

## ВПЛИВ ЕСБЕРІТОКСУ IN VITRO НА ЦИТОКІНОПРОДУКУЮЧУ ЗДАТНІСТЬ МОНОНУКЛЕАРІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ГЕРПЕСВІРУСНІЙ ІНФЕКЦІЇ

КУРЧЕНКО А.І., СВИДРО О.В., САВЧЕНКО В. С.

НМУ імені О.О. Богомольця, м. Київ,

ДУ «Інститут урології АМН України»

На завершення розчатої попередньою публікацією розповіді щодо особливостей впливу in vitro препарату Есберітокс на показники моноклеарних клітин периферичної крові у хворих на персистуючу інфекцію, зумовлену вірусами простого герпесу 1 та 2 типів (ВПГ або HSV1 та 2), (див. статтю у №1-4 за 2016 рік) зупинимось на викладі результатів, одержаних при подальшому здійсненні поглибленого імунологічного дослідження в аспекті вивчення здатності моноклеарів крові продукувати певні цитокіни.

Нагадаємо, що досліджуваний нами препарат «Есберітокс» (виробництва Шапер Брюмер ГмбХ Ко, Німеччина) містить оригінальний комплекс із суміші екстрактів кореневищ баптизії фарбувальної, коренів ехінацеї пурпурової та блідої, молодих пагонів і листя туї. Він є знаний у Європі понад 20 років як ефективний лікарський засіб для зміцнення опірності організму при комплексному лікуванні ГРВІ [9, 14].

Таким чином, метою цієї статті є завершення інформування щодо досліджених нами властивостей рослинного імуотропного препарату «Есберітокс» при його дії in vitro на моноклеари периферичної крові хворих на простий герпес.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

До дослідження залучили 10 хворих на рецидив шкірно-слизової форми простого герпесу із 6 та більше епізодами захворювання протягом року і тривалістю хвороби до 7 років. Вік піддослідних був у межах 25-47 років. Група контролю включала 10 здорових добровольців.

Для оцінки у обраних клітин периферичної крові (моноклеарів) здатності продукувати цитокіни останні досліджували у супернантатах методом ІФА за допомогою комерційних тест-систем фірми "DIACLON Research" (Франція) на апараті "STAT-FAX-303". Визначали спонтанну і мітогеніндуковану продукцію клітинами фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП-) та інтерлейкінів (ІЛ) -4, -12, -15, -18.

Спонтанну продукцію цитокінів вивчали, беручи клітинну суспензію моноклеарів крові у концентрації  $1,5 \times 10^6$  кл/мл та інкубуючи їх протягом 18 годин у CO<sub>2</sub>-інкубаторі при 37 С без ак-

тивуючого агенту. Мітогеніндукована продукція обраховувалася після інкубації із 10 мкг/мл ФГА, а для вивчення впливу Есберітоксу in vitro додавали цей препарат у розведеннях 28,8 мкг у 10 мкл та 57,6 мкг у 20 мкл. Перше розведення (1 доза) відповідало прийому хворим препаратом по 3 таблетки 3 р./день, а інше розведення (2 доза) - по 6 таблеток 3 р./день, - це дозволяло оцінити результативність найменшої і найбільшої із терапевтичних доз Есберітоксу для дорослих осіб.

Статистичну обробку проводили із використанням методу Ст'юдента за довірчої ймовірності  $p < 0,05$ , а також непараметричними методами: метод Манна-Уїтні із похибкою Йейтса – для оцінки різниці величин показників у групах порівняння (хворі на простий герпес та контроль) і метод Уїлкоксона – для аналізу ефективності впливу на показники мітогену або Есберітоксу [3].

Обираючи напрямом роботи вивчення стану і спектру цитокінового синтезу у згаданих вище клітин крові ми орієнтувалися на оприлюднені повідомлення інших авторів і власні спостереження 2004-2015 років щодо наявних у пацієнтів із герпетичною інфекцією змін вмісту медіаторів імунної системи у сироватці крові, лікворі, слині та т.і., а також розладів цитокінопродукувальної здатності у клітин центральних та периферичних органів імунітету, інших тканин [6,7]. Іншим визначальним фактором слугували загальновідомі свідчення стосовно превалюючої вагомості клітинної імунної відповіді для здійснення антивірусного (із протигерпетичним включно) захисту організму. Крім того, ми орієнтувалися на результати доклінічних експериментальних досліджень імуотропних ефектів як окремих складових діючої речовини, так і екстрагованого рослинного комплексу препарату «Есберітокс» на продукцію прозапальних медіаторів, зокрема ФНП-, ІЛ-1, -2, -6, -8, клітинами мишей та здорових людей-донорів, а також пацієнтів із ГРВІ, вірусними гепатитами А і В [5, 11, 12, 13].

