

Порываева А.П.<sup>1</sup>, Некрасова Т.С.<sup>2</sup>

## Изменение профиля цитокинов у больных генитальным герпесом в период рецидива

1 - ФБУН «ЕНИИВИ» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург; 2 - ОГУЗ «ОКВД» Министерство здравоохранения Свердловской области, г. Екатеринбург

*Poryvayeva A.P., Nekrasova T.S.*

### The cytokine profile change in patients with genital herpes during relapse

#### Резюме

С целью выявления характера изменений профиля цитокинов у больных генитальным герпесом в период рецидива были обследованы 47 пациентов, составивших основную группу, и 24 условно здоровых мужчины (группа сравнения). У всех пациентов оценивалась концентрация цитокинов в сыворотке крови (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) по общепринятым методикам. В результате проведенного исследования была выявлена взаимосвязь между уровнем провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и характером течения рецидива.

**Ключевые слова:** генитальный герпес, рецидив, профиль цитокинов

#### Summary

47 patients of the main group and 24 conventionally healthy men (the control group) were examined to establish the characteristic features of cytokine profile change in patients with genital herpes during relapse. The concentration of cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6 and TNF $\alpha$ ) in patients blood serum was assessed using conventional methods. The correlation between the levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines and the clinical features of the relapse course were established.

**Key words:** genital herpes, relapse, cytokine profile

#### Введение

Урогенитальные заболевания, вызываемые вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ-2), широко распространены во всём мире и являются одними из наиболее социально значимых в клинической патологии. В большинстве случаев заболевание имеет рецидивирующее течение, обусловленное иммуносупрессивным действием ВПГ-2 [1, 3]. Нарушения функционирования Т- и В-систем иммунитета у больных отмечаются как в период рецидива, так и в стадии ремиссии [2, 3, 5].

Рецидив герпесвирусной инфекции (ГВИ) сопровождается воспалительным процессом, который связан с изменением уровня цитокинов, участвующих в запущенном иммунном ответе. Это приводит к развитию воспалительных реакций, усугубляющих тяжесть течения заболевания [4, 5, 8].

**Целью** настоящей работы явилось выявление взаимосвязи между уровнем содержания в сыворотке крови больных хроническим рецидивирующим генитальным герпесом провоспалительных (интерлейкинов – ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и фактора некроза опухоли – ФНО- $\alpha$ ) и противовоспалительных (ИЛ-4) цитокинов и характером воспалительного процесса в период рецидива заболевания.

#### Материалы и методы

В группу обследования входили 47 мужчин в возрасте от 20 до 43 лет, находившиеся на диспансерном учете. Продолжительность заболевания составляла 2-5 лет, количество рецидивов – 3-5 в год. Основные клинические проявления во время рецидива сопровождались отечностью и гиперемией кожи и слизистых оболочек половых органов, болезненным мочеиспусканием, жжением, зудом, субфебрильной температурой, расстройством сна и общей психологической подавленностью. Клинический диагноз «Генитальный герпес» был подтвержден лабораторно путем выявления антигенов ВПГ в соскобах и мазках-отпечатках из уретрального канала и в осадке мочи с использованием флюоресцирующих антител, а также выделением вируса из крови, мочи и соскобов из уретрального канала на чувствительных клеточных культурах ЛЭЧ (полуперевиваемая культура клеток легких эмбриона человека) и Vero (перевиваемая культура клеток почки зеленой марьшишки).

Группу сравнения составили 24 условно здоровых мужчины в возрасте от 21 до 42 лет.

Рецидив сопровождался появлением в сыворотке крови пациентов иммуноглобулинов класса М (IgM) к ВПГ-2, которые выявляли методом ИФА с ис-

пользованием тест-системы «Герпес-скрин» производства ЗАО «Биосервис» (Москва).

Общий анализ крови пациентов осуществляли с помощью гематологического анализатора «System 9020».

Для оценки выраженности воспалительного процесса использовали лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) – по формуле Кальф-Калифа [6] с учетом всех клеточных элементов лейкограммы:

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4\text{мц} + 3\text{ю} + 2\text{п} + \text{с}) \times (\text{пл} + 1)}{(\text{л} + \text{мо}) \times (\text{з} + 1)}$$

где мц- процентное содержание миелоцитов, ю – юных метамиелоцитов, п – палочкоядерных нейтрофилов, с – сегментоядерных нейтрофилов; пл – плазматических клеток, л – лимфоцитов, мо – моноцитов, з – эозинофилов.

У практически здоровых людей ЛИИ в норме составляет  $0,61 \pm 0,09$ .

Уровень провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ ) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов в сыворотке крови определяли по стандартной методике с использованием тест-систем «ProCyt» (ООО «Протенновый контур», Санкт-Петербург). Концентрация исследуемых цитокинов в сыворотке крови у практически здоровых людей, как правило, не превышает 50 пг/мл.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов, программа «Statsoft Windows», версия 4.0 (США).

