

- Ю. А. Бисюк, В. А. Белоглазов, А. И. Дубовой // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Том. 16, №. 3, часть 3. – С. 27-30.
13. *Han D.* Association of the CD14 gene polymorphism C-159T with allergic rhinitis / D. Han, W. She, L. Zhang // American journal of rhinology & allergy. – 2010. – Vol. 24, No. 1. – P. e1–e3.
14. *Baldini M.* A polymorphism\* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin e / M. Baldini, I. Carla Lohman, M. Halonen [et al.] // American journal of respiratory cell and molecular biology. – 1999. – Vol. 20, No. 5. – P. 976-983.
15. *Martinez F. D.* CD14, endotoxin, and asthma risk: actions and interactions / F. D. Martinez // Proceedings of the American Thoracic Society. – 2007. – Vol. 4, No. 3. – P. 221-225.
16. *Zaborowski T.* The effect of CD14 and TLR4 gene polymorphisms on the occurrence of atopic and non-atopic asthma / T. Zaborowski, K. Wojas-Krawczyk, P. Krawczyk [et al.] // Adv Clin Exp Med. – 2011. – Vol. 20, No. 4. – P. 413-421.
17. *Zhou H.* Influence of C-159T SNP of the CD14 gene promoter on lung function in smokers / H. Zhou, N. E. Alexis, M. Almond[et al.] // Respiratory medicine. – 2009. – Vol. 103, No. 9. – P. 1358-1365.

УДК 616.31-002:616.523]-037-076.3-097

## ИММУНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ГЕРПЕТИЧЕСКОГО СТОМАТИТА

КЛЕМИН В.А., БУТУК Д.В., РУДЕНСКИЙ В.Г.

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

Рецидивирующий герпетический стоматит (РГС), вызванный вирусами простого герпеса, сопровождается у части пациентов иммунодефицитными состояниями с преимущественным поражением Т-системы иммунитета [1-4]. Развитие иммунодефицита при этом обусловлено многими факторами, в том числе и генетическими [5,6].

Известно, что Т-лимфоциты выполняют основную роль цитогенетического контроля при инфекционном мутагенезе, а поражаемость хромосом зависит от реактивности иммунной системы [7]. Поэтому, представляет несомненный интерес изучение нестабильности генетического аппарата Т-лимфоцитов при РГС, что позволит более глубоко познать механизмы формирования патологического процесса и разработать более эффективное лечение данного заболевания.

До настоящего времени нестабильность генетического аппарата Т-лимфоцитов не изучалась у пациентов с РГС в зависимости от тяжести течения патологического процесса и степени выраженности иммунодефицитного состояния.

Цель исследования: определить уровень нестабильности генетического аппарата Т-лимфоцитов (аббераций хромосом и ассоциаций акроцентрических хромосом) в зависимо-

сти от тяжести течения заболевания и степени выраженности иммунодефицитного состояния у пациентов с РГС.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинически, иммунологически и цитогенетически в течении 2005 – 2013 г.г. обследовано 180 пациентов с РГС в стадии обострения. Средний возраст обследованных составил 27,1 лет. Диагноз заболевания ставился на основании типичной клинической картины и подтверждался выявлением антигенов вирусов простого герпеса типов I и II (ВПГ-1 и ВПГ-2) в содержимом герпетических везикул, для чего использовали тест-системы «НИАРМЕДИК» (Россия). В сомнительных случаях диагноз подтверждался выделением возбудителя с помощью полимеразно-цепной реакции (ПЦР) с применением набора реагентов «ГЕРПОЛ-1+2» (Россия). На основании степени тяжести заболевания и частоты рецидивов в течение года пациентов распределили на 3 группы, согласно рекомендациям [8] – легкая, средняя и тяжелая. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц (доноры), в анамнезе которых отсутствовали сведения о рецидивирующей герпесвирусной инфекции и в крови не выявлялась ДНК ВПГ-1 и ВПГ-2 методом ПЦР.

У пациентов с РГС и лиц контрольной группы определяли количественные и функциональные

показатели иммунного статуса. Количественное содержание лимфоцитов с фенотипами CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ выявляли с помощью моноклональных антител фирмы «VectonDickinssonMonoclonalCenterINC» (США), согласно прилагаемой инструкции. Использовался метод непрямой люминисцентной микроскопии с помощью микроскопа «Люмам 1-3» (Россия).

В реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) изучали функциональную активность Т-лимфоцитов *in vitro* с фитогемагглютинином (ФГА) фирмы «Дифко-Р» (США) – 40 мкг/мл, Т-супрессоров с конконавалином А (Кона) фирмы «Сигма» (США) – 60 мкг/мл, Т-хелперов с митогеном лаконоса (мл) фирмы «Сигма» – 2 мкг/мл и В-клеток с липополисахаридом (ЛПС) фирмы «Сигма» – 60 мкг/мл, согласно прилагаемых инструкций.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по содержанию в сыворотке крови суммарных иммуноглобулинов классов М, G, А (IgM, IgG, IgA) методом радиальной иммунодиффузии по Манчинис моноспецифическими сыворотками (Россия), специфических герпетических IgM и IgG в ИФА, согласно прилагаемых инструкций к тест-системам «Векто-ВПГ-IgM-стрип» и «Векто-ВПГ-IgG-стрип» (Россия). Уровень секреторного иммуноглобулина А (S-IgA) в смешанной слюне определяли методом радиальной иммунодиффузии с моноспецифической сывороткой «Serotec» (Великобритания). Содержание в крови общих циркулирующих комплексов (ЦИК), фагоцитарную активность нейтрофилов с суточной культурой *Staphylococcus aureus* (штамм 209) выявляли общепринятыми методами, согласно рекомендациям В.Г. Передерия и др. [9].

С целью оценки состояния генетического аппарата Т-лимфоцитов, подтверждения наличия у пациентов с РСГ иммунодефицитного состояния и выявления некоторых механизмов его формирования, цитогенетическим методом обследовано 72 больных. Контролем служили 10 здоровых лиц (доноров). Культуру лимфоцитов и приготовление препаратов хромосом осуществляли стандартным методом [10]. В них изучали частоту аберраций хромосом (АХ) и ассоциаций акроцентрических хромосом (ААХ) согласно Денверской номенклатуре [11]. Культуры клеток фиксировали через 48 – 52 часа, т.е. в первом митозе. Данный прием позволяет оценивать состояние лимфоцитов в организме человека на момент обследования, т.е. *in vivo* [12].

В эксперименте *in vitro* определено влияние экзогенного интерлейкина-2 (ИЛ-2) на генетический аппарат Т-лимфоцитов и их пролиферативную активность у 10 тяжело больных РСГ

и 10 здоровых лиц (доноров). Супернатант, содержащий ИЛ-2, получали из 24-часовой культуры лимфоцитов здоровых доноров. Культуру, содержащую 5 млн. клеток в 1,0 мл, стимулировали субмитогенной (5 мкг/мл) дозой Кон А фирмы «Сигма» [13].

На каждого исследуемого заготавливали по 2 пенициллиновых флакона, в которые вносили по 3,0 мл питательной среды RPMI-1640 и около 2,1 млн. отмытых лимфоцитов. В первый флакон (опыт) добавляли 20 мкг/мл ФГА и 0,12 мл экзогенного ИЛ-2 (конечное разбавление 1:25). Во второй (контроль) – только 20 мкг/мл ФГА.

Статистическую обработку полученных показателей проводили с использованием пакетов программ «MedStat» (2006). Достоверность различий показателей оценивали по *t*-критерию Стьюдента (в случае нормального распределения), по *W*-критерию Уилкоксона (в случае отклонения закона распределения от нормального) и методами множественных сравнений с помощью параметрического *S*-критерия Шеффе, а также непараметрического *Q*-критерия Данна. Статистической единицей в цитогенетических исследованиях является метафазная пластинка, в которой изучается 46±1 хромосома [12].