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Слід зазначити, що при дослідженні у моноклеарів периферичної крові пацієнтів із маніфестацією шкірно-слизових пухирцевих ви-

сипів, інфекційне (пов'язане із HSV1 та/або 2) походження котрих доводили згідно вимог чинних протоколів з діагностики даної інфекції [див. 1,6,7], встановлювали імунотип і оцінювали їхню здатність продукувати низку цитокінів. Стан інтерференогенної здатності мононуклеарів було оприлюднено у першій публікації, а цим повідомленням сповіщаємо про рівень синтетичної здатності клітин щодо інших цитокінів: ФНП- $\alpha$  та інтерлейкінів -4, -12, -15, -18.

Привертаємо увагу, що у наведеному переліку цитокінів провідне місце займають медіато-

ри прозапальної дії. Почнемо з аналізу продукції мононуклеарами крові фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП- $\alpha$ ).

При обробці результатів дослідної групи (Рис.2) за методом Стьюдента середня величина спонтанної продукції ФНП- $\alpha$  мононуклеарами периферичної крові при рецидиві HSV-інфекції (Рис.2) дорівнювала  $31,1 \pm 1,9$  пкг/мл, тоді як у групі здорового контролю (Рис. 1) -  $44,8 \pm 1,4$  пкг/мл, тобто спостерігалось вірогідне зниження його рівня на 30,6% ( $p < 0,05$ ).

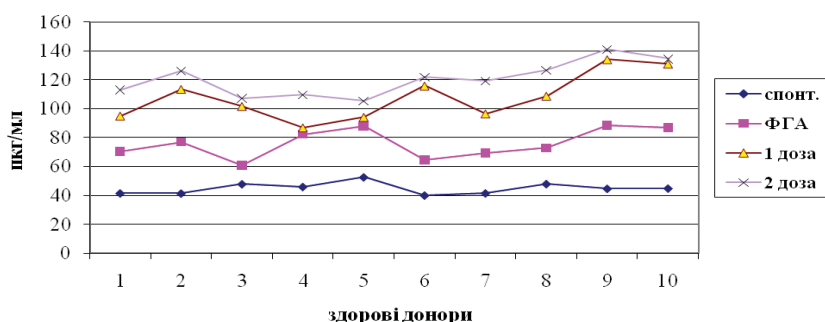


Рис. 1. Рівні продукції ФНП-альфа у здорових донорів до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

Подібна тенденція була виявлена і щодо ФГА-індукованої продукції ФНП- $\alpha$  -  $60,0 \pm 3,1$  та  $76,0 \pm 3,0$  пкг/мл відповідно (різниця склала 26,7%). В той же час вплив *in vitro* Есберітоксу помітної різниці параметрів ФНП- $\alpha$ -продукції

у осіб із дослідної і контрольної груп не продемонстрував:  $119,2 \pm 4,6$  (1 доза) та  $130,6 \pm 4,2$  пкг/мл (2 доза) у хворих на простий герпес і  $107,7 \pm 5,1$  (1 доза) та  $120,5 \pm 3,8$  (2 доза) пкг/мл в контролі.

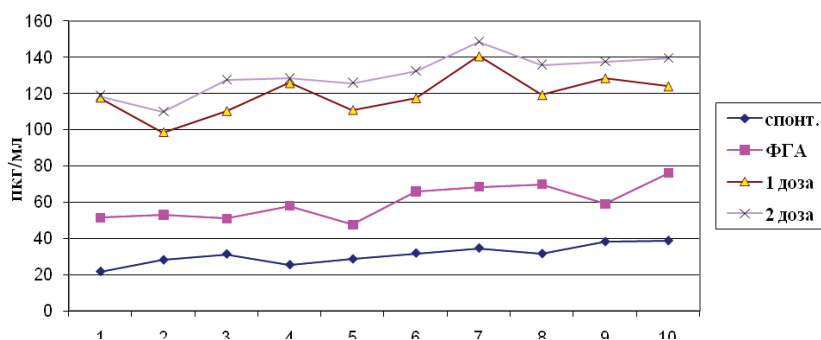


Рис. 2. Рівні продукції ФНП-альфа у хворих на HSV-інфекцію до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

Обробка отриманих результатів непараметричним методом Манна-Уїтні із похибкою Йейтса (критичне значення дорівнювало 1,96 при довірчій ймовірності  $p < 0,05$ ) засвідчила, що показники спонтанної та ФГА-індукованої продукції ФНП- $\alpha$  у дослідній (хворі) та контрольній (здорові особи) групах вірогідно розрізнялися. А відмінність у величинах продукції даного цитокіну після *in vitro* впливу як 1, так і 2 дози Есберітоксу не була значимою ( $zT 1,78 <$  критичного значення). При цьому, порівнюючи рівні останніх із рівнями

спонтанної та стимульованої ФГА продукції даного медіатора за допомогою методу Уїлкоксона, ми одержали вірогідне дозозалежне збільшення синтезу ФНП- $\alpha$  в обох групах як після дії препарату у меншій (1 доза), так і у збільшеній (2 доза) концентрації ( $p < 0,05$ , суми рангів W були більшими за критичне значення 45).

В цілому картина змін продукувальної здатності мононуклеарів периферичної крові у хворих на HSV-інфекцію щодо ФНП- $\alpha$  була подібною до стану продукції ними ІФН- $\alpha$ .

