

## СТАН ІНТЕРФЕРОНОГЕНЕЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕРПЕТИЧНИЙ СТОМАТИТ

І.В.Лоскутова, В.А.Макаревич

*ДЗ "Луганський державний медичний університет"*

### Вступ

Герпетична інфекція (ГІ) залишається однією з проблем сучасної медицини, оскільки ці інфекції займають одне з провідних місць з причин летальності [3, 6, 12]. Тому своєчасна діагностика та правильна тактика лікування ГІ роблять цю проблему медико-соціальною. Понад 90% населення всього світу інфіковано вірусом простого герпесу (ВПГ), з яких лише у 20% мають клінічні ознаки [1]. Герпетичні ураження слизових оболонок (СО) ротової порожнини (РП) є одними з найбільш тяжких захворювань в стоматології. Герпетичний стоматит (ГС) може проявлятися типовим висипом у вигляді пухирців [2, 11], однак виділяють атипів форми захворювання [5]. При зараженні вірусом герпетичної групи загальну захисну роль в організмі виконують специфічні та неспецифічні клітинні та гуморальні чинники імунітету [2, 3, 8]. Ослаблення імунного захисту є причиною формування рецидивної ГІ, тобто розвитку декомпенсаторних механізмів вторинного імунодефіциту [9, 10, 12].

Інтерферони (ІФН) здатні регулювати напруженість імунної відповіді, а їх широкий спектр фізіологічних функцій вказує на важливу контрольну-регуляторну роль у підтримці гомеостазу організму. До головних властивостей ІФН відносять протівірусний, антипроліферативний і імуномодулюючий ефекти [4, 8, 13]. Під впливом  $\alpha$ -ІФН зростає фагоцитарна активність макрофагів, підсилюються мембранні процеси та активується їх антигенпрезентуюча здатність. Під впливом  $\gamma$ -ІФН відбувається посилення функції клітин макрофагальної фагоцитарної системи, а також стимуляція проліферації і диференціювання цих клітин. Важливою є регуляторна функція  $\gamma$ -ІФН у про-

цесі диференціювання "наївних" лімфоцитів у клітини Th1-типу, з подальшою продукцією цитокінів Th1 профілю. Водночас, ІФН здатний пригнічувати проліферацію Th2 лімфоцитів [13]. Роль  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН у становленні протівірусної імунної відповіді у хворих на ГС залишається не з'ясованою.

**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 та оптимальні методи імунокорекції та імунореабілітації у хворих з герпетичними формами вірусними захворюваннями слизових оболонок" (№ держреєстрації 0111U005620).

**Метою** роботи вивчення інтерференового статусу та дослідження *in vitro* спонтанної і стимульованої продукції ІФН імунокомпетентними клітинами у крові хворих на герпетичний стоматит в залежності від частоти рецидивів вірусної інфекції.

### Матеріали та методи дослідження

Під нашим наглядом знаходилося 54 хворих на ГС віком від 18 до 49 років, серед них було 29 жінок і 25 чоловіків. Діагноз ГС встановлювали на підставі оцінки даних анамнезу, клінічної картини захворювання, характерного висипу на СО РП та результатів додаткових лабораторних методів діагностики - наявність специфічних антитіл до ВПГ I та II типу у сироватці крові, а також вірусного ДНК у ротоглотковому секреті за даними полімеразно-ланцюгової реакції. За частотою виникнення загострень вірусної інфекції на СО РП обстежені пацієнти розподілені на дві групи - з рідкими та частими рецидивами. У 31 хворих (57,4%) рецидиви вірусної інфекції виникали не частіше 4-х разів на рік (рідкі епізоди) і у 23 хворих (42,6%) з рецидивами ГС 5 разів і більш на рік (часті рецидиви).

У всіх хворих на ГС проводилось дослідження інтерференового статусу із застосуванням імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем для визначення  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН виробництва НПО "Диагностические системы" (Н. Новгород, РФ). Результати оцінювали на ІФА "Labline-022" фірми "Labline Diagnostics" (Австрія).

