

Włodzimierz Gut<sup>1</sup>, Katarzyna Pancer<sup>1</sup>, Edyta Abramczuk<sup>1</sup>, Agnieszka Częścik<sup>1</sup>,  
Milena Dunal-Szczepaniak<sup>1</sup>, Bożena Lipka<sup>2</sup>, Bogumiła Litwińska<sup>1</sup>

## PRZEBIEG ZAKAŻENIA DRÓG ODDECHOWYCH WIRUSEM RS U DZIECI DO 5 R.Ż. A DYNAMIKA ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ Th1/Th2 I IgE

<sup>1</sup>Zakład Wirusologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego  
-Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

<sup>2</sup>Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

### STRESZCZENIE

**WPROWADZENIE.** Zaburzenie równowagi odpowiedzi cytokin Th1/Th2, jak również podwyższony poziom IgE są uważane za możliwy wskaźnik przebiegu oraz wystąpienia odległych następstw zakażenia RSV u małych dzieci. Wzajemny stosunek cytokin Th1/Th2 może ulegać zmianie w przebiegu zakażenia.

**CELEM** badań była ocena odpowiedzi immunologicznej poprzez dynamikę poziomów cytokin Th1 i Th2 oraz IgE w przebiegu zakażenia RSV.

**MATERIAŁ I METODY.** Analiza poziomu cytokin Th1 (IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF), Th2 (IL-4, IL-6, IL-10) oraz stężenia IgE w surowicy 36 dzieci z potwierdzonym zakażeniem RSV oraz 16 dzieci z zakażeniem układu oddechowego wywołanym przez EV, HPIV 1-3 lub HMPV. U 48 z tych dzieci przebadano pary surowic pobrane w odstępie 4-14 dni. Grupę odniesienia stanowiły próbki surowicy krwi pobrane od 18 dzieci (<6 miesiąca życia) bez objawów zakażenia dróg oddechowych, u których uzyskano ujemne wyniki RT-PCR w kierunku w/w wirusów.

**WYNIKI.** U dzieci z zakażeniem oddechowym obserwowano zwiększenie odpowiedzi Th2 i IgE w stosunku do grupy odniesienia. Zmiany w stężeniach IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-10 wiązały się z zakażeniem RSV (gł. zapaleniami oskrzeli i/lub oskrzelików), podczas gdy wzrost stężenia TNF nie był zależny od czynnika etiologicznego. Zaobserwowano, że czynniki ryzyka (wczesniactwo, sztuczne żywienie) wiążą się w istotny sposób z wystąpieniem zapalenia oskrzeli wywołanym przez RSV oraz z poziomami cytokin i IgE. Wyższy poziom IL-6 i IL-10 stwierdzano u wcześniaków, natomiast wyższe stężenie IgE - u dzieci sztucznie żywionych. Wykazano, że na poziom cytokin i IgE ma wpływ zarówno upływ czasu od zakażenia/zachorowania, jak i czynnik zakaźny. Znamienne spadki poziomu IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-10 w miarę upływu czasu występowały w zakażeniach RSV (niezależnie od objawów klinicznych). Znamienne spadki stężenia IgE występowały przy innych niż RSV wirusowych zakażeniach, a u chorych z RSV - pozostawał na znamienne wyższym poziomie.

**WNIOSKI.** Termin pobierania próbek do oznaczania poziomu cytokin i IgE istotnie wpływa na uzyskane wyniki. Wykazana dynamika poziomu cytokin i IgE w badaniu 2 kolejnych surowic może mieć znaczenie prognostyczne dla przebiegu oraz późnych następstw zakażenia RSV. Należy dołożyć wszelkich starań, aby nie dopuścić do zakażenia RSV u wcześniaków. Naturalne karmienie jest istotnym czynnikiem zapobiegania tym zakażeniom.

**Słowa kluczowe:** równowaga Th1/Th2, dynamika cytokin i IgE, zakażenia RSV, wirusy RNA w zakażeniach dróg oddechowych, żywienie sztuczne.

