

Т.В. Веприк, Г.Б. Матейко

ЦИТОКІНОВИЙ СТАТУС ХВОРИХ НА ВІЛ-АСОЦІЙОВАНУ ГЕРПЕТИЧНУ ІНФЕКЦІЮ

Івано-Франківський національний медичний університет

Вивчено цитокіновий статус хворих на ВІЛ-асоційовану герпетичну інфекцію (ГІ) за показниками вмісту інтерлейкіну (ІЛ)-2 та ІЛ-4 з врахуванням клінічної стадії ВІЛ-інфекції. Встановлено активацію як прозапальної, так і протизапальної цитокінової системи з підвищенням вмісту ІЛ-2 і ІЛ-4. Найбільший імунний дисбаланс спостерігали у хворих у III стадії хвороби: зниження специфічної клітинної імунної відповіді за показниками ІЛ-2 на тлі зростання вмісту ІЛ-4, що свідчило про її переключення на гуморальну ланку з розвитком імунологічної толерантності до ВІЛ, герпесвірусів. Застосування АРТ у хворих з IV стадією ВІЛ-інфекції дає змогу контролювати вірусне навантаження, покращити показники клітинного імунітету, активувати синтез ІЛ-2. Однак повної імунореабілітації на тлі АРТ не відбувалось.

Ключові слова: ВІЛ-асоційована ГІ, цитокіновий статус.

Герпетична інфекція є класичним варіантом імунозалежних хвороб [1, 2]. Розвиток імунної депресії у хворих на ВІЛ-інфекцію сприяє активації опортуністичних інфекцій, зокрема ГІ [3-5]. Це обумовлює необхідність динамічного спостереження за станом імунітету, яке б сприяло своєчасному вивченню причин розвитку тяжких генералізованих форм ГІ, загрозливих для життя, більш глибокому розумінню їх патогенезу. Тому імунологічні дослідження при ВІЛ-інфекції є надзвичайно актуальними.

В літературі є поодинокі роботи, присвячені вивченню показників цитокінового статусу у хворих на ВІЛ-інфекцію [4, 6]. Участь інтерлейкінів у патогенезі ВІЛ-інфекції безсумнівна і активно вивчається, однак отримані наукові дані неоднозначні і вимагають подальших досліджень [6, 7].

Цитокін ІЛ-2 запускає імунну відповідь по шляху Т-хелперів (Тх) 1 типу, активуючи фактори протівірусного захисту. Він стимулює проліферацію і активність натуральних кілерів і цитотоксичних клітин, підвищує цитолітичну функцію Т-кілерів і НК-

клітин, продукцію ними γ -інтерферону (γ -ІФН), активує моноцити і макрофаги [4, 7]. Основні біологічні ефекти ІЛ-4 пов'язані з його здатністю направляти розвиток імунної відповіді по шляху Тх 2 типу з домінуванням гуморальної ланки імунітету. ІЛ-4 пригнічує Тх1 імунну відповідь через продукцію цитокінів запалення (ТНФ- α , ІЛ-8, ІЛ-1) і цитокінів, синтезованих Тх 1 типу (ІЛ-2, γ -ІФН) [4, 7].

Мета роботи – вивчити цитокіновий статус хворих на ВІЛ-асоційовану ГІ за показниками вмісту ІЛ-2 та ІЛ-4 з врахуванням клінічної стадії ВІЛ-інфекції.

Пацієнти і методи

Обстежено 53 хворих з ВІЛ-асоційованою ГІ віком 18-40 років і 20 здорових донорів аналогічного віку в якості контрольної групи. За стадіями ВІЛ-інфекції розподіл хворих з ГІ був такий: з I стадією – 18 (33,96 %), з II – 12 (22,64 %), з III – 15 (28,31 %), з IV – 8 (15,09 %). У всіх обстежених визначали вміст CD4+Т-лімфоцитів, ІЛ-2, ІЛ-4, рівень вірусного навантаження (ВН), що характеризує швидкість реплікації ВІЛ. Визначення кількості CD4+Т-лімфоцитів в 1 мкл крові та ВН (кількості РНК копій ВІЛ в 1 мл крові) проводилось в лабораторії Республіканського центру профілактики і боротьби з ВІЛ-інфекцією і СНІДом (ЦПБВС, Київ). Визначення цитокінового статусу хворого (ІЛ-2, ІЛ-4) методом ІФА з використанням тест-систем Вектор-Бест (Росія) здійснювали в лабораторії обласного ЦПБВС.

