УДК 616.36-002-036.12-071-097.3

АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА ПРИ РЯДЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Притулина Ю.Г., Криворучко И.В., Шенцова В.В., Филь Г.В., Астапченко Д.С., Сахарова Л.А.

ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России», Воронеж, e-mail: dastapchenko@mail.ru

В последние годы открытие цитокинов и изучение их роли в патогенезе широкого круга заболеваний определили приоритеты их исследования при различной патологии, в том числе при инфекционных заболеваниях. В данной статье приводится анализ цитокинового статуса различных биологических жидкостей и динамики его показателей при ряде инфекционных заболеваний. Данная работа проведена на кафедре инфекционных болезней ВГМА им. Н.Н. Бурденко с целью изучения динамики показателей цитокинового профиля в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов у больных хроническим гепатитом В и хроническим гепатитом С; исследования местного цитокинового статуса носоглоточного секрета и слюны у пациентов с гриппом; а также анализа уровня цитокинов в буллезном экссудате у больных рецидивирующей рожей. В исследование включены 268 человек, которые были разделены на четыре группы.

Ключевые слова: цитокиновый статус, хронический вирусный гепатит С, рожа, грипп

ANALYSIS OF CYTOKINE STATUS IN A NUMBER OF INFECTIOUS DISEASES

Pritulina Y.G., Krivoruchko I.V., Shentsova V.V., Fil G.V., Astapchenko D.S., Saharova L.A.

Voronezh State Medical Academy n.a. N.N. Burdenko, Voronezh, e-mail: dastapchenko@mail.ru

In recent years the discovery of cytokines and the study of their role in the pathogenesis of a wide range of diseases defined priorities of their research for various diseases, including infectious diseases. This article provides an analysis of cytokine status of various biological liquids and dynamics of the indices for a number of infectious diseases. This study was carried out at the Department of infectious diseases VSMA them. N.N. Burdenko to study the dynamics of the indicators of cytokine profile in patients with chronic hepatitis b and chronic hepatitis C; research of the local cytokine status of nasopharyngeal secretions, and saliva from patients with influenza; and analysis of the level of cytokines in буллезном exudate in patients recurrent erysipelas. The study included 268 people, who were divided into four groups.

Keywords: cytokine status, chronic viral hepatitis C, erysipelas, flu

В последние годы открытие цитокинов и изучение их роли в патогенезе широкого круга заболеваний определили приоритеты их исследования при различной патологии, в том числе при инфекционных заболеваниях. В клинической практике исследование цитокинового статуса позволяет оценить характер течения процесса и прогнозировать исход заболевания при многих инфекциях, объективно оценить эффективность терапии, особенно в случаях применения средств с иммуномодулирующей и иммунокоррегирующей активностью, а так же цитокины отражают индивидуальную первичную реакцию на этиотропный агент [2, 3, 5].

Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма, они вовлечены фактически в каждое звено иммунитета [4, 5, 7]. Для цитокинов характерен сложный сетевой характер функционирования, при котором продукция одного из них влияет на образование или проявление активности ряда других. В связи с этими особенностями биосинтеза и регуляции цитокинов они не всегда определяются в циркулирующей крови.

Диагностическая значимость оценки уровня цитокинов заключается в констатации самого факта его повышения или понижения у данного больного с конкретным заболеванием, причем для оценки тяжести и прогнозирования течения заболевания целесообразно определять концентрацию как про- так и противовоспалительных цитокинов в динамике развития патологии.

Кроме исследования содержания цитокинов в сыворотке крови и других биологических жидкостях (слюне, моче, бронхоальвеолярной жидкости, конденсате выдыхаемого воздуха, жидкости пародонтального кармана, слезной и стекловидной жидкостях, синовиальной жидкости и др.), дополнительную информацию получают при изучении способности клеток к продукции цитокинов.