### WSTĘP

Zakażenie wirusem RSV niemowląt, małych dzieci do lat 2 oraz osób w podeszłym wieku może stanowić zagrożenie dla życia chorego. Może także być przyczyną innych, odległych w czasie schorzeń (1,2). Badania kliniczne chorych zakażonych RSV wskazywały na podwyższony poziom cytokin Th2 i IgE w surowicy

sugerując, że podczas zakażenia dochodzi do uaktywnienia mechanizmów podobnych do wywoływanych przez alergeny. Przypuszcza się, że wirusowe rozpuszczalne glikoproteiny G (SG) stanowią superantygen dla limfocytów T. Antygen ten jest zdolny do wiązania się z domeną VH3IgE na komórkach krwiotwórczych, zasadochłonnych, mastocytach i komórkach jednojądrzastych. Podobnie jak w przypadku alergenu ta

agregacja powoduje uwolnienie dużych ilości cytokin Th2 do krwi, a tym samym przesunięta zostaje równowaga Th1/Th2 kierunku Th2 > Th1. Cechą charakterystyczną limfocytów Th1 jest wytwarzanie między innymi: interferonu gamma (IFN- $\gamma$ ) oraz IL-2, TNF. Interleukiny wytwarzane przez limfocyty Th2 to: IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 i IL-13. Równowaga między Th1/Th2 również regulowana jest przez cytokiny: IFN- $\gamma$  stymuluje odpowiedź Th1 hamując funkcję i proliferację limfocytów Th2. Jednocześnie IL-4 wydzielana przez limfocyty Th2 stymuluje te komórki hamując wraz z IL-10 i IL-13 produkcję cytokin przez komórki Th1 (supresja odpowiedzi komórkowej) (3-6).

Celem przedstawionej pracy była analiza związków pomiędzy poziomem cytokin IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF i IFN oraz IgE w surowicach dwóch grup dzieci z zakażeniem układu oddechowego. Pierwszą grupę stanowili pacjenci z zakażeniem wywołanym przez RSV, drugą – chorzy u których stwierdzono ostre zakażenie dróg oddechowych spowodowane przez RNA wirusy - inne niż RSV. Ocenie poddano także wpływ czasu pomiędzy wystąpieniem objawów a pobraniem materiału na poziom oznaczanych cytokin i IgE. Analizowano również relacje między jednostką chorobową, obrazem klinicznym a stwierdzonym poziomem cytokin i IgE w obu grupach chorych.

## MATERIAŁ

Materiał do badań stanowiło ogółem 120 próbek surowicy krwi pobranej od 52 dzieci poniżej 5 r.ż., hospitalizowanych z powodu ostrego zakażenia układu oddechowego (grupa badana) oraz od 20 dzieci hospitalizowanych z innych powodów (grupa odniesienia). **Grupa badana.** 52 dzieci hospitalizowanych z powodu ostrego wirusowego zakażenia dróg oddechowych. Wyróżniono dwie grupy na podstawie: 1. potwierdzonego zakażenia RSV metodą RT-PCR przy jednoczesnym wykazaniu przyrostu swoistych dla RSV przeciwciał w klasie IgM (36 dzieci); 2. Zidentyfikowanego metodą RT-PCR innego RNA wirusa, przy jednoczesnym braku swoistych dla RSV przeciwciał IgM – druga grupa (16 pacjentów). U 9 stwierdzono zakażenie enterowirusami (EV), u 4 – wirusem paragrypy typu 1,2 lub 3 (HPIV 1-3), u 3 – ludzkim metapneumowirusem (HMPV).

Wśród badanych dzieci 60% było młodszych niż 6 miesięcy, 30% - w wieku 6-12 miesięcy, a tylko 5-cioro pacjentów (10%) było starszych. Dziewczynki stanowiły 58% badanych. Od 48 pacjentów uzyskano, na podstawie przygotowanej ankiety, dane dotyczące: daty zachorowania, daty pobrania próbki surowicy, rozpoznania/objawów klinicznych występujących w przebiegu zakażenia (zapalenie płuc, bronchiolitis, zapalenie oskrzeli, zapalenie gardła, świszczący oddech,

gorączka, katar, duszność, kaszel z odkrztuszaniem, kaszel suchy, objawy ze strony układu pokarmowego, objawy ze strony układu nerwowego) oraz ewentualnych czynników zwiększających ryzyko zakażenia RSV (wczesniactwo, mała masa urodzeniowa itp.).