Стан цитокинової ланки імунітету при HSV-інфекції у нашій роботі вивчався, перш за все, у контексті з'ясування участі медіаторів, які забезпечують реакції клітинного цитолізу (ІЛ-12, ІЛ-15 та ІЛ-18) [3,8,9]. Перераховані фактори контролюють превалювання клітинної відповіді над гу-

моральною, роботу натуральних кілерів та запуск механізмів специфічної цитотоксичності [6,7,10].

Тепер розглянемо особливості синтезу принципового для обрання Т-хелпер-1-залежного шляху розвитку імунної відповіді медіатора – інтерлейкіну-12 (ІЛ-12) (див. Рис. 3 та 4).

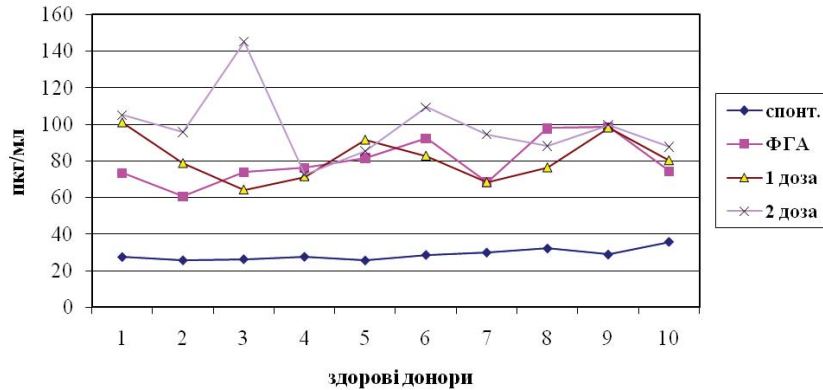


Рис. 3. Рівні продукції ІЛ-12 у здорових донорів до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

Середні значення спонтанної ІЛ-12-продукції у пацієнтів із рецидивом простого герпесу були на 34,7% нижчими за контроль (21,3±1,2 та 28,7±1,1 пкг/мл відповідно), а параметри ФГА-індукованої продукції (50,2±3,5 та 79,6±4,1 пкг/мл відповідно) відрізнялися ще більше – у здорових осіб синтез ІЛ-12 був на 58,6% вищим, ніж у хворих на простий герпес.

В той же час препарат Есберітокс більш інтенсивно позначався на стані ІЛ-12-продукції у клітин від хворих на HSV-інфекцію, ніж у мононуклеарів від здорових волонтерів: після інкубації із 1 дозою - 90,4±7,1 та 81,3±4,0 пкг/мл, а після 2 дози - 108,1±11,4 та 98,3±7,7 пкг/мл відповідно. Була помітна надзвичайна неоднорідність величин показників в обох групах, що вплинуло на їхню ймовірність (р 0,05).

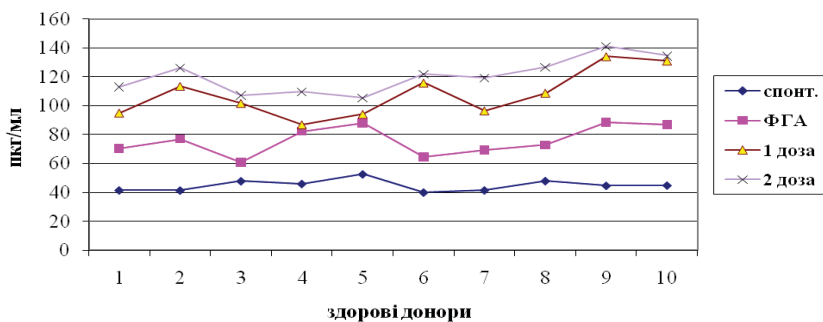


Рис. 4. Рівні продукції ІЛ-12 у хворих на HSV-інфекцію до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах

Оцінка стану продукції ІЛ-12 за допомогою методу Манна-Уїтні із похибкою Йейтса виявила значиму відмінність рівнів спонтанної і ФГА-індукованої продукції між дослідною групою та контролем, а щодо різниці у величинах синтезу ІЛ-12 під впливом Есберітоксу, то вірогідності змін показників продукції даного цитокіну у різних групах не було встановлено.

Аналізуючи приріст параметрів ІЛ-12-продукції у співставленні значень спонтанної та

ФГА-індукованої продукції, останньої зі прости-мульованою *in vitro* різними дозам Есберітоксу – лише в групі контролю різниця ФГА-індукованої продукції цитокіну від продукції, активованої 1 дозою препарату, була невірогідною (р 0,05), а усі інші зміни показників синтезу ІЛ-12 являлися значимими.

Слід підкреслити, що в обох групах при обробці показників ІЛ-12-продукції після впливу *in vitro* ФГА та різних доз Есберітоксу виявлено їхне

вірогідне зростання по відношенню до вихідного рівня ( $p < 0,02$ , суми рангів  $W$  були більшими за критичне значення 45). Виключення - відсутність вірогідної різниці між величинами ІЛ-12-продукції у здорових волонтерів після дії мітогену та 1 дози препарату ( $p > 0,048$ ,  $W 28 < 39$ ).

