

Состояние Т-клеточного иммунитета детей при сочетанном инфицировании SARS-CoV-2 и герпесвирусами

С.В. Халиуллина¹, В.А. Анохин¹, Ю.А. Раимова¹, Э.И. Насырова¹, А.М. Сабитова¹,
А.Э. Евдокимова^{1,2}, Э.Ф. Маннанова³

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия;

²ГАУЗ «Республиканская инфекционная больница им. проф. А.Ф. Агафонова» Минздрава Республики Татарстан, Казань, Россия;

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

T-cell immunity status of children with combined infection with SARS-CoV-2 and human herpesviruses

S.V. Khaliullina¹, V.A. Anokhin¹, Ya.A. Raimova¹, E.I. Nasyrova¹, A.M. Sabitova¹,
A.E. Evdokimova^{1,2}, E.F. Mannanova³

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Agafonov Republican Clinical Infectious Diseases Hospital, Kazan, Russia;

³Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

Существует мнение, что COVID-19 может быть причиной реактивации герпесвирусов.

Цель исследования. Изучить состояние клеточного звена адаптивного иммунитета при сочетанном варианте течения герпес-вирусных инфекций и COVID-19, описать клинико-лабораторные характеристики таких состояний.

Материалы и методы. В 2022–2023 гг. проведено поперечное исследование. Отобран 71 пациент в возрасте от 1 мес до 16 лет. Критерии включения: наличие признаков острого респираторного заболевания, ассоциированного с SARS-CoV-2 и/или мононуклеозоподобного синдрома, связанного с активной герпесвирусной инфекцией. Все пациенты проходили стандартное лабораторное обследование, определенное нозологией, и дополнительно оценку клеточного звена адаптивного иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+, CD3+HLA-DR+, CD3-CD16+CD56+ и CD20+) на проточном цитофлуориметре с использованием моноклональных антител.

Результаты и выводы. Клиническая картина сочетанного течения герпесвирусной инфекции и SARS-CoV-2 мало отличается от таковой моноинфекций. Только при первичной встрече с вирусом Эпштейна–Барр чаще регистрировали лимфопролиферативный синдром и гепатомегалию ($p < 0,05$). Сравнивая характер клеточного иммунного ответа у пациентов с COVID-19 и герпесвирусной инфекцией, мы наблюдали выраженные различия. У пациентов с первичной герпесвирусной инфекцией Т-клеточный иммунный ответ был на порядок выше, чем при остром COVID-19, реактивации герпесвирусов и сочетанном варианте инфицирования, причем это касалось всех изучаемых субпопуляций лимфоцитов. При SARS-CoV-2 наблюдали снижение общего числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических лимфоцитов. Это состояние, безусловно, нельзя назвать иммуносупрессией, но некоторая параллель явно прослеживается. Даже при сочетанном течении SARS-CoV-2 и герпесвирусной инфекции абсолютные значения Т-клеточного иммунитета не достигают тех же показателей у пациентов без COVID-19. Вероятно, именно эта причина лежит в основе феномена реактивации персистирующих герпесвирусов у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

Ключевые слова: дети, SARS-CoV-2, COVID-19, герпесвирусы, Т-клеточный иммунитет.

Для цитирования: Халиуллина С.В., Анохин В.А., Раимова Ю.А., Насырова Э.И., Сабитова А.М., Евдокимова А.Э., Маннанова Э.Ф. Состояние Т-клеточного иммунитета детей при сочетанном инфицировании SARS-CoV-2 и герпесвирусами. Рос вестн перинатол и педиатр 2023; 68(5): 37–44. DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-5-37-44

There is an opinion that COVID-19 may be the cause of the reactivation of herpesviruses.

Purpose. To study the state of the cellular link of adaptive immunity in the combined course of herpesvirus infections and COVID-19, to describe the clinical and laboratory characteristics of such conditions.

Material and methods. In 2022–2023 a cross-sectional study was conducted. 71 patients aged from 1 month to 16 years were selected. Inclusion criteria: presence of signs of acute respiratory disease associated with SARS-CoV-2 and/or mononucleosis-like syndrome associated with active herpesvirus infection. All patients underwent a standard laboratory examination, determined by nosology, and an additional assessment of the cellular link of adaptive immunity (CD3+, CD4+, CD8+, CD3+HLA-DR+, CD3-CD16+CD56+ and CD20+) on a flow cytometer using monoclonal antibodies.

Results and conclusion. The clinical pattern of the combined course of herpesvirus infection and SARS-CoV-2 differs little from mono-infections. Only at the first encounter with the Epstein-Barr virus, lymphoproliferative syndrome and hepatomegaly were more often recorded ($p < 0.05$). Comparing the nature of the cellular immune response in patients with COVID-19 and herpesvirus infection, we observed pronounced differences. In patients with primary herpesvirus infection, the T-cell immune response was an order of magnitude higher than in acute COVID-19, herpesvirus reactivation, and co-infection, and this was true for all studied lymphocyte subpopulations. With SARS-CoV-2, a decrease in the total number of T-lymphocytes, T-helpers, and cytotoxic lymphocytes was observed. This condition, of course, cannot be called immunosuppression, but some parallel is clearly traced. And even with the combined course of SARS-CoV-2 and herpesvirus infection, the absolute values of T-cell immunity indicators do not reach the same indicators in patients without COVID-19. It is likely that this reason underlies the phenomenon of reactivation of persistent herpesviruses in patients infected with SARS-CoV-2.

