

РЕЗЮМЕ

СТАН КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОГО СТЕНТУВАННЯ

Ворнцова Л.Л., Безрук В.А., Діденко С.М.

ДЗ „Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України”,

кафедра клінічної лабораторної діагностики

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, стентування, імунна система.

Відомо, що у більшості пацієнтів із захворюваннями серцево-судинної системи спостерігається імунодепресія. Ступінь зниження імунореактивності визначає особливості формування, перебігу і прогнозу захворювання. Вищесказане і визначило мету нашого дослідження: установити особливості специфічної ланки імунної системи у хворих на ішемічну хворобу серця перед та після проведення стентування коронарних артерій. В результаті дослідження у хворих на ішемічну хворобу серця перед і після проведення стентування виявлено зниження відносно контрольних значень всіх показників Т-клітинного імунітету, що можливо кваліфікувати як прояв вторинного імунodefіциту з різним ступенем імунної недостатності.

SUMMARY

STATE OF CELLULAR IMMUNITY AT PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AFTER THE CONDUCTED STENTING

Vorontsova L.L., Bezruk V.A., Didenko S.N.

State establishment «Zaporizhye Medical Academy of Post-Graduate Education Ministry of Health of Ukraine»,

Department of Clinical Laboratory Diagnostics

Key words: ischemic heart disease, stenting, immune system.

It is known that greater part of patients with the diseases of the cardiovascular system has immunodepression. The degree of decline of immunoreactivity determines the features of forming, course and prognosis of disease. All of aforesaid defined the aim of our research: to determine the features of specific link of the immune system at patients with ischemic heart disease before and after the conducted stenting of coronary arteries. As a result of research at patients with ischemic heart disease before and after the conducted stenting the decline is exposed in relation to the controls values of all indexes of T-cellular immunity. That it is possible to characterize as state of the second immunodeficiency with the different degree of immune insufficiency.

УДК 612.017.1:616.857

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЗА ПРОДУКЦІЄЮ ЦИТОКІНІВ IL-15 ТА IL-18 *IN VITRO* У ХВОРИХ НА ГЕНІТАЛЬНУ ГЕРПЕСВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ

КУРЧЕНКО А.І., РУДЕНКО М.Ю., ФЕДОРУК Г.В., БІДНА Т.Ю.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Вивчення патогенезу герпесвірусних інфекцій показало, що тривала персистенція вірусів в організмі господаря створює постійну загрозу для їх реактивації. Відомо, що віруси герпесу здатні зберігатися в клітинах, до яких вони мають виражений тропізм і, як правило, знаходяться в неактивному (латентному) стані. Індуковане вірусами ослаблення імунного захисту дозволяє їм розмножуватися і поширюватися в організмі протягом тривалого часу. При цьому реактивація вірусів, тобто перехід від персистенції до повномасштабної реплікації відображає втрату або часткову неповноцінність імунологічного контролю над інфекцією. Враховуючи нещодавно виявлені властивості герпес вірусів синтезувати імуносупресорні протеїни, стають очевидними труднощі терапії хворих, що страждають частими рецидивами інфекції на фоні постійної реплікації вірусів в організмі. У зв'язку з цим в світі не припиняється пошук нових препаратів, здатних не тільки пригнічувати реплікацію віру-

сів, але і відновлювати імунний протівірусний захист організму.

Як відомо, прояви хронічної персистуючої герпес-вірусної інфекції є найбільш частою ознакою імунodefіцитного стану. З'ясувалося, що у хворих з вірус-індукованим імунodefіцитом спостерігається збільшення частоти рецидивів та збільшення термінів тривалості захворювання [1].

Патогенетичним обґрунтуванням зникнення імунodefіцитного стану у хворих простим герпесом може служити нормалізація якості міжклітинної взаємодії між дендритними клітинами (DC) і NK-клітинами за допомогою регуляції синтезу цитокінів: IL-12, IL-15 та IL-18, а безпосередня елімінація інфекційного агента буде залежати від сили імунної відповіді [2,3].

Важливим етапом початку елімінації вірусів є активація клітинних факторів системного імунітету. Цей процес характеризується посиленням функціональної активності макрофагів,

NK-клітин та цитотоксичних Т-лімфоцитів (CTL) і пов'язаний з посиленням продукції клітинами цитокінів (IL-12, IL-15 і IL-18), що беруть участь у розвитку клітинної імунної відповіді. При цьому NK-клітини стають центральним клітинним компонентом вродженого імунітету, здатним контролювати інфекційний процес і здійснювати першу лінію захисту, як безпосередньо проти вірусів, так і щодо вірус-трансформованих клітин організму [4,5].