Среди воспалительных цитокинов важнейшее значение имеют фактор не-

кроза опухоли–альфа (ФНО-α), интерлейкин–1 (ИЛ–1), ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-12, которым «противостоят» противовоспалительные цитокины ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-13. Лекарственные средства, направленные на подавление провоспалительных цитокинов, теоретически должны восстанавливать баланс между про– и противовоспалительными цитокинами [7, 8].

К настоящему времени накоплено достаточно фактов, свидетельствующих о наличии тесного взаимодействия между уровнем содержания цитокинов в сыворотке крови и других биологических жидкостях и клиническими характеристиками инфекционного процесса. В связи с этим постоянно расширяется диапазон инфекционной патологии, при котором изучается уровень и динамика цитокинов методом иммуноферментного анализа (ИФА) или биотестов [1, 4, 6]. Изучение цитокинового статуса позволит оценить характер течения инфекционного процесса, прогнозировать исход заболевания и оценить эффективность терапии.

На кафедре инфекционных болезней ВГМА им. Н.Н. Бурденко проведены исследования по изучению цитокинового статуса и динамики его показателей при ряде инфекционных заболеваний.

Цель исследования: изучение динамики показателей цитокинового профиля в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов у больных хроническим гепатитом В (ХГВ), хроническим гепатитом С (ХГС); исследование местного цитокинового статуса носоглоточного секрета и слюны у пациентов с гриппом; анализ уровня цитокинов в буллезном экссудате у больных рецидивирующей рожей.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 268 человек, которые были разделены на четыре группы. Первую группу – 17 больных – составили пациенты с диагнозом «Хронический вирусный гепатит В средней тяжести» – 12 мужчин и 5 женщин в возрасте от 25 до 63 лет.

Вторую группу составили пациенты с диагнозом «Хронический вирусный гепатит С средней тяжести» – 25 больных (18 мужчин и 7женщин в возрасте от 19 до 58 лет).

В третью группу включены 132 человека (89 мужчин и 43 женщины, возраст обследуемых варьировал от 18 до 65 лет) с диагнозом «Грипп А (H1N1)swl».

Четвертую группу составили 94 пациента в возрасте от 48 до 64 лет (59 женщины и 35 мужчины) с диагнозом «Рецидивирующая рожа эритематозно-буллезной формы, среднетяжелое течение».

Контрольную группу составили 89 пациента (60женщин и 29 мужчин).

Пациентам первой группы с диагнозом ХВГВ проводилось лечение телбивудином (Себиво) 600 мг в сутки в течение 60 недель. До момента обследования больные не получали противовирусной терапии (ПВТ).

Во второй группе пациентов с диагнозом «ХВГС средней тяжести» проводили общепринятую базисную терапию, на фоне которой больные получали пегасис в сочетании с ребетолом (рибаверин) в терапевтических дозах в зависимости от массы тела в течение 12 недель (3 месяцев).

Всем больным проводилось исследование цитокинового профиля на системном (в сыворотке крови) и локальном (в супернатантах гепатобиоптатов) уровнях. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определялся уровень провоспалительных цитокинов, таких как ФНО-α, ИЛ- 2, и противовоспалительных цитокинов – ИЛ-10, ИЛ-4. Для определения уровня цитокинов на локальном уровне использовались гепатобиоптаты, полученные после проведения пункционной биопсии печени.

Третья группа больных – пациенты с диагнозом «Грипп А (H1N1)swl»- получали новую схему противовирусной терапии гриппа А (H1N1): сочетали противовирусные средства (Ингавирин® внутрь (по 90 мг (1 капсула) 1 раз в день, курс лечения – 5 дней) и Эргоферон (таблетки для рассасывания)). Эргоферон®, включенный в комплексную схему, назначали по 2 таблетки 4 раза в день (в первый день), со второго по пятый дни – по 1 таблетке 3 раза в день. Для характеристики местного цитокинового статуса количественно определяли в слюне и носоглоточном секрете ФНО-α, ИНФ-γ, ИНФ-α, ИЛ-2 и ИЛ-10 методом ИФА.

