

М.А. Андрейчин, Н.А. Васильєва, Я.І. Йосик, Є.В. Нікітін

**ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ У ХВОРИХ НА ГОСТРИ
РЕСПІРАТОРНІ ВІРУСНІ ІНФЕКЦІЇ**Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського,
Одеський національний медичний університет

Вивчено цитокіновий профіль у крові хворих на гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) за допомогою імуноферментного аналізу. У гострому періоді хвороби встановлено зростання вмісту прозапальних інтерлейкінів (IL-2, IL-6, TNF- α) і зниження протизапального IL-4. В період ранньої реконвалесценції відзначено тенденцію до нормалізації досліджуваних показників.

Ключові слова: ГРВІ, інтерлейкіни, IL-2, IL-6, TNF- α , IL-4.

ГРВІ належать до найбільш поширених інфекційних хвороб людини. До 30-50 % населення щонайменше один раз на рік хворіє на одну з цих інфекцій [1-3].

В останні десятиліття відкриття цитокінів і вивчення їх ролі в патогенезі захворювань визначили пріоритети їх дослідження при різній патології, у тому числі при ГРВІ. Система цитокінів – універсальна поліморфна регуляторна мережа медіаторів, яка контролює процеси проліферації, диференціювання, апоптозу та функціональної активності клітинних елементів у кровотворній, імунній та інших системах організму [1]. До цитокінів відносять інтерферони (INF), колонієстимулюючі фактори, інтерлейкіни (IL), хемокіни, трансформуючі фактори росту, групу фактору росту пухлин, фактор некрозу пухлин (TNF) та деякі інші. Основними клітинами-продуцентами цитокінів є Т-хелпери та макрофаги [2-6].

Зараз ідентифіковано понад 300 цитокінів, а IL – 32. Останні поділяють на прозапальні, до яких належать IL-1 α , -1 β , -2, -6, -8, -11, TNF- α , і протизапальні, представниками яких є IL-4, -10, -13 [7].

Досліджень, присвячених з'ясуванню ролі цитокінів у хворих на ГРВІ, у доступній нам літературі мало. У хворих на ГРВІ встановлено тенденцію до підвищення INF- α , IL-2 у сироватці крові в гострому періоді захворювання, що відображає наявність антигенної стимуляції та запального процесу [8].

Мета роботи – дослідити динаміку вмісту цитокінів у крові хворих на ГРВІ.

Пацієнти і методи

Спостерігали 30 хворих віком від 18 до 58 років, які лікувались стаціонарно з приводу ГРВІ під час сезонного підвищення захворюваності (2010-2011 рр.). Чоловіків було 60 %, жінок – 40 %. За ступенем тяжкості хворі розподілені таким чином: тяжкий перебіг хвороби був у 16 (53,3 %), середньотяжкий – у 14 (46,7 %). Перебіг ГРВІ був ускладненим пневмонією у 4 (13,3 %) хворих. За віком хворі розподілені таким чином: до 20 років – 9 (30,0 %) осіб, 21-40 – 13 (43,3 %), 41 рік і більше – 8 (26,7 %). В основному пацієнти були госпіталізовані з 1-го по 4-й день від початку хвороби, 8 – після 5-ї доби. Хворі отримували лікування згідно з наказами МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. і № 813 від 11.11.2009 р. Контролем слугували 15 здорових осіб, які за віком і статтю суттєво не відрізнялися.

Етіологічне розшифрування діагнозу ГРВІ проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на віруси респіраторної групи (апарат Rotor-Gene 6000, зареєстровані в Україні тест-системи фірми «Ампли-Сенс», Росія), а також методом флюоресцентних антитіл (МФА, тест-системи виробництва НДІ епідеміології та мікробіології ім. Пастера, СПб, Росія).

Цитокіни різних класів (IL-2, -4, -6, TNF- α) у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-систем «Вектор-Бест» (Новосибірськ, Росія). Дослідження здійснювали в динаміці, першу сироватку забирали в день госпіталізації, другу – через 7-10 днів. Обстеження проводили в міжкафедральній лабораторії та лабораторії досліджень інфекційних хвороб ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського. Отримані дані опрацьовані методом варіаційної статистики (середнеквадратичне відхилення і непараметричний метод Уїлкоксона-Манні-Уїтні).