У зв'язку з цим особливий інтерес викликає вивчення у хворих герпесвірусною інфекцією рівнів спонтанної та індукованої продукції мононуклеарами периферичної крові IL-15, здатного збільшувати цитотоксичний потенціал NK-клітин за рахунок посилення (у співдружності з IL-12) секреції IFN- γ . Крім того, великої уваги заслуговує вивчення продукції клітинами хворих IL-18, який також є синергістом деяких ефектів IL-12, особливо пов'язаних з індукцією синтезу IFN- γ .

Мета роботи. Вивчити *in vitro* динаміку продукції IL-15 і IL-18 мононуклеарними клітинами периферичної у крові хворих з герпесвірусною інфекцією які мають різну частоту рецидивів клінічних проявів захворювання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Під нашим спостереженням знаходилися 2 групи пацієнтів: I групу склали 15 осіб, клінічні прояви герпесвірусної інфекції у яких спосте-

рігалися менше 5 разів на рік; II групу склали 18 осіб, клінічні прояви герпесвірусної інфекції у яких спостерігалися більше 7 разів на рік. У перші 1-2 дні рецидиву захворювання мононуклеарні клітини периферичної крові виділяли із застосуванням градієнта щільності фіколл-верографіну (1,076-1,078) і поміщали в культуральне середовище RPMI-1640, що містить, 10% ембріональної телячої сироватки, 40 мкг/мл гентаміцину, 5x10M 2-меркаптоетанол і 3% L-глутаміну. Клітинну суспензію в концентрації 1,5 x 10⁶ кл/мл інкубували 48 годин в CO₂-інкубаторі при 37°C без стимулюючого агента, а також при стимуляції мітогеном ФГА, в концентрації 10 мкг/мл.

Вміст цитокінів (IL-15 і IL-18) в супернатантах визначали за допомогою імуноферментного методу ELISA із застосуванням тест-систем "Biosource" (США). Тестування проводилося за допомогою імуноферментного аналізатора «Stat Fax-303 Plus».

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як з'ясувалося в процесі дослідження, в I групі пацієнтів спонтанна продукція IL-15 мононуклеарними клітинами периферичної крові в системі *in vitro* складала 65,1±0,9 pg/ml. При додаванні мітогена ФГА продукція клітинами IL-15 підвищувалася до 88,4±1,7 pg/ml (рис.1).

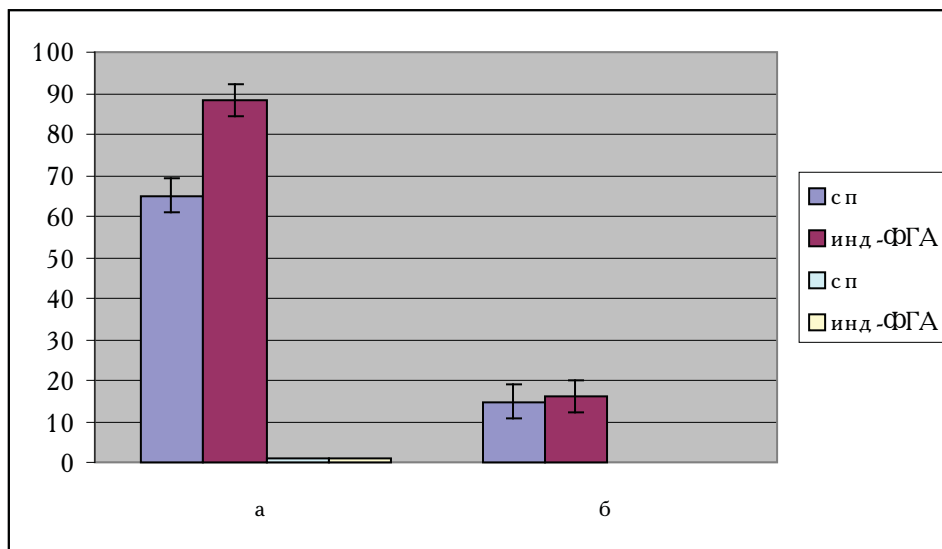


Рис. 1. Продукція IL-15 мононуклеарними клітинами *in vitro* у хворих з герпесвірусною інфекцією а) I група хворих с рецидивами захворювання менше 5 разів на рік; б) II група хворих с рецидивами захворювання більше 7 разів на рік.

Як видно з рис. 1. у другій групі хворих спонтанна продукція IL-15 складала 14,8±0,9 pg/ml. Під впливом дії мітогену *in vitro* клітинна продукція інтерлейкіну збільшувалася незначно і становила 16,0±0,6 pg/ml.

Спонтанна продукція IL-18 мононуклеарними клітинами хворих I групи в культурі становила 58,4±0,7 pg/ml. Додавання мітогена ФГА збільшувало рівень IL-18 до 71,3±0,7 pg/ml. (рис.2.)