Четвертая группа наблюдаемых пациентов с рецидивирующей рожей эритематозно – буллезной формы среднетяжелого течения была разделена на две подгруппы в зависимости от варианта проводимой терапии. Первая подгруппа – 56 пациентов – получали на фоне традиционного лечения озонированный физиологический раствор ежедневно в течение 5 дней в сочетании с низкоинтенсивной лазеротерапией на воспалительный очаг, магистральный сосудистый пучок и регионарные лимфатические узлы, один раз в сутки, курс – 10 процедур.

Больным второй подгруппы – 38 человек – в дополнение к традиционной схеме назначалась внутривенная озонотерапия (инфузия озонированного физиологического раствора в течении 5 дней) в сочетании с иммуномодулятором «Суперлимф» (ежедневные однократные аппликации на эрозивную поверхность вскрытой буллы в течении 2-3 дней). Контрольную группу составили 89 пациентов , получавших только традиционную терапию.

Всем пациентам обеих подгрупп с диагнозом «Рецидивирующая рожа эритематозно-буллезная форма» проводилось определение уровня цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-10) в буллезном экссудате до начала лечения и на фоне проводимой терапии. Концентрация цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-10) в содержимом булл определялась методом ИФА.

При анализе полученных результатов использовались описательные методы математической статистики с применением пакета программ Microsoft Excel 2010. В процессе обработки полученных результатов применялся также метод корреляционного анализа с выявлением прямых достоверных корреляционных связей и определения коэффициента корре-

ляции (К). Достоверность различий оценивалась методами непараметрической статистики, критический уровень значимости (р) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Динамика показателей цитокинового профиля в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов у больных ХГВ были следующими.

Значения цитокинов TNO-α, IL–10 и IL-4 в сыворотке крови больных после 3-х месяцев проведенного лечения снизились в 3,3-4,3 раза, IL-2 повысились в 1,9-2,2 раза от исходного уровня. Через 6 месяцев противовирусной терапии уровень данных показателей улучшился в 3,9–4,7 раз, 2,0–2,7 раз соответственно. Через 9 месяцев терапии исследуемые показатели имели нормальные значения у 82,4% больных. Уровень TNO-α, IL–10 и IL-4 в супернатантах гепатобиоптатов после проведенного курса противовирусной терапии снизился в 2,8–3,7 раз от исходных значений, напротив, концентрация IL-2 повысилась в 2,6–3,8 раза. После базисной терапии уровень цитокинового профиля претерпевал положительные изменения только после 9 месяцев лечения.

Таким образом, дополнительным методом оценки эффективности противовирусной терапии больных ХГВ могут быть показатели, отражающие дисбаланс цитокинового профиля в сыворотке крови и биоптатах печени.

При изучении показателей цитокинового профиля в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов у больных ХГС на фоне проводимой противовирусной терапии получены следующие данные. Содержание цитокинов TNO-α, IL–10 и IL-4 в сыворотке крови больных после проведенного лечения снизилось в 2,5-4 раза, IL-2 повысился в 1,5-2 раза от исходного уровня. Уровень TNO-α, IL–10 и IL-4 в супернатантах гепатобиоптатов снизился в 3,5–4,5 раза от исходных значений, а концентрация IL-2 повысилась в 1,5–2 раза. После базисной терапии уровень цитокинового профиля претерпевал такие же изменения только после 6-ти месяцев лечения.

Проведенные исследования демонстрируют, что дополнительным критерием эффективности противовирусной терапии больных ХГС является динамика уровней TNO-α, IL–10, IL-4, IL-2 в сыворотке крови и гепатобиоптах печени.