Для визначення активності інтерферогенезу було проведено вивчення спонтанної та стимульованої (з ФГА) продукції  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН імункомпетентними клітинами, які виділяли на стандартному градієнті фікол-верографіну, переважно це були мононуклеари. Клітинну суспензію в концентрації  $1,5 \cdot 10^6$  кл/мл інкубували протягом 24 год. в  $CO_2$ -інкубаторі при  $37^\circ C$  без стимулюючого агенту (спонтанна продукція) та в присутності ФГА (50 мкг/мл) - індукована продукція цитокінів. По закінченню терміну інкубації клітини центрифугували для осадження. Вміст цитокінів в супернатантах визначали за допомогою ІФА. Кількісна оцінка результатів проводилася методом побудови каліброваної кривої, що відбиває залежність оптичної щільності від концентрації для стандартного антигену і яка дозволяє порівнювати з ним досліджувані зразки. Дослідження проводились за методиками виробника.

Для визначення референтної норми вказаних параметрів були обстежені 20 донорів відповідного віку.

Обробку одержаних результатів здійснювали з використанням пакетів ліцензійних програм Microsoft Windows professional, Microsoft Office 2003, Microsoft Excel Stdia 6.1/prof та Srtat [7].

#### Отримані результати та їх обговорення

В період загострення ГІ на СО РП відмічалось зменшення концентрації сироваткових  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН. Найбільш низький рівень ІФН відзначався у хворих з наявністю часторецидивуючим ГС, оскільки часті рецидиви вірусної інфекції асоціюються із низькою ІФН-синтезуючою здатністю лімфоцитів.

При розвитку загострення ГС вміст  $\alpha$ -ІФН у крові помірно зростав у середньому в 1,2 рази і дорівнював  $10,1 \pm 0,3$  пг/мл ( $P < 0,05$ ). Однак у хворих з рідкими рецидивами ГІ його вміст у сироватці крові був вище норми в 1,53 рази і складав  $12,1 \pm 0,5$  пг/мл. При виникненні рецидивів хвороби більше 5-ти разів на рік (часті) рівень сироваткового  $\alpha$ -ІФН залишався на верхній межі норми ( $8,7 \pm 0,2$  пг/мл) (табл. 1).

Проаналізувавши зміни вивченого показника виявлено, що у 8 (14,8%) хворих в період загострення ГІ відмічалось зменшення  $\alpha$ -ІФН у сироватці крові ( $P < 0,05$ ), у 34 (63,0%) пацієнтів - навпаки його зростання (в 1,3-2,3 рази;  $P < 0,05$ ) і у решти 12

(22,2%) обстежених вміст цього цитокіну залишався в межах норми ( $7,2 \pm 0,3$  пг/мл;  $P > 0,1$ ). Причому у переважній більшості (19 осіб - 61,3%) пацієнтів при розвитку рецидивів хвороби не частіше 4-х разів на рік, концентрації сироваткового  $\alpha$ -ІФН була підвищеною. Це звичайна реакція системи ІФН у процесі розвитку загострення вірусних інфекцій - система відповіла на інфікування викидом необхідної кількості ІФН. А при більш частоту загострення ГІ вміст цього ІФН залишався в межах норми або мав тенденцію до зменшення, що свідчить про біль тяжкий перебіг інфекції.

Таблиця 1

Показники інтерференового статусу в період загострення ГС ( $M \pm m$ )

Показник	Норма	Рідкі рецидиви (n=31)	Часті рецидиви (n=23)	Коливання показника
$\alpha$ -ІФН, пг/мл	$7,9 \pm 0,4$	$12,1 \pm 0,5^*$	$8,7 \pm 0,2$	4,4 - 18,2
$\gamma$ -ІФН, пг/мл	$16,4 \pm 0,8$	$25,7 \pm 0,6^{**}$	$11,8 \pm 0,7^*$	9,1 - 38,7

Примітка: в табл. 1, 2 та 3 вірогідність різниці показників вирахована відносно норми при  $P > 0,05$  - \*;  $P < 0,05$  - \*\* та  $P < 0,001$  - \*\*\*.