Pierwszą próbkę surowicy (52 dzieci) pobierano w odstępie 1–10 dni od daty zachorowania. Drugą próbkę surowicy, pobraną w odstępie 4-14 dni od daty pierwszego pobrania, otrzymano od 48 dzieci, dla których także uzyskano pełne dane ankietowe. Badania drugiej próbki surowicy prowadzono w celu określenia wpływu czasu pomiędzy zachorowaniem a pobraniem na poziom oznaczanych cytokin i IgE.

**Grupa odniesienia.** Grupę odniesienia stanowiły dzieci (20) w wieku poniżej 6 miesięcy, hospitalizowane z innych powodów (najczęściej hiperbilirubinemia), u których nie stwierdzono objawów zakażenia układu oddechowego. Od wszystkich dzieci z grupy odniesienia pobrano wymaz z nosogardła i wykonano oznaczenia RT-PCR na obecność genomu RSV oraz HMPV, EV, HPIV1-3. Dwoje dzieci wykluczono z dalszych analiz z powodu dodatniego wyniku RT-PCR dla RSV.

## METODY

**Oznaczenie poziomu cytokin.** Oznaczenie poziomu IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- w pobranych od chorych surowicach wykonano metodą cytometrii przepływowej z wykorzystaniem zestawu BD™ Cytometric Bead Array (CBA) -Human Th1/Th2 cytokine kit II (Becton-Dickinson, NJ, USA) z zastosowaniem cytometru Becton Dickinson FACScalibur Flow Cytometr. Ogółem wykonano badania 120 próbek surowic, które przechowywano w temperaturze minus 70°C i wcześniej nie były rozmrażane. Badania wykonano zgodnie z instrukcją producenta.

**Oznaczenie poziomu IgE.** Poziom IgE oznaczono testem ELISA IgE (NT-DNOV- Nova Tec Immunodiagnostica GmbH) zgodnie z instrukcją producenta.

**Analiza danych** zebranych w ankiecie (rozpoznanie, objawy kliniczne, czynniki ryzyka), stwierdzonych czynników zakaźnych oraz uzyskanych wyników została wykonana z zastosowaniem programu komputerowego Statgraphics for Windows, Centurion, v.XV. StatPointTech.Inc.USA. Do porównania danych dla których rozkład odbiegał od normalnego – stosowano porównanie median (Mann-Whitney - Wilcoxon W test) i test Kolmogorova-Smirnova. W porównaniu wielu zmiennych- test ANOVA, metodę Multiple Range Tests opartą na 95% LSD oraz metody Kruskal-Wallis Test i Mood's Median Test. Do badania funkcji wiążących zmienne - metodę regresji liniowej dla par zmiennych lub analizę regresji wieloczynnikowej dla wielu zmiennych. Dane jakościowe analizowano metodami  $\chi^2$  lub

Fisher's Exact Test oraz oceną stopnia asocjacji między wierszami i kolumnami (Contingency Coeff., Lambda test i korelacją Pearson's). W przypadkach tabeli dwukolumnowych określano wartości dodane (odds Ratio) i względne ryzyko. Związki pomiędzy zmiennymi jakościowymi analizowano używając metody korelacji Poisson'a. Za znamienne uznano związki dla których  $P_0 < 0,05$ .

