УДК 617.7-022:578.825

ПРОФІЛЬ СИРОВАТКОВИХ ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ГЕРПЕТИЧНИЙ РЕТИНІТ

І.Ю.Собакар, І.В.Лоскутова
Луганський державний медичний університет

Вступ

Герпетичні ураження залишаються провідними інфекційними захворюваннями очей [1,4]. Важлива роль вірусу простого герпесу в захворюваннях очей обумовлена його тропізмом до всіх тканин органу зору, різноманітністю герпетичної офтальмопатології, а також раннім інфікуванням із широким розповсюдженням, тривалим персистуванням і схильністю до формування рецидивних форм [4]. Високий рівень інфікування вірусом простого герпесу, який встановлений в Україні, відповідає результатам аналогічних досліджень й інших країнах [9,13]. Виникнення клінічно маніфест них форм захворювання пов'язано не з первинним інфікуванням, а з реактивацією латентного вірусу [10,12].

Встановлено, що однією з основних причин рецидивування офтальмогерпесу є відхилення в Т- і В-ланках системного імунітету [2,11]. За рахунок лізісу вірус-інфікованих клітин та стимуляції продукції ІФН макрофаги попереджають дисемінацію герпетичної інфекції (ГІ). Ступінь активності клітинних факторів захисту і чинників міжклітинної взаємодії впливає на виникнення, частоту, виразність клінічних проявів та тривалість рецидивів ГІ. Особлива роль у формуванні противірусної імунної відповіді відіграє ФНПα, який стимулює фагоцитарну та цитотоксичну активність клітин, регулює процеси імунного запалення та сприяє утилізації деструктивного матеріалу. Гіперпродукція ФНПα є основним механізмом активації інфекційного процесу при його переході з латентного стану у фазу клінічних проявів, що свідчить про прогресування захворювання [3,6]. Водночас пригнічення синтезу ФНПα на стадії хронізації інфекційного процесу є результатом ураження дизрегуляції імунної

відповіді. Протизапальні цитокіни (IL-4 та 10) зменшують запальну реакцію і поряд з цим сприяють реплікації вірусу [7,8].

Метою дослідження було вивчення змін рівня прозапальних та протизапального цитокінів у сироватці крові хворих на герпетичний ретиніт (ГР) в залежності від форми хвороби та частоти виникнення рецидивів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження є фрагментами НДР "Імунологічні механізми патогенезу хронічних та рецидивуючих інфекцій, імунокорекція та імунореабілітація" (№ держреєстрації 0105U002307) та "Імунні порушення при хоріоретинітах у хворих з вторинними імунодефіцитними станами, імунокорекція та імунореабілітація" (№ держреєстрації 0109U008842).

Матеріали та методи дослідження

Під наглядом знаходилося 84 хворих на ГР (44 чоловіків та 42 жінок), віком від 20 до 59 років. За клінічним перебігом всі хворі на ГР розподілені на первинний (26 осіб - 31,0%) та рецидивні форми (58 осіб - 69,0%). Рідкі рецидиви (не частіше 5 разів на рік) відмічалися у 30 (51,7%) чол., часті (6 разів і більше) - у 28 (48,3%) хворих.

Тривалість ГР у обстежених хворих складала від 1 місяця (первинні) до 10 років, а середня - 7,3±1,9 років. Первинно швидко купірований (не більш 1 місяця) - 5 (19,2%) пацієнта і первинно повільно купірований (до 3 місяців) - у 21 (80,8%) хворих. Серед хворих з рецидивними формами тривалість хвороби до 1,5 років відмічалося у 9 (15,5%) осіб, від 1,5 до 3 років - у 7 (12,1%) пацієнтів, від 3 до 5 років - у 12 (20,7%) хворих, від 5 до 8 років - у 14 (24,1%) осіб і у решти (16 пац.) герпесвірусна інфекція очей діагностовано понад 8 років тому.

