антиген и убивают только клетки с этим антигеном. Активированные Т-киллеры убивают клетки с чужеродным антигеном, к которому имеют рецептор, вставляя в их мембраны перфорины (белки, образующие широкое незакрывающееся отверстие в мембране) и впрыскивая внутрь токсины (гранзимы). В некоторых случаях Т-киллеры запускают апоптоз зараженной клетки через взаимодействие с мембранными рецепторами [9, 10].

Синтез провоспалительных медиаторов, интерлейкинов, интерферонов может характеризовать различные особенности взаимодействия возбудителя и организма человека. Поэтому, мы можем оценивать содержание иммунных показателей у больных с ветряной оспой с целью прогнозирования течения болезни и формирования осложнений [9, 10].

У некоторых детей инфекция может протекать по типу опоясывающего герпеса, что характеризуется везикулярными высыпаниями по ходу нервных окончаний, гиперемия, отек кожи, боли в области высыпаний, может повышаться температура. В анамнезе у таких детей имеет значение внутриутробный контакт с VZV, ветряная оспа в возрасте до 18 месяцев, иммунодефициты, связанные с ослаблением клеточного иммунитета (ВИЧ-инфекция, состояние после трансплантации, онкологические заболевания) [7, 8, 10]. Возможна генерализация инфекции при иммунодефицитных состояниях [7, 8, 10].

**Цель работы:** оценить содержание медиаторов иммунного ответа, показателей клеточного иммунитета у больных с инфекцией, вызванной вирусом *Varicella Zoster* с различными клинико-лабораторными показателями.

## Материалы и методы исследования

Проводилась оценка содержания провоспалительных цитокинов у 60 детей с инфекцией, вызванной вирусом *Varicella Zoster*, в возрасте от 7 до 15 лет. У 35 детей диагностирована ветряная оспа без осложнений, ветряная оспа с другими осложнениями (присоединение бактериальной инфекции) выявлялась у 10 больных, опоясывающий герпес (ОГ) — у 15 пациентов. У 15 детей определялись сопутствующие заболевания (бронхиальная астма — 2, хронический холангит — 1, атопический дерматит — 3, нейродермит — 1, хронический бронхит — 2, ВЭБ-инфекция — 2, цитомегаловирусная инфекция — 1, ВГЧ-6-инфекция — 3).

Диагноз ветряной оспы у детей устанавливали на основании клинико-anamnestических данных (повышение температуры, везикулярные высыпания на голове, туловище, конечностях, генерализованная лимфаденопатия), индикации ДНК VZV при первичном обследовании.

Присоединение бактериальной инфекции характеризуется повторным повышением температуры тела, нарастанием симптомов интоксикации, помутнением содержимого пузырьков.

Диагноз ОГ у детей устанавливали на основании данных клиники (везикулярные высыпания по ходу нервных

окончаний, боли в области высыпаний, повышение температуры), в крови определялась ДНК VZV.

У 7 больных с ОГ выявлялись сопутствующие заболевания (бронхиальная астма — 1, атопический дерматит — 1, ВЭБ-инфекция — 2, ВГЧ-6-инфекция — 2).

Определение ДНК VZV методом полимеразной цепной реакции проводилось на базе ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной».

Оценка содержания в крови провоспалительных медиаторов проводилась методом ИФА с использованием моноклональных антител (ООО «Протеиновый контур» Санкт-Петербург). Определены показатели ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$  у здоровых доноров, которые соответствовали  $59,2 \pm 5,3$  Пг/мл;  $53,4 \pm 4,5$ , Пг/мл;  $48,9 \pm 3,2$ ;  $58,5 \pm 3,6$  Пг/мл соответственно.

Содержание в крови субпопуляций иммунных клеток (CD-4+, CD-8+) определялось с помощью моноклональных антител методом иммунофлуоресценции. Определен уровень CD-4+, CD-8+ у здоровых доноров (60 человек), средние показатели соответствовали  $1,083 \pm 0,014 \times 10^9$ /л,  $1,032 \pm 0,016 \times 10^9$ /л соответствовали.

Согласно клиническим рекомендациям, детям после появления корочек назначались лечебно-гигиенические ежедневные ванны со слабым раствором перманганата калия, смена нательного и постельного белья; обработка везикулезных элементов 1% спиртовым раствором бриллиантового зеленого или 1–2% раствором калия перманганата, обработка слизистых оболочек водными растворами анилиновых красителей; антигистаминные препараты; для купирования гипертермического синдрома свыше  $38,5^\circ\text{C}$  назначается парацетамол 10–15 мг/кг с интервалом не менее 4 часов внутрь или ректально, не более трех дней или ибупрофен в дозе 5–10 мг/кг не более 3-х раз в сутки внутрь. При тяжелых формах болезни (в том числе с поражением ЦНС) показана противовирусная терапия ацикловиром в дозе 5 мг/кг каждые 8 часов внутривенно. При тяжелых формах ветряной оспы при присоединении бактериальных осложнений рекомендовано назначение антибиотиков широкого спектра действия: бета-лактамов полусинтетических пенициллинов, аминогликозидов и цефалоспоринов 2-го и 3 поколения в возрастных дозах.