Результати досліджень та їх обговорення

У всіх хворих з ВІЛ-асоційованою ГІ (табл. 1) реєстрували суттєво знижені показники CD4+Т-лімфоцитів порівняно зі здоровими (відповідно 485,92±34,00 з I стадією, 471,25±31,81 з II стадією, 369,0±28,90 з III стадією, 322,00±34,95 з IV стадією проти (990,65±81,08) кл./мкл, $p_1 < 0,001$). Значно підвищеними у всіх ВІЛ-інфікованих з ГІ, порівняно зі здоровими, виявились рівні як прозапального цитокіну ІЛ-2 (відповідно 8,92±1,15 з I стадією, 9,38±1,34 з II стадією, проти 2,70±0,37 пг/мл,

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

$p_1 < 0,01$), так і протизапального ІЛ-4 (відповідно $1,81 \pm 0,12$ з I стадією, $1,99 \pm 0,08$ з II стадією, $1,84 \pm 0,37$ з III стадією, $2,17 \pm 0,20$ з IV стадією проти $(0,81 \pm 0,09)$ пг/мл, $p_1 < 0,05$).

Вивчення імунного статусу хворих на ГІ в залежності від клінічної стадії ВІЛ-інфекції виявило такі його особливості. Встановлено, що рівні CD4+Т-лімфоцитів прогресивно знижувались відповідно до стадії хвороби. Якщо у хворих з I і

II стадіями показники CD4+Т-лімфоцитів достовірно не відрізнялись і становили відповідно $485,92 \pm 34,0$ і $471,25 \pm 31,81$ кл./мкл ($p_2 > 0,05$), то в III стадії вони знизились до $369,00 \pm 28,90$ кл./мкл (порівняно з хворими в I і II стадіях, $p_2 < 0,05$, $p_3 < 0,05$) і продовжували залишатись такими ж низькими і в IV стадії – $322,00 \pm 34,95$ кл./мкл (порівняно з хворими в III стадії, $p_4 > 0,05$).

Таблиця 1

Імунологічні показники у хворих з ВІЛ-асоційованою ГІ

Показник	Здорові (n=20)	Хворі з ВІЛ-асоційованою ГІ			
		I стадія (n=18)	II стадія (n=12)	III стадія (n=15)	IV стадія (n=8)
CD4+ Т-лімфоцити, в 1 мкл крові	$990,65 \pm 81,08$	$485,92 \pm 34,0$ $p_1 < 0,0001$	$471,25 \pm 31,81$ $p_1 < 0,0001$	$369,00 \pm 28,90$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	$322,00 \pm 34,95$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$
Вірусне навантаження, РНК копій в 1 мл крові	-	$64176,26 \pm 7948,56$	$11793,73 \pm 1384,62$ $p_2 < 0,05$	$169370,40 \pm 21264,22$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$	$3865,98 \pm 4113,52$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
ІЛ-2, пг/мл	$2,70 \pm 0,37$	$8,92 \pm 1,15$ $p_1 < 0,01$	$9,38 \pm 1,34$ $p_1 < 0,01$	$0,59 \pm 0,76$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$1,91 \pm 0,93$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,01$
ІЛ-4, пг/мл	$0,81 \pm 0,09$	$1,81 \pm 0,12$ $p_1 < 0,05$	$1,99 \pm 0,08$ $p_1 < 0,05$	$1,84 \pm 0,37$ $p_1 < 0,05$	$2,17 \pm 0,20$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$

Примітки: достовірність різниці показників: p_1 – у ВІЛ-інфікованих і здорових; p_2 – порівняно з аналогічними у хворих з I стадією; p_3 – порівняно з аналогічними у хворих з II стадією; p_4 – у хворих з III і IV стадіями.