Key words: children, SARS-CoV-2, COVID-19, human herpesviruses, T-cell immunity.

For citation: Khaliullina S.V., Anokhin V.A., Raimova Ya.A., Nasyrova E.I., Sabitova A.M., Evdokimova A.E., Mannanova E.F. T-cell immunity status of children with combined infection with SARS-CoV-2 and human herpesviruses. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2023; 68(5): 37–44 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-5-37-44

Как известно, большинство людей на планете инфицированы герпесвирусами. Это хроническая инфекция и, как показывает практика, взаимоотношения герпесвирус—макроорганизм могут проявляться по-разному. В ряде случаев персистирующие в организме вирусы конкурируют с другими инфекционными агентами за счет формирующейся пролонгированной продукции гамма-интерферона и активации системы макрофагов [1, 2]. Описан даже механизм защиты от рецидива лейкемии на фоне реактивации цитомегаловируса у пациентов с аллогенной трансплантацией [3]. В отношении герпесвирусов накопилось достаточно данных, касающихся ухудшения прогноза при сочетанном течении герпесвирусных инфекций с другими инфекционными болезнями. Например, хорошо известно, что реактивация герпесвирусов у пациентов с вирусом иммунодефицита человека может быстро привести к неблагоприятному исходу [1].

Жизненные циклы персистирующих вирусов включают смену латентной и литической фаз, т.е. чередование «спящего» режима пребывания внутри пермиссивных клеток (транскрипционно-трансляционное подавленное состояние) и реактивации. Причины реактивации весьма разнообразны, к ним относят стрессовые ситуации, приобретенные иммунодефицитные состояния, в том числе ятрогенные, сопутствующие соматические и, конечно, инфекционные заболевания.

Вот уже на протяжении почти 4 лет весь мир находится в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции. Повсеместное распространение возбудителя COVID-19 привело к тому, что практи-

чески каждый человек встретился с этим вирусом. Механизмы патогенного воздействия SARS-CoV-2 на макроорганизм до конца не изучены, но очевидно, что одной из основных «точек приложения» является иммунная система, причем это касается и врожденных и адаптивных иммунных реакций. Врожденный иммунный ответ при COVID-19 в основном связан с активацией макрофагов и избыточной продукцией провоспалительных цитокинов, адаптивный клеточный иммунный ответ демонстрирует в большей мере паттерны функционального истощения цитотоксических лимфоцитов CD8+ [4]. С учетом того, что именно Т-клеточный иммунный ответ участвует в контроле баланса литического и латентного состояния герпесвирусов, очевидно, что SARS-CoV-2-инфекция может служить своего рода триггером их активации [1, 5]. Это предположение подтверждают результаты ряда исследований, в которых показано, что возбудитель COVID-19 действительно может выступать в качестве прямого регулятора литической реактивации вирусов герпеса человека [6–8]. Это подтверждают лабораторные результаты и данные эпидемиологических исследований: реактивацию герпесвирусов статистически значимо чаще регистрировали у пациентов с COVID-19, причем есть данные о корреляции распространенности этого явления с тяжестью текущего заболевания [6]. Более того, именно реактивацию персистирующих вирусов рассматривают в качестве одной из возможных причин формирования постковидных состояний [9].

Цель исследования: изучить состояние клеточного звена адаптивного иммунитета при сочетанном варианте течения герпесвирусных инфекций и COVID-19, описать клинико-лабораторные характеристики таких состояний.

Характеристика детей и методы исследования

На базе Республиканской клинической инфекционной больницы г. Казани в период с октября 2022 г. по май 2023 г. в рамках перекрестного исследования был отобран 71 пациент в возрасте от 1 мес до 16 лет. Критерии включения: наличие признаков острого респираторного заболевания, ассоциированного с SARS-CoV-2 и/или моноклеозоподобного синдрома, связанного с активной герпесвирусной инфекцией. В «группу герпесвирусов» в нашем исследовании вошли Эпштейна–Барр вирус (ЭБВ), цитомегаловирус (ЦМВ) и вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6). Пациенты, инфицированные прочими представителями семейства *Herpesviridae*, по клиническим характеристикам не соответствовали критериям включения. Критерии отказа от включения: наличие тяжелой сопутствующей патологии, позднее поступление в стационар (более 5 дней с момента начала заболевания), необходимость лечения в условиях реанимации и интен-

© Коллектив авторов, 2023

Адрес для корреспонденции: Халиуллина Светлана Викторовна — д.м.н., проф., кафедры детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0000–0001–7763–5512
e-mail: svekhal@mail.ru

Анохин Владимир Алексеевич — д.м.н., проф., зав. кафедрой детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0000–0003–1050–9081

Раимова Юлия Алексеевна — асп. кафедры детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0000–0002–1348–728X