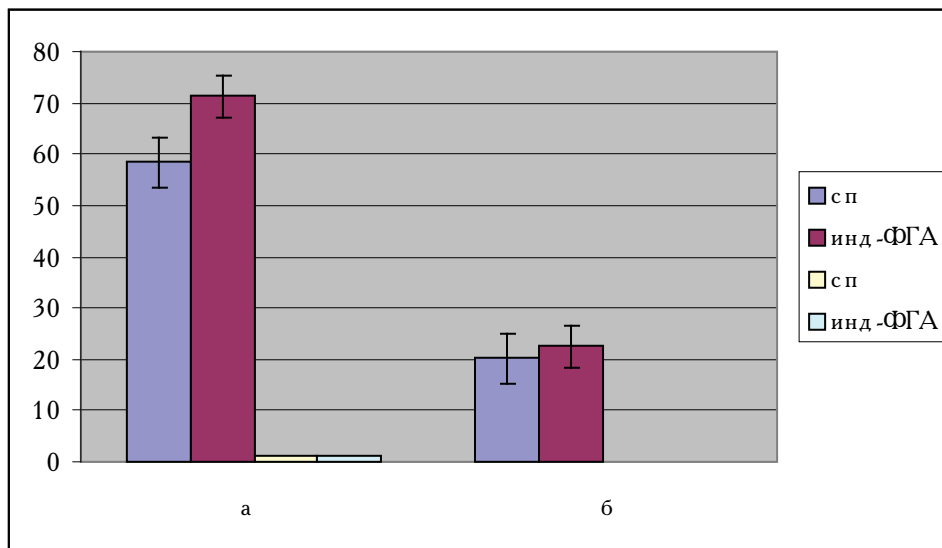


Рис. 2. Продукція IL-18 мононуклеарними клітинами *in vitro* у хворих з герпесвірусною інфекцією
 а) I група хворих с рецидивами захворювання менше 5 разів на рік;
 б) II група хворих с рецидивами захворювання більше 7 разів на рік.

Як видно з рис. 2. у хворих з герпесвірусною інфекцією II групи спонтанна продукція клітинами IL-18 була знижена і перебувала в межах $20,1 \pm 0,9$ pg/ml. Мітогеніндукована продукція IL-18 у цій групі хворих становила $22,5 \pm 1,0$ pg/ml.

Як з'ясувалося в результаті дослідження у хворих з частотою клінічних проявів герпесвірусної інфекції менше 5 разів на рік, спостерігається підвищення рівнів IL-15 і IL-18, що може свідчити про активацію NK-клітин і продукції ними відповідних цитокінів, які формують неспецифічну складову першої лінії захисту проти вірусної інфекції.

Відомо, що вірус простого герпесу здатний збільшувати активність NK-клітин і рівень IL-15 мРНК, що призводить до збільшення продукції IL-15 *in vitro* в культурі клітин, і в кінцевому підсумку веде до супресії реплікації вірусу. З іншого боку вірус-індукована продукція IL-15 може також стимулювати синтез NK-клітинами IFN- γ , який, у свою чергу здатний активувати дендритні клітини і тим самим індукувати патогенспецифічну імунну відповідь [3].

У хворих II-ої групи, з клінічними рецидивами герпесвірусної інфекції що спостерігаються більше 7 разів на рік, спонтанна і індукована продукція IL-15 і IL-18 мононуклеарами периферичної крові в порівнянні з I-ої групою пацієнтів була достовірно знижена. Виявилося, що при хронізації герпесвірусної інфекції і збільшенні частоти її клінічної маніфестації, спостерігається зниження сили імунної відповіді. Тому крім імуностимулюючої активності вірус простого герпесу володіє зворотним механізмом супресуючої антивірусної відповіді, яка пов'язана з синтезом протеїнів ICP34,5 і

ICP47 [5]. Відомо, що протеїн ICP34,5 здатний блокувати дію інтерферонів, спрямовану на стримання реплікації вірусу. Інший імуносупресорний вірусний протеїн ICP47 здатний знижувати антигенне процесування дендритними клітинами шляхом блокування функції транспортних білків TAP, і таким чином порушує процес презентації антигену CD8 + T-клітинам [6, 7].

У зв'язку з цим залишається актуальним пошук нових імунотропних препаратів здатних вибірково впливати на міжклітинні взаємодії дендритних клітин і NK-клітин шляхом посилення синтезу цитокінів IL-15 і IL-18, що буде сприяти елімінації вірусу з організму.