Рівень сироваткового  $\gamma$ -ІФН у пацієнтів з рідкими рецидивами ГС в період загострення зростав в 1,57 рази (при нормі  $16,4 \pm 0,8$  пг/мл;  $P < 0,05$ ). Концентрація  $\gamma$ -ІФН у хворих з частими рецидивами вірусної інфекції на СО РП знижалася в 1,39 рази ( $P < 0,05$ ) (табл. 1). Індивідуальний аналіз дозволив встановити, що 21 особи (38,9%) хворих вміст  $\gamma$ -ІФН у крові знижувався (не вище 12 пг/мл), зростав (до 38,7 пг/мл) - майже у половини (25 осіб - 46,3%) хворого і у 8 (14,8%) обстежених концентрація цього цитокіну у сироватці крові зберігалася в межах норми (12,1 - 20,1 пг/мл). Оскільки віруси більш чутливі до дії ІФН (особливо  $\gamma$ -ІФН), то в пацієнтів з підвищеним рівнем ІФН у крові розвиток рецидивів ГІ міг пригнічуватися, тому в цих випадках діагностувався досить високим рівень  $\gamma$ -ІФН. В обстежених найбільш значне зниження концентрації  $\gamma$ -ІФН мало місце у хворих частими рецидивами ГС.

Для характеристики стану імунітету хворих на ГІ важливим є визначення рівня продукції імунними клітинами ІФН.

Вивчення спонтанної продукції імунокомпетентними клітинами  $\alpha$ -ІФН показало, що у хворих з рідкими рецидивами ГІ активність інтерферогенезу складала  $11,9 \pm 2,3$  пг/мл (при нормі  $7,3 \pm 0,16$  пг/мл;  $P < 0,05$ ), тобто в 1,63 рази вище норми. При виникненні частих рецидивах хвороби спонтанна продукція  $\alpha$ -ІФН знижувалася в 2,81 рази, дорівнюючи  $2,6 \pm 0,52$  пг/мл ( $P < 0,05$ ). Аналогічна динаміка показників відмічалася стосовно індукованої продукції  $\alpha$ -ІФН. Так, при рідких рецидивах ГС активність інтерферогенезу була  $13,9 \pm 2,4$  пг/мл, що було в 1,3 рази вище значення норми. При розвитку частих загострень ГІ на СО РП продукція  $\alpha$ -ІФН, яка стимульована ФГА знижувалася в 1,84 рази і складала у середньому  $5,8 \pm 0,7$  пг/мл ( $P < 0,05$ ) (табл. 2)

Таблиця 2

**Рівень спонтанної та індукованої продукції  $\alpha$ -ІФН імунокомпетентними клітинами in vitro у хворих на ГС ( $M \pm m$ )**

Показник	Норма	Рідкі рецидиви (n=31)	Часті рецидиви (n=23)
спонтанна продукція, пг/мл	$7,3 \pm 0,2$	$11,9 \pm 2,3^*$	$2,6 \pm 0,5^*$
індукована продукція, пг/мл	$10,7 \pm 1,3$	$13,9 \pm 2,4^*$	$5,8 \pm 0,7^*$

В результаті проведених досліджень виявилось, що у хворих з клінічними проявами ГС до 4-х разів на рік, спонтанна продукція  $\gamma$ -ІФН імунокомпетентними клітинами периферичної крові знаходилася на рівні  $16,3 \pm 1,8$  пг/мл (при нормі  $12,5 \pm 1,3$  пг/мл;  $P < 0,05$ ), а при наявності загострень герпес-вірусної інфекції більше 5 разів на рік спонтанна продукція  $\gamma$ -ІФН складала  $14,9 \pm 6,6$  пг/мл, що було в 1,25 і 1,2 рази вище норми відповідно (табл. 3).

