

32. Richmond C. Human legionnaires disease a case of mistaken identify // Med. Dig. Asia.-1987.-v.5, N1.- p.19-21.
33. Rowbotham T.J. Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae // J. Clin. Pathol.-1980.-N 33. - p.1179-1183.
34. Tabrezi S.N., Paterson B.A., Fairley C.K., Bowden F.G., Garland S.M. Comparison of tampon and urine as self-administered method of specimen collection in the detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Trichomonas vaginalis* in women.// Int. J. STD AIDS.-1998.-v.9, N.6.-p.347-349.
35. World Health Organization. An overview of selected curable sexually transmitted diseases, p.2-27, In Global program on AIDS. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1995
36. Wolner-Hansen P.J. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis.// JAMA. -1989.- v.261 - p.571-576.

Поступила 10 сентября 2000 г

Г.Ф. ЖЕЛЕЗНИКОВА,  
Л.И. ВАСЯКИНА,  
Н.Е. МОНАХОВА,  
М.А. ПАВЛЕНКО\*,  
Е.В. НОВОЖИЛОВА,  
Н.А. ПОПОВА,  
О.В. РОДИОНОВА  
НИИ детских инфекций  
МЗ РФ,  
НИИ цитологии РАН\*  
Санкт-Петербург, Россия

УДК 576.8.097.3+616.9/-053.2

## АПОПТОЗ И ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

Вирус Эпштейн-Барра оказывает двойное действие на программированную гибель клеток (апоптоз): повышая выживаемость В-лимфоцитов, он одновременно вызывает транзиторную гибель Т-клеток через Fas(CD95)-опосредованный апоптоз. Иммунологическое обследование 25 детей с острым инфекционным мононуклеозом показало, что большая тяжесть клинических проявлений инфекции ассоциирована с уменьшением числа CD95+ клеток среди лимфоцитов крови и клеток, подвергающихся спонтанному апоптозу в культуре, параллельно с переключением на преимущественно гуморальную форму иммунной защиты.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** апоптоз, иммунные механизмы, инфекционный мононуклеоз, дети

*Имунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 87 стр.*

## APOPTOSIS AND IMMUNE RESPONSE IN CHILDREN WITH ACUTE INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

G.F.ZHELEZNIKOVA, L.I.VASJAKINA, N.E.MONACHOVA, M.A.PAVLENKO\*,  
E.V.NOVOZHILOVA, N.A.POPOVA, O.V.RODIONOVA

*Children Infection Research Institute Ministry of Public Health Russia,  
Research Institute of Cytology of Science Academy Russia\*, St.Petersburg, Russia*

Epstein-Barr virus acts as protector against apoptosis of EBV-infected B-lymphocytes as well as inducer of transient apoptosis of T-cells via Fas(CD95)-FasL interaction. Immunologic study of 25 children with acute infectious mononucleosis showed the associations between the severity of clinical signs and diminished CD95+ lymphocytes

**amount in blood or decreased susceptibility of lymphocytes to incubation-induced apoptosis, in accordance with shift to humoral mechanisms of the immune defence.**

**KEY WORDS:** *apoptosis, immune response, infectious mononucleosis, children Immunopathol., allergol., infectol. 2000, 4: 87 p.*

В настоящее время интенсивно изучается роль апоптоза (программированной клеточной гибели) в регуляции иммунного ответа, развитии иммунодефицитных состояний и иммунопатологии [7]. Особый интерес представляет участие апоптоза в патогенезе инфекционных заболеваний, так как их возбудители оказывают разнообразное влияние на программированную гибель клеток - стимулирующее или подавляющее. В частности, показано, что различные вирусы (вирусы герпеса HSV-1 и HSV-2, вирусы парагриппа 1 и 2, респираторно-синцитиальный вирус) *in vitro* вызывают усиление экспрессии рецептора апоптоза Fas (CD95) на мембране "наивных" Т-лимфоцитов периферической крови человека, без повышения их чувствительности к апоптозу или с дальнейшим повышением чувствительности в случае продуктивной инфекции [32]. Вирус гриппа, альфавирусы, вирус клещевого энцефалита индуцируют апоптоз в перевиваемых клеточных культурах [5, 25, 33]. Показана роль вирусиндуцированного апоптоза в патогенезе СПИДа, клещевого энцефалита, энцефалита новорожденных мышей, вызванного вирусом Sindbis [5, 15, 17, 25]. В то же время известен феномен защиты от апоптоза клеток, инфицированных ВИЧ-1, аденовирусами, полиовирусом, вирусом коровьей оспы [7, 16, 36]. Установлено, что ряд вирусов защищают от апоптоза инфицированные клетки, одновременно усиливая апоптоз незараженных клеток, в чем можно заподозрить важный механизм вирусиндуцированной иммуносупрессии [7]. К таким вирусам, оказывающим двойное воздействие на апоптоз клеток иммунной системы, принадлежит и вирус Эпштейн-Барра (ВЭБ) - возбудитель инфекционного мононуклеоза.