## WYNIKI

**Objawy/rozpoznanie.** Przeprowadzona analiza zawartych w ankietach danych dotyczących rozpoznania i objawów pozwoliła na dość dokładną charakterystykę grupy badanej pod względem obrazu klinicznego. U 68% badanych dzieci rozpoznano ostatecznie zapalenie płuc, u 14,5% zapalenie oskrzelików (bronchiolitis), u 78% zapalenie oskrzeli, u 56,5% - zapalenie gardła. Najczęstszymi objawami był katar (74% dzieci), kaszel z odksztuszaniem (71%), duszność (68,5%), świszczący oddech (49%), gorączka  $>38^{\circ}\text{C}$  (43%), kaszel suchy (22%). U dzieci z grupy odniesienia nie stwierdzono: gorączki, duszności, kaszlu z odksztuszaniem (znamienne,  $P_0 < 0,05$ ). Objawy ze strony układu pokarmowego zaobserwowano u 14,5% dzieci z grupy badanej. Stwierdzono powiązanie pomiędzy płcią badanych osób a wystąpieniem zapalenia oskrzeli ( $P_0 = 0,0013$ , częściej u chłopców), gorączką (częściej występowała u dziewcząt  $P_0 = 0,0307$ ), dusznością (częściej u chłopców  $P_0 = 0,0413$ ) i objawami ze strony układu pokarmowego ( $P_0 = 0,0359$ ). Ponadto wystąpienie gorączki zależało od wieku chorych ( $r = 0,2731$ ,  $P_0 = 0,0232$ ), była wyższa u starszych dzieci. Wzajemna analiza rozpoznania/objawów wykazała, że u pacjentów z zapaleniem płuc nie stwierdzano bronchiolitis ( $P_0 = 0,0369$ ), kataru ( $P_0 = 0,0279$ ), objawów ze strony układu pokarmowego ( $P_0 = 0,0396$ ), natomiast obserwowano duszność ( $P_0 = 0,0011$ ). U pacjentów z bronchiolitis występowała częściej gorączka ( $P_0 = 0,0000$ ), katar ( $P_0 = 0,0428$ ), ale rzadziej zapalenie gardła ( $P_0 = 0,0113$ ). Przy zapaleniu oskrzeli występował częściej świszczący oddech ( $P_0 = 0,0013$ ).

**Poziomcytokin.** W grupie odniesienia analiza wzajemnych powiązań pomiędzy poziomem badanych cytokin wykazała istotne korelacje pomiędzy: IL-2 i IL-6 ( $r = 0,9754$ ,  $P_0 = 0,0000$ ), IL-2 i TNF ( $r = 0,9987$ ,  $P_0 = 0,0000$ ), IL-2 i IFN ( $r = 0,8793$ ,  $P_0 = 0,0000$ ), IL-6 i TNF ( $r = 0,9737$ ,  $P_0 = 0,0000$ ), IL-6 oraz IFN ( $r = 0,8803$ ,  $P_0 = 0,0000$ ) oraz TNF i IFN ( $r = 0,8769$ ,  $P_0 = 0,0000$ ). Nie stwierdzono występowania korelacji pomiędzy poziomem IgE a poziomem jakiegokolwiek z badanych cytokin.

Wyniki oznaczeń poziomu cytokin w grupie badanej wykazywały bardzo wysokie zróżnicowanie.

Przeprowadzono analizy poziomu cytokin/IgE oraz danych zawartych w ankiecie, wykrywanego czynnika zakaźnego, czasu pobrania próbki. W celu ich oceny zastosowano różne metody analizy statystycznej.

**Analiza poziomu cytokin i IgE a rozpoznanie/objawy i czynniki ryzyka.** Analiza otrzymanych wyników w zależności od stwierdzonego czynnika etiologicznego zakażenia wykazała, że wśród dzieci zakażonych wirusem RS obserwowano wyższy poziom IgE niż w przypadku grupy odniesienia oraz chorych zakażonych innym niż RSV wirusem ( $P_0 = 0,036$ ). Jednocześnie wykazano, że wyższy poziom IgE występował u starszych dzieci zakażonych RSV ( $r^2 = 0,30$ ;  $P_0 = 0,023$ ). Zakażenie RSV wiązało się z podwyższonym poziomem IgE ( $P_0 = 0,0005$ ), IL-10 ( $P_0 = 0,0001$ ) i IL-6 ( $P_0 = 0,030$ ). Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy poziomem IL-2, IL-4, IL-5, TNF i IFN- $\gamma$  a wykryciem RSV jako czynnika etiologicznego zakażenia układu oddechowego. W zakażeniach RSV obserwowano wyraźnie wyższy poziom IL-10 nie tylko w stosunku do grupy odniesienia, ale także do grupy pacjentów, u których stwierdzano zakażenie innym wirusem. Takiej zależności nie obserwowano dla TNF.