Далі повідомимо про стан продукувальної здатності у мононуклеарних клітин хворих на HSV-інфекцію і здорових донорів щодо інтерлейкіну-15 (ІЛ-15).

Під час дослідження було зафіксовано (Рис. 5 і 6), що у пацієнтів з простим герпесом *in vitro* мононуклеари периферичної крові демонструють спонтанну продукцію ІЛ-15 у середньому на рівні 21,3 1,2 пкг/мл, під впливом ФГА вона дорівнює 50,2 3,5 пкг/мл, а після індукції 1 та 2 дозами Есберітоксу – сягає середніх рівнів 90,4 7,1 та 108,1 11,4 пкг/мл відповідно.

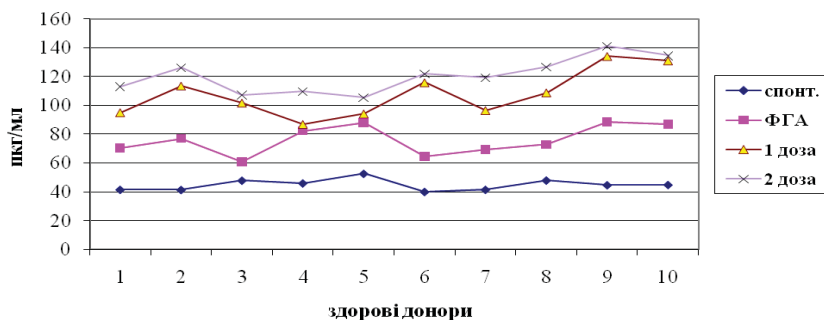


Рис. 5. Рівні продукції ІЛ-15 у здорових донорів до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах

Тоді як у здорових осіб на відміну від піддослідних хворих середні величини продукції ІЛ-15 були вищими на 25,8% (28,7 1,1 пкг/мл) і 36,9% (79,6 4,1 пкг/мл) відповідно, а відповідь на дію препарату Есберітокс була менш помітною: після 1 дози - 81,3 4,0 пкг/мл, а після 2 дози - 98,0 7,7 пкг/мл, - приблизно на 10% показники відставали від параметрів дослідної групи.

Непараметричний обробіток згідно методу Манна-Уїтні із похибкою Йейтса виявив вірогідну різницю щодо всіх досліджуваних величин синтезу ІЛ-15 у групах порівняння, що разюче вирізняє описану картину від ситуації з іншими досліджуваними факторами імунітету.

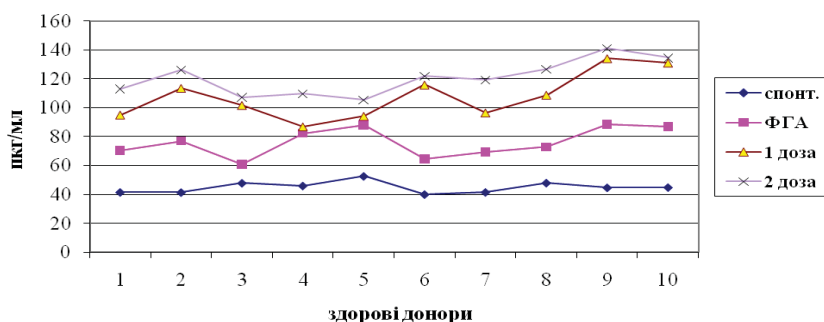


Рис. 6. Рівні продукції ІЛ-15 у хворих на HSV-інфекцію до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

Оцінка методом Уїлкоксона засвідчила, що приріст синтезу ІЛ-15 під впливом обох доз Есберітоксу у мононуклеарів крові хворих на герпетичну інфекцію був співставним зі змінами внаслідок індукції ФГА ( $p > 0,02$ ,  $W 40$  та  $23$  відповідно були меншими за критичне значення 45), тобто різниця показників в обох групах не була значимою.

Таким чином, Есберітокс спроможний забезпечити підвищення продукції інтерлейкі-

ну-15 мононуклеарами крові у хворих на HSV-інфекцію такої ж інтенсивності, як і мітоген.

Наступний гуморальний фактор, синтез якого визначали у мононуклеарів крові *in vitro* – інтерлейкін-18 (ІЛ-18). Його безумовну задіяність в імунопатогенезі герпесвірусного захворювання проілюструвала винайдена яскрава дефектність продукувальної функції клітин (згідно Рис. 7 та 8). Так, під час маніфестації простого герпесу мононуклеари крові виявляли різке (2-крат-

не) зниження середніх рівнів продукції зазначеного медіатора імунної системи: спонтанна продукція -  $14,2 \pm 2,1$ , ФГА-індукована -  $35,5 \pm 3,5$ , після дії 1 дози Есберітоксу -  $40,3 \pm 4,5$ , а після 2 дози -  $50,9 \pm 4,1$  пкг/мл. Рівні ж у здорових осіб

були вірогідно вищими ( $p < 0,05$ ): спонтанний синтез -  $24,0 \pm 1,2$ , ФГА-індукований -  $75,0 \pm 4,3$ , після дії 1 дози Есберітоксу -  $76,6 \pm 7,2$ , а після 2 дози -  $98,0 \pm 5,3$  пкг/мл.

