



УДК 576.858.53-091.818-053.2

КРАМАРЕВ С.А.<sup>1</sup>, ТАРАДИЙ Н.Н.<sup>2</sup>, ВЫГОВСКАЯ О.В.<sup>1</sup><sup>1</sup>Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев<sup>2</sup>Международный центр астрономических и медико-экологических исследований НАНУ, г. Киев

## СОСТОЯНИЕ АПОПТОЗА ПРИ ОСТРОЙ ЭПШТЕЙНА — БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

**Резюме.** В статье представлен научный обзор, посвященный изучению вопроса апоптоза иммунокомпетентных клеток при патологических процессах, в том числе и при Эпштейна — Барр вирусной инфекции. Также представлены данные собственного исследования, выявившие нарушение экспрессии маркеров апоптоза иммунокомпетентных клеток у детей с острой Эпштейна — Барр вирусной инфекцией. Уровень Fas/Apo-1 превышал контрольное значение в 2,9 раза, Vcl-2 — в 2,3 раза, Вах — в 3,2 раза, INF-γ — в 3,1 раза, TNF-α — в 3 раза, аннексина V — в 2,5 раза по сравнению с показателями в группе сравнения.

**Ключевые слова:** апоптоз, дети, Эпштейна — Барр вирусная инфекция, острая инфекция.

### Введение

Роль апоптоза при вирусных инфекциях представляет фундаментальный интерес для понимания патогенетических процессов иммунной системы, имеет прикладное значение для объективного обоснования назначаемой терапии. В последние годы этот процесс представляет интерес с позиции молекулярной биологии, биохимии и генетики.

Апоптоз (от греч. *apoptosis* — листопад) представляет собой форму гибели клетки, которая выявляется с помощью морфологической идентификации: конденсации хроматина, уменьшения размера клетки, фрагментации ядра и цитоплазмы, образования апоптотических телец [1, 2]. Большинство вирусов, передающихся воздушно-капельным путем, в том числе Эпштейна — Барр вирус (ЭБВ), могут вызывать апоптоз в клетках дыхательного эпителия, при этом процесс апоптоза может активироваться через фактор некроза опухоли α (TNF-α) — апоптозиндуцирующий лиганд TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), который приводит к селективному уничтожению инфицированных вирусом клеток [3–9]. TNF-α представляет собой растворимый цитокин, синтезируемый активированными Т-лимфоцитами и макрофагами в ответ на воспаление и инфекцию [10]. Связывание его с TNF-рецепторами (TNF-R) приводит к развитию той же реакции, что и при связывании Fas receptor (Fas-R) и Fas ligand (Fas-L or CD95L), с той лишь разницей, что мобилизуется белок TRADD (TNF receptor-associated death domain) [11, 12]. Это, в свою очередь, приводит к усилению транскрипции

фактора nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) и активатора плазминогена-1 (AP-1) [13]. TNF-α стимулирует адгезию нейтрофилов на эндотелиальных клетках и их экстравазацию — миграцию к очагу воспаления из сосудистого русла (способствуя разрыхлению межклеточного матрикса), способствует активации нейтрофилов, усиливая фагоцитоз и продукцию супероксидных радикалов, а также экспрессию рецепторов комплемента на нейтрофилах, индуцирует экспрессию дополнительных Fas-рецепторов на Т-лимфоцитах, human leukocyte antigen (HLA-DR) и экспрессию высокоаффинного рецептора интерлейкина-2 (IL-2) [11, 13]. Т-клетки под действием TNF-α ускоряют пролиферацию в ответ на IL-2, а также увеличивают IL-2-зависимый синтез интерферона γ (IFN-γ). TNF-α является аутокринным и паракринным активатором макрофагов, усиливая их способность убивать микроорганизмы. TNF-α служит хемоаттрактантом для макрофагов и клеток Лангерганса в коже, стимулирует продукцию IL-1, простагландина E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). TNF-α действует преимущественно на начальных этапах воспалительного процесса. Для его завершения необходим transforming growth factor beta (TGF-β). Синтез TNF-α снижается уже через несколько часов после активации. TNF-α оказывает

© Крамарев С.А., Тарадий Н.Н., Выговская О.В., 2013

© «Здоровье ребенка», 2013

© Заславский А.Ю., 2013

сильное провоспалительное и катаболическое действие, обладает антимикробной и противоопухолевой активностью, взаимодействует с мембранным рецептором Fas-семейства (p55) [3, 10–13].

В некоторых ситуациях апоптоз важен для жесткого регулирования в поддержании целостности тканей, функции и оборота клеток, поэтому, как правило, рассматривается как противовоспалительный процесс.