Badano także związki między wykazanymi w ankiecie czynnikami ryzyka a oznaczonym poziomem cytokin i IgE u chorych. Wyższy poziom IgE stwierdzano u noworodków sztucznie żywionych ( $P_0 = 0,03$ ) oraz u dzieci z dysplazją oskrzelowo-płucną ( $P_0 = 0,006$ ). U tych dzieci występowała wyraźna korelacja pomiędzy odpowiedzią Th2 (wyrażona jako suma odpowiednich wyników) a poziomem IgE ( $r^2 = 0,70$ ;  $P_0 = 0,002$ ) podczas gdy takiej zależności nie obserwowano u pozostałych dzieci.

**Dynamika poziomu cytokin i IgE w zależności od czasu pobrania.** Porównano wyniki oznaczeń poziomu cytokin w badaniu pierwszej próbki surowicy (1-10 dni od daty zachorowania) oraz drugiej próbki surowicy (4-14 dni od daty pobrania 1 próbki). Oznaczone wartości wybranych cytokin i IgE w próbkach surowicy dzieci z grupy badanej wykazywały bardzo duże zróżnicowanie, dlatego wyniki przedstawiono w postaci stosunku średnich wartości do mediany grupy odniesienia (wielokrotność mediany oznaczenia każdej zmiennej w grupie odniesienia) w tabeli I.

W badaniach pierwszej próbki surowicy poziom IL-2 oraz TNF pozostawał poniżej mediany grupy odniesienia, natomiast poziom pozostałych cytokin oraz IgE był wyższy niż w grupie odniesienia. Różnice w poziomach cytokin oraz IgE były znamienne, choć dla IFN- $\gamma$  oraz TNF wykazane przy pomocy tylko jednej z wielu zastosowanych metod analiz statystycznych. Najwyższe różnice poziomu cytokin oznaczanych w pierwszej próbce surowicy w stosunku do grupy odniesienia stwierdzono dla IL-6 oraz IL-10. Tak znacznych różnic w stosunku do grupy odniesienia

nie stwierdzano już w poziomie tych cytokin w drugiej próbce surowicy, choć nadal były one znamienne.

W badaniu drugiej próbki surowicy poziom cytokin niższy niż w grupie odniesienia stwierdzono jedynie w przypadku IL-2 ( $P_0 < 0,05$ ). Ponadto obserwowano znaczny, statystycznie znamienny przyrost poziomu TNF zarówno w stosunku do grupy odniesienia ( $P_0 < 0,05$ ), jak i do wyniku uzyskanego w badaniu surowic z pierwszego pobrania ( $P_0 < 0,05$ ). W drugiej próbce surowicy odnotowano też statystycznie znamienny spadek poziomu IL-6 w odniesieniu do poziomu obserwowanego w pierwszej próbce surowicy, chociaż w stosunku do grupy odniesienia przyrost IL-6 nadal był znamienny. Różnic w zależności od czasu pobrania nie stwierdzono w poziomie IFN- $\gamma$ , IL-4 oraz IgE (tab.I).

Analiza związków pomiędzy poziomem cytokin w pierwszej próbce surowicy a objawami klinicznymi (metoda regresji wieloczynnikowej) wykazała ( $r=43,7\%$ ,  $P_0=0,0000$ ) powiązanie między zapaleniem oskrzeli a poziomem IL-10 ( $P_0=0,0106$ ), IFN ( $P_0=0,0292$ ) i IgE ( $P_0=0,0021$ ). W badaniach drugiej próbki surowicy stwierdzono jedynie związek między zapaleniem oskrzeli a poziomem IgE ( $P_0=0,006$ ).

Przeanalizowano dokładniej wpływ czasu pobrania próbki surowicy do badania (bez podziału na grupy: pierwszej lub drugiej próbki) na poziom interleukin i IgE. Wyniki analizy funkcji dynamiki interleukin i IgE (Y) w zależności od odstępu czasu (X) pomiędzy zachorowaniem a badaniem przedstawiono w tabeli II.