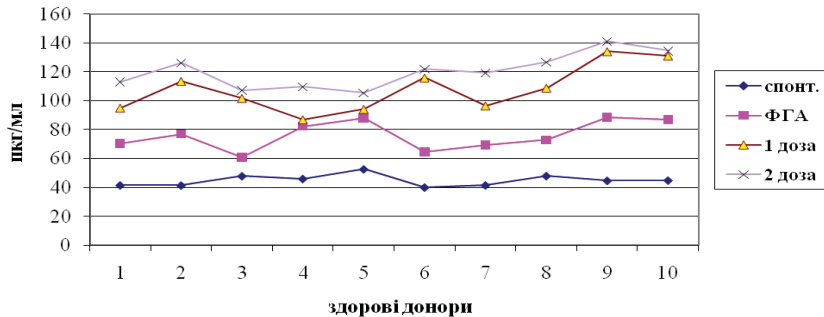


Рис. 7. Рівні продукції ІЛ-18 у здорових донорів до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

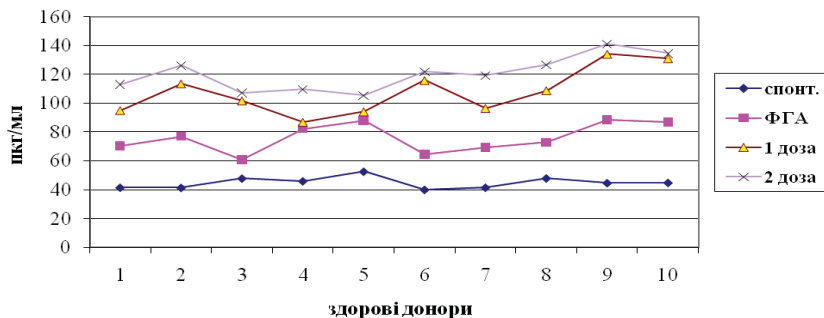


Рис. 8. Рівні продукції ІЛ-18 у здорових донорів до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

Непараметричними методами обробки результатів було встановлено статистично значиму ймовірність ( $p < 0,05$ ): відмінності показників продукції ІЛ-18 мононуклеарами крові хворих на HSV-інфекцію порівняно до відповідних величин у клітин здорових волонтерів по всіх напрямках визначень, а саме стосовно параметрів спонтанної, ФГА-індукованої та отриманої від *in vitro* стимуляції 1 чи 2 дозами Есберітоксу ІЛ-18 продукції, - спостерігалася більша дієвість препарату ( $p < 0,02$ , суми рангів  $W > 45$ ), ніж, навіть, на синтез ІЛ-15 (особливо щодо хворих на простий герпес).

Окремої уваги заслуговує оцінка стану продукції мононуклеарами крові інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) (Рис. 9 та 10), оскільки в якості медіатора антизапальної групи він не повинен відігравати помітної ролі у захисті від внутрішньоклітинних інфекцій, в тому числі і герпетичних. Крім того, гуморальна відповідь при таких інфекціях часто ускладнює захист від збудника через низьку афінність створюваних за участі ІЛ-4 специфічних антитіл, а також внаслідок конкуренції Т-хелпер-1-опосередкованих (клітинних та пов'язаних із продукцією Іg M та Іg G) і

Т-хелпер-2-залежних (синтез різноманітних класів імуноглобулінів зі схильністю до виробки ІgE) варіантів імунної відповіді. Відомо, що пошкодження чи розлад клітинного імунітету і витіснення його з керівної позиції на другорядну і слугує персистенції та більш агресивному перебігу герпетичної інфекції [4, 8, 15].

Спонтанна ІЛ-4-продукція у наших хворих складала  $31,7 \pm 3,2$ , ФГА-індукована -  $71,2 \pm 5,4$  пкг/мл, що суттєво не відрізнялося від параметрів у контролі: відповідно  $23,9 \pm 1,5$  і  $69,6 \pm 3,4$  пкг/мл.

Подібне становище стосувалося і показників ІЛ-4-продукції після *in vitro* впливу Есберітоксу: при рецидиві простого герпесу синтез цитокіну в середньому був на рівні  $12,3 \pm 0,5$  (1 доза) і  $10,6 \pm 0,7$  (2 доза) пкг/мл, а у здорових осіб -  $16,5 \pm 0,5$  та  $14,1 \pm 0,7$  пкг/мл, - з наведених цифр витікає, що здатність продукувати ІЛ-4 в обох групах на тлі інкубації із Есберітоксом падала вдвічі (контроль) та втричі (хворі на HSV-інфекцію) порівняно до вихідних рівнів і була кардинально протилежною змінам у продукції даного цитокіну після дії мітогену..