Роль апоптоза при вирусных инфекциях связана с ограничением масштабов инфекции, включая воспаление, и является общим клеточным ответом. Макрофагальные клетки, которые фагоцитировали апоптотические клетки, приобретают при этом противовоспалительные свойства. В таких макрофагах повышается экспрессия TGF- $\beta$  и PGE<sub>2</sub>, уменьшается продукция IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). Макрофаги, которые фагоцитировали апоптотические клетки, способны ингибировать пролиферацию Т-лимфоцитов в отличие от макрофагов, фагоцитирующих некротическую клетку [15].

В последнее время уделяется большое внимание изучению биологической активности белков, относящихся к семейству аннексинов. Аннексин V (Ann V) относится к семейству Ca<sup>2+</sup>- и фосфолипидсвязывающих белков, блокирующих фосфолипазу А. В механизме действия Ann V большое значение имеет его свойство связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами, в том числе с фосфатидилсеринем (ФС), экспозиция которого на клеточной мембране является одним из ранних признаков апоптоза [4]. Аннексин V, как и другие аннексины, не выделяется из нормальных клеток; источником внеклеточного Ann V являются апоптотические и разрушенные клетки [3, 16].

В исследованиях было показано, что B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) напрямую или опосредованно препятствует высвобождению цитохрома С. Транслокация гена Bcl-2, приводящая к его гиперэкспрессии, характерна для В-клеточной лимфомы, некоторых форм рака и резистентности к химиотерапии [17–21]. Противовоспалительная и сохраняющая функция белка Bcl-2 заключается в защите эндотелиальных клеток путем ингибирования ядерного фактора NF-kB и снижения выработки провоспалительных генов [15, 22].

Проапоптотический белок Bax (apoptosis regulator BAX or bcl-2-like protein 4), перемещаясь из цитоплазмы на поверхность митохондрий, инактивирует антиапоптотические белки, что приводит к образованию пор в митохондриях и выходу цитохрома С и других проапоптотических молекул из межмолекулярного пространства [23]. Проапоптотические члены Bcl-2 также увеличивают проницаемость митохондриальной мембраны, что ведет к попаданию проапоптотических белков в цитоплазму. Подобно другим членам семейства, Bax состоит из константных доменов Bcl-2 гомологов 1 (BH 1) и 2 (BH 2), что предопределяет их гомо- или гетеродимеризацию с Bcl-2. Несмотря на то, что Bax сам по себе не вызывает апоптоз, повышение уровня Bax ускоряет развитие апоптоза после сигналов смерти, таких как цитокиновая депривация или взаимодействие Fas с Fas-лигандом [23]. Возникновение апоптоза опреде-

ляется соотношением гомодимеров Bax и Bax/Bcl-2 гетеродимеров. Когда Bcl-2 в избытке, апоптоз ингибируется. Однако если уровень Bax увеличивается в ответ на сигнал смерти, это способствует клеточной смерти.

Чувствительность лимфоцитов разных классов к апоптозу существенно отличается. Так, Т-клетки более чувствительны к апоптозу, чем В-лимфоциты [25]. Это объясняется тем, что активация рецептора антигенного распознавания Т-лимфоцита приводит к резкому повышению чувствительности клетки к апоптозу, в то же время активация антигенраспознающего рецептора В-клеток обуславливает резистентность этих лимфоцитов к апоптозу. Несмотря на то, что активированные В-лимфоциты способны выживать после взаимодействия со специфическим аутоантигеном, они не в состоянии развивать иммунный ответ без поддержки со стороны Т-хелперов.

Данные об образовании аннексина V, Fas/Apo1, Bax, Bcl-2, интрацеллюлярных INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  при ЭБВ-инфекции малочисленны и противоречивы [26].

В связи с этим **целью нашей работы** стало изучение экспрессии в иммунокомпетентных клетках (ИКК) маркеров апоптоза Fas/Apo-1, Bcl-2, Bax, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , аннексина V, количества ИКК, подвергшихся апоптозу в циркулирующей крови больных острой ЭБВ-инфекцией, для уточнения их роли в патогенезе заболевания.

## Материалы и методы

Исследование проводилось среди 25 детей в возрасте от 3 до 18 лет, больных острой ЭБВ-инфекцией, которые находились на стационарном лечении в городской детской клинической инфекционной больнице города Киева с 2008 по 2012 год. Диагноз острой ЭБВ-инфекции устанавливали на основании данных анамнеза, клинического и лабораторного обследования (общий анализ крови, определение активности трансаминаз крови), выявления специфических маркеров ЭБВ-инфекции — антител классов IgM VCA, IgG VCA, IgG EA к ЭБВ, отсутствия в крови IgG EBNA, определения ДНК ЭБВ в крови и слюне.