Клінічний перебіг ГР мав типовий характер і характеризувався двобічним ураженням очей, ексудативними білісуватими осередками, печенням та болем в області ураження, а також симптомами інфекційної інтоксикації - загальна слабкість, у частини хворих (46 осіб - 54,8%) підвищення температури тіла до 37,5-38,0°С, міальгіями, головним болем. У 27 (32,1%) хворих поряд з наявністю ГР, везикульозний висип також відмічався на червоній каймі губ та крилах носу.

Крім загальноприйнятого клініко-лабораторного дослідження, проводилося вивчення рівня цитокінів із застосуванням імуноферментних тест-систем виробництва "ProCon" ("Протеиновый контур", СПб, Росія) за допомогою обладнання фірми "Эфос 9305" (РФ). Визначення ФНПα, IL-2, IL-6 та IL-4 у сироватці крові проводили на 1-2 день загострення хвороби (при оберті хворого за допомогою). Донорам контрольної групи проводили однократне визначення рівня цитокінів. Дослідження проводились за методиками виробника. Отримані дані обробляли математично із застосуванням прикладних програм, розрахованих на обробку імунологічної інформації [5].

Отримані результати та їх обговорення

Встановлено, що у хворих в гострий період ГР було виявлено збільшення концентрації сироваткових прозапальних (ФНПα, IL-2, 6) та протизапального (IL-4) цитокінів (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст сироваткових цитокінів у хворих на ГР (M±m)

	Норма (n=12)	Первинна форма (n=26)	Рецидивні форми хвороби	
			рідкі (n=30)	часті (n=28)
ФНПα, пг/мл	61,2±6,2	87,3±7,2*	115,5±9,8**	167,7±11,2**
IL-2, пг/мл	45,5±3,1	74,8±4,6*	93,2±6,3*	110,3±8,1**
IL-6, пг/мл	20,4±1,6	64,4±5,1**	91,1±8,2**	145,3±10,3***
IL-4, пг/мл	34,1±4,9	51,6±6,4	96,4±8,1*	43,2±7,3

Примітка: вірогідність різниці показників вирахувана між показником групи та нормою при P<0,05 - *; P<0,01 - ** та P<0,001 - ***

Встановлено підвищення рівня ФНПα у сироватці крові хворих на ГР, причому кратність зростання цитокіну корелювала із формою хвороби та частотою виникнення рецидивів герпесвірусної інфекції. У хворих із первинним ГР вміст ФНПα у крові в середньому складав 87,3±7,2 пг/мл, що було в 1,43 рази вище референтної норми (P<0,05) із розбіжностями показника від 73,0 до 131,3 пг/мл. Водночас у пацієнтів з наявністю рецидивих форм хвороби відмічалося більш суттєве зростання цитокіну у сироватці крові. Так, з рідкими рецидивами (до 5 разів на рік) концентрація сироваткового ФНПα у середньому дорівнювала 115,5±9,8 пг/мл. Водночас при частих рецидивах ГР вміст цитокіну у сироватці крові складав у середньому 167,7±11,2

пг/мл (при нормі 61,2±6,2 пг/мл; P<0,01), а коливання рівня 58,2 - 228,4 пг/мл. Це розцінювалося, як формування повноцінної імунної відповіді на герпесвірусне ураження та активація цитотоксичних лімфоцитів. Однак, у 5 (8,6%) хворих з рецидивами герпетичної інфекції рівень ФНПα не виходив за межі референтної норми (68,2±4,2 пг/мл; P>0,05). Очевидно це може свідчити про недостатність противірусного захисту клітинної ланки імунітету, або зниження синтезу ФНПα в умовах тривалої вірусної персистенції є адаптивною реакцією системи імунітету, яка спрямована на попередження реалізації проапоптичного потенціалу вірусів й розвитком незворотного ушкодження тканин.