Насырова Эльмира Ильдаровна — ординатор кафедры детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0009–0005–7831–8494

Сабитова Альфия Махматовна — к.м.н., доц. кафедры детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0000–0001–9394–5879

420012 Казань, ул. Бутлерова, д. 49

Евдокимова Арина Эдуардовна — врач Республиканской инфекционной больницы им. проф. А.Ф. Агафонова, ординатор кафедры детских инфекций Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0000–0001–9851–2386

420110 Казань, Проспект Победы, д. 83

Маннанова Эльмира Фарходовна — асс. кафедры хирургии, акушерства и гинекологии с курсом ЛОР-болезней Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, ORCID: 0000–0002–6085–1275

420012 Казань, ул. Карла Маркса, д. 76

сивной терапии. Срок наблюдения: исследуемые наблюдались до момента выписки из стационара (с улучшением или выздоровлением).

Все пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от результатов серологических и молекулярно-генетических исследований. В 1-ю группу вошли 16 детей с COVID-19, не инфицированных герпесвирусами (серонегативные по результатам иммуноферментного анализа, с отрицательным результатом ПЦР), во 2-ю группу включили 20 детей с сочетанным течением COVID-19 и герпесвирусной инфекции. В 3-ю группу вошли 35 детей с маркерами активной герпесвирусной инфекции и отрицательным результатом теста на РНК SARS-CoV-2. В связи с предполагаемыми различиями течения инфекции с разными вариантами инфицирования было принято решение разделить группу пациентов с герпетической инфекцией на 2 подгруппы: пациенты с первичным инфицированием (3А) и с реактивацией (3Б). Первичную герпесвирусную инфекцию диагностировали при наличии ДНК представителей семейства *Herpesviridae* и/или при обнаружении специфических IgM в отсутствие IgG в крови обследованных. Реактивацию герпесвирусов констатировали при выявлении ДНК в крови и/или положительных результатах иммуноферментного анализа (IgM, IgG).

Медиана возраста детей в группе с коронавирусной инфекцией составила 2,9 года [МКР 1,1; 3,6 года], детей с сочетанным течением инфекций — 1,8 года [МКР 9 мес; 6,8 года], в группе с первичной герпесвирусной инфекцией — 2,9 года [МКР 2,6; 6 года], с реактивацией герпесвирусной инфекцией — 2,8 года [МКР 1,7; 9,2 года] ($p>0,05$). Соотношение мальчиков и девочек было примерно равным и не различалось между группами ($p>0,05$).

Все пациенты проходили стандартное лабораторное обследование, включавшее общеклинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимическое исследование крови с определением аланин- и аспаратаминотрансферазы, мочевины, С-реактивного белка и пр. Дополнительно для выявления этиологии заболевания проводили определение РНК SARS-CoV-2 в смыве из носоглотки и ДНК ЭБВ, ЦМВ и ВГЧ-6 в крови (количественный метод). Кроме того, в крови больных определяли антитела к герпесвирусам: IgM капсидному антигену ЭБВ, IgG к капсидному, раннему и ядерному антигену ЭБВ, IgM и IgG (с авидностью) к антигену ЦМВ, IgG к антигену ВГЧ-6. Для оценки клеточного звена адаптивного иммунитета сразу после верификации этиологии заболевания (2–3-й день пребывания в стационаре) на проточном цитофлуориметре (BD FACSCanto II) с использованием моноклональных антител (FITC/PE, тест-системы ООО «Сорбент») в крови определяли Т-лимфоциты (CD3+), Т-хелперы (CD4+), Т-цитотоксические лимфоциты (CD8+), активиро-

ванные Т-лимфоциты (CD3+HLA-DR+), натуральные киллеры (CD3-CD16+CD56+) и В-лимфоциты (CD20+). Полученные результаты оценивали в соответствии с нормативными показателями иммунного статуса, представленными в Национальных рекомендациях [10].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием статистической программы Statistica 8 (США). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения осуществляли с помощью теста Шапиро–Уилка. Нулевую гипотезу отклоняли при пороговом уровне статистической значимости (p), равном 0,05. В случае невыполнения данного условия использовали непараметрические методы статистического анализа. При нормальном распределении признака из мер центральной тенденции использовали среднюю (M), из мер рассеяния — 95%-й доверительный интервал (ДИ), при распределении признака, отличном от нормального, определяли медиану (Me) и межквартильный размах (МКР, значения 25-го и 75-го процентилей) соответственно. Для определения достоверности различий между сравниваемыми группами, в зависимости от типа распределения признаков и количества наблюдений, использовали критерий Стьюдента, Манна–Уитни (для порядковых переменных) и критерий χ^2 -квадрат Пирсона (для номинальных данных), точный критерий Фишера.

Результаты

У всех детей с подтвержденной герпесвирусной инфекцией регистрировали литическую фазу (IgM и/или ДНК «+»). В 3-ю группу пациентов вошло наибольшее число участников (35 человек): 9 — в подгруппе с первичным инфицированием (3А), 26 — в подгруппе с реактивацией вирусного процесса (3Б). Во 2-й группе у одного ребенка диагностировали первичное инфицирование вирусом Эпштейна–Барр, у остальных — реактивацию имевшейся герпесвирусной инфекции. Спектр персистирующих герпесвирусов у пациентов во 2-й и 3-й группах представлен на рис. 1. Микст-инфекции в 3-й группе представляли собой сочетание вируса Эпштейна–Барр с цитомегаловирусом и в единичных случаях с ВГЧ-6.