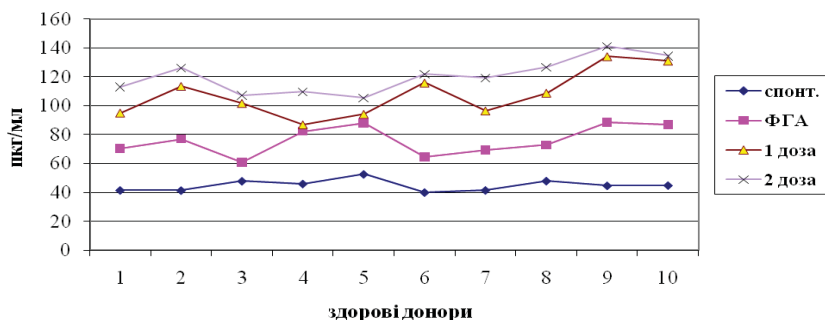


Рис. 9. Рівні продукції ІЛ-4 у здорових донорів до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах.

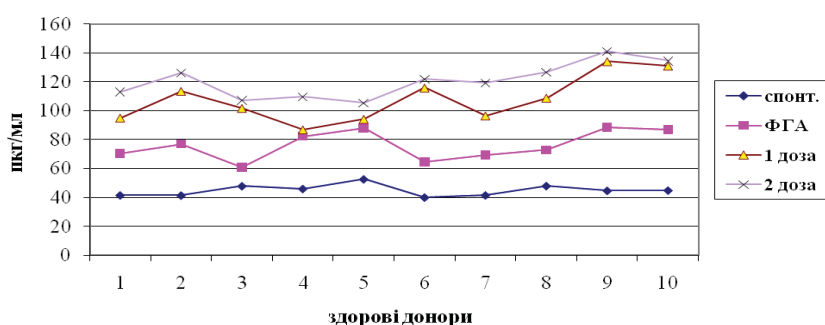


Рис. 10. Рівні продукції ІЛ-4 у хворих на HSV-інфекцію до та після *in vitro* впливу препарату Есберітокс у різних дозах

Аналіз із використанням критерія Манна-Уїтні із поправкою Йейтса продемонстрував вірогідність різниці отриманих величин у групах порівняння ( $p < 0,05$ ) за виключенням величин ФГА-стимульованої продукції ІЛ-4 у контрольній групі ( $p > 0,05$ ). Щодо ефективності *in vitro* впливу ФГА та Есберітоксу у різних дозах згідно непараметричного критерія Уїлкоксона одержані цифри були значимими ( $p < 0,02$ , суми рангів  $W > 45$ ), але спрямування змін було зворотнім (продукція зменшувалася, а не росла, як було у випадках інших цитокінів, що вивчалися в роботі).

Таким чином, можемо константувати, що препарат Есберітокс, що впливав в експерименті *in vitro* на мононуклеари периферичної крові хворих на простий герпес продемонстрував наступне:

#### ВИСНОВКИ

Під час рецидиву простого герпесу препарат Есберітокс *in vitro* вірогідно збільшує здатність мононуклеарів периферичної крові виробляти цитокіни: ФНП-, ІЛ-12 та -18 ( $p < 0,05$ ). Синтез ІЛ-15 при цьому зростає до рівня ФГА-індукованої продукції ( $p < 0,02$ ).

Препарат Есберітокс також пригнічує продукувальну здатність цих клітин щодо ІЛ-4 ( $p < 0,02$ ).

Дієвість Есберітоксу при HSV-інфекції переважно може бути спрямованою на оптимізацію клітинних взаємин при здійсненні противірусної відповіді та розвитку запалення, стимуляцію клітинної ланки імунітету (Т-хелпери 1 типу і ЦТЛ) та фагоцитозу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передаваемых половым путем. // М.: Мед. лит., 2014. – 281 с.
2. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунология в клинической практике. // М.: ЦПИ «ИЭМК». – 1990. – 354 с.
3. Стентон Гланц Медико-биологическая статистика. // М.: Практика. – 1999. - 463 с.
4. Шульженко А.Е., Хутиева Л.М., Абрамов И.Г. Роль эндогенного интерферона в патогенезе рецидивирующей герпетической инфекции. // Рус. ж. ВИЧ/СПИД и родственные проблемы. – 1998. - №2. – С. 25.
5. Alcamí A., Lira S.A. Modulation of chemokine activity by viruses. // Curr. Opin. Immunol. – 2010, V.22. – P.482-487.
6. Bodinet C., Lindequist U., Teuscher E. and Freudenstein J. Effect of an orally applied herbal immunomodulator on cytokine induction and

antibody response in normal and immunosuppressed mice.// *Phytomedicine*. – 2002, V.9. – P. 606–613.