ВИСНОВКИ

1. У хворих I-ої групи, клінічні прояви герпесвірусної інфекції у яких спостерігалися менше 5 разів на рік, відзначається підвищення продукції IL-15 і IL-18 у порівнянні з аналогічними показниками в II-ій групі, що свідчить про посилення функціональної активності NK-клітин.
2. У хворих II-ої групи (клінічні прояви герпесвірусної інфекції у яких спостерігалися більше 7 разів на рік) спонтанна і індукована продукція IL-15 і IL-18 мононуклеарами периферичної крові була достовірно знижена в порівнянні з I-ою групою пацієнтів, що свідчить про супресію противірусної відповіді і необхідності пошуку імунomodulatorів здатних посилювати функціональну активність NK-клітин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kamal M. Khanna, Andrew J Lepisto, Vilma Decman. Immune control of herpes simplex virus during latency// Current Opinion in Immunology.- 2004.- 16-P.463-469.
2. Malmgaard L., Paludan S. Interferon (IFN) - α/β , interleukin (IL)-12 and IL-18 co-ordinately induce production of IFN- γ during infection with herpes simplex virus type 2 // J.of Virology.- 2000.- Vol.73, N16.-P.7192-7200.
3. Toka F., Rouse B. Mucosal application of plasmid-encoded IL-15 sustains a highly protective anti-Herpes simplex virus immunity // J. of Leukocyte Biology. -2005.- 78.- P.178-186.
4. Mogensen T., Melchjorsen J., Malmgaard L. Suppression of Proinflammatory Cytokine Expression by Herpes Simplex Virus Type 1 // J.of Virology.- 2004.- Vol.78, N11.-P.5883-5890.
5. Kurt-Jones E., Chan M., Zhou S. Herpes simplex virus 1 interaction with Toll-like receptor 2 contributes to lethal encephalitis // PNAS.- 2004.- Vol.101, N5.- P.1315-1320.
6. Ahmad A., Sharif-Askari, Fawaz I. Innate Immune Response of the Human Host to Exposure with Herpes Simplex Virus type 1: In Vitro Control of the Virus Infection by Enhanced Natural Killer Activity via Interleukin-15 Induction // J.of Virology.- 2000.- Vol.74, N16.-P.7196-7203.
7. Carr D., Harle P., Ger The Immune Response to Ocular Herpes Simplex Virus Type 1 Infection // Experimental Biology and Medicine.- 2001.- 226.-P.353-366.

РЕЗЮМЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ПО ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ IL-15 И IL-18

Курченко А.И., Руденко М.Ю., Бидна Т.Ю.

Была изучена *in vitro* динамика продукции ИЛ-15 и ИЛ-18 мононуклеарами периферической крови больных с герпесвирусной инфекцией с разной частотой клинических проявлений. Показано, что у больных с клиническими проявлениями более 7 раз в год (II группа) спонтанная и индуцированная продукция ИЛ-15 и ИЛ-18 была достоверно снижена по сравнению с I группой пациентов (с клиническими проявлениями менее 5 раз в год).

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF IMMUNE CELLS BY IL-15 AND IL-18 PRODUCTION IN PATIENTS WITH HERPES VIRUS

Kurchenko A.I., Rudenko M.Y., Bidna T.Y.

It has been studied in *in vitro* system dynamic of the production IL-15 and IL-18 with peripheral blood mononuclear cells of patients with Herpes virus an infection with different frequency clinical manifestation. It was shown, that at patients with clinical manifestation more than 7 time per year (II group) spontaneous and induced production IL-15 and IL-18 has been authentically lowered in comparison with I group of patients (with clinical manifestation less than 5 time per year).

УДК 612.017.1:616.852:57.083.3

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ МОНОНУКЛЕАРІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА ГЕРПЕТИЧНУ ІНФЕКЦІЮ ЗА ПРОДУКЦІЄЮ TNF- α І IL-12 В УМОВАХ *IN VITRO*

КУРЧЕНКО А.І.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Формування імунної відповіді при герпетичній інфекції є складним і багатокомпонентним процесом, в ході якого порушення клітинної кооперації може відбуватися на різних етапах. Відомо, що резистентність організму до вірусу герпесу визначається активністю натуральних кілерів (НК), дендритних клітин і макрофагів, а також здатністю клітин переробляти і представляти вірусспецифічний антиген Т-лімфоцитам. При цьому вирішальний вплив на характер перебігу герпетичної інфекції надає специфічний клітинний імунітет, опосередкований Т-лімфоцитами,

що в значній мірі визначає частоту та інтенсивність рецидивів.

Імунопатологічні механізми при герпетичній інфекції різноманітні й включають в себе не тільки формування неповноцінної локальної відповіді на персистуючий антиген, а й неадекватну регуляцію самої вірусспецифічної імунної відповіді на системному рівні. Показано, що віруси герпесу здатні виживати і репродукуватися в клітинах імунної системи, обумовлюючи загибель або зниження функціональної активності цих клітин, сприяючи розвитку вторинних іму-