Клинико-лабораторные характеристики пациентов представлены в табл. 1. Все пациенты переносили заболевание, независимо от этиологии, в среднетяжелой форме.

Катаральный синдром регистрировали у всех пациентов. Респираторный синдром наблюдали у детей с COVID-19, при этом у 4 (25%) пациентов в этой группе диагностировали субкомпенсированную дыхательную недостаточность, у стольких же — нетяжелую внебольничную правостороннюю нижнедолевую пневмонию. Синдром экзантемы характеризовался в большинстве случаев пятнисто-

папулезной сыпью на неизменном фоне кожи, без определенной локализации, которая в течение нескольких дней угасала. У 2 пациентов сыпь была уртикарная.

Особый интерес в нашем исследовании представляли результаты специфической лабораторной диагностики. Мы оценили состояние клеточного звена адаптивного иммунитета у наших пациентов (табл. 2) и выявили, что для моноинфекции COVID-19, в отличие от инфицирования герпесвирусами, было

характерно снижение уровня CD3+ ($p<0,05$), CD4+ и CD8+. Уровень активированных лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) был выше нормы у всех пациентов, но при сравнении групп при COVID-19 — самым низким. Важно, что при инфицировании SARS-CoV-2 относительные значения уровня натуральных киллеров (CD3-CD16+CD56+) были выше, чем у пациентов других групп ($p<0,05$). Различия по активности различных звеньев клеточного иммунитета отражены на рис. 2.

Таблица 1. Клиническо-лабораторные данные пациентов в зависимости от варианта инфицирования

Table 1. Clinical and laboratory data of patients depending the infection variant

Параметр	1-я группа (<i>n</i> =16) (1)	2-я группа (<i>n</i> =20) (2)	3-я группа (<i>n</i> =35) (3)	Герпесвирусы		<i>p</i> *
				группа 3А, (<i>n</i> =9) (4)	группа 3Б (<i>n</i> =26) (5)	
Клиническая характеристика						
Максимальная температура тела, °C (<i>M</i> ±SD)	38,6±0,8	39±1	38,9±0,9	38,9±0,4	38,9±1	—
Продолжительность лихорадки, дни (<i>Me</i> [МКР])	4 [4; 8]	3,5 [3; 6]	7 [3; 10]	7 [5; 8]	6,5 [2; 10]	—
Экссудативный тонзиллит, <i>n</i> (%)	2 (12,5)	4 (20)	16 (45,7)	9 (100)	7 (27)	—
Респираторный синдром, <i>n</i> (%)	16 (100)	8 (20)	14 (40)	3 (33,3)	11 (42,3)	—
Выраженная лимфаденопатия, <i>n</i> (%)	—	7 (35)	25 (71,4)	7 (77,8)	18 (69,2)	<i>p</i> ₂₋₄ =0,033 <i>p</i> ₂₋₅ =0,021
Экзантема, <i>n</i> (%)	—	6 (30)	11 (31,4)	5 (55,5)	6 (23,1)	—
Гепатомегалия, <i>n</i> (%)	3 (18,8)	2 (10)	19 (54,3)	5 (55,5)	14 (53,8)	<i>p</i> ₁₋₃ =0,025 <i>p</i> ₁₋₅ =0,025 <i>p</i> ₂₋₃ =0,001 <i>p</i> ₂₋₄ =0,016 <i>p</i> ₂₋₅ =0,002
Спленомегалия, <i>n</i> (%)	—	7 (35)	15 (42,9)	6 (66,6)	9 (34,6)	—
Длительность пребывания в стационаре, дни (<i>Me</i> [МКР])	7 [4; 7]	6 [5; 7]	7 [5; 8]	6 [6; 8]	7 [5; 9]	—
Общеклинический анализ крови, <i>M</i> ±SD						
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	10,3±4,7	9,9±3,4	14,5±7,1	15,4±4,8	14,2±6	<i>p</i> ₁₋₄ =0,042
Гемоглобин, г/л	119,5±12,8	121,9±6,1	114,2±12,6	113,1±15	114,7±12	—
Нейтрофилы, %	53,7±11,2	52,5±18,8	45±21,3	35,7±16,4	48,4±22,1	<i>p</i> ₁₋₄ =0,02
Лимфоциты, %	36,7±12,3	37,8±14,2	45,1±20,2	53,1±13,7	42,2±20,5	<i>p</i> ₁₋₄ =0,021
Биохимический анализ крови, <i>n</i> (%)						
АлАТ норма (до 31 ед/л)	—	5 (25)	12 (34,3)	3 (33,3)	9 (34,6)	—
АсАТ норма (до 31 ед/л)	14 (87,5)	16 (80)	28 (80)	8 (88,9)	20 (76,9)	—
Мочевина (норма ммоль/л)	—	1 (5)	1 (2,9)	—	1 (3,8)	—
СРБ (норма <5 мг/л)	15 (93,8)	11 (55)	20 (57,1)	6 (66,6)	14 (53,8)	<i>p</i> ₁₋₂ =0,011 <i>p</i> ₁₋₃ =0,007 <i>p</i> ₁₋₅ =0,006

Примечание: * — представлены только статистически значимые различия.