Результати досліджень та їх обговорення

При комплексному обстеженні 30 хворих на ГРВІ методом ПЛР виявлено такий спектр збудників: RS-вірус – у 14 (46,7 %), метапневмовірус – у 12 (40,0 %), вірус парагрипу-1-4 – у 26 (86,7 %), коронавірус – у 15 (50,0 %), риновірус – у 5 (16,7 %), вірус грипу

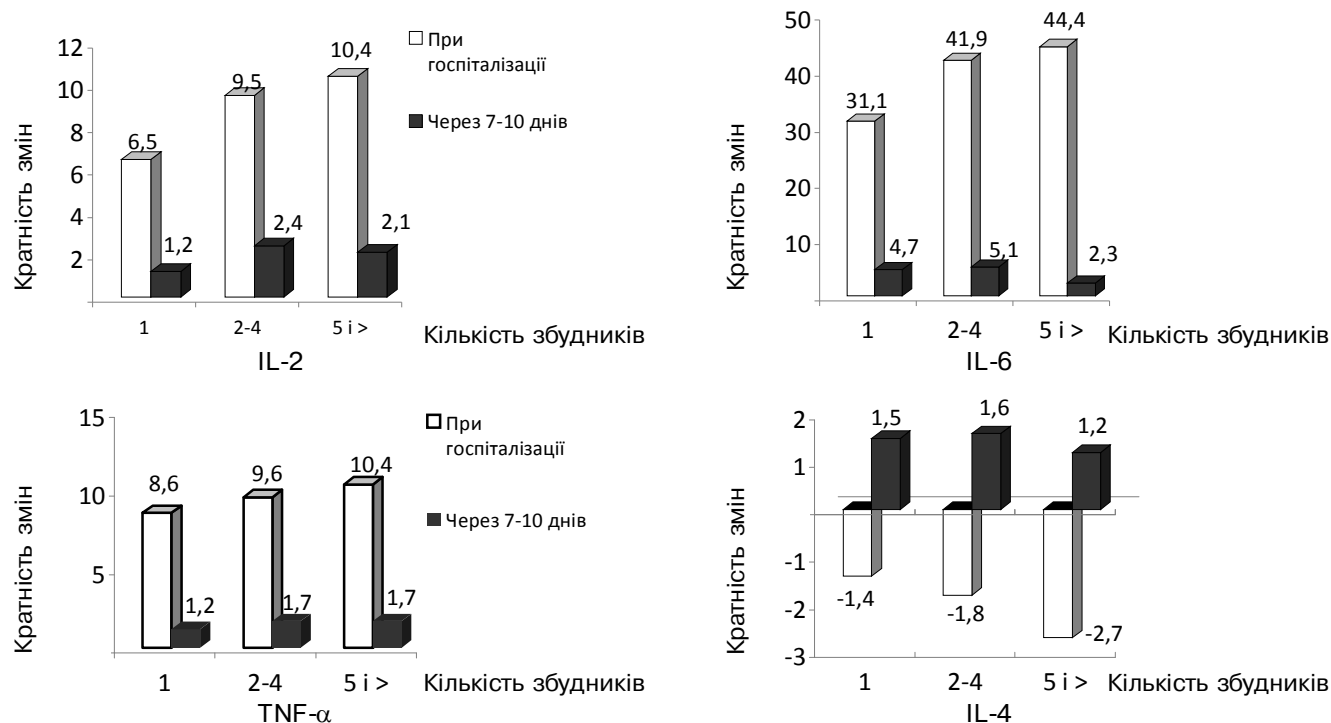
ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

A/H1N1sw – у 10 (33,3 %), грипу В – у 6 (20,6 %). У 22 (73,3 %) осіб виявлено різні поєднання по 2-8 збудників одночасно. За даними МФА, позитивні результати отримано лише у 6 (20,0 %) осіб, при цьому віруси парагрипу – в 1 (3,3 %), A/H1N1sw – у 2 (6,6 %), грипу В – у 3 (10,0 %).