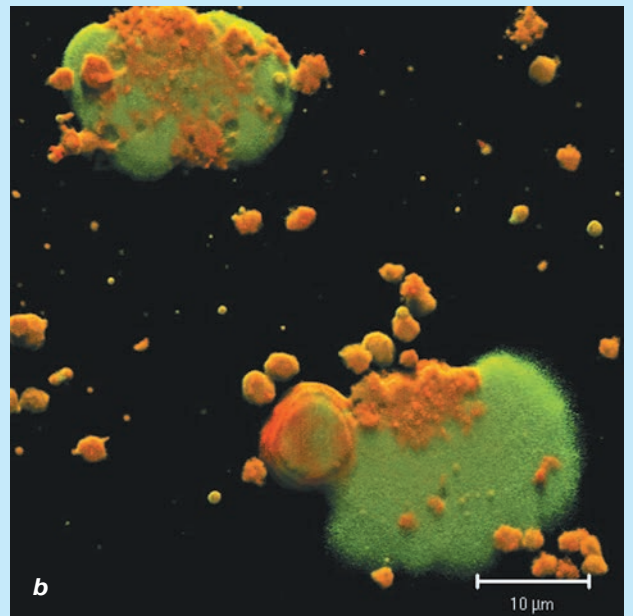
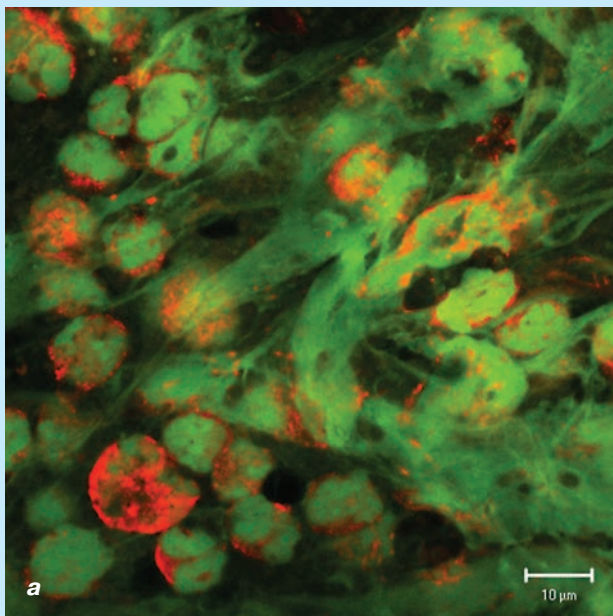
Мальчиков было 45 %, девочек — 55 %. Детей от 3 до 6 лет — 35 %, 7–9 лет — 25 %, 10–14 лет — 20 %, старше 14 лет — 20 %; со среднетяжелой формой заболевания — 50 % детей, легкой — 25 %, тяжелой — 25 %. Анализ жалоб и данных объективного обследования показал, что у всех детей заболевание начиналось остро, с интоксикационного синдрома, который проявлялся в виде общей слабости, вялости, недомогания (100 %), снижения аппетита (75 %), головной боли (83,3 %), тошноты (50 %), у детей с тяжелыми формами — артралгии, миалгии, рвоты. Со стороны центральной нервной системы также наблюдались изменения у всех детей в виде эмоциональной лабильности, плаксивости, повышенной возбудимости, отрицательной реакции на осмотр, вялости, нарушение сна выявлено у 66,7 % пациентов. Экзантема встречалась у 40 % больных — преимущественно у детей, принимавших в домашних условиях ампициллин или его произ-

водные. У большинства больных сыпь появлялась на 4–7-й день от начала лечения и сохранялась в течение 10–14 дней. Преобладала пятнисто-папулезная сыпь (61,9 %) средних и/или больших размеров, расположенная по всей поверхности тела, у большинства пациентов сыпь носила сливной характер. У 23,8 % детей сыпь была мелкоточечной, у 14,3 % — геморрагической. Гипертермический синдром регистрировался у всех детей. Повышение температуры тела до 38 °С — у 37,0 %; 38,1–39 °С — у 35,2 %; 39–41 °С — у 27,8 % пациентов. Поражение лимфоидной ткани обнаружено у всех больных. Системный характер лимфаденопатии — у 76,7 % детей. Преимущественно отмечалось увеличение подчелюстных (73,3 %), передне-, заднешейных (83,3 %), паховых групп (50 %) лимфатических узлов. Также были увеличены и другие группы лимфоузлов — подмышечные (50 %), затылочные (45 %), надключичные и подключичные (41,7 %). У всех больных наблюдалось поражение носоглотки: в виде заложенности носа — 86,8 % детей, отека лица и век — 52,8 %, затруднения носового дыхания — 75,5 %, храпа во время сна — 50 %. Выделения из носа появлялись после 4-го дня от начала болезни у 47,2 % пациентов. У всех детей имел место острый тонзиллит, который проявлялся дискомфортом, болью в горле при глотании, гиперемией слизистой оболочки ротоглотки, зернистостью мягкого неба, дужек, задней стенки глотки. На момент госпитализации наслоения на миндалинах наблюдались у 81,7 % больных. Из них у 65,3 % они были гнойные, у 34,7 % — пленчатые, у 25 % — творожистые. У 5 больных наслоений на миндалинах не было, у них отмечались лишь гиперемия и отечность слизистой оболочки ротоглотки. Постоянным симптомом заболевания была гепатомегалия, вы-