Обсуждение

Клинические варианты сочетанного течения герпесвирусной инфекции и SARS-CoV-2 трудно дифференцировать от моноинфекций. Исключение составляет первичное инфицирование вирусом Эпштейна–Барр, поскольку оно характеризуется выраженным лимфопролиферативным синдромом, наличием гепатомегалии, но и эти синдромы имеют низкую специфичность. Общепринятое лабораторное обследование также малоинформативно. Здесь мы наблюдали статистически

значимые различия по уровню лейкоцитов, нейтрофилов-лимфоцитов между COVID-19 и первичным инфицированием герпесвирусами, но сочетанная инфекция статистически значимо себя не проявляла. Биохимический анализ крови (определение С-реактивного белка) тоже демонстрировал информативность только в отношении инфекции SARS-CoV-2.

Второй раздел нашего исследования касался изучения адаптивного иммунитета у больных с моно- и микст-инфекциями COVID-19 и герпесвирусной инфекцией. Т-клеточное звено иммунной системы

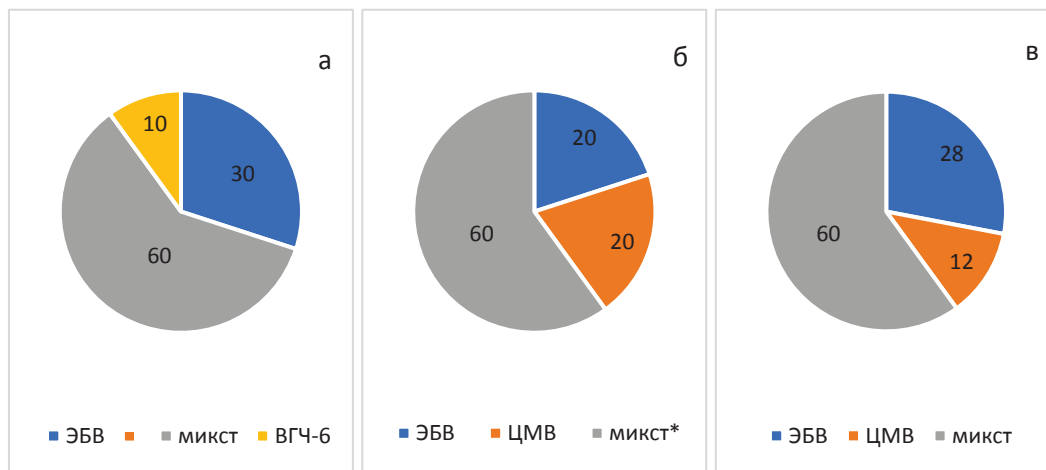


Рис. 1. Спектр возбудителей различных вариантов инфекции.

а — при сочетании SARS-CoV-2 с герпесвирусной инфекцией; б — при первичной герпесвирусной инфекции; в — при реактивации герпесвирусной инфекции. * — первичная Эпштейна–Барр вирусная (ЭБВ) инфекция + реактивация цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции.

Fig. 1. The spectrum of pathogens with various variants of infection.

а — SARS-CoV-2 with HHV-infection; б — primary HHV-infection; в — with reactivation of HHV-infection.