7. Costello M.T., Sabatini M., et al. Herpes simplex virus infection for current methods for laboratory detection.// *Clinical Microbiology Newsletter*. – 2006, № 28 (24). – P.185.
8. Fatahxaden, Mahnaz, Robert A. Human Herpes simplex virus infections: Epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management.// *J. Amer. Acad. of Dermatol.* – 2007, № 57 (5). – P.737.
9. Naser B., Lund B., Henneickevon Zepelin H.H., Kohler G., et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical dose–response trial of an extract of Baptisia, Echinacea and Thuja for the treatment of patients with common cold.// *Phytomedicine*. – 2005, V.12. - P. 715–722.
10. Russel J.H., Ley T.J. Lymphocyte-mediated cytotoxicity.// *Annu. Rev. Immunol.* – 2002, V.20. – P. 323-370.
11. Vmel T. Der Einfluss eines pflanzlichen Immunstimulans auf die Phagozytose von Erythrozyten durch das retikulohistiozyt re System der isoliert perfundierten Rattenleber. // *Arzneim.-Forsch.* – 1985, V.35. - P. 1437–1439.
12. Wstenberg P., K hler G., Stammwitz U., Henneicke-vonZepelinH.H. Phytopharmakon zur Immunmodulation.// *Dtsch. Apoth. Ztg.* - 2000, V.140. – P. 2189-2197.
13. Harandi A.M., Svennerbolm B., Holmgren J. and Eriksson K. Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 are important in innate defense against genital herpes simplex virus type 2 infection in mice but are not required for the development of acquired -interferon-mediated protective immunity.// *J. Virol.* – 2001, V.75. – P. 6705-6709.
14. Henneicke-von Zepelin H.H., Hentschel C., Schnitker J., Kohnen R., K hler G., Wstenberg P. Efficacy and safety of a fixed combination phytomedicine in the treatment of the common cold (acute viral respiratory tract infection): Results of a randomised, double blind, placebo controlled, multicentre study.// *Curr. Med. Res. Opin.* - 1999, V.15. - P. 214–227.
15. Vischer H.F., Siderius M., Leurs R., Smit M.J. Herpesvirus-encoded GPCRs: neglected players in inflammatory and proliferative diseases.// *Nat .Rev. Drug Discov.* – 2014, V.13. – P.123-139.

## РЕЗЮМЕ

### ВПЛИВ ЕСБЕРІТОКСУ IN VITRO НА ЦИТОКІНОПРОДУКУЮЧУ ЗДАТНІСТЬ МОНОНУКЛЕАРІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ГЕРПЕСВІРУСНІЙ ІНФЕКЦІЇ

Курченко А.І., Свідро О.В., Савченко В.С.

НМУ імені О.О. Богомольця, м. Київ,  
ДУ «Інститут урології АМН України»

**Мета роботи** – вивчення особливостей впливу in vitro препарату Есберітокс на продукцію цитокінів мононуклеарами периферичної крові у хворих на HSV-інфекцію.

**Матеріали та методи.** У 10 дорослих пацієнтів із рецидивом шкірно-слизової форми простого герпесу (контроль – 10 здорових осіб) визначали спонтанну та індуковану in vitro мітогеном (ФГА) і різними дозами препарату Есберітокс здатність мононуклеарів крові до продукції ФНП-а, ІЛ-4, -12, -15 та 18 (ELISA). Отримані результати статистично обробляли методами Стьюдента, Манна-Уїтні та Уїлкоксона.

**Результати та висновки.** Встановлено, що препарат Есберітокс, при інкубації in vitro із мононуклеарами периферичної крові хворих на HSV-інфекцію, викликав вірогідне ( $p < 0,05$ ) зростання у цих клітин продукції ФНП- (з  $31,1 \pm 1,9$  до  $119,2 \pm 4,6$  (1 доза) та  $130,6 \pm 4,2$  пкг/мл (2 доза – 3- та 4-кратне), ІЛ-12 (з  $21,3 \pm 1,2$  до  $90,4 \pm 7,1$  (1 доза) і  $108,1 \pm 11,4$  пкг/мл (2 доза) – 4,5- та 5 –кратне) та -18 (з  $14,2 \pm 2,1$  до  $40,3 \pm 4,5$  пкг/мл (1 доза) - 3-кратне), а синтез ІЛ-15 при цьому підвищував до рівня ФГА-індукованої продукції (до  $81,3 \pm 4,0$  проти  $79,6 \pm 4,1$  пкг/м після ФГА,  $p < 0,02$ ). В той же час продукувальна здатність цих клітин щодо ІЛ-4 пригнічувалася втричі (з  $71,2 \pm 5,4$  до  $12,3 \pm 0,5$  (1 доза) і  $10,6 \pm 0,7$  пкг/мл (2 доза),  $p < 0,02$ ).

Таким чином, дієвість Есберітоксу при HSV-інфекції переважно може бути спрямованою на оптимізацію клітинних взаємин при здійсненні протівірусної відповіді та розвитку запалення, стимуляцію клітинної ланки імунітету (Т-хелпери 1 типу і ЦТЛ) та фагоцитозу.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ЭСБЕРИТОКСА IN VITRO НА МОНОНУКЛЕАРЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Курченко А.И., Свидро О.В., Савченко В.С.