явленная у всех детей. Явления гепатита с синдромом цитолиза наблюдали у каждого третьего больного. У этих пациентов при отсутствии гипербилирубинемии регистрировалось повышение активности аланинаминотрансферазы ( $70,5 \pm 7,8$  ед.), аспартатамино-трансферазы ( $59,0 \pm 2,8$  ед.). При этом желтушность кожи и слизистых оболочек имела место только у 24,5 % больных. У этих детей наблюдалась умеренная гипербилирубинемия ( $90,0 \pm 4,6$  мкмоль/л). Спленомегалия отмечалась у 86,7 % больных. Гематологические нарушения наблюдались у всех детей. В крови у 73,3 % пациентов отмечались умеренный лейкоцитоз ( $14,4 \pm 3,5 \cdot 10^9$ /л), лимфоцитоз (88,3 %), моноцитоз (83,3 %). У 61,7 % больных были обнаружены атипичные мононуклеары (виروциты) (рис. 1), их количество в периферической крови колебалось от 10 до 55 %, СОЭ была повышенной у 70 % ( $25,0 \pm 5,2$  мм/ч).

Группу сравнения составили 25 практически здоровых детей — спортсменов в возрасте от 7 до 14 лет, которые были обследованы в соответствии с международным этическим протоколом.

Лимфоциты выделяли из стабилизированной этилендиаминтетрауксусной кислоты (50 ммоль/10 мл) венозной крови, разведенной 1 : 2 средой RPMI 1640 (Sigma, США) с добавлением 10% инактивированной фетальной телячьей сыворотки (GidcoBRL, Англия) в градиенте плотности фиколл-верографина (Pharmacia, плотность 1,077), трехкратно отмывали раствором PBS (pH 7,2; Flow Labs, Великобритания). Жизнеспособность клеток составляла 95–98 %. Фиксацию препаратов проводили на предметных стеклах в маркированных лунках ( $1 \cdot 10^6$  клеток в 1 мл) в течение 3 минут в парах 10% нейтрального формалина. Перед окрашиванием мазки дважды промывали в



**Рисунок 1.** Препараты больного острой Эпштейна — Барр вирусной инфекцией: а — скопления мононуклеаров ( $> 10 \mu\text{m}$ ) с крупными фрагментированными ядрами и лимфоцитов между зелеными тяжами ДНК и красными конгломератами РНК из разрушенных клеток (окраска акридиновым оранжевым свежевыделенных лимфоцитов — ДНК — зеленый цвет, РНК — красный); б — мононуклеар в контакте с лимфоцитом. По результатам КЛСМ (а, б), в 3D-проекции (б). Маркер  $10 \mu\text{m}$  (собственные данные)

