

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ IL-12 У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ, АССОЦИИРОВАННОЙ С СЕРОТИПОМ СЕУЛ

Перевертень Л.Ю., Маркелова Е.В.

Владивостокский государственный медицинский университет, Россия

Резюме. Иммунопатологические механизмы геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) очень сложны и признаются причиной основных патофизиологических нарушений при этой инфекции. В данном сообщении изложены результаты исследования уровней IL-12p70 и IL-12p40 в сыворотке крови у 22 больных ГЛПС разной тяжести течения в динамике болезни. Установлена высокая активность IL-12p70 в острую стадию ГЛПС, ассоциированной с вирусом серотипа Сеул. Вероятно, влияние других факторов иммунной системы в совокупности с IL-12p40 способствует развитию относительной недостаточности клеточного иммунитета при ГЛПС.

Ключевые слова: иммунопатогенез, клеточный иммунитет, ГЛПС.

Pereverten L.Yu., Markelova E.V.

ASSESSMENT OF IL-12 ACTIVITY IN PATIENTS WITH HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME ASSOCIATED WITH SEOUL SEROTYPE

Abstract. Immunopathological mechanisms of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) are very complex and are recognized as the cause of the basic pathophysiological abnormalities in this infection. In this report the results of investigation of IL12p70 and IL12p40 levels in serum of 22 patients with HFRS of different severity in dynamics of illness have been stated. High activity of IL12p70 in the acute phase of HFRS, associated with serotype Seoul virus has been determined. Probably, the influence of the other factors of immune system along with IL12p40 promoted the development of relative failure of cellular immunity in HFRS. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 1, pp 89-92)

Введение

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) продолжает вызывать значительное количество заболеваний у людей в Европе, Азии, Америке и составляет около 150000 случаев ежегодно [11]. Попытки врачей уменьшить частоту этой инфекции с помощью вакцинации и контроля за грызунами не принесли значительных успехов. ГЛПС в Приморском крае, вызванная серотипами Хантаан и Сеул, отличается особой тяжестью течения, высокой летальностью и наличием осложнений по сравнению с Пуумала-инфекцией в европейской части России [4].

Адрес для переписки:

Перевертень Л.Ю.

690016, Владивосток, ул. М. Расковой, д. 1, кв. 15.

Телефон: 8(4232) 29-22-37

e-mail: perchik_s@mail.ru

За последнее десятилетие в мире достигнуто много успехов в изучении иммунопатогенеза ГЛПС, однако эти исследования касаются Пуумала, Син-Номбре, Добрава-вирусов [9, 10, 11, 13]. Доказана иммуноопосредованность хантавирусной инфекции, выявлен внутриклеточный паразитизм вирусов преимущественно в клетках эндотелия сосудов, макрофагах, дендритных клетках без явного цитопатического эффекта [1, 9, 10, 13]. Ключевое значение придается клеточному иммунному ответу и его эффекторным механизмам: цитокинам, хемокинам, оксиду азота, чрезмерная выработка которых обеспечивает синдром «капиллярной протечки», являющегося ведущим патогенетическим синдромом ГЛПС [9, 11]. Выявлены высокие уровни провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-10, TNF α) в острую фазу инфекции, угнетение синтеза IFN γ , особенно при тяжёлом течении болезни [4, 8, 12].

Известно, что основными продуцентами IL-12 являются моноциты, макрофаги, дендритные клетки, они же признаются мишенями для хантавирусов [6,7,11]. Продукцию IL-12 макрофагами индуцирует главный активатор клеточного звена иммунитета - IFN γ . А IL-12 активирует пролиферацию и дифференцировку ЕК и Т-лимфоцитов, повышает их цитотоксичность и синтез ими IFN γ [6]. То есть протективные эффекты IL-12 при внутриклеточных инфекциях опосредованы IFN γ -зависимыми механизмами [2]. Так как в нескольких работах у больных ГЛПС, обусловленной разными серотипами хантавируса, выявлено значительное угнетение синтеза IFN γ [3, 5], целью настоящего исследования явилось оценить активность IL-12 при ГЛПС, ассоциированной с серотипом Сеул, путём определения уровней его димера IL-12p70 и белка p40 в динамике болезни при различной тяжести течения.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 75 больных ГЛПС, лечившихся в инфекционном отделении Краевой клинической больницы №2 г. Владивостока в 2002-2003 гг. 76,5% больных составили мужчины, 23,5% - женщины. Возраст пациентов колебался от 15 до 65 лет, средний возраст составил $36,2 \pm 3,8$ лет. Тяжесть течения инфекции определяли по выраженности интоксикационного синдрома, длительности лихорадки, наличию и выраженности острой почечной недостаточности, геморрагического синдрома и инфекционно-токсического шока. Среди обследуемых преобладала средняя степень тяжести ГЛПС (66%), тяжёлое течение составило 14%, лёгкое - 20% всех случаев. Диагноз ГЛПС устанавливался на основании клинических данных, в 100% случаев был подтверждён серологически с помощью непрямого метода флюоресцирующих антител (НМФА) по нарастанию титра антител в сыворотке крови. У 33% больных в острую стадию болезни был определён титр антител и в моче с помощью НМФА.