Частота отримання позитивних результатів залежала від строків забору матеріалу на дослідження. При проведенні дослідження методом ПЛР до 5-го

дня хвороби включно результативність складала 82,2 %, з 6-го і пізніше – лише 50,0 % ($p < 0,05$).

Достовірної різниці показників усіх досліджених цитокінів від виду вірусів встановити не вдалося. Виявлено залежність рівня цитокінів від кількості знайдених видів збудників. Найвищі рівні прозапальних інтерлейкінів (IL-2, IL-6, TNF- α) і найнижчі – протизапального IL-4 визначено в осіб з поєднанням вірусів у кількості 5 і більше порівняно з моноінфекцією (мал. 1).

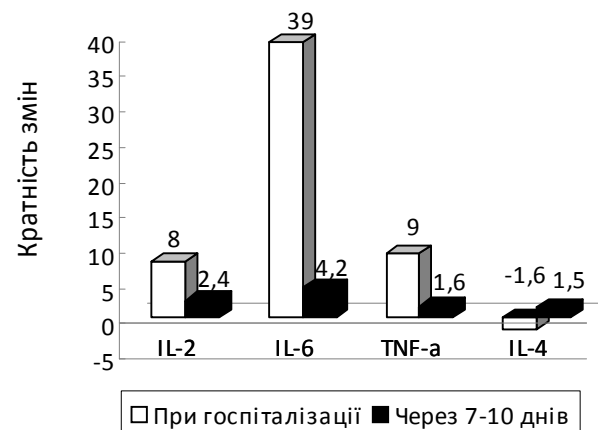


Мал. 1. Залежність рівня прозапальних (IL-2, IL-6, TNF- α) і протизапального (IL-4) цитокінів від кількості виявлених видів збудників у хворих на ГРВІ.

Примітка. Вісь ординат відповідає нормальній величині даного показника.

Встановлено відмінності значень показників про- і протизапального інтерлейкінів залежно від віку та статі пацієнтів. Найвищі концентрації у всіх досліджуваних інтерлейкінів спостерігали в осіб віком до 20 років. У жінок всіх вікових груп рівень IL-2 у гострому періоді хвороби був вищим, ніж у чоловіків – ($39,7 \pm 4,1$) проти ($25,1 \pm 2,7$) пг/мл, $p < 0,01$, IL-6 відповідно ($29,2 \pm 3,1$) та ($20,7 \pm 2,9$) пг/мл, $p < 0,05$. Відмінності значень IL-4, TNF- α не було.

Аналіз отриманих даних показав, що в гострий період захворювання у сироватці крові пацієнтів відбулося підвищення рівнів усіх прозапальних цитокінів – IL-2, IL-6, TNF- α ($p < 0,001$), а саме: IL-2 – у 8, IL-6 – у 39, TNF- α – у 9 разів відносно показників здорових осіб. Вміст протизапального IL-4, навпаки, знизився в 1,6 разу ($p < 0,001$) (мал. 2).



Мал. 2. Зміни прозапальних (IL-2, IL-6, TNF- α) і протизапального (IL-4) цитокінів у хворих на ГРВІ відносно прийнятої норми.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

У всіх хворих концентрація прозапальних інтерлейкінів у період ранньої реконвалесценції знижувалась ($p < 0,001$), але залишалась на високому рівні,

не досягаючи показників здорових осіб (табл. 1), що свідчить про збереження запального процесу навіть за відсутності виражених клінічних проявів.

Таблиця 1

Концентрація IL-2, IL-6, TNF- α , IL-4 у сироватці крові хворих на ГРВІ ($M \pm m$)

Показник, пг/мл	Хворі		Здорові особи (n=15)
	при госпіталізації (n=30)	через 7-10 днів (n=30)	
IL-2	37,10 \pm 3,90*	8,50 \pm 0,75*,**	4,18 \pm 0,27
IL-6	26,80 \pm 2,50*	2,90 \pm 0,25*,**	0,68 \pm 0,13
TNF- α	27,10 \pm 2,10*	4,60 \pm 0,30*,**	2,95 \pm 0,12
IL-4	1,30 \pm 0,12*	3,40 \pm 0,25*,**	2,17 \pm 0,18

Примітки: * – достовірна різниця ($p < 0,01-0,001$) показників порівняно з практично здоровими особами; ** – між показниками при госпіталізації і в ранню реконвалесценцію.