PBS (рН 7,2). Маркеры апоптоза исследовали в сочетании с маркерами дифференцировки CD4, CD8, CD25, CD20. На фиксированные клетки наносили по 20 мкл моноклональных антител, меченных FITC или Cy5, к CD4 или CD8, CD25, CD20 (НПЦ «Мед-БиоСпектр», Москва, ОНЦ РАМН) в оптимальной концентрации ( $\leq 0,5$  мкг), инкубировали 15–30 мин при 4 °С в темноте, дважды промывали PBS. Маркеры апоптоза Bax, Bcl-2, iNOs, Fas/Apo, интрацеллюлярный INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , аннексин V выявляли с помощью моноклональных антител (Pharmingen, США), конъюгированных с флуоресцентными метками разного спектра свечения (FITC/519 — зеленый, PE/578 — желтый, Cy5/667 — красный, PerCP/678 — темно-красный). После окрашивания поверхностных антигенов препараты пермеабилizировали в 20 мкл раствора Cytotfix/Cytoperm (BD™PhosFlow) в течение 10–20 мин при 4 °С, дважды промывали в растворе Perm/Wash (BD™PhosFlow). Затем окрашивали клетки АТ к рецепторам INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , конъюгированным с FITC, в соответствии с индивидуальным для каждого маркера протоколом (BD Transduction Laboratories, Pharmingen™, США). Bax исследовали непрямим иммунофлюоресцентным методом с применением очищенных мышинных моноклональных антител против человеческого Bax (Pharmingen™, США) в конечной концентрации 5 мкг/мл на 106 ИКК. Связавшиеся первичные антитела визуализировали с помощью вторичных АТ, меченных PerCP(exc488/532, em-max 678). Вторичные АТ — кроличьи антимышинные IgG1, конъюгированные с PerCP (Pharmingen™, США), — светятся в красной части спектра. Bcl-2 выявляли после фиксации раствором 1% сапонина в PBS и пермеабилизации в 20 мкл Cytotfix/Cytoperm (BD™PhosFlow) 10 мин при 4 °С, дважды промывали PBS и окрашивали моноклональными антителами, меченными PE (Pharmingen, США), 30 минут при 4 °С в темноте. Свечение учитывали в желтом спектре (Lazer 514 nm, фильтр BP 560–615). INOs определяли с помощью моноклональных антител, конъюгированных с FITC, в соответствии с протоколом BD Transduction Laboratories (Pharmingen™, США). Окрашивали препараты с помощью набора Pharmingen™ (США) для выявления аннексина V/пропидия йодида в соответствии с протоколом фирмы Pharmingen. Ядра лимфоцитов окрашивали Hoechst (Sigma) в синий цвет. Результаты учитывали на двух конфокальных лазерных сканирующих микроскопах: Axioskop-2 LSM 5 PASCAL и AxioCam HRO LSM PASCAL 510 META (Carl ZEISS) с гелий-неоновым и аргоновым лазерами (Lazer 488 nm, фильтр BP 505–530; Lazer 514 nm, фильтр BP 560–615, Lazer 543 nm, фильтр LP650). Объектив — 100/1,4 160/017, окуляр 10(23), масляная иммерсия. Полученные изображения сканировали и обрабатывали с помощью компьютерной программы LSV510.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью MS Excel 2007. Определялись средние показатели (t-тест Student) и стандартные отклонения ( $M \pm SD$ ). Разницу частот определяли по

методу оценки разницы между частотами появления признака в отдельных сериях наблюдения, статистически достоверной считали разницу, если  $p < 0,05$  [27].

## Результаты исследования

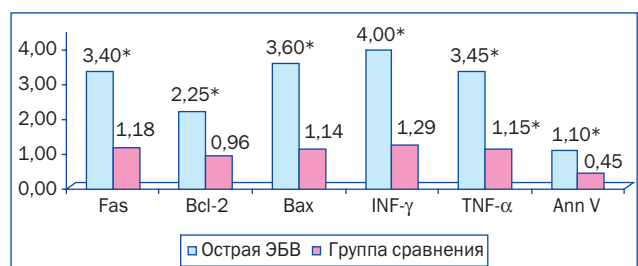
Сравнительное исследование маркеров апоптоза при острой ЭБВ-инфекции показало высокую степень их экспрессии (рис. 1). Все изучаемые маркеры апоптоза: Fas/Apo-1, Bax, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , аннексина V, Bcl-2 — превышали контрольные значения в 2–3 и более раза ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

У детей с острой ЭБВ-инфекцией при госпитализации в стационар уровень Fas/Apo-1 превышал контрольное значение в 2,9 раза, Bcl-2 — в 2,3 раза, Bax — в 3,2 раза, INF- $\gamma$  — в 3,1 раза, TNF- $\alpha$  — в 3 раза, аннексина V — в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

На рис. 3 для примера представлена экспрессия Bcl-2 и Bax в CD4-, CD20-, CD25-лимфоцитах при острой ЭБВ-инфекции.

## Обсуждение результатов

Роль изучаемых маркеров апоптоза на течение ЭБВ-инфекции у детей, с одной стороны, указывает на компенсаторные возможности иммунной системы за счет усиления экспрессии гена Bcl-2 и усиления экспрессии гена Bax в субпопуляциях CD4 и CD8. Активация экспрессии проапоптозного рецептора к TNF- $\alpha$  в основном пуле клеток приводит к индукции экспрессии дополнительных Fas-рецепторов. Высокая экспрессия Fas-R на ИКК у больных ИМ ЭБВ-этиологии детей с одновременной активацией экспрессии дифференцировочного маркера CD8 (потенциально несущие Fas-L) свидетельствует о направлении апоптоза по оксидантному и Fas-опосредованному пути. Основную роль в элиминации инфицированных клеток у больных ЭБВ-инфекцией детей выполняют цитотоксические Т-супрессоры. Активизация экспрессии маркеров апоптоза способствует высвобождению большого количества оксида азота, который индуцирует выделение токсических для патогенов субстанций, способствуя усилению апоптотической гибели внутриклеточно персистирующих патогенов. Низкое количество апоптотических клеток в популяции Т-хелперов зависит от высокой экспрессии в них антиапоптотического гена