Для статистической обработки материала использовалась программа Statistica v. 6.0 с использованием t-критерия Стьюдента. В соответствии с требованиями вариаци-

онной статистики вычисляли среднюю арифметическую (M), среднее квадратичное отклонение ( $\chi^2$ ), среднюю ошибку средней арифметической (m). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

В процессе исследования проводился анализ частоты сопутствующих заболеваний у детей с ветряной оспой (осложненные и неосложненные формы) и ОГ. Было установлено, что у больных ОГ значительно чаще определялся неблагоприятный преморбидный фон по сравнению с детьми с ветряной оспой (осложненные и неосложненные формы) (16%, 8 и 70%, 7 соответственно,  $p < 0,0001$ ).

Также изучали частоту индикации ДНК-VZV у больных с инфекцией, вызванной вирусом Varicella Zoster в зависимости от возраста, сопутствующих заболеваний, при разных клинических вариантах течения болезни.

Было показано, что у детей с неблагоприятным преморбидным фоном значительно чаще в крови определялась ДНК-VZV (табл. 1). ДНК-VZV несколько чаще регистрировалась у детей младше 10 лет по сравнению со старшей возрастной группой (табл. 1).

Одной из задач работы было изучение частоты индикации ДНК VZV у детей с разными клиническими вариантами инфекции, вызванной вирусом Varicella Zoster. Было показано, что у больных с ОГ значительно чаще регистрировалась ДНК VZV по сравнению с ветряной оспой, протекающей без осложнений и с присоединением бактериальной инфекции (табл. 1).

Другим направлением работы было определение содержания медиаторов иммунного ответа у детей с разными клиническими формами инфекции, вызванной вирусом Varicella Zoster. Было установлено, что у больных с ОГ содержание ИНФ- $\alpha$  и ИНФ- $\gamma$  было значительно ниже по сравнению с пациентами с ветряной оспой, протекающей без осложнений. Показатели ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в этих группах больных различались незначительно (табл. 2).

Следующим этапом работы было изучение содержания показателей клеточного иммунитета (CD-4+, CD-8+) у детей с ветряной оспой и ОГ. Было установлено, что у детей с ОГ показатели CD-8+ были значительно ниже по сравнению с пациентами с ветряной оспой, протекающей без осложнений (табл. 2). Показатели CD-4+ отличались незначительно в этих группах больных (табл. 2).

**Таблица 1.** Частота индикации ДНК-Varicella Zoster у больных с инфекцией, вызванной Varicella Zoster в зависимости от возраста, сопутствующих заболеваний, с разными клиническими вариантами течения болезни (данные первичного обследования)

**Table 1.** Frequency of indication of DNA-Varicella Zoster in patients with Varicella Zoster infection, depending on age, concomitant diseases, with different clinical variants of the course of the disease (primary examination data)

Показатели / Indicators	Количество больных / Number of patients	ДНК-VZV пол. / DNK-VZV positive
Возраст >10 лет / Age >10 years	20	7 (35%)
Возраст <10 лет / Age < 10 years	40	18 (45%)
Наличие сопутствующих заболеваний / The presence of concomitant diseases	15	9 (65%)
Отсутствие сопутствующих заболеваний / Absence of concomitant diseases	45	16 (35%)
Ветряная оспа типичное течение / Chickenpox is a typical course	35	12 (34%)
Пустулезная форма / Pustular form	10	3 (30%)
Опоясывающий герпес / Herpes zoster	15	10 (66%)

**Таблица 2.** Содержание провоспалительных цитокинов, CD-4, CD-8 у больных ветряной оспой и опоясывающим герпесом (данные первичного обследования в Пг/мл, 10<sup>9</sup>/л)

**Table 2.** The content of proinflammatory cytokines, CD4, CD8 in patients with chickenpox and herpes zoster (primary examination data in Pg/ml, 10<sup>9</sup>/l).