Инфекционный мононуклеоз (ИМ) - это антропонозная вирусная инфекция с воздушно-капельным механизмом передачи возбудителя, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией, генерализованной лимфаденопатией, увеличением печени и селезенки [9, 11]. Важной особенностью ВЭБ является избирательное инфицирование В-лимфоцитов через специфический рецептор CD21 (CR2). При этом снижается способность В-клеток к гибели через апоптоз [11, 21]. В то же время ВЭБ (и его поверхнос-

тный гликопротеин gp 350) при остром ИМ вызывает усиление экспрессии Fas (CD95) на CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитах и Fas-лиганда (FasL) на В-лимфоцитах и моноцитах-макрофагах, что ведет к Fas-опосредованному апоптозу Т-клеток [35]. Большая часть (до 80% vs 10% у доноров) мононуклеаров крови больных острым ИМ погибает через 48-72 часа культивирования, при этом апоптозу подвергаются CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты фенотипа Т-клеток памяти (CD45RO+) [37]. Апоптоз активированных ВЭБ Т-лимфоцитов может лежать в основе транзиторной иммуносупрессии, наблюдающейся при остром ИМ [35, 37].

Долгое время В-лимфоциты считались единственной мишенью ВЭБ в организме больного [10]. Однако позднее установлено, что инфицируются также клетки эпителия носоглотки [11] и нейтрофилы [24]. Последние, будучи инфицированными, подвергаются гибели через Fas-зависимый апоптоз [24]. Возможно инфицирование Т-лимфоцитов [31], а также фолликулярных дендритных клеток, несущих на поверхности рецептор CD21.

Связываясь с поверхностью моноцитов и нейтрофилов, ВЭБ индуцирует в них синтез хемотаксических факторов, в том числе IL-8 и макрофагальный воспалительный протеин-1 (MIP-1 $\alpha$ ) [31]. В острую фазу болезни в крови у больных возрастают уровни цитокинов IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-6 и интерферона- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Инфицированные ВЭБ клетки миндалин усиленно синтезируют IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  [31]. Кроме IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , ВЭБ индуцирует в нейтрофилах синтез рецепторного антагониста IL-1 (IL-1R $\alpha$ ), ингибирующего IL-1-зависимые механизмы клеточного иммунитета [31]. По некоторым данным, ВЭБ кодирует вирусный белок, гомологичный IL-1R $\alpha$  и обладающий его функциями [VonaC., Bonilla F., 1996, цит. по 12], подъем которого авторы наблюдали в сыворотке большинства больных [39]. Источником IL-6, в частности, могут быть В-лимфоциты, адсорбировавшие ВЭБ в инициальную фазу инфекции [34].

Особенностью гемограммы при ИМ являются атипичные мононуклеары, среди которых различают моноцитоподобные и лимфоцитоподобные [9]. Считают, что для постановки диагноза ИМ достаточ-

ным (наряду с характерной клинической картиной) может быть обнаружение в крови 10-20% атипичных мононуклеаров, так как меньшее их количество выявляется и при других вирусных инфекциях (ОРВИ, ветряная оспа, корь, гепатит А). Высказано предположение, что атипичные мононуклеары при ИМ являются трансформированными Т-лимфоцитами [9, 11], хотя окончательно их происхождение не установлено.

Эффективный иммунный ответ на внедрение ВЭБ включает гуморальный и клеточный компоненты [11]. При первичной инфекции формируются нейтрализующие ВЭБ антитела, антитела класса IgM и IgG к капсидному антигену, позднее - к ранним, мембранным и ядерным антигенам ВЭБ [11].

Основным механизмом иммунной защиты считают вирус-специфические CD8<sup>+</sup>цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) [11, 38]. Однако контроль распространения ВЭБ *in vivo* могут осуществлять не только CD8<sup>+</sup> ЦТЛ, но и CD4<sup>+</sup> Т-клетки, вызывающие опосредованный Fas-FasL-взаимодействием апоптоз зараженных В-лимфоцитов [38].

