

ПРОФИЛЬ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

М.В. Шипилов¹, В.В. Иванов²

¹Клиническая больница №1, г. Смоленск

²Консультативно-диагностическая поликлиника №1, г. Смоленск

Исследована сыворотка крови больных аденовирусной инфекцией (n=17). Выявлены изменения цитокиновой сети в виде достоверного повышения в остром периоде заболевания IFN- γ , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 и IL-17. В периоде реконвалесценции отмечен высокий уровень IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-17.

Ключевые слова: цитокины, цитокиновый статус, интерлейкины, аденовирусная инфекция

CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH ADENOVIRAL INFECTION

M.V. Shipilov, V.V. Ivanov

Investigated the serum of patients with adenoviral infection (n = 17). Changes of cytokine circuit in a significant increase in the acute period of disease IFN- γ , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-17. Period of convalescence marked by high levels of IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-17.

Key words: cytokines, cytokine status, interleukins, adenoviral infection

Актуальность. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) были и остаются одной из самых актуальных проблем здравоохранения не только в России, но и во всем мире. Это обусловлено стабильно высоким уровнем заболеваемости всех возрастных групп населения (как детей, так и взрослых), особенно среди лиц с фоновой патологией. Среди ОРВИ особое место занимает аденовирусная инфекция (АДВИ), которая характеризуется нередко тяжелым течением с вовлечением в инфекционный процесс различных органов и тканей (дыхательных путей, конъюнктивы, миндалин, лимфатических узлов, печени, селезенки и др.), возможным развитием осложнений на различных стадиях заболевания [1].

В последнее время выяснено, что клиническое течение АДВИ в популяции людей, наряду с патогенным действием вируса, связано также с определенным типом реагирования иммунной системы, основным звеном которой являются регуляторные белки – цитокины [1, 2]. Данные белки вырабатываются преимущественно эффекторными клетками крови и явля-

ются универсальными регуляторами, контролирующими важнейшие процессы клеточного гомеостаза [3-5].

Цитокины относятся к группе факторов межклеточного взаимодействия, активно участвующих в формировании и регуляции иммунных реакций в месте воспаления, таких как дифференцировка клеток-предшественников иммунной системы, активация клеток, представление антигена, пролиферация, экспрессия молекул адгезии и синтез острофазовых белков (белков воспаления). Помимо этого, цитокины оказывают влияние на многие жизненно важные процессы, протекающие в организме человека: поддержание температуры на строго определенном уровне, биологического ритма, аппетита, сна и т.п., в связи с чем в настоящее время цитокиновую сеть рассматривают как отдельную биологическую мультисистему, предназначенную для контроля клеточного гомеостаза основных систем организма: иммунной, кровяной, нервной, эндокринной и др. [3-5].

По биологическому действию цитокины можно условно разделить на провоспалитель-

ные (TNF- α , IFN- γ , IFN- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 и др.) и противовоспалительные (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β и др.). Цитокины характеризуются сложным сетевым характером функционирования, т.е. один цитокин активирует выработку другого, который, в свою очередь индуцирует выработку третьего и четвертого. При этом, третий и четвертый фактор влияют на выработку первого [3, 5].

В доступной нам литературе оказались единичные работы по изучению цитокинов при аденовирусном поражении. Так, в эксперименте, повышенная продукция IL-17 в легких была выявлена при интраназальном инфицировании мышей аденовирусом [2]. Повышенный уровень IFN, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 и TNF- α был обнаружен в крови больных АДВИ [1].

Целью настоящей работы было уточнение состояния основных звеньев цитокиновой сети у больных АДВИ с определением возможной патогенетической и прогностической роли данных факторов.

Материалы и методы. Для исследования концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных АДВИ нами было обследовано 17 больных в форме средней тяжести в возрасте 15-54 лет. Забор крови производили в остром периоде (1-2 день болезни) и периоде реконвалесценции (на 7-9 день болезни). Диагноз подтверждали с помощью реакции непрямой гемагглютинации (выявлением специфических антител с ростом их титра в 4 и более раз). Уровень цитокина определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа коммерческими тест-системами ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) [6].

Результаты клинических и лабораторных исследований были внесены в специально разработанные карты индивидуального обследования пациентов с последующим представлением в виде электронных таблиц Microsoft Excel 2007. Статистическая обработка результатов исследований была проведена с использованием пакета StatGraphics 15.0.

Нормальность распределения вариационных рядов (соответствие закону Гаусса) проверяли с помощью критериев согласия Колмогорова-Смирнова, Пирсона и Шапиро-Вилкса, одного из самых мощных критериев нормальности [7]. При выполнении гипотезы нормальности распределения в качестве точечной оценки характеристики центра группирования

значений случайной величины использовалось выборочное среднее (M_0). В случае нормального распределения каждой из выборок межгрупповые различия выявляли при помощи t-критерия Стьюдента и точного критерия Фишера для сравнения дисперсий [7, 8].