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ**

С увеличением степени тяжести РСГ (легкая – средняя – тяжелая) у пациентов развиваются иммунодефицитные состояния, которые проявляются: достоверным снижением, по сравнению с показателями у здоровых лиц и больных с легким течением патологического процесса, абсолютного числа лимфоцитов; клеток с фенотипами CD3+, CD4+, CD16+; нарушением иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+); угнетением фагоцитарной способности нейтрофилов, пролиферативной активности Т-лимфоцитов на фоне повышения функции Т-супрессоров; уменьшением содержания специфических противогерпетических иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови и секреторного иммуноглобулина класса А в слюне; повышением уровня общих циркулирующих комплексов в крови (табл. 1). Наиболее выраженные изменения в показателях иммунного статуса ( $P < 0,01$ ) регистрируются у пациентов с тяжелым течением заболевания. У 40,3% из них выявлено по 6 и более значимых отклонений в показателях иммунного статуса, что по интегральной оценке степени иммунных нарушений относится к тяжелым [14].

Полученные данные указывают, что у пациентов с тяжелым и частично со средним течением патологических процессов имеются вторичные, комбинированные иммунодефицитные состояния с преимущественным поражением Т-системы иммунитета.

Подтверждением этому являются выявленные нами нарушения в генетическом аппарате Т-лимфоцитов больных РС. С нарастанием тяжести заболевания и степени иммунных нарушений у обследованных пациентов повышается частота aberrаций хромосом (АХ) в

Т-лимфоцитах (табл. 2). По данным Н.Н. Ильинских и др. [7] высокая частота АХ в иммунокомпетентных клетках является интегральным показателем наличия иммунодефицитного состояния в организме больного.

Таблица 1

**ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ГЕРПЕТИЧЕСКИМ СТОМАТИТОМ В ФАЗЕ ОБОСТРЕНИЯ**

Показатели	Степень тяжести заболевания			Итого, n= 180	Контроль, n= 30
	Легкая, n= 58	Средняя, n= 60	Тяжелая, n= 62		
Лейкоциты, $\times 10^6$ /л	6,26 $\pm$ 0,74	6,63 $\pm$ 0,41	4,45 $\pm$ $\pm$ 0,42** $\diamond$	5,78 $\pm$ 0,35	5,80 $\pm$ 0,34
Лимфоциты, $\times 10^9$ /л	2,33 $\pm$ 0,20	1,50 $\pm$ 0,19* $\diamond$	1,36 $\pm$ $\pm$ 0,21** $\diamond$	1,72 $\pm$ 0,11	1,95 $\pm$ 0,09
CD3+, $\times 10^9$ /л	1,57 $\pm$ 0,13	0,92 $\pm$ $\pm$ 0,09** $\diamond$	0,84 $\pm$ $\pm$ 0,11** $\diamond$	1,11 $\pm$ 0,07	1,23 $\pm$ 0,07
CD4+, $\times 10^9$ /л	0,93 $\pm$ 0,12	0,49 $\pm$ 0,12 $\diamond$	0,43 $\pm$ $\pm$ 0,08* $\diamond$	0,60 $\pm$ 0,08	0,69 $\pm$ 0,08
CD8+, $\times 10^9$ /л	0,63 $\pm$ 0,10*	0,50 $\pm$ 0,09	0,43 $\pm$ 0,09	0,52 $\pm$ $\pm$ 0,07**	0,38 $\pm$ 0,06
CD16+, $\times 10^9$ /л	0,40 $\pm$ 0,10*	0,21 $\pm$ 0,06	0,17 $\pm$ 0,05* $\diamond$	0,26 $\pm$ 0,05	0,29 $\pm$ 0,03
CD22+, $\times 10^9$ /л	0,53 $\pm$ 0,09*	0,46 $\pm$ 0,11	0,34 $\pm$ 0,08	0,44 $\pm$ $\pm$ 0,04**	0,30 $\pm$ 0,04
CD4+/CD8+	1,48 $\pm$ $\pm$ 0,11**	1,07 $\pm$ $\pm$ 0,09** $\diamond$	0,98 $\pm$ $\pm$ 0,08** $\diamond$	1,15 $\pm$ $\pm$ 0,06**	1,81 $\pm$ 0,07
РБТЛ с ФГА, %	65,0 $\pm$ 4,21	52,9 $\pm$ $\pm$ 4,31** $\diamond$	50,1 $\pm$ $\pm$ 4,20** $\diamond$	56,0 $\pm$ 3,84	70,9 $\pm$ 4,52
РБТЛ с МЛ, %	41,4 $\pm$ 3,25	35,8 $\pm$ 3,12	31,4 $\pm$ 3,47 $\diamond$	36,3 $\pm$ 2,77	35,1 $\pm$ 2,74
РБТЛ с Кона, %	49,5 $\pm$ 4,16	57,8 $\pm$ 4,10	59,7 $\pm$ 4,22*	55,4 $\pm$ 3,56	44,7 $\pm$ 3,62
РБТЛ с ЛПС, %	24,9 $\pm$ 2,30	22,7 $\pm$ 2,83	16,9 $\pm$ 3,01	21,6 $\pm$ 2,14	19,7 $\pm$ 1,95
РБТЛ спец., %	24,1 $\pm$ $\pm$ 3,54**	18,5 $\pm$ 4,27**	10,9 $\pm$ 3,20 $\diamond$	16,2 $\pm$ $\pm$ 2,93**	7,3 $\pm$ 1,80
Фагоцитарный показатель, %	58,9 $\pm$ 3,42	52,5 $\pm$ 3,74	44,0 $\pm$ 3,90* $\diamond$	51,9 $\pm$ 3,12	54,3 $\pm$ 3,56
Фагоцитарный индекс	8,4 $\pm$ 2,01	6,8 $\pm$ 2,07	5,0 $\pm$ 2,44	6,7 $\pm$ 1,96	6,7 $\pm$ 1,93
Завершенность фагоцитоза	1,1 $\pm$ 0,07	0,9 $\pm$ 0,07	0,7 $\pm$ 0,08* $\diamond$	0,9 $\pm$ 0,07	0,9 $\pm$ 0,06
IgM, г/л	1,9 $\pm$ 0,15	1,8 $\pm$ 0,16	1,4 $\pm$ 0,15 $\diamond$	1,7 $\pm$ 0,10	1,5 $\pm$ 0,12
IgG, г/л	14,9 $\pm$ 2,49	14,8 $\pm$ 3,25	9,9 $\pm$ 3,24	13,6 $\pm$ 2,15	12,9 $\pm$ 1,54