Що стосується динаміки ВН, то вона була неоднозначною. Показник ВН достовірно знижувався в II стадії порівняно з I ($11793,73 \pm 1384,62$ проти $64176,26 \pm 7948,56$ копій/мл, $p_2 < 0,05$), різко зростав в III стадії ($169370,40 \pm 21264,22$, $p_2 < 0,05$, $p_3 < 0,001$) і суттєво знижувався в IV стадії ($3865,98 \pm 4113,52$, $p_4 < 0,001$). На перший погляд, здавалося, що виникала парадоксальна ситуація, коли ВН у пацієнтів в IV стадії (стадії СНІДу) є достовірно меншим, ніж у пацієнтів в III стадії з менш тяжкою патологією. Це пояснюється позитивним ефектом призначеного лікування – більшість хворих (5 із 8, що становить 62,5 %) у IV стадії тривалий час отримували антиретровірусну терапію (АРТ), вплив якої позначився суттєвим зниженням рівня ВН порівняно із хворими в III стадії, серед яких тільки 4 жінки (26,67 %) отримували АРТ. Тому

у них спостерігали ВН, яке перевищувало рівень ВН у хворих в IV стадії ВІЛ-інфекції.

При вивченні цитокінового статусу хворих в III стадії, порівняно з хворими в I і II стадіях ВІЛ-інфекції, відмічали зниження вмісту ІЛ-2 (відповідно $0,59 \pm 0,76$ проти $8,92 \pm 1,15$ і $9,38 \pm 1,34$ пг/мл, $p_2 < 0,001$, $p_3 < 0,001$) на тлі стабільно підвищеного вмісту ІЛ-4, який спостерігали в I, II та III стадіях (відповідно $1,81 \pm 0,12$, $1,99 \pm 0,08$ і $1,84 \pm 0,37$ пг/мл, $p_2 > 0,05$, $p_3 > 0,05$). В IV стадії хвороби, порівняно із III стадією, відбувалось підвищення рівня ІЛ-2 ($1,91 \pm 0,93$ проти $0,59 \pm 0,76$ пг/мл, $p_4 < 0,01$), що, можливо, пов'язано з впливом АРТ. У цій стадії продовжував підвищуватись рівень ІЛ-4 ($2,17 \pm 0,20$ проти $1,84 \pm 0,37$ пг/мл в III стадії, $p_4 < 0,05$).

Вище описані зміни імунного статусу в III стадії ВІЛ-інфекції відображають дисбаланс запальної і

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

протизапальної цитокинових систем на тлі різкого зниження кількості CD4+Т-лімфоцитів, зростання ВН. Зниження ІЛ-2 пов'язане із зниженням резервів імунної системи через втрату клітин-продуцентів – Тх 1 типу. Підвищення вмісту ІЛ-4 призводить до пригнічення диференціювання Т-клітин в Тх 1 типу, активації Тх 2 типу і переключення імунної відповіді з Т-клітинної на В-клітинну, гуморальну з розвитком імунологічної толерантності до ВІЛ і інших збудників-опортуністів, зокрема герпесвірусів. При поглибленні Т-клітинного імунодефіциту надмірний синтез антитіл різних класів на тлі високої вірусемії не забезпечує ефективну нейтралізацію антигенів. Тому в ІІІ стадії ВІЛ-інфекції наростають імунопатологічні процеси, які призводять до прогресування хвороби в СНІД. Це означає, що імунореабілітаційні заходи за допомогою АРТ та імунозамісної терапії слід розпочинати саме в ІІІ стадії хвороби. В ІV стадії на тлі АРТ хоч і пригнічується реплікація ВІЛ, однак імунореабілітація має неповноцінний характер, так як є недостатньою кількістю CD4+Т-лімфоцитів, зберігається цитокиновий дисбаланс з перевагою протизапального ІЛ-4.