Наиболее часто распределение рядов не соответствовало критериям нормальности, что согласуется с литературными данными. Так, по некоторым данным [8], только 20% распределений количественных признаков, встречающихся в медико-биологических исследованиях, являются приближенно нормальными. При не выполнении гипотезы нормальности распределения в соответствии с рекомендациями [8] были использованы методы непараметрической статистики. В частности, в качестве точечной оценки характеристики центра группирования значений случайной величины использовали медиану (Me) – показатель, наименее подверженный влиянию со стороны индивидуальных колебаний признака [7, 8]. Между собой выборки сравнивали с помощью непараметрических критериев: Вилкоксона-Манна-Уитни – рангового критерия, хорошо приспособленного для анализа малых выборок, а также двухвыборочного критерия Колмогорова-Смирнова [7, 8].

Содержание IL-4, IL-10 и IL-17 в крови большинства пациентов было ниже порога чувствительности метода лабораторного анализа [6], вследствие чего выборки с результатами лабораторных анализов имели «0» в большинстве позиций. Это обстоятельство привело к нулевому значению оценки медианы ($Me = 0$) и невозможности сравнения выборки по данному параметру [7]. С учётом того, что содержание этих лимфокинов в крови пациентов было распределено по экспоненциальному закону (в связи с выполнением критерия экспоненциальности распределения Шапиро-Уилка [7]), в качестве точечной оценки характеристики центра группирования значений данных факторов мы использовали выборочное среднее (M_0) [6-8].

Уровень значимости при проверке всех статистических гипотез – $p \leq 0,05$ (доверительная вероятность $> 0,95$).

Контролем служила кровь 17 здоровых доноров в возрасте 19-40 лет.

Результаты и их обсуждение. В остром периоде заболевания выявлено статистически значимое повышение содержания провоспалительных цитокинов (табл.), что обусловлено

развитием воспалительного процесса: резкое повышение IL-6 и IL-8; также оказались повышенными IFN- γ , IL-17. К тому же, отмечена активация противовоспалительного звена иммунитета в виде трех-четырёхкратного повышения концентрации IL-1ra, IL-4, резкого увеличения уровня IL-10. Отмечена тенденция к по-

вышению уровня IFN- α в остром периоде заболевания и IL-2, но она не носила достоверного характера.

Для наиболее мощных провоспалительных цитокинов, относящихся к монокинам (TNF- α и IL-6), была характерна динамика с уменьшением их уровня к периоду реконвалесценции,

Таблица

Сравнительная характеристика концентрации цитокинов в сыворотке крови больных АДВИ, пг/мл

Цитокины	Медиана или среднее значение фактора, пг/мл n – число обследованных пациентов		Контроль, пг/мл
	Острый период	Реконвалесценция	
TNF- α	Me = 0,8 (0 - 5,1), n = 12	Me = 0 (0 - 1,4) ^{*#} , n = 16	Me = 0,5 (0 - 6,5), n = 17
IFN- γ	Me = 0,12 (0 - 111,9) [#] , n = 17	Me = 0,25 (0 - 12,8) ^{*#} , n = 12	Me = 0 (0 - 10,6), n = 17
IFN- α	Me = 5,8 (0 - 148), n = 17	Me = 2,95 (0 - 51,6), n = 12	Me = 0,85 (0 - 8,6), n = 16
IL-1 β	Me = 0,6 (0 - 18,1), n = 17	Me = 0,85 (0 - 14,5), n = 12	Me = 0,8 (0 - 6,0), n = 17
IL-1ra	Me = 1863,35 (360,6 - 3000) [#] , n = 16	Me = 1057,75 (284,5 - 3000), n = 12	Me = 619,55 (74,7 - 3000), n = 16
IL-2	Me = 1,4 (0 - 48,9), n = 17	Me = 2,15 (0 - 64,7), n = 12	Me = 0,5 (0 - 8,8), n = 17
IL-4	M = 0,096 [#] , n = 16	M = 0,472 ^{*#} , n = 12	M = 0,021, n = 16
IL-6	Me = 21,15 (0 - 86,0) [#] , n = 16	Me = 3,45 (0 - 8,2) [*] , n = 12	Me = 0,3 (0 - 147,8), n = 17
IL-8	Me = 51,6 (3,6 - 250) [#] , n = 17	Me = 11,85 (1,9 - 250), n = 12	Me = 8,3 (0,2 - 250,0), n = 17
IL-10	M = 30,642 [#] , n = 16	M = 9,247 [#] , n = 12	M = 5,970, n = 17
IL-17	M = 4,556 [#] , n = 16	M = 4,825 ^{*#} , n = 12	M = 0,438, n = 16

Примечание:

* – достоверные различия показателей в динамике заболевания ($p < 0,05$)

– достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$)

нередко ниже нормы, что подтверждает истощение компенсаторных возможностей иммунокомпетентных клеток с течением времени. В реконвалесцентном периоде заболевания выявлено статистически значимое повышение содержания лимфокинов: IFN- γ , IL-17, IL-10. Тенденцией к повышению также характеризовались уровни IL-2. К периоду реконвалесценции зарегистрирована нормализация уровня монокинов, таких как IFN- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-18. Уровнем ниже контрольных цифр характеризовалась концентрация TNF- α в том же периоде.