НМУ имени А.А. Богомольца, г. Киев,  
ГУ «Институт урологии НАМН Украины»

**Цель работы** – изучение особенностей влияния in vitro препарата Эсберитокс на продукцию цитокинов мононуклеарами периферической крови у больных HSV-инфекцией.

**Материалы и методы.** У 10 взрослых пациентов с рецидивом кожно-слизистой формы простого герпеса (контроль – 10 здоровых лиц) определяли спонтанную и индуцированную in vitro митогеном (ФГА) и разными дозами препарата Эсберитокс способность мононуклеаров крови до продукции ФНО-а, ИЛ-4, -12, -15 и 18 (ELISA). Полученные результаты статисти-

стически обрабатывали методами Стьюдента, Манна-Уитни и Уилкоксона.

**Результаты и выводы.** Установлено, что препарат Эсберитокс, при инкубации *in vitro* с мононуклеарами периферической крови больных с HSV-инфекцией, вызывал вероятное ( $p < 0,05$ ) возрастание у этих клеток продукции ФНО- $\alpha$  (с  $31,1 \pm 1,9$  к  $119,2 \pm 4,6$  (1 доза) и  $130,6 \pm 4,2$  пкг/мл (2 доза – 3- и 4-кратное), ИЛ-12 (с  $21,3 \pm 1,2$  к  $90,4 \pm 7,1$  (1 доза) и  $108,1 \pm 11,4$  пкг/мл (2 доза) – 4,5- и 5-кратное) и ИЛ-18 (с  $14,2 \pm 2,1$  к  $40,3 \pm 4,5$  пкг/мл (1 доза) - 3-кратное), а синтез ИЛ-15 при этом повышал до уровня ФГА-индуцированной продукции (до  $81,3 \pm 4,0$  против  $79,6 \pm 4,1$  пкг/мл после ФГА,  $p < 0,02$ ). В то же время продуцирующая способность этих клеток относительно ИЛ-4 угнеталась трехкратно (с  $71,2 \pm 5,4$  к  $12,3 \pm 0,5$  (1 доза) и  $10,6 \pm 0,7$  пкг/мл (2 доза),  $p < 0,02$ ).

Таким образом, действенность Эсберитокса при HSV-инфекции преимущественно может быть направлена на оптимизацию клеточных взаимодействий при осуществлении противовирусного ответа и развитии воспаления, стимуляцию клеточного звена иммунитета (Т-хелперы 1 типа и ЦТЛ) и фагоцитоза.

### SUMMARY

#### AN IN VITRO INFLUENCE OF ESBERITOX ON PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS OF THE PATIENTS WITH HERPESVIRAL INFECTIONS

*Kurchenko A.I., Svidro O.V., Savchenko V.S.*

Bogomolets National Medical University, Kyiv,  
SI "Institute of Urology NAMS of Ukraine"

**Objective** - to study features of the influence *in vitro* drug esberitox on the production of cytokines mononuclear cells peripheral blood in patients with HSV-infection.

**Materials and methods.** In 10 adult patients with recurrent mucocutaneous form of herpes simplex (control - 10 healthy person) were measured indicators of spontaneous and induced *in vitro* tube (PHA) and various doses of the drug Esberitox by the ability of cells to produce TNF- $\alpha$  and IL-4, -12, -15 and IL-18 (ELISA). Selected cells were incubated *in vitro* with different doses of the drug Esberitox. The results are statistically processed by methods of Student's, Mann-Whitney and Wilcoxon.

**Results and conclusions.** It was found that the drug Esberitox, when incubating *in vitro* with peripheral blood mononuclear cells from the patients with HSV-infection, caused the probable ( $p < 0,05$ ) increase in these cells products TNF- $\alpha$  (from  $31,1 \pm 1,9$  to  $119,2 \pm 4,6$  (1 dose) and  $130,6 \pm 4,2$  pкг/ml (2 doses-3-and 4-fold), IL-12 (from  $21,3 \pm 1,2$  to  $90,4 \pm 7,1$  (1 dose) and  $108,1 \pm 11,4$  pкг/ml (2 doses)- 4,5-and 5-fold) and IL-18 (from  $14,2 \pm 2,1$  to  $40,3 \pm 4,5$  pкг/ml (1 dose) - 3-fold) and the synthesis of IL-15 thus raised to the level of PHA-induced products (up to  $81,3 \pm 4,0$  against  $79,6 \pm 4,1$  pкг/ml after PHA,  $p < 0,02$ ). At the same time the ability to produce of these cells relative to IL-4 decreased 3 times (from  $71,2 \pm 5,4$  to  $12,3 \pm 0,5$  (1 dose) and  $10,6 \pm 0,7$  pкг/ml (2 doses),  $p < 0,02$ ).

Thus, the efficacy of drug Esberitox in HSV-infection can mainly be directed to the optimization of cellular interactions in the implementation of antiviral response and the development of inflammation, stimulation of the cellular link immunity (T-Helpers 1 type and CTL) and phagocytosis.