**Рисунок 2. Экспрессия маркеров апоптоза иммунокомпетентных клеток при острой Эпштейна — Барр вирусной инфекции у детей: по вертикальной оси — абсолютное количество ИКК · 10<sup>9</sup>/л (Г/л); \* — достоверность разницы между показателями у детей с острой ЭБВ-инфекцией и группой сравнения ( $p < 0,05$ )**

Bcl-2, который защищает клетки от апоптоза. Еще одним аргументом в пользу компенсаторных реакций иммунной системы при ИМ у детей можно отнести нормальный уровень экспрессии внутриклеточного INF- $\gamma$ , представляющего собой резерв макрофагальной и цитотоксической активности в антивирусной и антипролиферативной защите.

В доступной нам литературе встречаются единичные работы по изучению апоптоза при ЭБВ-инфекции. Так, Г.Ф. Железникова и соавт. провели изучение апоптоза при инфекционном мононуклеозе ЭБВ-этиологии у детей и получили данные, свидетельствующие о том, что нарастающая выраженность клинических симптомов острого инфекционного мононуклеоза 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 инфекционного мононуклеоза 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 инфекционным мононуклеозом 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 [26].

Патогенетическая значимость модуляции иммуногенеза и апоптоза при острой Эпштейна — Барр вирусной инфекции 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 с присущими такому переключению проявлениями иммуносупрессии, прежде всего в виде подавления пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на ФГА [26].

Таким образом, данная работа по изучению состояния апоптоза иммунокомпетентных клеток при острой ЭБВ-инфекции является актуальной и требует дальнейшего исследования.

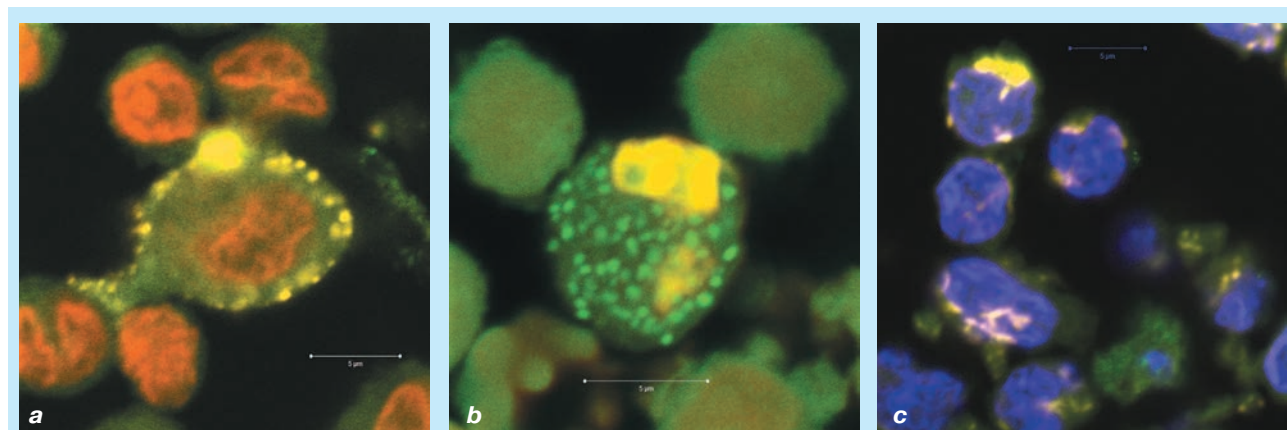
### Выводы

1. У детей с острой Эпштейна — Барр вирусной инфекцией имеет место нарушение экспрессии маркеров апоптоза иммунокомпетентных клеток.
2. У детей уровень Fas/Аро-1 превышал контрольное значение в 2,9 раза, Bcl-2 — в 2,3 раза, Вах — в 3,2

**Таблица 1. Экспрессия маркеров апоптоза иммунокомпетентных клеток при острой Эпштейна — Барр вирусной инфекции у детей**

Группы	Fas/Аро-1	Bcl-2	Вах	INF- $\gamma$	TNF- $\alpha$	Ann V
Группа сравнения, n = 25	1,18 ± 0,09	0,96 ± 0,08	1,14 ± 0,11	1,29 ± 0,10	1,15 ± 0,12	0,45 ± 0,04
ИМ ЭБВ-этиологии, n = 25	3,37 ± 0,18*	2,24 ± 0,14*	3,63 ± 0,29*	4,00 ± 0,24*	3,40 ± 0,17*	1,11 ± 0,07*