Цель настоящей работы состояла в оценке соотношения показателей активации и апоптоза в иммунной системе детей, больных острым ИМ с разной степенью тяжести клинических проявлений инфекции.

**Материалы и методы.** Диагноз ИМ устанавливали по наличию типичных клинических симптомов, обнаружению в крови атипичных мононуклеаров, положительной реакции Пауля-Бунеля на гетерофильные антитела [9, 11, 35].

25 детей в возрасте от 5 до 14 лет, имеющих острый ИМ, были разделены на две группы по степени выраженности и длительности (при суммарной оценке в баллах) основных симптомов ИМ: лихорадки, интоксикации, увеличения лимфатических узлов, поражения рото- и носоглотки, гепато- и спленомегалии. Первую группу составили 17 детей с относительно легким, вторую - 8 детей с более тяжелым течением болезни.

Иммунологическое обследование включало подсчет числа лейкоцитов и их разновидностей, выделение и фенотипирование лимфоцитов в лимфоцитотоксическом тесте [6]. Оценку спонтанного апоптоза *in vitro* осуществляли следующим образом: взвесь мононуклеаров получали центрифугированием стерильной венозной крови в градиенте плотности урографина 1,079

(Schering, Германия), доводили до концентрации  $2 \times 10^6$ /мл и инкубировали в круглодонных 96-луночных планшетах в среде 199 с добавлением 10% эбриональной телячьей сыворотки (Sigma, США) и антибиотиков, в течение 48 или 72 часов при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. Погибшие клетки определяли окрашиванием 0,06% трипановым синим (в свежесыведенных мононуклеарах число погибших клеток не превышало 5-8%). Для подсчета числа клеток с признаками апоптоза клетки фиксировали на стекле 70% этиловым спиртом, высушивали и красили в течение 30 минут раствором ядерного флуоресцентного красителя propidium iodide ("Sigma") (1мг/мл), содержащим RNКазу К ("Sigma") (100 ед/мл) [20]. Клетки (%) с признаками апоптоза (конденсацией или фрагментацией ядра) подсчитывали в люминесцентном микроскопе "Axioskop" при длине волны возбуждения 546 нм и длине волны пропускания 590 нм [17].

Количество зрелых В-лимфоцитов, несущих CR2 (CD21), определяли методом ЕАС-розеткообразования, реакцию бласттрансформации на ФГА (ФГА-РБТЛ) осуществляли морфологическим методом [8]. Содержание в крови IgM, IgA, IgG определяли методом радиальной иммунодиффузии по Mancini, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) обнаруживали методом осаждения 3,5% полиэтиленгликолем [8]. Концентрацию в крови общего IgE оценивали с помощью иммуноферментной тест-системы производства ТОО "Полигност" (СПБ), а содержание в сыворотке крови цитокинов TNF-α и IL-4 - с использованием тест-наборов для иммуноферментного анализа производства ТОО "Протеиновый контур" (СПБ).

Детей обследовали дважды: в острую фазу (первая неделя от начала заболевания) и в фазу ранней реконвалесценции (2-3-я неделя). Обследовано также 12 практически здоровых детей соответствующего возраста (от 4 до 11 л).

### Результаты и обсуждение.

В острую фазу ИМ у детей с относительно тяжелым течением болезни (2 группа) общее число лейкоцитов было достоверно выше, чем у детей 1-й группы с ИМ и здоровых ( $11,1 \pm 1,0$  vs  $8,3 \pm 0,8$  и  $6,9 \pm 0,8$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Относительное содержание палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов не имело

значимых различий, однако моноцитов среди лейкоцитов крови у детей 2-й группы было существенно меньше, а плазматических клеток, напротив, существенно больше (в 3,6 раза по средним данным), чем у детей 1-й группы (таблица 1).

В острую фазу ИМ имелась тенденция к нарастанию относительного числа атипичных мононуклеаров у детей 2-й группы, при этом в фазу ранней реконвалесценции различия становились статистически существенными.

Фенотипирование лимфоцитов (таблица 2) выявило достоверные различия между группами по содержанию в крови В-лимфоцитов, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> лимфоцитов и клеток, экспрессирующих рецептор апоптоза CD95, в обе фазы ИМ. Не было значимых различий по содержанию CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и активированных клеток, экспрессирующих рецептор для IL-2 (CD25<sup>+</sup>). Параллельно нарастанию тяжести клинических проявлений ИМ в крови увеличивалось содержание зрелых В-лимфоцитов (CD21<sup>+</sup>) и, напротив, снижалось количество лимфоцитов с цитотоксическими функциями (CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и CD16<sup>+</sup> естественных киллеров (ЕК)). Этому сопутствовало снижение экспрессии Fas (CD95<sup>+</sup>) - показателя активации клеток и одновременно их готовности к апоптозу [13].