Динамика с достоверным повышением содержания лимфокинов была выявлена у IFN- γ , IL-4, IL-17. Однако у части цитокинов данная динамика не носила достоверного характера: IL-1 β , IL-2, IL-18.

Выводы. Высокий уровень монокинов IL-1 α , IL-6 и IL-8 в остром периоде заболевания с нормализацией в периоде реконвалесценции подтверждает участие данных цитокинов преимущественно на ранних этапах инфекционного процесса. Отсутствие достоверного повышения лимфокина IL-2 и монокинов IFN- α , IL-1 β , IL-18 в крови, по-видимому, объясняется наличием достаточных компенсаторных возможностей клеточных популяций, синтезирующих данные белки.

Выявленные изменения цитокиновой сети

подтверждают активное участие моноцитов/макрофагов в остром периоде АДВИ (в фазах распознавания и активации инфекционного процесса), в то время как реконвалесценция характеризовалась, прежде всего, активацией Т-клеточного звена иммунитета (Th1-, Th-2 и Th17-лимфоцитов), что соответствует фазе восстановления.

Заключение. Таким образом, необходима комплексная оценка как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов в течение заболевания. Соотношение провоспалительных и противовоспалительных медиаторов во многом определяет особенности формирования, развития и прекращения воспалительного процесса. Только их адекватный баланс способствует, с одной стороны, эффективному уничтожению аденовируса, с другой – отсутствию повреждения органов и тканей (при избытке провоспалительных цитокинов) как в месте воспаления, так и во всем организме человека.

Полученные данные о состоянии основных факторов цитокиновой сети в норме и у больных АДВИ различного генеза были использованы при разработке экспертных систем «Экспресс-диагностика и прогноз течения ОРВИ», «Нарушения функционирования цитокиновой сети у больных ОРВИ» и «Рекомендации по лечению больных ОРВИ» [9-11].

Литература

1. Климова Ю.А. Клиническое течение и цитокиновый статус при аденовирусной и респираторно-синцитиальной вирусной инфекциях у взрослых: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2011.
2. Hurst S.D., Muchamuel T., Gorman D.M. et al. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: in vivo function of the novel cytokine IL-25. *J. Immunol.* 2002; 169 (1): 443-53.
3. Иванов А.А., Гладких О.П., Кузнецова А.В., Данилова Т.И. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в патологии. *Молекулярная медицина.* 2005; 2: 16-21.
4. Нагоев Б.С., Нагоева М.Х., Камбачокова Э.А.

О роли цитокинов в регуляции иммунной системы при инфекционных заболеваниях. Материалы III Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 28-30 марта 2011 года). *Инфекционные болезни.* 2011; М., 2011. С. 260.

5. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. *Цитокины и воспаление.* 2002; 1: 9-17.

6. Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Тимофеева Н.В., Рукавишников М.Ю. Определение цитокинов методом иммуноферментного анализа. *Информационный бюллетень «Новости "Вектор-Бест"»*, 2004; 4 (34).

7. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников. М., 2006.

8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2002.

9. Усков А.А., Иванов В.В., Шипилов М.В. Интерфейс экспертной системы «Экспресс-диагностика и прогноз течения ОРВИ». Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ в Федеральной службе по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам РФ № 2011615981 от 02.08.2011.

10. Усков А.А., Иванов В.В., Шипилов М.В.

Интерфейс экспертной системы «Нарушения функционирования цитокиновой сети у больных ОРВИ». Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ в Федеральной службе по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам РФ № 2011618451 от 27.10.2011.

11. Усков А.А., Иванов В.В., Шипилов М.В. Интерфейс экспертной системы «Рекомендации по лечению больных ОРВИ». Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ в Федеральной службе по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам РФ № 2011618450 от 27.10.2011.

Информация об авторах:

Шипилов Михаил Васильевич – заведующий инфекционным отделением №2
ОГБУЗ "Клиническая больница №1" г. Смоленска, к.м.н.
Тел.: +79107671313. E-mail: mshipilov@rambler.ru.

Иванов Виктор Викторович – врач-инфекционист
ОГБУЗ "Консультативно-диагностическая поликлиника №1" г. Смоленска, к.м.н.
Тел.: 8(812)35-33-42. E-mail: med_infect@land.ru.