При изучении цитокинового статуса носоглоточного секрета и слюны у пациентов с гриппом были установлены следующие показатели. В дебюте заболевания установлена активация местных провоспалительных процессов в слизистой полости рта и носа, что демонстрируют высокие уровни ИЛ-2 в слюне (1047,83±19,24 пг/мл) и носоглоточном секрете (1360,45±25,66 пг/мл). В сыворотке крови при этом отмечается меньший в 6,5 раз уровень провоспалительного ИЛ-2 (370,40±21,14) относительно концентрации в секретах. Прямую корреляционную связь имеют ИЛ-2 и ИНФ-γ с концентрацией противовоспалительного ИЛ-10 в слюне и крови, т.е. локальное возрастание концентраций агрессивных провоспалительных факторов (ИЛ-2 и ИНФ-γ) при гриппе сопровождается системным увеличением противовоспалительных агентов. Также получена корреляция между содержанием ИЛ-10 и ИНФ-α в сыворотке крови и слюнной жидкости. Статистически значимые различия уровня ИНФ-α в слюне и носоглоточной секрете не выявлены. Автономный иммунный ответ показал корригирующее влияние этиотропной терапии.

Таким образом, учет динамики показателей про- и противовоспалительных профилей цитокинов в слюне у больных гриппом дает возможность характеризовать реакцию иммунной системы при данной патологии, прогнозировать течение заболевания, проводить адресную коррекцию лечения. Результаты изучения динамики показателей цитокинового профиля буллезного экссудата у пациентов с рецидивирующей рожей на фоне лазеро- и озонотерапии были следующими.

У больных на фоне традиционной терапии наблюдалось незначительное статистически недостоверное снижение от исходного уровня концентрации провоспалительных цитокинов ФНО-α с 32,17±3,19 до 23,78±2,07 пг/мл, ИЛ-1β с 129,48±13,64 до 109,56±12,34 пг/мл и статистически недостоверное повышение ИЛ-10 с 77,13±16,37 до 98,32±16,31 пг/мл, ($p<0,05$).

У больных с рецидивирующей рожей на фоне комбинированной терапии (озон+лазер) наблюдалось достоверное снижение концентрации провоспалительных цитокинов ФНО-α с 32,64±4,19 до 10,51±1,29 пг/мл; $p<0,05$, ИЛ-1β с 127,83±12,71 до 57,37±9,67 пг/мл; $p<0,05$ и достоверное повышение ИЛ-10 с 82,78±15,43 до 219,12±12,14 пг/мл; $p<0,05$.

В ходе проведенных исследований впервые в буллезном содержимом определена концентрация ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-10. У больных с буллезными формами рожи выявлено повышение в буллезном содержимом уровня провоспалительных (ФНО-α, ИЛ-1β) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов, что имеет прогностическое значение в оценке течения болезни и эффективности проводимой терапии.

Анализируя параметры уровней про- и противовоспалительных цитокинов в буллезном экссудате у пациентов с рецидивирующей буллезной рожей на фоне системной озонотерапии и иммуномодулятора «Суперлимф», были получены следующие данные.

Впервые изучен количественный уровень провоспалительных (ИЛ-1β, ФНО-ά) цитокинов и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокина в буллезном экссудате. Показатели, иллюстрирующие влияние комбинации озонотерапии с суперлимфом в сравнении с традиционной терапией на цитокиновый спектр экссудата булл, следующие.

На фоне комбинированной терапии с применением озона и суперлимфа отмечается более выраженная коррекция уровней изучаемых цитокинов по сравнению с влиянием традиционного лечения. Так, количество провоспалительных цитокинов значительно снизилось: ФНО-ά уменьшился в 2,5 раза, ИЛ-1β – в 4,5 раза. Противовоспалительный ИЛ-10 возрос в 2,9 раза по сравнению с традиционным лечением. У пациентов, которым проводилась традиционная терапия, содержание исследуемых цитокинов изменялось статистически значимо в позитивную сторону, однако количество ФНО-ά, ИЛ-1β, ИЛ-10 в буллах на фоне комбинированного лечения статистически достоверно ($p<0,05$) более значимо отличается от уровня данных цитокинов на фоне традиционного лечения. Это свидетельствует о полноценной коррекции имеющегося дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов в буллах на фоне озонотерапии в сочетании с суперлимфом. Выравнивание нарушенного баланса изучаемых цитокинов ведет к адекватной продукции ФНО-ά, ИЛ-1β, ИЛ-10, а значит, к быстрому ослаблению и стойкому купированию воспалительного процесса.