Продолжение таблицы 1

Показатели	Степень тяжести заболевания			Итого, n= 180	Контроль, n= 30
	Легкая, n= 58	Средняя, n= 60	Тяжелая, n= 62		
IgA, г/л	2,1±0,10*	1,6±0,12◇◇	1,4±0,12◇◇	1,7±0,08	1,8±0,07
Спец. IgM, усл. ед.	0,59±0,11	0,91±0,10	0,97±0,09	0,78±0,06	0
Спец. IgG, усл. ед.	3,52± ±0,28**	2,66±0,34**	2,25± ±0,31**◇	2,75±0,15	0,65±0,09
Общие ЦИК, ед.опт.пл.	101,9± ±6,37**	120,3± ±8,20**	134,0± ±9,17**	118,1± ±6,23**	60,4±5,93
S-IgA, г/л	0,63±0,09	0,52±0,11*	0,32± ±0,10**◇	0,49± ±0,08**	0,83±0,09

Примечания: 1. \* – P<0,05; \*\* – P<0,01 по отношению к показателю в контроле.

2. ◇ – P<0,05; ◇◇ – P<0,01 по сравнению с показателем у лиц с легким течением заболевания.

Таблица 2.

**ЧАСТОТА АБЕРАЦИЙ ХРОМОСОМ И АССОЦИАЦИЙ АКРОЦЕНТРИКОВ В Т-ЛИМФОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ГЕРПЕТИЧЕСКИМ СТОМАТИТОМ**

Степень тяжести заболевания	n	Число изученных метафаз	Частота клеток с АХ, %	ААХ		
				СЧ ААХ на клетку	КЛ0+2, %	КЛ3+10, %
Легкая	24	2230	1,7±0,14	3,3±0,11*	36,5±1,90**	63,5±2,19
Средняя	24	2240	1,9±0,13*	4,1± ±0,12**◇◇	24,1±1,65*◇◇	75,9±2,34
Тяжелая	24	2266	2,1± ±0,14**◇	4,5± ±0,12**◇◇	19,5± ±1,87**◇◇	80,5± ±2,01*
Всего	72	6736	1,9±0,12*	3,9±0,07*	26,7±1,23*	73,3±1,94
Контроль (доноры)	10	922	1,5±0,15	3,7±0,11	29,6±1,78	70,4±3,82

Примечания: 1. \* – P<0,05; \*\* – P<0,01 – различия достоверны по отношению к контролю.