Показатели / Indicators	Количество больных / Number of patients	ИЛ-1β	ИЛ-6	ИНФ-α	ИНФ-γ	CD-4
Ветряная оспа типичная форма / Chickenpox is a typical form	35	113,5 ± 10,2	94,2 ± 7,5	125,8 ± 11,9	146,3 ± 10,6	0,858 ± 0,032
Опоясывающий герпес / Herpes zoster	12	105,4 ± 8,3 p = 0,263	98,3 ± 8,2 p = 0,284	65,2 ± 5,7 p = 0,005*	74,4 ± 5,2 p = 0,017*	0,751 ± 0,053 p = 0,238
Ветряная оспа пустулезная форма / Pustular form	10	63,5 ± 5,2 p = 0,016*	82,2 ± 6,3 p = 0,278	105,8 ± 8,7 p = 0,164	112,3 ± 9,6 p = 0,245	0,428 ± 0,042 p = 0,028*
Контрольная группа / Control group	60	59,2 ± 4,3	53,4 ± 4,5	48,9 ± 3,2	58,5 ± 3,6	1,08 ± 0,01

Также оценивали содержание медиаторов иммунного ответа и показателей клеточного иммунитета у детей с ветряной оспой с другими осложнениями (присоединением бактериальной инфекции). Было показано, что у детей с присоединением вторичной инфекции уровень ИЛ-1β был значительно ниже по сравнению с соответствующими показателями при неосложненном течении болезни. Другие показатели (ИЛ-6, ИНФ-α, ИНФ-γ) отличались незначительно в исследуемых группах (табл. 2). У больных с осложненными формами ветряной оспы (присоединение бактериальной инфекции) уровень CD-4+ был значительно ниже соответствующих показателей при неосложненном течении инфекции (табл. 2). Показатели CD-8+ отличались не существенно в изучаемых группах пациентов (табл. 2).

Было показано, что у детей с неблагоприятным преморбидным фоном значительно чаще регистрировался ОГ и значительно чаще в крови определялась ДНК-VZV по сравнению с пациентами с ветряной оспой (осложненными и неосложненными формами), что характеризовало слабость клеточных и гуморальных механизмов иммунного ответа при ОГ.

Можно отметить, что у детей с ОГ значительно чаще выявлялась ДНК Varicella Zoster, что подтверждало активную репликацию вируса и формирование слабого иммунного ответа.

В результате проведенных исследований показано, что у детей с ОГ содержание ИНФ-α, ИНФ-γ, CD-8+ было значительно ниже по сравнению с пациентами с ветряной оспой, протекающей без осложнений. Это также подтверждает недостаточность Т-эффекторных механизмов иммунного ответа у детей с ОГ.

Было установлено, что у детей с осложненными формами ветряной оспы (присоединение бактериальной инфекции) уровень ИЛ-1β был значительно ниже по сравнению с соответствующими показателями при неосложненном течении болезни. У больных с присоединением бактериальной инфекции содержание CD-4+ было существенно ниже соответствующих показателей при ветряной оспе, протекающей без осложнений. Это подтверждало формирование слабого иммунного ответа у больных с осложненными

формами ветряной оспы, что способствовало активации вторичной инфекции.

### Заключение

Выявлено снижение содержания медиаторов иммунного ответа (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИНФ-α, ИНФ-γ) и показателей клеточного иммунитета (CD-4+ CD-8+) у детей с инфекцией, вызванной вирусом Varicella Zoster, что диктует необходимость вакцинопрофилактики и профилактики бактериальных осложнений со стороны кожных покровов.

### Литература/References:

- Kashyap S., Shanker V. Zoster ophthalmicus with dissemination in a six year old immunocompetent child. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 2014; 80: 382.
- Papaloukas O., Giannouli G., Papaevangelou V. Successes and challenges in varicella vaccine. *Ther Adv Vaccines*, 2014; 2(2): 39–55.
- Singh P., Karmacharya S., Rizyal A., Rijal A.P. HZO with retrobulbar neuritis. *Nepal J Ophthalmol*, 2016; 8(15): 78–81.
- Okunuki Y., Sakai J., Kezuka T., Goto H. A case of herpes zoster uveitis with severe hyphemia. *BMC Ophthalmology*, 2014; 14: 74.
- Wakim L.M., Woodward A., Bevan M.J. Memory T-cell persisting within the brain after local infection show functional to their tissue of residence. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, 2010; 107: 17872–17879.
- Kawai K., Gebremeskel B.G., Acosta C.J. Systematic review of incidence and complications of herpes zoster: towards a global perspective. *BMJ Open*, 2014; 4(6): e004833.
- Paludan S.R., Horan K.A. Recognition of herpesviruses by the innate immune system. *Nat.Rev. Immunol*, 2011; 11(2): 143–154.
- Nielsen O.H., Ainsworth M.A. Tumor necrosis factor inhibitors for inflammatory bowel disease. *New Engl. J. Med.* 2013; 369: 754–762.
- Grinde B. Herpesviruses: latency and reactivation — viral strategies and host response. *J Microbiol*, 2013; 5: 227–266.
- Winsauer C., Kruglov A.A., Chashchina A.A., Drutsкая M.S., Nedospasov S.A. Cellular sources of pathogenic and protective TNF and experimental strategies based on utilization of TNF humanized mice. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25: 115–123.

Статья поступила 28.12.2021

**Конфликт интересов:** Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest: The authors confirmed the absence conflict of interest, financial support, which should be reported.