Dynamika IL-6, czyli znamienny spadek poziomu IL-6 w miarę upływu czasu od daty zachorowania, była obserwowana w zakażeniach RSV, niezależnie od rozpoznania/objawów klinicznych. Podobną zależność obserwowano w badaniach IFN- $\gamma$  oraz IL-10. Natomiast istotny spadek poziomu IgE w funkcji czasu zaobserwowano tylko w zakażeniach wirusami innymi niż RSV. W zakażeniach RSV poziom IgE pozostawał na wysokim poziomie, wyższym niż w grupie odniesienia.

## DYSKUSJA

Obraz kliniczny zachorowania wywołanego przez RSV jest wynikiem wielu różnych czynników takich jak: właściwości wirusa, czynniki środowiskowe (np. palenie papierosów w otoczeniu chorego), czynniki ryzyka pacjenta (np. wcześniactwo) oraz genetyczny polimorfizm chorych (1,7). Uwarunkowania genetyczne pacjenta często są kluczowym czynnikiem kształtującym odpowiedź immunologiczną na zakażenie RSV (8), m.in. w postaci równowagi między limfocytami Th1/Th2 (lub jej przesunięciem). Obserwowane późne następstwa zakażenia RSV np. nadreaktywność oskrzeli lub astma wywołane są przesunięciem równowagi Th1/Th2 w kierunku Th2 (9). Stwierdzenie u chorego

zakażonego RSV przesunięcia równowagi w kierunku odpowiedzi Th2 może wskazywać na prawdopodobieństwo wystąpienia późnych powikłań. Niektórzy autorzy zwracają uwagę na rolę alergen (IgE) i ich prognostyczną rolę w przewidywaniu późnych następstw zakażeń RSV (3). W piśmiennictwie znaleźć można szereg prac przedstawiających wyniki badań nad odpowiedzią immunologiczną w zakażeniach RSV. Istotnym elementem utrudniającym analizę opublikowanych informacji jest zarówno zróżnicowanie badanych materiałów klinicznych np. surowice (9), popłuczyny oskrzelikowo-pęcherzykowe (10,11), jak również profilu badanych interleukin: IL-2 (9), IL-4 (12), IL-5 (12), IL-6 (13), IL-8 (14,11), IL-9 (15), IL-10 (15), IL-13 (12), IFN- $\gamma$  (16), TNF (15). Ponadto, w przypadku prac prowadzonych na modelach zwierzęcych stwierdzono, że istotnym czynnikiem jest komponenta czasowa (17) wynikająca zarówno z dynamiki zakażenia, jak i z dynamiki badanych cytokin oraz IgE, a także ich wzajemnych oddziaływań (4). Jak wykazała analiza piśmiennictwa, pomijany jest niestety wpływ czasu pobrania materiału w większości badań wykonywanych u małych dzieci.

Zadaniem przedstawionej pracy było porównanie odpowiedzi Th1 i Th2 oraz poziomu IgE w zakażeniach oddechowych małych dzieci wywołanych przez wirus RS z analogiczną odpowiedzią przy zakażeniu układu oddechowego innymi RNA wirusami. Badano poziomy cytokin IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$  i TNF jako reprezentatywnych zarówno dla procesów alergizacji jak i procesów prowadzących do astmy (4). Dodatkowo analizowano wpływ czasu na wynik oznaczeń cytokin (tzw. zmienną czasową) na podstawie badania dwóch próbek surowicy pobranych od tego samego dziecka określając czas pobrania w stosunku do wystąpienia objawów zakażenia układu oddechowego. W naszych badaniach ogólna charakterystyka odpowiedzi Th1 (IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF) oraz Th2 (IL-4, IL-6, IL-10) w zakażeniach układu oddechowego wirusem RS jest podobna do opisywanej w pracach innych autorów (5,3), którzy donosili o przesunięciu równowagi w stronę odpowiedzi Th2. Przesunięcie to stwierdziliśmy zarówno w stosunku do grupy odniesienia jak i chorób układu oddechowego wywołanych przez inne niż RSV wirusy RNA. Interesującą obserwacją było stwierdzenie narastania poziomu TNF w późniejszym okresie choroby, powyżej 10 dni od wystąpienia objawów, bez względu na czynnik etiologiczny.