Таблиця 3

**Рівень спонтанної та індукованої продукції  $\gamma$ -ІФН імунокомпетентними клітинами in vitro у хворих на ГС ( $M \pm m$ )**

Показник	Норма	Рідкі рецидиви (n=31)	Часті рецидиви (n=23)
спонтанна продукція, пг/мл	$12,5 \pm 1,3$	$16,3 \pm 1,8^*$	$14,9 \pm 0,6^*$
індукована продукція, пг/мл	$16,1 \pm 2,5$	$18,6 \pm 1,4^*$	$21,7 \pm 2,1^*$

При індукції мітогеном рівень продукції  $\gamma$ -ІФН у хворих з рідкими рецидивами ГС вірогідно підвищувався, досягаючи  $18,6$

$1,4$  пг/мл (при нормі  $16,1 \pm 2,5$  пг/мл;  $P < 0,05$ ). При додаванні ФГА в процесі продукції клітинами, рівень  $\gamma$ -ІФН у хворих з частими загостреннями ГІ зростав в 1,35 рази ( $P < 0,05$ ).

Таким чином, у хворих період загострення вірусної інфекції СО РП відмічалось активація продукції  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН у хворих з рідкими рецидивами хвороби. У пацієнтів з рецидивами частіше 5 разів на рік активність продукції  $\gamma$ -ІФН зростала незалежно від частоти загострень ГС на фоні пригнічення як спонтанного, так й індукованого альфа інтерферогенезу.

#### Висновки

1. У хворих з рідкими рецидивами стоматиту герпетичного генезу відмічалось зростання концентрації  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН у сироватці крові. При формуванні часторецидивуючої вірусної інфекції на слизових оболонках ротової порожнини спостерігалось збереження на верхній межі норми рівня  $\alpha$ -ІФН на фоні зниження вмісту  $\gamma$ -ІФН у сироватці крові.

2. При виникненні рецидивів герпес-вірусної інфекції до 4-х разів на рік зареєстрована активація інтерферогенезу за даними спонтанної та індукованої продукції  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН імунокомпетентними клітинами in vitro, що свідчить про посилення функціональної активності Th1-типу.

3. При частому рецидивуванні герпетичного стоматиту, продукція  $\alpha$ -ІФН імунокомпетентними клітинами периферичної крові in vitro зменшувалася, тоді як синтез  $\gamma$ -ІФН (спонтанний та стимульований) вірогідно зростав.

4. Отримані результати необхідно враховувати при проведенні імунокорекції у хворих з хронічною вірусною інфекцією.

#### Література

1. Антоненко С.В. Метод полимеразной цепной реакции: применение в диагностике инфекционных болезней, проблемы, перспективы / С.В.Антоненко, О.Н.Кравченко, Е.В.Петренко // Лабораторная диагностика. - 1999. - № 3. - С. 21-25.

2. Барер Г.М. Клинико-иммунологические показатели при герпетическом стоматите слизистой оболочки рта / Г.М.Барер, Л.Е. Мурашко, Т.А.Растегина // Стоматолог. - 2005. - № 8. - С. 9-10.



3. Борисенко А.В. Клініко-імунологічні особливості перебігу рецидивуючого простого герпесу слизової оболонки порожнини рота і губ у осіб молодого віку / А.В.Борисенко, Р.А.Регурецька // Современная стоматология. - 2006. - № 3. - С. 57-59.

4. Карпенко Л.И. МНС-мультимеры и их применение в изучении противовирусного иммунного ответа / Л.И.Карпенко, Л.В.Мечетина, А.Ю.Регузова // Журнал микробиологии. - 2011. - № 2. - С. 112-119.

5. Каськова Л.Ф. Стан місцевого імунітету ротової порожнини при рецидивуючому герпетичному стоматиті в підлітків з ендокринною патологією / Л.Ф.Касьянова, О.О.Капенко, О.В.Хміль // Український стоматологічний альманах. - 2011. - № 1. - С. 41-42.

6. Крамарев С.О. Сучасні підходи до протирецидивної терапії герпесу шкіри та слизової оболонки порожнини рота / С.О.Крамарев // Педіатрія, акушерство, гінекологія. - 2000. - № 3. - С. 23-26.