Изучение спонтанного апоптоза в культуре лимфоцитов *in vitro* (таблица 3) позволило установить, что снижению числа CD95<sup>+</sup> клеток у детей 2-й группы соответствует повышение выживаемости лимфоцитов, по-видимому, за счет ослабления CD95-зависимого апоптоза. Различия усугублялись в фазу ранней реконвалесценции, когда у детей 2-й группы сниженное число погибших и апоптотических клеток обнаруживалось уже через 48 часов культивирования.

Разная тяжесть клинических проявлений ИМ оказалась ассоциированной также с существенными особенностями неспецифического компонента иммунного ответа, оцениваемого по показателям клеточно-опосредованного и гуморального иммунитета (табл. 4).

Т-лимфоциты детей 2-й группы в обе фазы болезни проявляли сниженную способность к пролиферации под влиянием ФГА, что, как правило, коррелировало с подавлением антигенспецифического клеточно-опосредованного иммунного ответа [1, 2, 4]. В то же время, гуморальное звено иммунной защиты у этих детей было заметно более выраженным, о чем свидетельствовали активация синтеза IgA и, особенно, IgE, а также усиленное накопление ЦИК. Достоверных различий уровня IgM и IgG у детей сравниваемых групп мы не обнаружили.

Таблица 1

**Относительное содержание (%) моноцитов, плазматических клеток и атипичных мононуклеаров (АМ) среди лейкоцитов крови детей с острым ИМ разной степени тяжести**

N гр.	n	Острая фаза болезни			Фаза выздоровления		
		Мон	Плазм.кл.	АМ	Мон	Плазм. кл.	АМ
1	17	2,2±0,4	0,8±0,2	9,3±2,0	2,8±0,5	0,08±0,02	2,0±0,8
2	8	0,5±0,3	2,9±0,5	12,2±1,8	2,6±0,6	0,3 ± 0,2	4,7±1,0
p		< 0,01	< 0,001				< 0,05

Таблица 2

**Относительное содержание (%) субпопуляций циркулирующих лимфоцитов у детей с острым ИМ разной степени тяжести**

N гр	n	CD4	CD8	CD16	CD21#	CD25	CD95
<i>острая фаза болезни</i>							
1	17	44,8±1,2	20,6±1,5	14,8±1,2	11,2±1,2	14,6±1,5	26,1±1,6*
2	8	48,3±2,6	13,1±1,4	9,6±1,1*	18,6±1,5*	12,6±1,7	20,7±1,3
p		-	<0,001	<0,01	<0,001	-	<0,05
<i>фаза выздоровления</i>							
1	17	51,5±2,9	21,3±2,0	13,8±0,9	10,3±0,8	16,4±0,8	30,8±1,1*
2	8	53,5±3,0	14,8±0,8	9,7±1,0*	16,9±1,6*	14,6±0,7	20,1±0,9
p		-	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,001
К	12	45,5±1,6	17,7±1,4	15,0±0,9	11,7±1,4	15,8±0,9	19,8±1,7

**ПРИМЕЧАНИЯ:** CD21# – ЕАС-РОК;

\* – достоверное отличие от показателя у здоровых детей (К), при p<0,05-0,001

Таблица 3

Спонтанный апоптоз мононуклеаров крови *in vitro* у детей с ИМ разной степени тяжести

N гр	n	48-часовая культура		72-часовая культура	
		% погибших клеток	% апоптотических клеток	% погибших клеток	% апоптотических клеток
<i>острая фаза болезни</i>					
1	14	42,3±1,9	39,2±2,0	59,8±0,9	52,4±0,8
2	6	39,2±2,0	35,8±1,1	52,6±1,0	45,2±1,2
p		-	-	<0,001	<0,01
<i>фаза выздоровления</i>					
1	14	44,6±1,3	40,9±0,9	60,2±1,9	54,7±0,9
2	6	40,5±1,5	36,2±1,4	53,4±1,1	49,4±0,8
p		<0,05	<0,05	<0,01	<0,001