Вміст сироваткового IL-2 підвищувався у хворих з первинним ГР у середньому в 1,6 рази відносно норми, що складало 74,8±4,6 пг/мл (при нормі 45,5±3,1 пг/мл; P<0,01). В осіб з рідкими рецидивами хвороби рівень цього цитокіну у крові складав в середньому 93,2±6,3 пг/мл (P<0,01), а межі коливань були від 53,2 до 119 пг/мл, тобто вміст сироваткового IL-2 зростав удвічі. У пацієнтів з частотою загострення герпетичної інфекції більше 5-и разів на рік, відбувалося більш суттєве зростання рівня IL-2 у сироватці крові (в 2,4 рази) і дорівнювало 110,3±8,1 пг/мл (P<0,01), а коливання були від 80 до 208 пг/мл (табл. 1). Отже, вміст IL-2 у крові хворих в цій групі виявився значно вищим в порівнянні з аналогічними показниками пацієнтів з первинним ГР, а максимальне підвищення концентрації цитокіну було в момент найбільш виражених клінічних проявів хвороби.

У всіх хворих на ГР було виявлено гіперпродукцію IL-6 у крові, що пов`язано з інгібуванням ФНПα синтезу IL-6 макрофагами. Причому кратність зростання цього цитокіну корелювала із клінічною формою хвороби. В групі з первинним ГР вміст IL-6 складав у середньому 64,4±5,1 пг/мл, що було 3,2 рази вище норми (P<0,01). При загостренні герпетичної інфекції не частіше 5 разів на рік (рідкі рецидиви) рівень сироваткового IL-6 був підвищений в 4,5 рази і складав у середньому 91,1±8,2 пг/мл (P<0,01). У хворих з частими рецидивами ГР концентрація IL-6 у середньому дорівнювала 145,3±10,3 пг/мл, тобто кратність зростання складала 7,1 рази (P<0,001). Необхідно відзначити суттєвий інтервал коливання цього сироваткового

цитокіну у хворих з рецидивним перебігом хвороби - від 43,5 до 202,0 пг/мл. Індивідуальний аналіз дозволив встановити, що у більшості пацієнтів (49 особи - 84,5%) цієї групи вміст IL-6 був підвищений, а у решти рівень цитокіну знаходився в межах референтної норми (середнє значення показника 21,5±1,4 пг/мл; P>0,05). Таким чином, у хворих з первинним ГР зростання вмісту IL-6 було менш виразнішим, ніж у пацієнтів з рецидивуючим перебігом герпетичної інфекції очей, оскільки макрофаги й NK-клітини, які синтезують γ-ІФН, IL-1, 2, 6 та ФНП-α, здобувають здатність лізувати вірус-інфіковані клітини.

Вміст протизапального цитокіну IL-4 у сироватці крові хворих на ГР у середньому був вище референтної норми не залежно від форми хвороби (табл.1). Однак, при вперше розвинутій герпетичної інфекції рівень протизапального цитокіну дорівнював 51,6±6,4 пг/мл (при нормі 34,1±4,9; P>0,05), що було в 1,5 рази вище норми. У хворих із рідкими на рецидивами ГР спостерігалося більш суттєве зростання рівня IL-4 у крові і його концентрація складала 96,4±8,1 пг/мл (P<0,05), тоді як при частому рецидиву ванні ін хронічного вірусного процесу його вміст дорівнював 43,2±7,3 пг/мл (P>0,05). Нами проведено аналіз градацій показника сироваткового протизапального цитокіну, який довів суттєві розбіжності вмісту IL-4 у крові (табл. 2). За рівнем сироваткового IL-4 всі обстежені хворі були розділили на три групи: значення показника цитокіну в межах референтної норми (не перевищував 30,7±4,2 пг/мл) спостерігався у 18 пацієнтів (21,4%); високий рівень цитокіну був у 55 пацієнтів (65,5%) мав місце (середня величина - 104,9±10,3 пг/мл) і в третій групі (11 осіб - 13,1%) вміст цитокіну дорівнювався 21,7±3,2 пг/мл, що було нижче норми (табл. 2).