**Примечание:** \* — достоверное различие с группой сравнения ( $p < 0,0005$ ).



**Рисунок 3:** а — дислокация Bcl-2 и Вах в CD4-лимфоцитах при ИМ ЭБВ-этиологии. Репрезентативный результат больного М.А. (6,5 года), маркер 5  $\mu$ m, зомп 3,9; б — экспрессия Bcl-2 и Вах в CD20-лимфоцитах при ИМ ЭБВ-этиологии. Репрезентативный материал больной Г.М. (5 лет), маркер 5  $\mu$ m, зомп 5,4; в — дислокация Fas/Аро в ИКК, экспрессирующих CD25 при ИМ ЭБВ-этиологии. Результат больной Г.И. (5 лет), маркер 5  $\mu$ m, зомп 3,2. По результатам КЛСМ. Масл. иммерсия, 100х/1,4 (собственные данные)

раза, INF- $\gamma$  — в 3,1 раза, TNF- $\alpha$  — в 3 раза, аннексина V — в 2,5 раза по сравнению с показателями в группе сравнения.

## Список литературы

1. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология. — 1996. — № 6. — С. 10-15.
2. Робинсон М.В., Труфакин В.А. Апоптоз клеток иммунной системы // Успехи совр. биол. — 1991. — Т. 111, № 2. — С. 246-259.
3. Kotelkin A., Prikhod'ko E.A., Cohen J.I., Collins P.L., Bukreyev A. Respiratory syncytial virus infection sensitizes cells to apoptosis mediated by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand // J. Virol. — 2003. — 77(17). — 9156-9172.
4. Clarke P., Meintzer S.M., Gibson S. et al. Reovirus-induced apoptosis is mediated by TRAIL // J. Virol. — 2000. — 74(17). — 8135-8139.
5. Barber G.N. Host defense, viruses and apoptosis // Cell Death Differ. — 2001. — 8(2). — 113-126.
6. Yamada K., Elliott W.M., Brattsand R. et al. Molecular mechanisms of decreased steroid responsiveness induced by latent adenoviral infection in allergic lung inflammation // J. Allergy Clin. Immunol. — 2002. — 109(1). — 35-42.
7. Azevedo A.M., Durigon E.L., Okasima V. et al. Detection of influenza, parainfluenza, adenovirus and respiratory syncytial virus during asthma attacks in children older than 2 years old // J. Allergol. Immunopathol. (Madr.). — 2003. — 31(6). — 311-317.
8. Yamada K., Elliott W.M., Hayashi S. et al. Latent adenoviral infection modifies the steroid response in allergic lung inflammation // J. Allergy Clin. Immunol. — 2000. — 106(5). — 844-851.
9. Lyles D.S. Cytopathogenesis and inhibition of host gene expression by RNA viruses // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2000. — 64(4). — 709-724.
10. Gao H.X., Campbell S.R., Burkly L. et al. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells // Cytokine. — 2009. — V. 114, № 2. — P. 113-120.
11. Harry G.J., Lefebvre d'Hellencourt C., McPherson C.A., Funk J.A., Aoyama M., Wine R.N. Tumor necrosis factor p55 and p75 receptors are involved in chemical-induced apoptosis of dentate granule neurons // J. Neurochem. — 2008. — V. 106, № 1. — P. 281-298.
12. Lehmann W., Edgar C.M., Wang K. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) coordinately regulates the expression of specific matrix metalloproteinases (MMPs) and angiogenic factors during fracture healing // Bone. — 2005. — V. 36, № 2. — P. 300-310.
13. Sheng W.S., Hu S., Ni H.T., Rowen T.N. et al. TNF-alpha-induced chemokine production and apoptosis in human neural precursor cells // J. Leukoc Biol. — 2005. — V. 78, № 6. — P. 1233-1241.
14. Cui L.Y., Liu S.L., Ding Y., Huang D.S. et al. IL-1beta sensitizes rat intervertebral disc cells to Fas ligand mediated apoptosis in vitro // Acta Pharmacol. Sin. — 2007. — V. 28, № 10. — P. 1671-1676.

15. Kiener P.A., Davis P.M., Starling G.C. et al. Differential induction of apoptosis by Fas- Fas-ligand interactions in human monocytes and macrophages // J. Exp. Med. — 1997. — Vol. 185. — P. 1511-1516.