Таблица 4

## Показатели клеточного и гуморального иммунитета у детей с острым ИМ разной степени тяжести

N гр	n	ФГА-РБТЛ %	IgA г/л	IgE кЕ/л	ЦИК усл.ед.
<i>острая фаза болезни</i>					
1	17	72±2,4	1,07±0,08	39,8±9,0	112±10
2	8	60±1,4*	1,27±0,04	280±30*	146±18
p		<0,001	<0,05	<0,001	-
<i>фаза выздоровления</i>					
1	17	80±4,0	1,05±0,04	38,0±20,6	109±9
2	8	60±6,1*	1,37±0,05*	268±40,1*	200±16*
p		<0,05	<0,001	<0,001	<0,001
K	10	77±2,2	1,16±0,08	100±32	108±8

**ПРИМЕЧАНИЕ:** \* – достоверное отличие от показателя у здо ровых детей (K) при  $p < 0,05 - 0,001$ .

Обращает на себя внимание значительно повышенный уровень общего IgE у детей с более выраженным симптомокомплексом ИМ, сохраняющийся и в фазу ранней реконвалесценции. Значение IgE-зависимых реакций иммунной защиты и иммунорегуляции при ИМ иллюстрируют сообщения о повышенной экспрессии низкоаффинного рецептора IgE (CD23) на В-лимфоцитах и моноцитах/макрофагах, а также растворимого CD23 в сыворотке крови больных острым ИМ [19, 22].

Вышеописанные особенности иммунного ответа у детей сравниваемых групп сопровождались выраженными различиями в цитокиновом звене регуляции (таблица 5). Так, дети 1-й группы имели в обе фазы ИМ повышенные уровни TNF- $\alpha$ , цитокина, ассоциированного в большей степени с клеточной формой иммунного ответа, тогда как у детей 2-й группы превалировал IL-4, основной цитокин Т-хелперов 2 типа (Th2) [28, 31].

Взятые в совокупности, эти данные позволяют предположить, что с утяжелением клинических

проявлений ИМ ассоциировано переключение фенотипа активированных Т-лимфоцитов с Th1-клеток, контролирующих развитие клеточно-опосредованных механизмов иммунной защиты, на Th2-хелперы антителообразования и реакций немедленной IgE-зависимой аллергии [12, 28]. Склонность к подавлению клеточно-опосредованных и усилению гуморальных механизмов иммунного ответа при более тяжелых формах острых инфекций или прогрессировании хронических констатирована в многочисленных экспериментальных и клинических наблюдениях. Это объясняется сменой фенотипа Th при увеличении вирусной нагрузки (load) [28].

Именно с особенностями фенотипа циркулирующих Т-лимфоцитов может быть связано, на первый взгляд, парадоксальное снижение готовности лимфоцитов к апоптозу у детей с относительно тяжелым течением ИМ. Показатель числа CD95<sup>+</sup> клеток в нефракционированной взвеси лимфоцитов, по-видимому, в наибольшей степени отражает состояние CD4<sup>+</sup> субпопуляции Т-лимфоцитов, так как

Таблица 5

Продукция *in vivo* (пг/мл) TNF- $\alpha$  и IL-4 при остром ИМ у детей

N гр	n	острая фаза болезни		фаза выздоровления	
		TNF- $\alpha$	IL-4	TNF- $\alpha$	IL-4
1	17	130 $\pm$ 14	120 $\pm$ 17	115 $\pm$ 20	95 $\pm$ 16
2	8	80 $\pm$ 12	225 $\pm$ 24	60 $\pm$ 10	180 $\pm$ 20
p		<0,05	<0,01	<0,05	<0,01
K	7	124 $\pm$ 33	нет данных	-	-

у детей данного возраста клеток, несущих Fas-рецептор, среди CD4<sup>+</sup> втрое больше, чем среди CD8<sup>+</sup>, и в 2-3 раза больше, чем среди В-лимфоцитов, тогда как ЕК (CD16<sup>+</sup>) в норме вообще не экспрессируют CD95 [26]. Установлено, что ВЭБ в культуре мононуклеаров периферической крови здоровых доноров в наибольшей степени повышает число именно CD4<sup>+</sup> CD95<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [35].