7. 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.

8. Новиков Д.К. Противовирусный иммунитет / Д.К.Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2002. - № 1. - С. 5-14.

9. Овчинникова В.В. Роль герпетиформных вирусов в этиологии воспалительных заболеваний пародонта / В.В.Овчинникова // Стоматолог. - 2005. - № 5. - С. 77-79.

10. Почтарь В.Н. Клинические проявления герпетической инфекции в стоматологии / В.Н. Почтарь, А.Б.Македон, В.Я.Скиба // Клиническая стоматология. - 2008. - № 4. - С.18-21.

11. Терехова Т.Н. Проблема герпетической инфекции с проявлением в полости рта у детей в научных исследованиях Э.М.Мельниченко и его преемников / Т.Н. Терехова, Т.Г. Белая // Клиническая стоматология. - 2009. - № 3. - С. 6-8.

12. Шульженко А.Е. Герпетические инфекции человека: перспективы диагностики и противовирусной терапии / А.Е.Шульженко // Герпес. - 2006. - № 1. - С. 51-58.

13. Хаитов Р.М. Современные представления о защите реакций организма от инфекций / Р.М.Хаитов, Б.В.Пинегин // Иммунология. - 2000. - № 1. - С.61-64.

**Резюме**

**Лоскутова И.В., Макарович В.А.** Стан інтерферогенезу у хворих на хронічний герпетичний стоматит.

Обстежено 54 хворих на хронічний герпетичний стоматит (ГС) віком від 18 до 49 років. У хворих з рідкими рецидивами ГС відмічалось зростання концентрації сироваткових  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН, а при виникненні частих загострень вірусної інфекції виявилось збереження рівня  $\alpha$ -ІФН на фоні зниження вмісту  $\gamma$ -ІФН у сироватці крові. Показана активація інтерферогенезу при рідких рецидивах та дисбаланс спонтанної та індукованої продукції інтерферонів імунокомпетентними клітинами при частих загостреннях хвороби. Отримані результати необхідно враховувати при проведенні імунокорекції у хворих з хронічною вірусною інфекцією.

**Ключові слова:** хронічний герпетичний стоматит, інтерферогенез, дисбаланс.

**Резюме**

**Лоскутова И.В., Макарович В.А.** Состояние интерферогенеза у больных хроническим герпетическим стоматитом.

Обследовано 54 больных хроническим герпетическим стоматитом (ГС) в возрасте от 18 до 49 лет. У больных с редкими рецидивами ГС отмечалось повышение концентрации сывороточных  $\alpha$ - та  $\gamma$ -ІФН, а при возникновении частых обострений вирусной инфекции оказалось сохранение уровня  $\alpha$ -ІФН на фоне снижения содержания  $\gamma$ -ІФН в сыворотке крови. Показана активация интерферогенеза при редких рецидивах и дисбаланс спонтанной и индуцированной продукции интерферонов иммунокомпетентными клетками при частых обострениях болезни. Полученные результаты необходимо учитывать при проведении иммунокоррекции у больных с хронической вирусной инфекцией.

**Ключевые слова:** хронический герпетический стоматит, интерферогенез, дисбаланс.

**Summary**

**Loskutova I.V., Makarevich V.A.** The state of interferonogenesis at patients with chronic herpetic stomatitis.

54 patients with chronic herpetic stomatitis (HS) are inspected in age from 18 to 49 years. At patients with the rare relapses HS the rise of concentration of serum  $\alpha$ - and  $\gamma$ -IFN was marked, and in case of beginning of frequent intensifications of viral infection saving of level of  $\alpha$ -IFN on a background the decline of content of  $\gamma$ -IFN in the blood serum turned out. Activating of interferonogenesis at the rare relapses and disbalance of spontaneous and indutsirovannoy products of interferons is shown by immune competent cells at frequent intensifications of illness. The got results must be taken into account during conducting of immune correction at patients with a chronic viral infection.

**Key words:** chronic herpetic stomatitis, interferonogenesis, disbalance.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. Л.В.Кузнецова