При первинно встановленому ГР було зареєстровано зростання рівня сироваткового IL-4 у більшості (17 осіб - 65,4%) обстежених в 1,4-4,7 рази, хоча у 7 (26,9%) хворих його концентрація або зберігалася в межах норми, або мала лише тенденцію до зростання, у 2 (7,7%) пацієнтів - навпаки спостерігалося зниження вмсту цитокіну у сироваці крові. При рідких загостреннях хронічної герпесвірусної інфекції очей рівень протизапального цитокіну у сироватці крові суттєво зростав у 18 (60,0%) в 2,6 - 3,7 рази, у 8 (26,7%) обстежених підвищення концентрації IL-4

у крові відмічалося було в межах 1,4-2,5 рази, у 2 (6,7%) хворих вміст вивченого цитокіну не виходив за межі референтної норми і у 2 (6,7%) пацієнтів відмічалося зменшення рівня цитокіну. У всіх хворих з частими рецидивами ГР коливання вмісту IL-4 у сироватці крові коливання показника від 14,5 до 89,0 пг/мл, причому у більшості (17 осіб - 60,7%) обстежених цієї групи його концентрація була в межах 29,1 - 69,0 пг/мл. Водночас у чверті хворих з частими рецидивами герпетичної інфекції в анамнезі концентрація була нижче референтної норми.

Таблиця 2

Градації показника сироваткового IL-4 у хворих на ГР (абс./%)

Форма хвороби	Градації вивченого показника						
	до 29	29,1-49	49,1-69	69,1-89	89,1-109	109,1-120	120,1 і вище
первинний	2/7,7	7/26,9	8/30,8	4/15,4	2/7,7	2/7,7	1/3,8
рідкі рецидиви	2/6,7	2/6,7	3/10,0	5/16,6	9/30,0	7/23,3	2/6,7
часті рецидиви	7/25,0	9/32,1	8/28,6	4/14,3	0	0	0
норма	34,1±4,9 пг/мл						

Примітка: у чисельнику - абсолютна кількість пацієнтів, у знаменнику - % до числа обстежених хворих

Отже, спостерігається підвищення рівня протизапального (IL-4) цитокіну у крові, що є відповіддю організму на антигенну стимуляцію. Водночас генерація Th1-типу індукує продукцію прозапальних цитокінів, які стимулюють гострофазові реакції як на рівні всього організму, так і місцевого осередку запалення. Навпаки, переключення імунної відповіді на гуморальний шлях через експансію Th2 поєднується із антизапальним ефектом завдяки імуносупресорній дії продукованих Th2 цитокінів - IL 4, 10. Такий механізм контролю імунного запалення дуже важливий при високому вірусному навантаженні, коли виникає ризик формування рецидивів.

Висновки

1. У обстежених хворих на герпетичний ретиніт відмічалося суттєве зростання прозапальних цитокінів - IL-2, IL-6, ФНПα у сироватці крові, ступінь зростання корелював із формою хвороби та частотою рецидивування.

2. При герпетичному ретиніту відмічалися значна варіабельність протизапального цитокіну IL-4 у сироватці крові -

зростання рівню цитокіну при первинній формі та рідких рецидивах хвороби, різноспрямовані зміни при частих рецидивах.