У той же час рівень протизапального IL-4 достовірно підвищився – у 2,6 рази щодо вихідного рівня; відновлення відбулось навіть з перевищенням в 1,5 разу показника здорових осіб – до (3,40 \pm 0,25) пг/мл ($p < 0,001$), що свідчить про зниження активності за-

пального процесу і високий рівень активації протизапальних механізмів імунного захисту в реконвалесценції [9].

Встановлено залежність рівня досліджуваних показників від тяжкості захворювання (табл. 2).

Таблиця 2

Рівень цитокінів у хворих на ГРВІ залежно від тяжкості захворювання ($M \pm m$)

Показник, пг/мл	Здорові особи (n=15)	Перебіг середньої тяжкості (n=14)		Тяжкий перебіг (n=16)	
		До лікування	Через 7-10 днів	До лікування	Через 7-10 днів
	1	2	3	4	5
IL-2	4,18 \pm 0,27	18,40 \pm 1,80 $p_{1-2} < 0,001$	6,60 \pm 0,68 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	48,30 \pm 2,30 $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$	10,10 \pm 1,50 $p_{1-5} < 0,001$ $p_{3-5} < 0,01$ $p_{4-5} < 0,001$
IL-6	0,68 \pm 0,13	14,20 \pm 0,68 $p_{1-2} < 0,001$	3,70 \pm 0,70 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	37,40 \pm 1,60 $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$	2,30 \pm 1,10 $p_{1-5} > 0,05$ $p_{3-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,001$
TNF- α	2,95 \pm 0,12	15,90 \pm 0,93 $p_{1-2} < 0,001$	5,00 \pm 0,50 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	36,90 \pm 0,95 $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$	4,20 \pm 0,59 $p_{1-5} < 0,05$ $p_{3-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,001$
IL-4	2,17 \pm 0,18	1,40 \pm 0,20 $p_{1-2} < 0,001$	3,50 \pm 0,30 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,01$	1,29 \pm 0,32 $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} > 0,05$	4,30 \pm 0,74 $p_{1-5} < 0,01$ $p_{3-5} > 0,05$ $p_{4-5} < 0,001$

У гострому періоді ГРВІ рівень прозапальних цитокінів зростав залежно від тяжкості захворювання і був достовірно вищим при тяжкому перебігу порівняно зі середньотяжким. Показники вказаних цитокінів у періоді реконвалесценції не залежали від тяжкості і не відрізнялись між собою, за винятком IL-2, відновлення якого при тяжкому перебігу недуги було більш

сповільненим. Зміни вмісту IL-4 від тяжкості захворювання не залежали.

Концентрація прозапальних IL-2, IL-6, TNF- α і протизапального IL-4 у хворих на ГРВІ, ускладнені пневмонією, не відрізнялась від такої у хворих з неускладненим перебігом недуги – за показниками, розрахованими як за методом середньоквадратичного

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

відхилення, так і непараметричним критерієм Уїлкоксона-Манні-Уїтні.

Таким чином, у хворих на ГРВІ у гострий період захворювання продукція прозапальних цитокінів збільшується, а протизапальних – знижується. Більша виразність змін притаманна прозапальному IL-2, що свідчить про інтенсивність запальних та імунних процесів, які супроводжують розвиток захворювання різного ступеня тяжкості, що можна вважати адекватною відповіддю організму. У процесі одужання синтез IL-2, IL-6, TNF- α зменшується паралельно з регресією клінічних симптомів, проявляючи тенденцію до нормалізації, хоча у періоді ранньої реконвалесценції залишається підвищеним, що свідчить про незавершеність запального процесу. Рівень протизапального IL-4 у динаміці захворювання також проявляє тенденцію до нормалізації, тобто збільшується, особливо при тяжкому перебігу недуги, що може свідчити про структурну перебудову імунної відповіді в бік протизапальної спрямованості і про корекцію імунозапальної реакції організму через систему цитокінів [9, 10].