Согласно ряду сообщений [30, 40], CD4<sup>+</sup> Th1 и Th2 различаются по способности экспрессировать FasL и подвергаться индуцированному активацией апоптозу. При супраоптимальной дозе антигена Th1, но не Th2, быстро погибают по механизму Fas-FasL взаимодействия [40], чему способствует недостаточность в микроокружении ауто- или паракринных факторов роста - IL-2 и IL-12 [18, 40]. При ИМ апоптозу, опосредованному Fas-FasL взаимодействием, могут подвергаться как CD4<sup>+</sup>, так и CD8<sup>+</sup> активированные ВЭБ Т-лимфоциты фенотипа CD45<sup>+</sup>RO<sup>+</sup> [37]. Кроме того, вирусспецифические CD8<sup>+</sup> ЦТЛ могут подвергаться апоптозу по механизму взаимодействия TNF- $\alpha$  с TNFRII. Такой путь гибели CD8<sup>+</sup> ЦТЛ показан в экспериментальной модели лимфоцитарного хориоменингита [27] и в культуре HIV-1-специфических CD8<sup>+</sup> ЦТЛ [14].

Ослабление спонтанного апоптоза в культуре мононуклеаров детей 2-й группы может быть связано с уменьшением в циркуляции CD4<sup>+</sup> Th1, несущих FasL и индуцирующих апоптоз не только инфицированных В-клеток, но и самих Т-лимфоцитов [30, 40], CD8<sup>+</sup> ЦТЛ и ЕК (CD16<sup>+</sup>), элиминирующих инфицированные клетки с участием апоптоза [38], а в острую фазу и моноцитов (см. табл. 1 и 2), способных секретировать в культуральную среду растворимый FasL, который запускает апоптоз в окружающих CD95<sup>+</sup> клетках [23]. Следствием уменьшения пула лимфоцитов с цитотоксическими свойствами может быть появление в крови детей 2-й группы большего числа инфицированных ВЭБ В-лимфоцитов со сниженной способностью к апоптозу.

В то же время, сниженная экспрессия CD95 в лимфоцитах детей с клинически более выраженным ИМ (2-я группа), может быть обусловлена цитокином Th2 IL-4, оказывающим супрессивный эффект на антигенпредставляющие клетки и активацию Т-лимфоцитов через Т-клеточный рецептор для антигена. Это может происходить, в частности, из-за подавления IL-4 продукции TNF- $\alpha$ , IL-1-b и IFN- $\gamma$ , необходимых для активации адгезионной молекулы ICAM-1, ответственной за стабилизацию комплекса TCR-МНС-антигенный пептид [13]. Показано, что стимуляция экспрессии Fas-антигена в лимфоцитах ассоциирована с индукцией секреции TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , то есть цитокинов Th1 типа [29].

**Заключение**

Таким образом, нарастающая выраженность клинических симптомов острого ИМ у детей ассоциирована с изменением ведущего профиля механизмов иммунной защиты, снижением экспрессии Fas/CD95 и склонности к спонтанному апоптозу *in vitro*. Высокий ответ Т-лимфоцитов в ФГА-РБТЛ, повышенный уровень TNF- $\alpha$ , относительно низкий уровень синтеза IgA и IgE, накопления ЦИК у детей с относительно легким течением ИМ (1-я группа) косвенно свидетельствуют о преимущественно клеточно-опосредованной направленности иммунного ответа. Напротив, супрессия ФГА-РБТЛ, преобладание IL-4 при сниженной концентрации TNF- $\alpha$  в крови, повышенное содержание в крови CD21<sup>+</sup> В-лимфоцитов и плазматических клеток, активация синтеза IgA и, особенно, IgE, усиленное накопление ЦИК у детей с клинически более выраженным ИМ (2-я группа) позволяют предположить у них смещение баланса Th1/Th2 в сторону превалирования Th2 и гуморальной формы иммунного ответа. Это сопровождается снижением экспрессии рецептора апоптоза CD95 на циркулирующих лимфоцитах и повышением выживаемости клеток в культуре.

Патогенетическая значимость модуляции иммуногенеза и апоптоза при нарастании тяжести кли-

нических проявлений ИМ остается неясной, что диктует необходимость дальнейших исследований. Не исключено, что при данной инфекции снижение экспрессии CD95 и готовности лимфоцитов к спонтанному апоптозу *in vitro* является неблагоприятным признаком, так как оно ассоциировано с