При дослідженні корелятивних зв'язків встановлено зворотний зв'язок середньої сили між показниками ІЛ-2 і CD4+Т-лімфоцитами ($r = -0,418$) та слабкий зворотний зв'язок між ІЛ-4 і CD4+Т-лімфоцитами ($r = -0,172$), ІЛ-4 та ІЛ-2 ($r = -0,197$). Корелятивні зв'язки висвітлюють взаємовідношення між ІЛ-2 та ІЛ-4. Слід думати, що підвищений рівень ІЛ-2 у хворих з І і ІІ стадіями ВІЛ-інфекції пов'язаний із сильною специфічною імунною відповіддю через активацію ще достатньо великого пулу CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів (продуцентів ІЛ-2) у відповідь на вірусемію. В подальшому різке зниження кількості CD4+Т-лімфоцитів призводить до зниження рівня ІЛ-2. Повторне його підвищення на тлі низьких показників CD4+Т-лімфоцитів в ІV стадії пов'язане з призначенням АРТ, яка обумовлює швидке зниження вірусемії. Внаслідок цього відбувається розблокування рецепторів імунокомпетентних клітин з розвитком синдрому відновлення імунної системи. Такі хвилеподібні коливання вмісту ІЛ-2 спричиняють негативний кореляційний зв'язок даного цитокіну з показником CD4+Т-лімфоцитів.

Висновки

1. У хворих з ВІЛ-асоційованою ГІ активується як прозапальна, так і протизапальна цитокинова система з підвищенням вмісту ІЛ-2 та ІЛ-4.

2. Найбільшим імунним дисбалансом вирізнялись хворі в ІІІ стадії хвороби: зростання вірусного навантаження, зниження кількості CD4+ Т-лімфоцитів і специфічної клітинної імунної відповіді за показниками ІЛ-2 на тлі зростання вмісту ІЛ-4. Останній має імуносупресивну дію, сприяє диференціації Тх 2 типу. Такі зміни свідчили про переключення імунної відповіді з клітинної ланки на гуморальну, розвиток імунологічної толерантності до ВІЛ, герпесвірусів, інших опортуністів.

3. Застосування АРТ у хворих з ІV стадією ВІЛ-інфекції дає змогу контролювати вірусне навантаження, покращити показники клітинного імунітету, активувати синтез ІЛ-2. Однак повної імунореабілітації на тлі АРТ не відбувалось, залишалися зниженими показники CD4+Т-лімфоцитів, а тому зберігалась можливість розвитку опортуністичних інфекцій, зокрема ГІ.

Література

1. Исаков В.А. Герпесвирусная инфекция: [руководство для врачей] / В.А. Исаков, С.Б. Рыбалкин, М.Г. Романцов. – СПб: Тиктак-Студио, 2006. – 96 с.
2. Казмирчук В.Е. Клиника, диагностика и лечение герпесвирусных инфекций человека / В.Е. Казмирчук, Д.В. Мальцев. – Киев: Феникс, 2009. – 247 с.
3. Бабій Н.О. Ко-інфекції вірусного генезу у хворих на ВІЛ-інфекцію / Н.О. Бабій, А.М. Щербинська // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 2. – С. 23-26.
4. Казмирчук В.Е. Клінічна імунологія та алергологія / В.Е. Казмирчук, Л.В. Ковальчук. – Вінниця: Нова книга, 2006. – 526 с.
5. Малий В.П. СПИД-ассоциированные инфекции и инвазии: Учебное пособие / В.П.Малий, И.С. Кратенко. – Харьков: Фолио, 2007. – 287 с.
6. Запорожан В.М. ВІЛ-інфекція і СНІД / Запорожан В.М., М.Л. Аряев. – 2-ге видання, перероб. і доп. – Київ: Здоров'я, 2004. – 636 с.
7. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот, А. Роит. – Москва: Логосфера, 2007. – 556 с.