2. ◇ – P<0,05; ◇◇ – P<0,01 – различия достоверны по сравнению с показателями у пациентов с легким течением патологического процесса.

У обследованных пациентов регистрировались абберации хроматидного (одиночные фрагменты; внутрихромосомные/внутриплечевые обмены – слияние сестринских хроматид, ракетки; межхромосомные обмены – трирадиалы) и хромосомного (парные фрагменты, ацентрические кольца, дицентрики) типов. Среди зарегистрированных АХ 92,0% составляли одиночные и парные фрагменты. Обменные абберации отмечались у 8,0% случаев. В подавляющем большинстве разрывы локализовались в теломерных и околоцентромерных районах или в области вторичных перетяжек. У 9 пациентов 37,5% с тяжелым клиническим течением заболевания зарегистрированы разрывы в 21

паре хромосом. У этих же больных отмечалась тяжелая степень иммунных нарушений. Можно предположить, что гены расположенные в 21 хромосоме каким-то образом участвуют в патогенезе РГС.

Изучение характера взаимодействия акроцентрических хромосом в Т-лимфоцитах показало, что с увеличением тяжести патологического процесса в периферической крови пациентов увеличивается среднее число ААХ (СЧ ААХ) на клетку и частота лимфоцитов с 3 и более ААХ (КЛ<sub>3+10</sub>), а, следовательно, уменьшается частота КЛ<sub>0+2</sub> (см. табл. 2). Работами А.К. Фролова [12] показано, что высокая частота ААХ на клетку (КЛ<sub>3+10</sub>) характерна для временно функцио-

нально не активных, интактных Т-лимфоцитов, относящихся к клеткам памяти. Циркулирующие лимфоциты без ассоциаций и двумя ассоциирующими акроцентриками (КЛ<sub>0+2</sub>) являются клетками активированными антигеном в организме человека.

Поэтому, выявленная нами высокая частота АХ и ААХ на клетку у пациентов со средней и особенно тяжелой формами РГС также указывает на наличие у них иммунодефицитного состояния преимущественно по Т-клеточному типу.

Дисбаланс клеточного состава периферической крови (КЛ<sub>0+2</sub>, КЛ<sub>3+10</sub>, CD3+, CD4+, CD16+), нарушение иммунорегуляторного индекса, угнетение пролиферативной активности Т-лимфоцитов в РБТЛ на фоне повышения активности Т-супрессоров отражают не только особенности миграции клеток в организме больных, но и указывают на нарушения в кооперативных взаимодействиях при активации, бластной трансформации и пролиферации Т-лимфоцитов в периферических лимфоидных органах при иммуногенезе [12].

Одной из причин данных нарушений является неспособность эндогенного ИЛ-2 больных

вовлекать в пролиферацию интактные, длительно рецидивирующие Т-лимфоциты с 3 и более ААХ, относящиеся к клеткам памяти [12].

В опыте *in vitro* нами показано, что добавление экзогенного ИЛ-2 (полученного от здоровых лиц) в культуру клеток тяжело больных РГС (опыт) приводит к увеличению (P<0,01) митотической активности Т-лимфоцитов (табл. 3). В культурах лимфоцитов, куда не вносили экзогенный ИЛ-2, а действовал только эндогенный ИЛ-2 (контроль) митотический индекс был достоверно ниже (P<0,01) по отношению к показателю в опыте. У здоровых доноров экзогенный ИЛ-2 также увеличивал МИ (P<0,05), но прирост числа митозов был в 1,8 раза ниже, чем у больных лиц.