Podobnie jak w pracach innych autorów, u chorych z wirusowym zakażeniem układu oddechowego, a szczególnie w zapaleniach oskrzeli, obserwowano wyższy niż w grupie odniesienia poziom IgE w surowicy (3). Poza zakażeniami RSV, w przypadku pozostałych wirusowych zakażeń układu oddechowego, poziom IgE wykazywał statystycznie znamienne tendencję spadkową w miarę upływu czasu od wystąpienia

objawów choroby. W zakażeniach RSV obserwowano utrzymujący się poziom IgE w obu pobranych próbkach surowicy.

Ponadto w pracy analizowano związki odpowiedzi immunologicznej w zakażeniach RSV i innymi RNA wirusami zarówno z jednostką chorobową, jak i objawami klinicznymi zakażenia dróg oddechowych oraz zgromadzonymi danymi o ewentualnych czynnikach mogących wpływać na przebieg choroby. Analiza wieloczynnikowa w zakażeniach wirusem RSV wykazała istotny związek między poziomem IgE ( $r^2=76\%$ ;  $P_0=0,0000$ ), a wystąpieniem zapalenia oskrzeli ( $P_0=0,006$ ) i bronchiolitis ( $P_0=0,012$ ). Nie obserwowano tej zależności u chorych z zapaleniem płuc ( $P_0=0,214$ ). Ponadto analiza relacji pomiędzy poziomem cytokin w surowicy (w 1 próbce) a objawami klinicznymi wykazała ( $r^2=43,7\%$ ,  $P_0=0,0000$ ) związek między poziomem IL-10 ( $P_0=0,0106$ ) oraz IFN- $\gamma$  ( $P_0=0,0292$ ), a zdiagnozowanym zapaleniem oskrzeli.

W analizie czynników ryzyka zakażenia RSV u chorych dzieci wykazano istotny związek pomiędzy zdarzeniami poprzedzającymi zakażenie czyli dysplazją oskrzelowo-płucną ( $P_0=0,037$ ) i sztucznym żywieniem ( $P_0=0,017$ ), a wystąpieniem zakażenia tym wirusem. Wśród wcześniaków z zapaleniem oskrzeli wywołanym przez RSV obserwowano istotnie wyższy poziom IL-6 ( $P_0=0,0077$ ) i IL-10 ( $P_0=0,0024$ ). Podobny związek obserwowano u chorych z dysplazją oskrzelowo-płucną ( $P_0=0,0020$ ). Wykazano także, że wyższy poziom IgE w trakcie zakażenia oddechowego może być związany z małą wagą urodzeniową noworodka ( $P_0=0,035$ ) oraz ze sztucznym żywieniem ( $P_0=0,023$ ). Obserwacje te mogą potwierdzać hipotezę wysuniętą przez *Juntti* i wsp., że podatność na zakażenie RSV, jak

również typ odpowiedzi wywołanej tym zakażeniem wynika z wcześniejszego statusu immunologicznego dziecka (9). Jednocześnie wskazują na kluczową rolę naturalnego karmienia przy zabezpieczaniu wcześniaków przed zakażeniem RSV.

## WNIOSKI

1. Praktycznym wskazaniem wynikającym z przedstawionych analiz jest konieczność minimalizacji ryzyka kontaktu/zakażenia wirusem RS w pierwszych miesiącach życia wcześniaka. Ponadto istotnym jest utrzymanie naturalnego karmienia wcześniaków – jeśli jest to tylko możliwe.
2. Należy zwracać znacznie większą uwagę na upływ czasu między zakażeniem/zachorowaniem a pobieraniem próbek surowic do badania w celu określania poziomu cytokin i IgE.
3. Wykazano, że badanie poziomu cytokin w dwóch próbkach surowicy chorego pobranych w odstępie 6-10 dni może mieć znaczenie prognostyczne dla przebiegu i ewentualnych późnych następstw zakażenia RSV.

Otrzymano: 12.11.2012 r.

Zaakceptowano do druku: 19.12.2012 r.

### Adres do korespondencji:

Dr hab. Włodzimierz Gut  
Zakład Wirusologii,  
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego  
-Państwowy Zakład Higieny  
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa  
tel. (022) 54 21 308  
e-mail: wgut@pzh.gov.pl