CYTOKINE STATUS OF PATIENTS WITH HIV-ASSOCIATED HERPES INFECTION

T.V. Vepryk, H.B. Mateyko

SUMMARY. It was studied the cytokine status of patients with HIV-associated GI according to the content of IL-2 and IL-4 with the consideration of clinical stages of HIV infection. Activation of both proinflammatory and anti-inflammatory effect of cytokine system with the increasing of IL-2 and IL-4 concentrations was defined. The most pronounced immune imbalance observed in patients with the third stage of disease: reduction of specific cellular

immune response on IL-2 indicators on the rising content of IL-4, which testified its switching with the development of humoral immunological tolerance to HIV herpesvirusiv. The using of ART by patients with IV stage of HIV infection allows us to control viral load, to improve the parameters of cellular

immunity and to activate the synthesis of IL-2. However, the full immunorehabilitation on the background of ART was not occurred.

Key words: HIV-associated GI, cytokine status.

Отримано 20.01.2012 р.

© Йосик Я.І., 2012

УДК 616.2-022.6+616.921.5/.988.5]-092.19-07

Я.І. Йосик

ДОСЛІДЖЕННЯ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ПАРАГРИПІ, АДЕНОВІРУСНІЙ ТА РЕСПІРАТОРНО-СИНЦИТІАЛЬНІЙ ІНФЕКЦІЯХ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Визначено стан гуморального імунітету при парагрипі, аденовірусній, респіраторно-синцитіальній інфекції за допомогою імуноферментного аналізу. Серологічні методи обстеження при уточненні етіологічного діагнозу були додатковими. При всіх досліджених інфекціях у гострому періоді хвороби встановлено зростання вмісту специфічних IgA, IgM і їх зниження в період реконвалесценції. Відповідні IgG виявляли майже у всіх хворих вже при госпіталізації.

Ключові слова: ГРВІ, серологічні дослідження, IgA, IgM, IgG.

Вірусні інфекції дихальних шляхів найбільш поширені серед хвороб людини. У структурі інфекційної захворюваності майже 70 % припадає на гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ). До 90 % населення щонайменше один раз на рік хворіє на одну з цих інфекцій [1].

Для встановлення етіологічного діагнозу ГРВІ розроблена й широко впроваджена в практику специфічна діагностика – виявлення антигенів збудників методом флуоресціюючих антитіл (МФА), імунохроматографічного аналізу (ІХА), визначення їх генетичного матеріалу в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР), а також серологічної відповіді на віруси грипу (ІФА, РЗК, РГГА та ін.) [2]. У доступній літературі робіт стосовно стану гуморального імунітету при ГРВІ (крім грипу) нам знайти не вдалося.

Мета роботи – дослідити стан гуморального імунітету у хворих на ГРВІ до вірусів парагрипу, респіраторно-синцитіального, аденовірусу.

Пацієнти і методи

Під спостереженням перебувало 55 хворих віком від 18 до 73 років, які лікувались стаціонарно з приводу грипу та інших ГРВІ під час сезонного підвищення захворюваності на ГРВІ (2010-2011 рр.). Чоловіків було 60 %, жінок – 40 %. За ступенем тяжкості хворі розподілені таким чином: тяжкий перебіг хвороби у 28 (50,9 %), середньотяжкий – у 26 (47,3 %), легкий – в 1 (1,8 %). Ускладнений перебіг ГРВІ був у 9 (16,4 %) хворих (пневмонія у 8, пієлонефрит – в 1), неускладнений – у 46 (83,6 %). Хворі були госпіталізовані з 1-го по 12-й день від початку хвороби, з них 8 – після 5-ї доби.

Для виявлення збудника у хворих забирали мазок із носа і ротоглотки й досліджували методом ПЛР на 12 різних вірусів респіраторної групи (апарат Rotor-Gene 6000, зареєстровані в Україні системи фірми «Амплі-Сенс», Росія), а також МФА (тест-системи виробництва НДІ епідеміології та мікробіології ім. Пастера, СПб, Росія).

Антитіла (IgA, IgM, IgG) у сироватці крові до вірусів парагрипу, респіраторно-синцитіального (RS) та аденовірусів визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-систем «DRG» (Німеччина). Серологічні дослідження здійснювали в динаміці, першу сироватку забирали в момент госпіталізації, другу –