Увеличение МИ в опытных культурах клеток происходило за счет вовлечения в митотический цикл Т-лимфоцитов с 3 и более ААХ (КЛ<sub>3+10</sub>). В данных культурах достоверно увеличивалось относительное количество КЛ<sub>3+10</sub> и уменьшалась доля КЛ<sub>0+2</sub>. Степень вовлечения экзогенным ИЛ-2 в пролиферацию КЛ<sub>3+10</sub> обратно зависела (r = -0,72; P<0,05) от исходной пролиферативной активности, вызванной эндогенным ИЛ-2 (контроль).

Таблица 3

**ИМУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КУЛЬТУР Т-ЛИМФОЦИТОВ, СТИМУЛИРОВАННЫХ И НЕСТИМУЛИРОВАННЫХ ЭКЗОГЕННЫМ ИЛ-2**

Показатели	Больные РГС, n = 10		Здоровые (доноры), n = 10	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Митотический индекс, ‰	2,5±0,12**	1,4±0,15	3,5±0,18*◇◇	2,9±0,19◇◇
СЧ ААХ на клетку	4,7±0,15**	4,0±0,14	3,9±0,16	3,7±0,11◇◇
КЛ <sub>0+2</sub> , ‰	17,6±2,14**	24,8±1,57	26,7±1,45	29,6±1,78◇
КЛ <sub>3+10</sub> , ‰	82,4±2,65*	75,2±2,31	73,3±3,24	70,4±3,82
CD25+, ×10 <sup>9</sup> /л	12,8±1,24*	9,6±0,82	12,0±0,75	11,3±0,94

- Примечания: 1. Опыт – культура лимфоцитов, стимулированных ФГА и экзогенным ИЛ-2. Контроль – культура лимфоцитов, стимулированных ФГА.  
 2. \* – P<0,05; \*\* – P<0,01 – различия достоверны по отношению к контролю.  
 3. ◇ – P<0,05; ◇◇ – P<0,01 – различия достоверны по сравнению с показателями у пациентов с легким течением патологического процесса.

Следовательно, эндогенный ИЛ-2 больных РГС не в состоянии активизировать собственные Т-лимфоциты, относящиеся к субпопуляции КЛ<sub>3+10</sub>. Он так же не влияет на клетки-мишени с фенотипом CD25+, экспрессирующие рецепторы к ИЛ-2. Содержание клеток CD25+ было практически одинаковым в контрольных культурах больных и здоровых лиц. В то же время в опытных культурах больных под действием эк-

зогенного ИЛ-2 повышался уровень лимфоцитов CD25+ по отношению к контролю (P<0,05), а у здоровых лиц оставался без изменения. Учитывая, что основными продуцентами ИЛ-2 в организме являются Т-хелперы, можно предположить наличие у обследованных больных вторичного иммунодефицита на уровне Т-хелперов. Данные лимфоциты играют важную роль в противовирусном иммунитете.



## ВЫВОДЫ

1. С увеличением тяжести патологического процесса у пациентов с РГС формируется вторичное, комбинированное иммунодефицитное состояние, преимущественно по Т-клеточному типу, которое проявляется дисбалансом клеточного состава периферической крови, нарушением функциональной активности Т-лимфоцитов в РБТЛ, повышением частот аберраций хромосом и ассоциаций акроцентрических хромосом в Т-лимфоцитах.
2. Одним из механизмов развития иммунодефицитного состояния является неспособность эндогенного интерлейкина-2, продуцируемого Т-хелперами, вовлекать в пролиферативный процесс интактные, длительно рециркулирующие Т-лимфоциты с 3 и более ассоциирующими хромосомами, относящиеся к клеткам памяти.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Волосовець Т.М.* Особливості місцевої імунної відповіді в особі із запальними та деструктивно-запальними захворюваннями тканини періодонту, асоційованими з персистуючою герпесвірусною інфекцією // *Современная стоматология.* – 2012. – №2. – С. 11-14.
2. *Дранник Г.Н., Курченко А.И., Свидро Е.В., Вагалюк Л.Н., Фесенкова В.И., Савченко В.С.* Применение иммуномодулятора эрбисолаультрафарм у больных герпетической инфекцией // *Імунологія та алергологія.* – 2005. – №2. – С. 20-24.
3. *Cyrculating herpes simplex type I (HSV-1) specific CD8+ T-cells do not access HSV-1 latently infected trigeminal ganglia / Himmenelein S., Leger A., Knickelbein D.E., Poy A., Freeman M.L. // Herpesviridae.* – 2011. – №2:5. DOI 10.1186/2042-4280-2-5.
4. *Westly S., Seymour R., Staines K.* Recurrent intra-oral herpes simplex 1 infection // *Dent. Update.* – 2011, Jul. – Aug. – №38(6). P. 368-370
5. *Деркач М. І.* Особливості порушень стану імунної системи та їх корекція у хворих на часто рецидивуючу герпетичну інфекцію: автореферат канд. мед. наук. – Донецьк. – 2009. – 19с.
6. *C21orf91 Genotypes Correlate With Herpes Simplex Labialis (Cold Sore) Frequency: Description of Cold Sore Susceptibility Gene / Kriesel J.D., Jones B.B., Matsunami N. et al // Journal of Infections Diseases.* – 2011. – V.204 (№11):1654 DOI: 10.1093/infdis/jir633.