## Результаты и обсуждение

При анализе показателей крови у больных с рецидивом генитального герпеса были выявлены выраженный лейкоцитоз (до  $17,5 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$ ), увеличение СОЭ (до  $28,7 \pm 1,53$  мм/ч) и изменение процентного соотношения клеточных элементов крови (нейтрофилов до  $69,7 \pm 3,41\%$ , лимфоцитов  $24,18 \pm 0,05\%$ ). Значение ЛИИ у больных выросло почти в 2,5 - 5 раз по сравнению с аналогичным показателем у практически здоровых пациентов. На основании полученных значений ЛИИ были выделены 3 подгруппы пациентов:

1 подгруппа с умеренно выраженным воспалительным процессом (17 человек, ЛИИ в 2,5 раза выше нормы)

2 подгруппа со средне выраженным воспалительным процессом (18 человек, ЛИИ в 3,6 раза выше нормы)

3 подгруппа с тяжелым воспалительным процессом (12 человек, ЛИИ в 5 раз выше нормы)

Оценка концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6) в крови позволила выявить

связь между уровнем их содержания и характером воспалительного процесса у больных генитальным герпесом.

Из приведенных в таблице данных видно, что у больных I подгруппы (с умеренно выраженным воспалительным процессом) средние уровни ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  соответствовали аналогичным показателям у здоровых. Совершенно иная картина наблюдалась в подгруппах 2 и 3 (со средне выраженным и тяжелым воспалительным процессом). Средний показатель уровня ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови больных 2 и 3 подгрупп был, соответственно, в 1,6 и 2,2 раза выше, чем у здоровых. Концентрация ФНО- $\alpha$  во 2 подгруппе увеличилась в 1,4 раза, а в 3 подгруппе – в 1,5 раза.

В то же время, уровень ИЛ-6, во всех трех подгруппах достоверно ( $p < 0,01$ ) превышал его содержание в контрольной группы. Максимальные концентрации ИЛ-6 ( $379,7 \pm 22,1$  пг/мл), которые в 8,4 раза превышали контрольные значения, были зарегистрированы у больных 3 подгруппы. Устойчивое изменение уровня ИЛ-6, который является одним из главных активаторов синтеза большинства белков острой фазы [4, 7], указывает на активность воспалительного процесса.

Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в сыворотке крови у всех больных во время рецидива ГВИ превышала значение такового у пациентов контрольной группы. Наиболее выраженное повышение уровня ИЛ-4 (в среднем в 2,6 раза) было характерно для больных I подгруппы. Для больных 2 и 3 подгрупп уровни ИЛ-4 были повышены в 2,2 и 1,5 раза соответственно.

ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 играют большую роль в формировании защитных реакций организма. Выполняя роль медиаторов межклеточных взаимодействий, цитокины индуцируют лизис инфицированных клеток и подавляют репродукцию вируса. Стимуляция фибробластов соединительной ткани ИЛ-1 $\beta$  увеличивает продукцию ими интерферона, простагландинов, ростовых факторов и ряда цитокинов [3, 7]. Активация ИЛ-1 $\beta$  нейтрофилов усиливает их хемотаксис, адгезию, фагоцитоз и продукцию свободных форм кислорода. ФНО- $\alpha$  стимулирует экспрессию дополнительных рецепторов апоптоза Fas/Apo-1 CD95-лимфоцитов. Кроме того, ФНО- $\alpha$  активирует миграцию мононуклеарных клеток в очаг воспаления путем стимуляции продукции хемокинов и адгезивных молекул.

Ингибирование ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  происходит за счет синтеза макрофагами ИЛ-6 [4, 7, 8]. Проявлениями биологической активности ИЛ-6 являются: активация про-

Таблица. Уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови больных генитальным герпесом в период рецидива

Цитокины	Группа сравнения (n = 24)	Пациенты (подгруппы)		
		I (n = 17)	II (n = 18)	III (n = 12)
ИЛ-1 $\beta$	$33,4 \pm 5,7$	$35,4 \pm 5,1$	$55,7 \pm 6,3$	$73,8 \pm 11,7$
ФНО- $\alpha$	$40,4 \pm 9,2$	$37,2 \pm 10,9$	$56,2 \pm 11,6$	$61,5 \pm 16,1$
ИЛ-6	$45,1 \pm 5,7$	$231,4 \pm 19,7$	$327,1 \pm 21,7$	$379,7 \pm 22,1$
ИЛ-4	$37,6 \pm 5,7$	$96,9 \pm 23,7$	$81,7 \pm 20,9$	$71,8 \pm 18,2$

лиферации В-лимфоцитов и усиление синтеза антител; усиление функциональной активности Т-киллеров; активация острофазного ответа путем индукции синтеза в печени С - реактивного белка, сывороточного амилоида А и фибриногена, а также пирогенное действие [7, 9, 11]. ИЛ-4 считается одним из главных регуляторов аллергических реакций и воспаления в тканях, который напрямую подавляет иммунные реакции, вызываемые продуцируемыми Th1 цитокинами [7, 10]. ИЛ-4 обеспечивает Th2-зависимую активацию В-лимфоцитов, усиливая их пролиферацию после распознавания антигена и стимулируя синтез антител классов IgE и IgG4, участвующих преимущественно в реакциях гуморального иммунитета и развитии аллергии [10]. Но вместе с тем, инициируемая ИЛ-4 и тканевыми макрофагами острая воспалительная реакция оказывает повреждающее действие [9, 10].