Отже, вивчення фізіологічних і патофізіологічних механізмів дії цитокінів є перспективним напрямом для досліджень і дозволить у подальшому не тільки розширити знання про патогенез ГРВІ, але й виявити діагностичні і прогностичні маркери розвитку запалення при цих захворюваннях, що потребуватиме нових ефективних засобів корекції зазначених змін.

Висновки

1. У гострому періоді ГРВІ встановлено підвищення рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові – IL-2, IL-6, TNF- α – у 8, 39 і 9 разів щодо відповідних показників у здорових людей ($p < 0,001$). Вміст цих цитокінів зростає залежно від тяжкості захворювання і кількості видів збудників у поєднанні. У ранній реконвалесценції відзначено їх зниження ($p < 0,01-0,001$), однак нормалізації не наставало.

2. Показники протизапального IL-4 в гострому періоді знизилися в 1,6 разу щодо норми ($p < 0,01$); рівень даного інтерлейкіну не залежав від тяжкості недуги. Пригнічення було більш виражене під впливом комбінації вірусів. У ранній реконвалесценції підвищення концентрації цитокіну відбулось у 2,6 разу щодо вихідного рівня і навіть з перевищенням в 1,5 разу показника здорових осіб.

Література

1. Гострі респіраторні вірусні інфекції / [М.А. Андрейчин, В.П. Малий, Л.Я. Ковальчук та ін.]. – Тернопіль: ТДМУ, 2011. – 304 с.
2. Возианова Ж.И. Дифференциальная диагностика респираторных инфекций / Ж.И. Возианова, Н.М. Ковалева // Сучасні інфекції. – 2000. – № 2. – С. 11-15.
3. Руденко А.А. Клинико-фармакологические аспекты ранней терапии гриппа и других ОРВИ / А.А. Руденко, С.Г. Бурчинский // Журн. практичн. лікаря. – 2001. – № 4. – С. 39-41.
4. Маркелова Е.В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях / Е.В. Маркелова, А.В. Костюшко, В.Е. Красников // Тихоокеанский мед. журн. – 2008. – № 3. – С. 24-29.
5. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9-17.
6. Иммунофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, Е.В. Лебедева. – Екатеринбург: УрО РАН, 2002. – 259 с.
7. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н.М. Бережная // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 26-34.
8. Могиленець О.І. Вміст α -інтерферону та інтерлейкіну-2 в сироватці крові хворих на грип та гострі респіраторні захворювання / О.І. Могиленець, Г.О. Соломенник // Сучасні досягнення молодих вчених на допомогу практичній медицині: Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених і спеціалістів (Харків, 20 жовтня 2006 р.). – Харків, 2006. – С. 68.
9. Armstrong L. Increased expression of functionally active membrane-associated Tumor Necrosis Factor in Acute Respiratory Distress Syndrome / L. Armstrong, D.R. Thickett, S.J. Christie // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2000. – Vol. 1, N 22. – P. 68-74.
10. Rakhmankulova Z. Cytokine profile in newborn children with intrauterine infections / Z. Rakhmankulova // Medical and Health Sci. J. – 2010. – Vol. 2. – P. 22-26.

CYTOKINE TYPE IN PATIENTS WITH ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS

M.A. Andreychyn, N.A. Vasylieva, Ya.I. Yosyk, Ye.V. Nikitin
SUMMARY. There was studied the cytokine profile in patients with other acute respiratory viral infection by using ELISA. In the acute phase of the disease was increase the content of pro-inflammatory interleukins (IL-2, IL-6, TNF- α) and decreased anti-inflammatory IL-4. During early convalescence was marked recovery of the studied parameters but without achieving standards.

Key words: ARVI, interleukins, IL-2, IL-6, TNF- α , IL-4.

Отримано 22.01.2014 р.