переключением на менее эффективный при вирусной инфекции гуморальный путь иммунной защиты и с присущими такому переключению проявлениями иммуносупрессии, прежде всего в виде подавления пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на ФГА [1, 2, 3, 4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Железникова Г.Ф., Благословенский Г.С., Аксенов О.А. и др. Соотношения между реакцией бласттрансформации лимфоцитов, стимулированной фитогем-агглютинином, и некоторыми компонентами иммунного ответа при коревом вакцинальном процессе у детей // Ж. микробиол. - 1994. - N 5. - С. 86-87.
2. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Мельникова А.В. и др. Варианты иммунного ответа в динамике локализованной формы дифтерии ротоглотки у детей // Ж. микробиол. - 1998. - N 5. - С. 58-63.
3. Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Аксенов О.А. и др. Варианты иммунного ответа при острых респираторно-вирусных инфекциях у детей // Вопр. вирусол. - 1999. - N 6. - С. 249-253.
4. Железникова Г.Ф., Бехтерева М.К., Иванова В.В. и др. Характеристика четырех уровней (типов) иммунного ответа при паротитно-вирусной инфекции у детей // Мед. иммунология. - 2000. - N 2. - С. 163.
5. Исаева М.П., Леонова Г.Н., Кожемяко В.Б. Апоптоз как механизм цитопатического действия вируса клещевого энцефалита // Вопр. вирусол. - 1998. - N 4. - С. 182-186.
6. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Иммунология для врача. - СПб, 1998. - 156 с.
7. Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н. Новые иммунопатогенетические взгляды: апоптотические иммунодефициты // Иммунология. - 1998. - N 6. - С. 17-18.
8. Новиков Д.К. Медицинская иммунология. - Минск-Витебск, 1999. - 175 с.
9. Поляков В.Е., Лялина В.Н., Воробьева М.Л. и др. Инфекционный мононуклеоз (болезнь Филатова) у детей и подростков // Эпидемиол. и инфекционные болезни. - 1998. - N 6. - С. 50-55.
10. Семенов Б.Ф., Варгин В.В. Иммуномодуляция при вирусных инфекциях и вакцинации // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Вирусология. - 1989. - Т. 17. - 183 с.
11. Скули Р. (Schooley R.) Инфекции, вызываемые вирусом Эпштейна-Барра, включая инфекционный мононуклеоз / Внутренние болезни. В 10 книгах. Книга 4. Пер. с англ./ Под ред. Е.Браунвальда и др. - М., Медицина. - 1994. - С. 101-109.
12. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей. СПб, 1998. - 113 с.
13. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе. Выбор клеткой формы ответа // Иммунология. - 1999. - N 1. - С. 17-24.
14. Alexander-Miller M., Derby M., Sarin A. et al. Supraoptimal peptide-major histocompatibility complex causes a decrease in Bcl-2 levels and allows TNF- $\alpha$  receptor II-mediated apoptosis of cytotoxic T-lymphocytes // J. Exp. Med. - 1998. - Vol. 188. - N 8. - P. 1391-1399.
15. Brugnoli D., Airo P., Timpano S. et al. CD8+CD28- T cells in vertically HIV-infected children // Clin. Exp. Immunol. - 1997. - Vol. 109. - N 3. - P. 412-425.
16. Dbaibo G., Hannun J. Molecule of the month. Cytokine response modifier A: a strategically deployed viral weapon // Clin. Immunol. Immunopathol. - 1998. - Vol. 86. - N 2. - P. 134-140.
17. Estaquier J., Idziorek T., De Bels F. et al. Programmed cell death and AIDS: significance of T cell apoptosis in pathogenic and non pathogenic primate lentiviral infections // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1994. - Vol. 91. - N 20. - P. 9431-9435.
18. Estaquier J., Idziorek T., Zon W. et al. Th type 1/Th type 2 cytokines and T cell death: preventive effect of IL-12 on activation-induced and CD95(Fas/APO-1)-mediated apoptosis of CD4+ T cells from HIV-infected persons // J. Exp. Med. - 1995. - Vol. 182. - N 6. - P. 1759-1768.
19. Furukawa S., Motohashi T., Matsulara T. et al. Increased expression of CD23 on peripheral blood B cells and macrophages/monocytes during acute infectious mononucleosis // J. Infect. Dis. - 1992. - Vol. 166. - N 3. - P. 691-692.
20. Gorla R., Imberti L., Prain E. et al. Differential priming to programmed cell death of superantigen-reactive lymphocytes of HIV patients // AIDS Res. Human Retrovir. - 1994. - Vol. 10. - P. 1097-1103.
21. Gregory C., Dive C., Henderson S. et al. Activation of Epstein-Barr virus latent genes protects human B cells from death by apoptosis // Nature. - 1991. - Vol. 349. - P. 612.
22. Hasimoto S., Takei M., Gon J. et al. Elevation of soluble CD23 in sera from patients with infectious mononucleosis // J. Med. Virol. - 1997. - N 4. - P. 384-387.