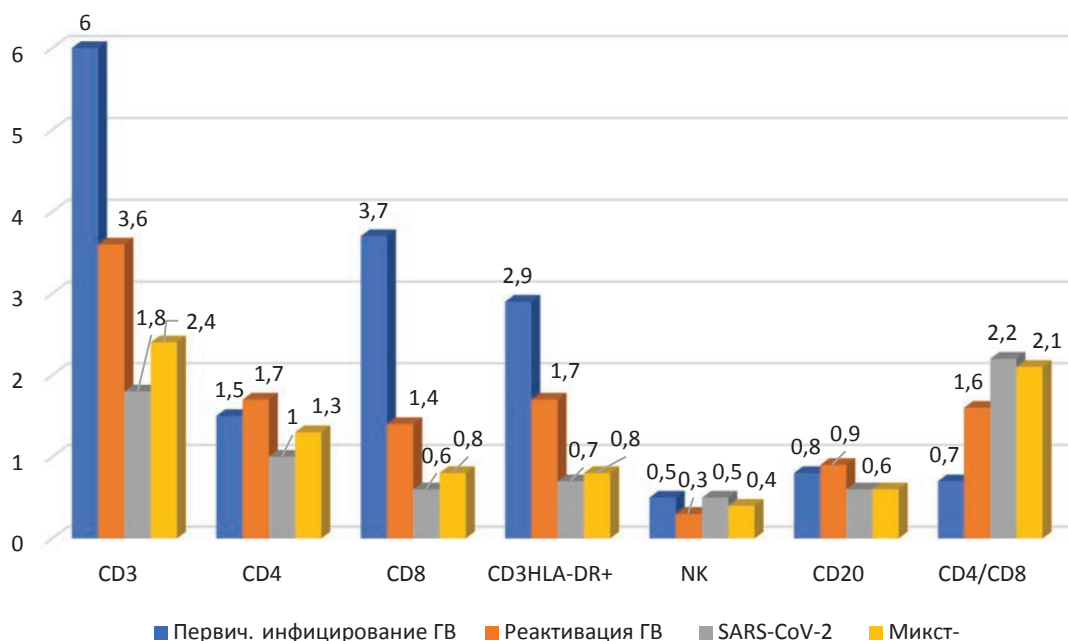


Рис. 2. Различия по основным показателям клеточного иммунитета детей в зависимости от этиологии заболевания и характера активности герпесвирусов (ГВ). Данные представлены в абсолютных значениях.

Fig 2. The differences in the main indicators of cellular immunity of children depending of the etiology and the nature of the activity of human herpesviruses (abs. values)

человека играет важную роль в ответе макроорганизма на любой инфекционный агент. Особенно это утверждение справедливо в отношении вирусных инфекций [11]. Т-клеточные реакции хорошо изучены на примере герпесвирусных инфекций.

В исследованиях показано, что первичное инфицирование, например вирусом Эпштейна–Барр, характеризуется повышением общего количества лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-клеток (CD8+), естественных киллеров (CD16+),

Таблица 2. Основные показатели клеточного иммунитета у детей, инфицированных SARS-CoV-2, герпесвирусами и при их сочетании ($M \pm SD$)

Table 2. The main indicators of cellular immunity in children infected with SARS-CoV-2, human herpesviruses and their combination ($M \pm SD$)

Показатель	1-я группа (n=16) (1)	2-я группа (n=20) (2)	Герпесвирусы			p^*
			3-я группа (n=35) (3)	группа 3А (n=9) (4)	группа 3Б (n=26) (5)	
Число лимфоцитов общем анализе крови, $\cdot 10^9/\text{л}$	3,4 $\pm$ 1,1	3,7 $\pm$ 2,2	6,2 $\pm$ 3	7,9 $\pm$ 2,3	5,6 $\pm$ 2,4	$p_{1-3}=0,009$ $p_{1-4}<0,001$ $p_{2-3}=0,015$ $p_{2-4}<0,001$
CD3, % (норма 61–85%)	55 $\pm$ 5,9	64,7 $\pm$ 9,2	65,3 $\pm$ 16,2	75,9 $\pm$ 8,4	63,4 $\pm$ 13,9	$p_{1-2}=0,002$ $p_{1-3}=0,027$ $p_{1-4}<0,001$ $p_{1-5}=0,042$ $p_{2-4}=0,008$ $p_{4-5}=0,015$
CD3, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,946–2,079)	1,8 $\pm$ 0,5	2,4 $\pm$ 1,1	4,2 $\pm$ 1,4	6 $\pm$ 2,4	3,6 $\pm$ 1,5	$p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}=0,025$ $p_{4-5}=0,017$
CD4, % (норма 35–64%)	29,1 $\pm$ 3,8	34 $\pm$ 10,1	27,8 $\pm$ 12,5	19,7 $\pm$ 8,4	30,4 $\pm$ 11,3	$p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}<0,001$ $p_{4-5}=0,001$
CD4, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,576–1,336)	1 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,6	1,5 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,4	$p_{1-4}=0,048$
CD8, % (норма 19–35%)	17,3 $\pm$ 7,8	21 $\pm$ 9,7	28,1 $\pm$ 11,9	45,7 $\pm$ 18,6	22,9 $\pm$ 9,7	$p_{1-3}=0,014$ $p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}<0,001$ $p_{4-5}<0,001$
CD8, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,372–0,974)	0,6 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,9	3,7 $\pm$ 1,1	1,4 $\pm$ 0,6	$p_{1-4}<0,001$ $p_{2-4}=0,019$ $p_{4-5}<0,001$
CD3, % HLA-DR+ (норма 10–15%)	20,5 $\pm$ 10,3	21,3 $\pm$ 7,2	27,1 $\pm$ 12,4	36,3 $\pm$ 12,4	27,4 $\pm$ 13,1	$p_{1-4}=0,014$ $p_{2-4}=0,007$
CD3, $\cdot 10^9/\text{л}$ HLA-DR+ (норма 0,211–0,477)	0,7 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,9	2,9 $\pm$ 1,4	1,7 $\pm$ 0,8	$p_{1-4}=0,019$
CD3-CD16+CD56+, % (норма 8–17%)	14,1 $\pm$ 5,6	9,3 $\pm$ 4,4	5,9 $\pm$ 2,5	6,2 $\pm$ 1,9	6,3 $\pm$ 2,8	$p_{1-3}<0,001$ $p_{1-4}=0,001$ $p_{1-5}<0,001$ $p_{2-3}=0,011$ $p_{2-5}=0,04$
CD3-CD16+CD56+, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,123–0,369)	0,5 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	$p_{2-4}=0,03$
CD20, % (норма 8–20%)	17,3 $\pm$ 6,2	14,9 $\pm$ 5,7	15,4 $\pm$ 6,7	10,8 $\pm$ 4,3	16,9 $\pm$ 7,3	$p_{1-4}=0,02$ $p_{4-5}=0,016$
CD20, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,8–3,3)	0,6 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,4	
CD4/CD8 (норма 1,5–2,6)	2,2 $\pm$ 1	2,1 $\pm$ 1	1,4 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,6	$p_{1-3}=0,038$ $p_{1-4}=0,001$ $p_{2-4}=0,018$ $p_{4-5}=0,001$

Примечание. Данные представлены в виде средней арифметической $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$). * — представлены только статистически значимые различия.