У 22 больных кроме стандартных клиничко-лабораторных обследований проведено определение уровней IL-12p70 и IL-12p40 в сыворотке крови в раннюю стадию болезни (3-10 дни от начала болезни) и позднюю стадию (11-20 дни болезни). Использовался сэндвич-вариант твёрдофазного ИФА с применением реактивов R&D Diagnostic Inc (USA) с чувствительностью 1 пг/мл. Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей. Статистическую обработку цифрового материала по каждому вариационному ряду проводили, рассчитывая среднюю арифметическую (М), стандартную ошибку средней арифметической ($\pm m$). Для сравнения средних величин показателей применяли критерий Стьюдента (t), позволяющий установить достоверность различий (p). Рассчитывали коэффициент линейной корреляции (r).

Результаты и обсуждение

По этиологической структуре геморрагическая лихорадка с почечным синдромом у всех больных была вызвана серотипом Сеул (все пациенты инфицировались в городских очагах, где носителем хантавируса является серая крыса).

При анализе клиники ГЛПС, ассоциированной с серотипом Сеул, преобладали: синдром интоксикации (у 100% больных), включающий слабость, головную боль, миалгии в среднем длился $12 \pm 2,4$ дня; лихорадка (98% случаев) появлялась на 1-2 дни болезни и сохранялась в среднем $6,5 \pm 1,2$ дня; боли в поясничной области, обусловленные отёком паренхимы почек и растяжением капсулы, наблюдались у 84% больных в ранние сроки (4-5 дни болезни), однако олигоанурия выявлена лишь у 67% больных в те же сроки - на 5-6 дни болезни. Геморрагический синдром был отмечен у 75% больных в разных вариантах: при тяжёлом течении (14%) наблюдались инъекция сосудов склер, гиперемия лица, петехиальная сыпь на туловище, кровотечения разной локализации, при среднетяжёлом и лёгком течении сыпь и кровотечения не выявлялись. Инфекционно-токсический шок зафиксирован у 36% больных на 2-3 сутки болезни, у этих же пациентов были клинические и рентгенологические признаки I стадии респираторного дистресс-синдрома. Синдром гепатита (симптомы печёночной интоксикации, гиперферментемия, умеренная гипербилирубинемия) зарегистрирован у 38% больных. Исходом инфекции было выздоровление в 100% случаев.

При анализе содержания IL-12p70 в сыворотке крови в раннюю стадию ГЛПС обнаружено значительное повышение уровня IL-12p70 при любой тяжести течения инфекции ($p < 0,05$) (рис. 1). Однако при лёгком течении уровень IL-12p70 был са-

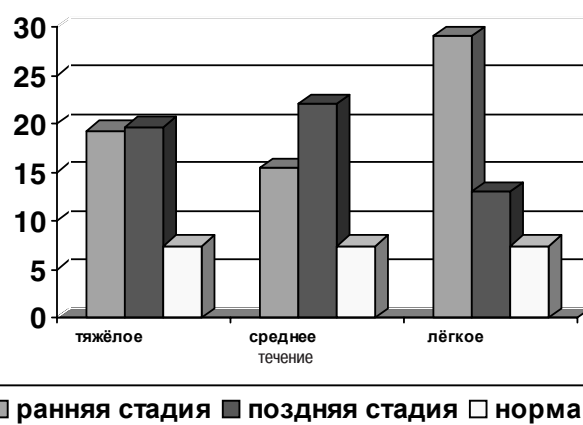


Рис.1. Уровень IL-12p70 (пг/мл) в сыворотке крови больных ГЛПС в динамике болезни при разной тяжести течения.