7. *Ильинских Н.Н., Бочаров Е.Ф., Ильинских И.Н.* Инфекционный мутагенез. Новосибирск: изда-во «Наука». – 1984. – 168 с.
8. *Современная терапия герпесвирусных инфекций: Руководство для врачей. Иссаков В.А., Сельков С.А., Мошетьова Л.К. и др. – С.П. – Москва, 2004. – 168 с.*
9. *Иммунный статус, принципы оценки и коррекции иммунных нарушений / Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Г. и др. – Киев: Здоров'я. – 1995. – 211 с.*
10. *Hungerford D.* Leukocytes cultured from smollinoculla of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KLC // *Stain. Technology.* – 1965. – V.40, №6. – P. 333-338.
11. *Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П., Барановская Л.И.* Хромосомы человека (атлас). – М.: Медицина. – 1982. – 263 с.
12. *Фролов А.К., Арцимович Н.Г., Сохин А.А.* Иммуноцитогенетика. – М.: Медицина, 1993. – 238 с.
13. *Кеворков Н.Н., Павлюк А.С., Заречная Н.В., Ульянова Т.Ю.* Влияние глюкогона на функцию иммунокомпетентных клеток // *Імунологія.* – 1990. – №1. – С. 34-36.
14. *1000 формул клинической иммунологии / Земсков А.М., Земсков В.М., Сергеев Ю.В. и др. – М.: Медицина для всех, 2003. – 336с.*

## РЕЗЮМЕ

### ІМУНО-ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЦИДИВУЮЧОГО ГЕРПЕТИЧНОГО СТОМАТИТУ

*Клемін А.В., Бутук Д.В., Руденський В.Г.*

**Мета дослідження:** визначити рівень нестабільності генетичного апарату Т-лімфоцитів (аберацій хромосом і асоціацій акроцентричних хромосом) залежно від тяжкості перебігу захворювання і ступеня вираженості імунodefіцитного стану у пацієнтів з РГС.

**Матеріали та методи дослідження:** обстежено 180 пацієнтів з РГС в стадії загострення. Середній вік обстежених 27,1 років. Використовували клінічний, імунологічний, цитогенетичний і статистичний методи дослідження.

**Результати дослідження:** показано, що зі збільшенням ступеня тяжкості РГС у пацієнтів розвивається імунodefіцитне захворювання, яке проявляється: достовірним зниженням, у порівнянні з показниками у здорових осіб та хворих з легким перебігом патологічного процесу, абсолютно-го числа лімфоцитів; клітин з фенотипами CD3+, CD4+, CD16+; порушенням імунорегуляторного індексу; пригніченням проліферативної активності Т-лімфоцитів на тлі підвищення функції Т-супресорів; зменшенням вмісту специфічних IgG в сироватці крові та s - IgA в слині. У 40,3% пацієнтів з важким перебігом захворювання виявлено по 6 і більше зна-

чущих відхилень у показниках імунного статусу, що за інтегральною оцінкою ступеня імунних порушень відноситься до тяжких (В.М. Земсков та ін, 2003).