По этой причине для развития адекватного ответа на внедрение патогена, его локализации и элиминации, а затем восстановления поврежденной структуры тканей, необходим баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [4, 11]. В случае несостоятельности защитных реакций воспаление продолжает развиваться, дисбаланс цитокинов приобретает системный характер, что приводит к развитию системной воспалительной реакции [9].

У больных 1 подгруппы (см. табл.) во время рецидива ГВИ баланс цитокинов сохраняется. Одновременное повышение уровня провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов обеспечивает развитие местных защитных реакций с ингибированием репродукции ВПГ-2, что подтверждается относительно низким числом рецидивов у больных данной подгруппы (не более 3 раз в год) и более легким течением заболевания.

Для пациентов 2 и 3 подгрупп с более тяжелым течением ГВИ характерен дисбаланс цитокинов: прогрессирующее повышение уровня ИЛ-6 на фоне умеренного увеличения концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-4. Цитокин ИЛ-6, как было показано на модели шока, индуцированного полисахаридами, является медиатором локального воспаления [10]. Одним из патологических воздействий высоких концентраций ИЛ-6 является увеличение проницаемости эндотелия сосудов, что приводит к развитию отека. При этом несбалансированные концентрации

цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-4 сами по себе несут негативный, повреждающий характер, усугубляющий патологические изменения [7, 8, 10]. Особенно это было выражено у больных 3 подгруппы: острый период рецидива составлял не менее 7-12 дней, длительное время сохранялась гиперемия, отечность и болезненность слизистых и кожных покровов половых органов, субфебрильная температура, у большинства (75%) отмечались нарушения сна. В воспалительный процесс были вовлечены не только половые органы, но и область промежности, подъягодичных складок, паха и внутренних поверхностей бедер. У 25% больных рецидив ГВИ сопровождался невралгией бедренного нерва.

## Выводы

Полученные результаты показали, что при рецидиве герпесвирусной инфекции урогенитального тракта содержание цитокинов в сыворотке крови различается в зависимости от характера его течения.

Сбалансированное повышение уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в период рецидива ГВИ обеспечивает развитие адекватного ответа, который нейтрализует вирус и ограничивает его распространение в организме. При этом воспалительный процесс у больных имеет умеренно выраженный характер. Тяжелое течение рецидива заболевания характеризует выраженный дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, который приводит к развитию системной воспалительной реакции. По нашему мнению, исследование цитокинового статуса больного необходимо включить в алгоритм диагностики ГВИ для оценки степени тяжести течения заболевания, при подборе схем лечения, а также для контроля и прогнозирования эффективности терапии. ■

*Порываева А.П. – к.б.н., руководитель группы «Герпесвирусные инфекции» ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург; Некрасова Т.С. – к.м.н. врач-дерматовенеролог ОГУЗ «Областной кожно-венерологический диспансер» Министерства здравоохранения Свердловской области; Автор, ответственный за переписку - Порываева А.П. 620100 г. Екатеринбург, ул. Куйбышева 102-а, кв. 30., тел: 8-922-1122095, e-mail: virus@etel.ru*

## Литература:

1. Герасимова Н.М., Кунгуров Н.В., Кузюкова Т.В., Чигвинцева Е.А. Клинические особенности различных форм течения, проблемы лабораторной диагностики и терапии генитальной ВПГ-инфекции. Вест. дерматологии и венерологии. 2004; 3: 35-42.
2. Каражас Н.В., Малышев Н.А., Рыбалкина Т.Н., Калугина М.Ю., Чешик С.Г. Герпесвирусная инфекция (эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение). М: Медицина; 2007.
3. Каримова И.М. Герпесвирусная инфекция. Диагностика, клиника, лечение. М: Медицинское информационное агентство; 2004.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. С-Пб: Фолиант; 2008.
5. Кутырев В.В. Система лабораторной диагностики инфекций неизвестной этиологии. Клин. лаб. диагн. 2005; 9: 8-10.
6. Островский В.К., Алимов Р.Р., Мащенко А.В., Семенова О.П., Куралова М.И. Некоторые данные о

- показателях нормы лейкоцитарного индекса интоксикации. Клин. лаб. диагн. 2003; 1: 45-46.
7. Сенников С.В., Силков А.Н., Козлов В.А. Система цитокинов. Новосибирск: Наука; 2004.
  8. Томова А.С., Романова Ю.М., Гинзбург А.Д. Роль фактора некроза опухоли во взаимодействии макро- и микроорганизма. Вест. российской АМН. 2005; 1: 24-29.
  9. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Гаврилова Т.В., Климин В.А. От иммунофизиологии к иммунопатологии. Аллергол. и иммунол. 2006; 3 (Т. 7): 242-243.
  10. Callard R. Immunoregulation by IL-4 in man. Brit. J. Hematol. 2007; 78: 298-307.
  11. Fattori E., Cappeletti M., Costa P. et al. Defective inflammatory response in interleukin 6-deficient mice. J. Exp. Med. 1994; 180: 171-180.