мым высоким, и составил $29,0 \pm 5,1$ пг/мл, что в 3,9 раз выше показателей у здоровых ($7,46 \pm 0,6$ пг/мл), $p < 0,05$. При тяжёлом и среднетяжёлом течении уровень IL-12p70 составил $19,3 \pm 6,0$ пг/мл и $15,5 \pm 5,0$ пг/мл соответственно, то есть превысил норму в 2,6 и 2 раза. Проведённый корреляционный анализ позволил выявить обратную зависимость от тяжести инфекции ($r = -0,6$ при $p < 0,05$). Следовательно, хантавирусы обладают способностью индуцировать синтез IL-12p70, что влияет на тяжесть течения инфекции. Протективные эффекты IL-12p70 в полной мере реализуются только при лёгком течении ГЛПС. В динамике при лёгком течении отмечено резкое снижение IL-12p70 ($13,06 \pm 5,0$ пг/мл, $p < 0,01$), в то время как у больных среднетяжёлой ГЛПС выявлен рост этого показателя ($22,13 \pm 7,2$ пг/мл, $p < 0,01$). При тяжёлом течении не выявлено существенных изменений уровня IL-12p70 в позднюю стадию по сравнению с ранней ($19,7 \pm 5,6$ пг/мл, $p < 0,01$). Это подтверждают данные литературы, что гиперсинтез IL-12p70 при инфекциях ведёт к избыточной активации иммунной системы с развитием иммунопатологических реакций [6], при ГЛПС это могут быть затянувшиеся циркуляторные нарушения, развёрнутый ДВС-синдром. Для того чтобы понять, почему у больных ГЛПС при высоком уровне IL-12p70, главного индуктора синтеза интерферона, отмечаются низкие уровни IFN γ , мы исследовали активность IL-12p40, естественного антагониста IL-12p70. IL-12p40 ингибирует опосредованные IL-12 эффекты, главным образом, синтез IFN γ [7].

В раннюю стадию болезни у всех больных обнаружены очень высокие уровни белка p40, в среднем $150,6 \pm 36,4$ пг/мл, что в 8,4 раза превышает нормальное значение ($17,58 \pm 10,95$ пг/мл, $p < 0,001$). Причём не выявлено существенной разницы в активности p40 у больных с разной тяжестью течения инфекции (рис. 2) (при тяжёлом- $147,6 \pm 54,5$ пг/мл, при среднетяжёлом- $165,5 \pm 73,3$ пг/мл, при лёгком - $144,6 \pm 40,2$ пг/мл при $p < 0,05$). То есть чрез-

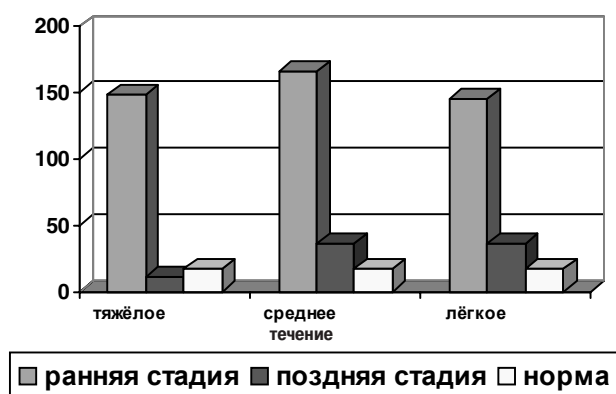


Рис. 2. Уровень IL-12p40 (пг/мл) в сыворотке крови больных ГЛПС в динамике болезни при разной тяжести течения

мерная индукция синтеза белка p40 контролирует продукцию биоактивного димера p70, тем самым блокируются рецепторы IL-12 и ограничивается его биологическая активность. Вероятно, этим фактом можно объяснить низкий уровень IFN γ на протяжении острой стадии ГЛПС. В динамике болезни обнаружено значительное снижение активности IL-12p40 почти до нормального уровня (при тяжёлом течении- $10,9 \pm 2,1$ пг/мл, при среднетяжёлом- $36,1 \pm 8,6$ пг/мл, при лёгком- $36,0 \pm 9,3$ пг/мл при $p < 0,01$). Снижение синтеза IL-12p40, возможно, способствует сохранению довольно высокого уровня IL-12p70 в позднюю стадию болезни. Между уровнем IL-12p70 и IL-12p40 в сыворотке крови в острый период ГЛПС выявлена прямая сильная корреляционная связь ($r = 0,83$, $p < 0,001$). Это свидетельствует о прямом влиянии уровня IL-12p70 на продукцию IL-12p40.