Підтвердженням наявності імунodefіцитного захворювання у пацієнтів з важким перебігом є виявлена нами у них висока частота аберацій хромосоми (АХ) і асоціацій акроцентричних хромосом (ААГ) в Т-лімфоцитах. У периферичній крові пацієнтів циркулює велика кількість неактивних клітин з 3 і більше ААХ і достовірно знижений лімфоцитів з 0 і 2 ААХ, активованих *in vivo*.

В експерименті *in vivo* доведено, що одним з механізмів розвитку імунodefіцитного захворювання є нездатність ендogenous IL-2 залучати до проліферативних процес інтактні, тривало рециркулюють Т-лімфоцити з 3 і більше ААХ, що відносяться до клітин пам'яті.

**Висновки:** 1. С збільшенням тяжкості патологічного процесу у пацієнтів з РГС формується вторинне, комбіноване імунodefіцитний стан, переважно по Т-клітинному типу, яке проявляється дисбалансом клітинного складу периферичної крові, порушенням функціональної активності Т-лімфоцитів і РБТЛ, підвищенням частот аберацій хромосом і асоціацій акроцентричних хромосом в Т-лімфоцитах.

2. Одним з механізмів розвитку імунodefіцитного стану є нездатність ендogenous інтерлейкіну-2, продуцируемого Т-хелперами, залучати до проліферативних процес інтактні, тривало рециркулюють Т-лімфоцити з 3 і більше асоціюються хромосомами, що відносяться до клітин пам'яті.

Ключові слова: рецидивуючий герпетичний стоматит, імунний статус, цитогенетичний статус, імунodefіцит, аберації хромосом.

## SUMMARY

### IMMUNO - CYTOGENETIC FEATURES OF RECURRENT HERPETIC STOMATITIS

*Klemin V.A., Butuk D.V., Rudenskiy V.G.*

**Object of the investigation:** to determine the level of instability of the genetic apparatus of T-lymphocytes (chromosome aberrations and associations of acrocentric chromosomes) depending on the severity of the disease and the severity of immunodeficiency in patients with RHS.

**Materials and methods of the investigation:** 180 patients with RHS in the exacerbation stage have been examined. Their mean age is 27.1 years old. The clinical, immunological, cytogenetic and statistical methods have been used.

**Results of the investigation:** it is shown as compared with the indexes in the healthy persons and patients with a mild course of the pathologic process that with the increase of severity degree of RHS an immunodeficiency disease is developed in patients that is manifested by a significant decrease of the absolute number of lymphocytes, cells with phenotypes CD3+, CD4+, CD16+, the impairment of their immunoregulatory index; the inhibition of proliferative activity of T-lymphocytes on the background of the increase of T-suppressors; the decrease of the content of specific IgG in the blood serum and s-IgA in the saliva. In 40.3 % of patients with a severe course of the disease it was detected 6 and more significant deviations in the indexes of the immune status and, according to the integrated assessment of the degree of immune disorders, it belongs to severe ones (V.M. Zemskov and others, 2003).

Confirmation of the presence of immunodeficiency disease in patients with severe course is a detected high frequency of chromosome aberrations (AX) and associations of acrocentric chromosomes (AAX) in T-lymphocytes. In the peripheral blood of patients a large number of inactive cells with 3 or more AAX circulates and the lymphocytes with 0 and 2 AAX activated *in vivo* are reliably decreased.

In the experiment *in vivo* it is confirmed that one of the mechanisms of the development of immunodeficiency diseases is the inability of endogenous IL-2 to involve the intact, continuously recirculating T lymphocytes with 3 or more AAX relating to the memory cells in the proliferative process.

**Conclusions:** 1. With the increase of severity of the pathological process in patients with PHS the secondary, combined immunodeficiency is formed, mainly on the T-cell type, which is manifested by an imbalance of the cellular content of the peripheral blood, impaired functional activity of T-lymphocytes and RBTL, the increase of the frequency of chromosome aberrations and associations of acrocentric chromosomes in T-lymphocytes.

2. One of the mechanisms of the development of immunodeficiency state is the inability of endogenous IL-2 produced by T-helper cells to involve the intact, long recirculating T-lymphocytes with 3 or more associating chromosomes related to memory cells in the proliferative process.

**Keywords:** recurrent herpetic stomatitis, immune status, cytogenetic status, immunodeficiency, chromosome aberrations.