В-лимфоцитов (CD19+, CD20+) [12, 13]. Мы получили сходные результаты. Это вполне ожидаемо, поскольку «спрятанный» в клетках человека и заблокировавший их апоптоз вирус становится практически невидимым для большинства механизмов элиминации и, чтобы избавить организм от него, иммунная система использует цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры (NK-клетки) [11]. При остром инфекционном мононуклеозе наблюдают значительное преобладание мононуклеаров среди циркулирующих лейкоцитов, которые представляют собой в основном ЭБВ-специфические Т-клетки CD8+ [12]. Результаты нашего исследования также подтверждают ведущую роль цитотоксических лимфоцитов в защите макроорганизма при первой встрече с герпесвирусами, а у нас почти все пациенты в этой группе были инфицированы вирусом Эпштейна–Барр. Именно при первичном инфицировании значительно увеличивались абсолютные значения содержания всех лимфоцитов (CD3+), причем преимущественно за счет цитотоксических клеток (CD8+). В нашем исследовании уровень клеток CD4+ в 3-й группе повышался незначительно в абсолютных значениях и был статистически значительно ниже нормы в относительных. Понятно, что в этой ситуации будет снижаться отношение CD4/CD8 и по аналогии с ВИЧ-инфекцией это можно рассматривать как признак иммунной дисрегуляции.

Представляет интерес, что реактивация вируса Эпштейна–Барр у больных в нашем исследовании также характеризовалась увеличением общего числа Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток, но эти сдвиги не были столь выражены и отношение CD4/CD8 оставалось в пределах нормы. Наибольшее число активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих лейкоцитарный антиген-DR человека (HLA-DR), регистрировали при первичной герпесвирусной инфекции. Количество натуральных киллеров (CD3-CD16+CD56+) также было одним из самых больших в этой группе.

Обращает внимание, что число В-лимфоцитов (CD20+) у обследованных нами пациентов с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейн–Барр, оставалось в пределах нормы. Тот же результат был и в группе с реактивацией герпесвирусов. Мы предполагаем, что это может быть связано с небольшим числом обследованных пациентов либо с ранними сроками забора крови на исследование.

Как и при любых вирусных инфекциях, адаптивный иммунный ответ необходим для устране-

ния инфекции SARS-CoV-2. В исследованиях показано, что эффективный контроль вирусной нагрузки при COVID-19 связан преимущественно с клетками CD4+ [14]. Пациенты с легкими симптомами с большей вероятностью имели более высокое содержание антиген-чувствительных Т-клеток как CD4+, так и CD8+ [15]. В соответствии с этим среди пациентов, у которых выявлено снижение количества Т-клеток CD4+ и CD8+, регистрировалась и более высокая смертность. В нашем исследовании пациентов с тяжелыми формами COVID-19 не было. Количество популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3+, CD4+ и CD8+) было невысокими, но их значения укладывались в возрастные нормы. Однако сравнение этих показателей между группами демонстрирует самые низкие значения при инфицировании SARS-CoV-2. При этом число активированных клеток почти в 2 раза превышало норму.

Сравнивая характер адаптивного иммунного ответа у пациентов с COVID-19 и герпесвирусной инфекцией (без сочетанного течения), мы наблюдали выраженные различия. В первую очередь это касалось первичной герпесвирусной инфекции. У таких пациентов Т-клеточный иммунный ответ был на порядок выше, чем при других вариантах инфицирования, включая острый COVID-19, реактивацию герпесвирусной инфекции и сочетанный вариант инфицирования, причем это касалось всех изучаемых субпопуляций лимфоцитов.

Заключение

Т-клеточный иммунный ответ при среднетяжелых формах COVID-19 у детей отличается тенденцией к снижению основных показателей. Это состояние, безусловно, нельзя назвать иммуносупрессией, но некоторая параллель явно прослеживается. Активная герпесвирусная инфекция, напротив, характеризуется активацией клеточного звена адаптивного иммунитета, причем в большей мере это касается CD3+CD8+ ($p < 0,05$). Клеточный иммунный ответ при сочетанном течении SARS-CoV-2 и герпесвирусной инфекции демонстрирует «промежуточные» показатели. Вероятно, низкая активность Т-клеточного звена иммунного ответа при COVID-19 лежит в основе феномена реактивации персистирующих герпесвирусов у таких пациентов. Это подтверждает и наличие связи между тяжестью новой коронавирусной инфекции (которая, как показано ранее, коррелирует с иммуносупрессией клеточного звена иммунитета) и частотой реактивации герпесвирусов.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Sehrawat S., Kumar D., Rouse B.T. Herpesviruses: Harmless Pathogens but Relevant Cofactors in Other Diseases? *Front Cell Infect Microbiol* 2018; 25(8): 177. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00177
2. Barton E., White D., Cathelyn J., Brett-McClellan K.A., Engle M., Diamond M.S. et al. Herpesvirus latency confers symbiotic protection from bacterial infection. *Nature* 2007; 447: 326–329. DOI: 10.1038/nature05762