16. Петрищев Н.Н., Васица Л.В. Аннексин А5 и дисфункция эндотелия // Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова. — 2004. — Т. XI, № 3 (Приложение). — С. 45-47.
17. Cadden I.S., Johnston B.T., Connolly R. et al. An investigation into the role of Bcl-2 in neuroendocrine differentiation // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2005. — V. 326, № 2. — P. 442-448.
18. Královcová D., Pejchalová M., Rudolf E., Cervinka M. Quantitative analysis of expression level of BCL2 and BAX genes in Hep-2 and HL-60 cells after treatment with etoposide // Acta Medica (Hradec Kralove). — 2008. — V. 51, № 3. — P. 191-195.
19. Floros K.V., Thomadaki H., Florou D. et al. Alterations in mRNA expression of apoptosis-related genes BCL2, BAX, FAS, caspase-3, and the novel member BCL2L12 after treatment of human leukemic cell line HL60 with the antineoplastic agent etoposide // Ann. NY Acad. Sci. — 2006. — V. 109, № 6. — P. 89-97.
20. Herrera-Esparza R., Bollain-y-Goytia J., Ruvalcaba C. et al. Apoptosis and cell proliferation: the paradox of salivary glands in Sjögren's disease // Acta Reumatol. Port. — 2008. — V. 33, № 3. — P. 299-303.
21. Lei X., Huang Z., Zhong M. et al. Bcl-XL small interfering RNA sensitizes cisplatin-resistant human lung adenocarcinoma cells // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). — 2007. — V. 39, № 5. — P. 344-350.
22. Strasser A., Harris A.W., Huang D.C.S. et al. Bcl-2 and Fas/APO-1 regulates distinct pathways to lymphocyte apoptosis // Eur. Mol. Biol. Organ. J. — 1995. — Vol. 14. — P. 6136-47.
23. Hou Q., Hsu Y.T. Bax translocates from cytosol to mitochondria in cardiac cells during apoptosis: development of a GFP-Bax-stable H9c2 cell line for apoptosis analysis // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2005. — V. 289, № 1. — P. 477-487.
24. Magalska A., Brzezinska A., Bielak-Zmijewska A., Piwocka K., Mosieniak G., Sikora E. Curcumin induces cell death without oligonucleosomal DNA fragmentation in quiescent and proliferating human CD8+ cells // Acta Biochim. Pol. — 2006. — V. 53, № 3. — P. 531-538.
25. Хаитов П.М., Игнатъева А.Г., Сидорович И.Г. Иммунология. — М.: Медицина, 2000. — 432 с.
26. Железничкова Г.Ф., Васякина Л.И., Монахова Н.Е., Павленко М.А., Новожилова Е.В., Попова Н.А., Родионова О.В. Апоптоз и иммунный ответ у детей с острым инфекционным мононуклеозом // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. — 2000. — № 4. — С. 87-94.
27. Методы обработки медицинской информации: Учеб. пособие / О.П. Минцер, Б.Н. Угаров, В.В. Власов. — К.: Вища школа, 1991. — 271 с.

Получено 23.09.13 □

Крамарев С.О.<sup>1</sup>, Тарадій Н.Н.<sup>2</sup>, Виговська О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

<sup>2</sup>Міжнародний центр астрономічних і медико-екологічних досліджень НАНУ, м. Київ

## СТАН АПОПТОЗУ ПРИ ГОСТРІЙ ЕПШТЕЙНА — БАРР ВІРУСНІЙ ІНФЕКЦІЇ В ДІТЕЙ

**Резюме.** У статті надано науковий огляд, присвячений вивченню питання апоптозу імункомпетентних клітин при патологічних процесах, у тому числі й при Епштейна — Барр вірусній інфекції. Також наведені дані власного дослідження, що виявили порушення експресії маркерів апоптозу імункомпетентних клітин у дітей із гострою Епштейна — Барр вірусною інфекцією. Рівень Fas/Apo-1 перевищував контрольне значення у 2,9 раза, Bcl-2 — у 2,3 раза, Bax — у 3,2 раза, INF- $\gamma$  — у 3,1 раза, TNF- $\alpha$  — у 3 рази, аннексину V — у 2,5 раза порівняно з показниками у групі порівняння.

**Ключові слова:** апоптоз, діти, Епштейна — Барр вірусна інфекція, гостра інфекція.

Kramarev S.A.<sup>1</sup>, Taradiy N.N.<sup>2</sup>, Vygovskaya O.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Medical University named after A.A. Bogomolets, Kyiv

<sup>2</sup>International Center for Astronomical, Medical and Ecological Researches of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

## STATE OF APOPTOSIS IN ACUTE EPSTEIN — BARR VIRUS INFECTION IN CHILDREN

**Summary.** The paper presents a scientific review on the study of the question of apoptosis of immunocompetent cells in pathological processes, including at the Epstein — Barr virus infection. Also we present data of our own investigations which revealed a violation of the expression of markers of apoptosis of immunocompetent cells in children with acute Epstein — Barr virus infection. Fas/Apo-1 level exceeded the reference value of 2.9 times, Bcl-2 — 2.3 times, Bax — 3.2 times, INF- $\gamma$  — 3.1 times, TNF- $\alpha$  — 3 times, annexin V — 2.5 times as compared with the comparison group.

**Key words:** apoptosis, children, Epstein — Barr virus infection, acute infection.