23. Kiener P., Davis P., Rankin B. et al. Human monocytic cells contain high levels of intracellular Fas Ligand // *J. Immunol.* - 1997. - Vol. 159. - N 4. - P. 1594-1598.
24. Larochelle B., Flamand L., Gourde P. et al. Epstein-Barr virus infects and induces apoptosis in human neutrophils // *Blood.* - 1998. - Vol. 92. - N 1. - P. 291-299.
25. Lewis J., Wesseling S., Griffin D., Hardwick K. Alphavirus- induced apoptosis in mouse brain correlates with neurovirulence // *J. Virol.* - 1996. - Vol. 70. - N 3. - P. 1828-1836.
26. Miyawaki T., Uehara R., Nibu R. et al. Differential expression of apoptosis-related Fas antigen on lymphocyte subpopulations in human peripheral blood // *J. Immunol.* 1992. - Vol. 149. - N 11. - P. 3753-3758.
27. Moskophidis D., Lechner F., Pircher H., Zinkernagel R. Virus persistence in acutely infected immunocompetent mice by exhaustion of antiviral cytotoxic effector T-cells // *Nature.* - 1993. - Vol. 362. - P. 758-761.
28. Mosmann T., Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more // *Immunol. Today.* - 1996. - Vol. 17. - N 3. - P. 138-146.
29. Oyaizu N., McCloskey T., Than S. et al. Cross-linking of CD4 molecules upregulates Fas antigen expression in lymphocytes by inducing IFN-g and TNF-a secretion // *Blood.* - 1994. - Vol. 84. - P. 2622-2634.
30. Ramsdell F., Seaman M., Miller R. et al. Differential ability of Th1 and Th2 cells to express Fas ligand and to undergo activation-induced cell death // *Intern. Immunol.* 1994. - Vol. 6. - P. 1545-1548.
31. Roberge Ch., McColl S., Larochelle B., Gosselin J. GM-CSF enhances EBV-induced synthesis of chemotactic factors in human neutrophils // *J. Immunol.* - 1998. - Vol. 160. - N 5. - P. 2442-2448.
32. Sieg S., Huang Y., Kaplan D. Viral regulation of CD95 expression and apoptosis in T lymphocytes // *J. Immunol.* - 1997. - Vol. 159. - N 3. - P. 1192-1199.
33. Takizawa T., Matzukawa S., Higguchi Y. et al. Induction of programmed cell death (apoptosis) by influenza virus infection in tissue culture cells // *J. Gen. Virol.* - 1993. Vol. 74. - P. 2347-2353.
34. Tanner J., Alfieri C., Chatilo T., Diaz-Mitoma Fr. Induction of IL-6 after stimulation of human B-cell CD21 by EBV glycoproteins gp 350 and gp 220 // *J. Virol.* - 1996. - Vol. 70. - N 1. - P. 570-575.
35. Tanner J., Alfieri C. Epstein-Barr virus induces Fas(CD95) in T cells and Fas ligand in B-cells leading to T-cell apoptosis // *Blood.* - 1999. - Vol. 94. - N 10. - P. 3439-3447.
36. Tolstaya E.A., Romanova L.I., Kolesnikova M.S. Apoptosis-inducing and apoptosis-preventing functions of poliovirus // *J. Virol.* - 1995. - Vol. 69. - N 2. - P. 1181-1189.
37. Uehara T., Miyawaki T., Ohta K. et al. Apoptotic cell death of primed CD45RO+ T-lymphocytes in EBV-induced infectious mononucleosis // *Blood.* - 1992. - Vol. 80. - P. 452-458.
38. Wilson D., Redchenko J., William N., Morgan A. CD4+ T cells inhibit growth of EBV-transformed B-cells through CD95-CD95L-mediated apoptosis // *Int. Immunol.* - 1998. - N 8. - P. 149-157.
39. Wright-Browne V. et al. Serum cytokine levels in infectious mononucleosis at diagnosis and convalescence // *Leuk. Lymphoma.* - 1998. - N 5-6. - P. 583-589.
40. Zhang X., Brunner T., Carter L. et al. Unequal death in T helper cell (Th)1 and Th2 effectors: Th1, but not Th2, effectors undergo rapid Fas/FasL-mediated apoptosis // *J. Exp. Med.* - 1997. - Vol. 185. - P. 1837-1843.

Поступила 20 июня 2000 г