Повышенный синтез IL-12p70 в острую фазу ГЛПС является фактором, способствующим благоприятному течению инфекции, так как IL-12 активирует ЕК и ЦТЛ, а Т-клетки играют ключевую роль в устойчивости к хантавирусной инфекции именно путём цитотоксического Т-клеточного ответа. Выявленная гиперпродукция IL-12p40, по-видимому, является реакцией на повышение уровня IL-12p70 в крови, что может быть одним из механизмов снижения синтеза IFN γ .

Таким образом, определена высокая активность иммунорегулирующего цитокина IL-12 при ГЛПС, ассоциированной с хантавирусом Сеул. Способность хантавируса Сеул активировать синтез IL-12 объясняет менее тяжёлое течение и невысокую летальность Сеул-инфекции. Вероятно, влияние других факторов иммунной системы в совокупности с IL-12p40 способствует развитию относительной недостаточности клеточного иммунитета при ГЛПС.

Список литературы

1. Алексеев О.А., Суздальцев А.А., Ефратова Е.С. Иммунные механизмы в патогенезе геморрагической лихорадки с почечным синдромом (обзор) // Терапевт. архив.-1998.-№11.-С. 39-42.
2. Гельцер Б.И., Маркелова Е.В., Просекова Е.В., Кочеткова Е.А. Система цитокинов и болезни органов дыхания // Терапевт. архив.- 2002.- №11.- С. 94-99.
3. Иванис В.А., Маркелова Е.В., Компанец Г.Г., Слонова Р.А. Вопросы иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) // Мед. иммунология.- 2003.- Т.5.- №1-2.- С.129-132.
4. Иванис В.А., Бегун Л.А., Компанец Г.Г., Слонова Р.А. Клинические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом, обусловлен-

ной вирусом Сеул // Эпидемиология и инфекционные болезни.- 2002.- №1.- С.62-64.

5. Мурзабаева Р.Т. Состояние иммунной и интерфероновой систем у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом // Эпидемиология и инфекционные болезни.- 2003.- №5.- С.40-43.

6. Фрейдлин И.С. Интерлейкин-12 - ключевой цитокин иммунорегуляции // Иммунология.- 1999.- №4.- С.5-8.

7. Фрейдлин И.С., Шейкин Ю.А. Эндотелиальные клетки в качестве мишеней и продуцентов цитокинов // Мед. иммунология.- 2001.- Т.3.- №4.- С.499-514.

8. Ющук Н.Д., Валишин Д.А., Сахаутдинова Г.В., Сибирак С.В. Динамика цитокинов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом.- Эпидемиология и инфекционные болезни.- 1999.- №4.- С. 36-37.

9. Klingstrom J., Plyusnin A., Vaheri A., Lundkvist A. Wild-type Puumala hantavirus infection induces cytokines, C-reactive protein, creatinine and nitric oxide in cytologus macaques // J. of Virology.- 2002.- Vol.76.- №1.- P.444-449.

10. Kraus A., Raftery M., Ulrich R., Kruger D., Schorich G. Hantaviruses and the concept of Immunopathogenesis // The 6th International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses.- Seoul.- 2004.- P. 39.

11. Markotic A., Rabatic S., Gargo A. Immunopathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome in humans // Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases /ed. Saluzzo J. F., Dodent B.- Paris.- 1999.- P.125-131.

12. Markotic A., Anderson K., Schmaljohn C. The possible role of cytokines, chemokines and their receptors in immunopathogenesis of HFRS and HPS // The 5th International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses.- Paris.-2000.- P.103.

13. Zaki S., Noltz K. Pathology, Immunohistochemistry and in situ Hybridization // Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome / ed. Lee H. W., Calisher C., Schmaljohn C.- WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research (Hantavirus) Asan Institute for Life Sciences.- Seoul.- 1999.- Vol.250.- P.134-155.

поступила в редакцию 10.09.2004

принята к печати 07.12.2004