Література

1. *Анджелов В.О. Диагностика и значение оппортунистической герпесвирусной инфекции в этиопатогенезе различных заболеваний глаз / В.О. Анджелов, Г.И.Кричевская, Л.А.Катаргина //Вопросы вирусологии.- 2003. - № 4. - С. 21-23.*
2. *Гайдамака Т.Б. Разработка интегральной оценки особенностей клинического течения герпетического кератита / Т.Б.Гайдамака, Е.И.Драгомирцева// Офтальмологический журнал. - 2007. - № 2. - С. 21-27.*
3. *Зима А.П. Система фактора некроза опухоли α и его рецепторов в иммунопатогенезе персистентных вирусных инфекций / А.П.Зима, Н.В.Рязанцева, В.В.Новицкий //Иммунология. - 2007. - № 6. - С. 357-361.*
4. *Каспаров А.А. Офтальмогерпес /Каспаров А.А. - М., 1994. - 224 с.*
5. *Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2002. - 160 с.*
6. *Мальханов В.Б. Цитокиновый профиль больных офтальмогерпесом / В.Б.Мальханов, Н.Е.Шевчук, З.Р.Марванова //Вопросы вирусологии.- 2004. - № 1.- С. 28-30.*
7. *Непомнящих Г.И. Биомолекулярные маркеры прогрессии персистирующих инфекций / Г.И.Непомнящих, Н.П. Толоконская// Бюллетень РАМН. - 2002.- № 2. - С.25-35.*
8. *Обухова О.О. Баланс цитокинов у пациентов с обострением хронической герпетической инфекции в динамике иммунокорригирующей терапии/ О.О.Обухова, А.Н.Трунов, Л.А.Трунова, А.П.Швак //Иммунология. - 2007.- № 6. - С.335-338.*
9. *Савко В.В. Основные этиологические формы эндогенных увеитов: клиника, диагностика, лечение / В.В. Савко, Н.И.Нарицына, Н.В. Коновалова//Офтальмологический журнал. - 2006.- № 1. - С. 58-62.*
10. *Слепова О.С. Роль иммунопатологических реакций в развитии глазных заболеваний у лиц, инфицированных вирусом гепатита В, и эффективность иммунокорригирующей терапии / О.С.Слепова, В.Н.Кушнир// Вопросы вирусологии. - 2003. - № 5. - С.15-20.*
11. *Провоспалительные и имунорегуляторные цитокины у больных с синдромом вторичного иммунодефицита при рецидивирующей герпетической инфекции / Н.Ю.Соловьева, Ю.А.Сенникова, Л.В. Гришина, Н.М. Старостина// Медицинская иммунология. - 2003. - № 5-6. - С. 583-590.*
12. *Хаитов Р.М. Современные представления о защите реакций организма от инфекций / Р.М.Хаитов, Б.В.Пинегин// Иммунология. - 2000. - № 1. - С.61-64.*
13. *Liesegang T.J. Epidemiology of ocular herpes simplex / Liesegang T.J, Thomas J., Kangot S.// Arch.Opththalmol. - 1998. -Vol.107. - P. 1160-1165.*

Резюме

Собакар І.Ю., Лоскутова І.В. *Профіль сироваткових цитокінів у хворих на герпетичний ретиніт.*

У хворих на герпетичний ретиніт відмічалося суттєве зростання прозапальних цитокінів - IL-2, IL-6, ФНПα у сироватці крові та відмічалася значна варіабельність протизапального цитокіну IL-4 - зростання рівню цитокіну при первинній формі та рідких рецидивах хвороби, різноспрямовані зміни при частих рецидивах.

Ключові слова: герпетичний ретиніт, цитокіни.

Резюме

Собакар И.Ю., Лоскутова И.В. *Профиль сывороточных цитокинов у больных герпетическим ретинитом.*

У больных герпетическим ретинитом отмечался существенный рост провоспалительных цитокинов - IL-2, IL-6. ФНПα в сыворотке крови и отмечалась значительная вариабельность противовоспалительного цитокина IL-4 - повышение его уровня при первичной форме и редких рецидивах болезни, разнонаправленные изменения при частых рецидивах.

Ключевые слова: герпетический ретинит, цитокины.

Summary

Sobakar I.Yu., Loskutova I.V. *Profile of serum's cytokines at patients with herpetical retinitis.*

Patients with herpetical retinitis had the substantial growth proinflammatory cytokines - IL-2, IL-6, TNFα in the blood serum and considerable variabilities antiinflammatory cytokine IL-4. Level of cytokine IL-4 rose at a primary form and rare relapses. The changes had a different direction at the frequent relapses.

Key words: herpetical retinitis, cytokines.

Рецензент: д.мед.н., проф.А.М.Петруня