3. Litjens N., van der Wagen L., Kuball J., Kwekkeboom J. Potential Beneficial Effects of Cytomegalovirus Infection after Transplantation. *Front Immunol* 2018; 1(9): 389. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00389
4. Paces J., Strizova Z., Smrz D., Cerny J. COVID-19 and the immune system. *Physiol Res* 2020; 69(3): 379–388. DOI: 10.33549/physiolres.934492
5. Khairallah C., Déchanet-Merville J., Capone M. γδ T Cell-Mediated Immunity to Cytomegalovirus Infection. *Front Immunol* 2017; 8: 105. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00105
6. Shafiee A., Teymouri Athar M.M., Amini M.J., Hajishah H., Si-ahvoshi S., Jalali M. et al. Reactivation of herpesviruses during COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* 2023; 33(3): e2437. DOI: 10.1002/rmv.2437
7. Chen J., Song J., Dai L., Post S.R., Qin Z. SARS-CoV-2 infection and lytic reactivation of herpesviruses: A potential threat in the postpandemic era? *J Med Virol* 2022; 94(11): 5103–5111. DOI: 10.1002/jmv.27994
8. Banko A., Miljanovic D., Cirkovic A. Systematic review with meta-analysis of active herpesvirus infections in patients with COVID-19: Old players on the new field. *Int J Infect Dis* 2023; 130: 108–125. DOI: 10.1016/j.ijid.2023.01.036
9. Su Y., Yuan D., Chen D.G., Ng R.H., Wang K., Choi J. et al. Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. *Cell* 2022; 185(5): 881–895.e20. DOI: 10.1016/j.cell.2022.01.014
10. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизированная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов». Российский иммунологический журнал 2014; 8(17): 4: 974–992. [Khaidukov S.V., Baidun L.V., Zurochka A.V., Totolyan A.A. Standardized technology “study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorometers-analyzers”. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal* 2014; 8(17): 4: 974–992. (in Russ.)] DOI: 10.15789/1563–0625–2012–3–255–268
11. Сологуб Т.В., Ледванов М.Ю., Малый В.П., Стукова Н.Ю., Романцов М.Г., Бизенкова М.Н., Полякова Т.Д. Иммунный ответ при вирусных инфекциях. Успехи современного естествознания 2009; 12: 29–33. [Sologub T.V., Ledvanov M.Yu., Maly V.P., Stukova N.Yu., Romantsov M.G., Bizenkova M.N., Polyakova T.D. Immune response in viral infections. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* 2009; 12: 29–33. (in Russ.)]
12. Sulik A., Oldak E., Kroten A., Lipska A., Radziwon P. Epstein–Barr virus effect on frequency of functionally distinct T cell subsets in children with infectious mononucleosis. *Adv Med Sc.* 2014; 59(2): 227–222. DOI: 10.1016/j.advms.2014.04.003
13. Кашуба Э.А., Антонова М.В., Дроздова Т.Г., Рычкова О.А., Любимцева О.А., Ханипова Л.В. и др. Показатели клеточного и гуморального иммунитета дошкольников с инфекционным мононуклеозом при первичном инфицировании и реактивации Эпштейна–Барр вирусной инфекции. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение 2022; 11(2): 57–63. [Kashuba E.A., Antonova M.V., Drozdova T.G., Rychkova O.A., Lyubimtseva O.A., Khanipova L.V. et al. Indicators of cellular and humoral immunity in preschool children with infectious mononucleosis during primary infection and reactivation of the Epstein–Barr virus infection. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye* 2022; 11(2): 57–63. (in Russ.)] DOI: 10.33029/2305–3496–2022–11–2–57–63
14. Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol* 2022; 23:186–193. DOI: 10.1038/s41590–021–01122-w
15. Lu X., Yamasaki S. Current understanding of T cell immunity against SARS-CoV-2. *Inflamm Regen* 2022; 42: 51. DOI: 10.1186/s41232–022–00242–6

Поступила: 27.07.23

Received on: 2023.07.27

Статья подготовлена по материалам исследований, выполненных в рамках гранта ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России № 2/22–1 от 1.08.2022 года «Клинико-лабораторные предикторы постковидных состояний в разных возрастных группах».

The article was prepared based on the materials of studies carried out within the framework of the Grant of the Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia No. 2/22–1 dated August 1, 2022 “Clinical and laboratory predictors of post-COVID conditions in different age groups”.

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанского ГМУ (протокол заседания № 6 от 20.06.2023).

The study was approved by the Local Ethics Committee of the Kazan State Medical University (Protocol № 6, June 20, 2023).

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:
The authors of this article have confirmed that there are no conflicts of interest to report.