Таким образом, впервые в экссудате булл определен уровень ФНО-ά, ИЛ-1β, ИЛ-10 –до начала терапии выявлено повышение провоспалительных (ФНО-ά, ИЛ-1β)и снижениепротивовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов.

Установлено, что динамика цитокинов в содержимом булл – снижение уровня ФНО-ά, ИЛ-1β и увеличение уровня ИЛ-10 – зависит от варианта проводимой терапии. Применение внутривенной озонотерапии в сочетании с суперлимфом более эффективно устраняет гиперпродукцию провоспалительных цитокинов и способствует увеличению противовоспалительного цитокина в буллезном экссудате.

Кафедрой инфекционных болезней Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко получены патенты – изобретение № 2007139186 (042892) от 22.10.2007 «Способ оценки эффективности коррекции воспалительного процесса на фоне лечения больных с буллезными формами рожи»; изобретение № 2007123220 (025284) от 20.06.2007 «Способ определения цитокинов в буллезном содержимом».

Заключение. В научной литературе акцентируется внимание практических врачей на перспективности оценки цитокинового спектра иммунного статуса пациентов.

Выводы. В ходе проведенных исследований на кафедре инфекционных болезней Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко было установлено, что у пациентов с рецидивирующей буллезной формой рожи динамика цитокинов в содержимом булл – снижение уровня ФНО-ά, ИЛ-1β и увеличение уровня ИЛ-10 – зависит от варианта проводимой терапии. Уровень цитокинов в буллезном экссудате целесообразно изучать у пациентов с рецидивирующей буллезной формой рожи с целью подбора оптимальной лечебной схемы и избегания необоснованной «перегрузки» лекарственными препаратами.

Важный практический аспект оценки цитокинового профиля в гепатобиоптатах и сыворотке крови у больных ХГС и ХГВ заключается в возможности предсказать неэффективность той или иной лечебной схемы, что позволит врачу провести коррекцию терапии.

У больных гриппом цитокиновый статус слюны является одним из прогностических критериев течения гриппа, а так же дает возможность характеризовать реакцию иммунной системы при данной патологии и проводить адресную коррекцию лечения.

Таким образом, изучение показателей цитокинового профиля в различных биологических субстратах улучшает диагностику заболевания, а также позволяет прогнозировать течение болезни. Целесообразно

оценивать динамику показателей цитокинового профиля с целью определения эффективности проводимого лечения и снижая риска терапевтических неудач.

Список литературы

1. Иванов В.В. Исследование концентрации цитокинов, вырабатываемых Th2-лимфоцитами, у больных парагриппом / В.В. Иванов, М.В. Шипилов // Медицина: вызовы сегодняшнего дня: материалы междунар. науч. конф. (г. Челябинск, июнь 2012 г.). – Челябинск: Два комсомольца, 2012. – С. 39-41.

2. Кириллова Т.В. Показатели цитокинового профиля у больных лимфомами // бмик. 2013. № 3. С.525.

3. Меркоданова Ю.А., Утц И.А. Цитокиновый профиль мочи при различных этиопатогенетических вариантах хронического пиелонефрита у детей // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. № 4. С.901-904.

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. – Том 9, Приложение № 1. – С. 260.

5. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9–17.

6. Хасанова Г. М. Взаимосвязь уровня циркулирующих цитокинов и микроэлементов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. № 4. С. 863-865.

7. Belz, G.T. Regulating inflammatory diseases. Life in the balance: killer T-cell self control fends off lethal influenza? // Immunology and Cell Biology. – 2009. – № 87. – P. 364-365.

8. Bermejo-Martin J.F., Garcia-Arevalo M.C., de Lejarazu R.O. et al. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children // Eur. Cytokine Netw. – 2007. – Vol. 18, № 3. – P. 162-167.