

# ВЛИЯНИЕ ПЕРСИСТЕНЦИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Пронина Н.А., Свиридова В.С., Кологривова Е.Н.,  
Елисеева Л.В., Наследникова И.О., Уразова О.И.,  
Новицкий В.В., Воронкова О.В., Сухаленцева Н.А.,  
Горбунова Е.Б.

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства  
по здравоохранению и социальному развитию», г. Томск

**Резюме.** С привлечением современных иммунологических методов исследования освещены некоторые аспекты иммунопатогенеза ревматоидного артрита, осложненного хронической герпесвирусной инфекцией. Установлено, что ревматоидный артрит и хроническая герпесвирусная инфекция сопровождаются выраженным дисбалансом продукции иммунорегуляторных Th1/Th2-цитокинов иммунокомпетентными клетками периферической крови. При этом у пациентов с ревматоидным артритом в сочетании с хронической герпесвирусной инфекцией уровень секреции IL-2, IFN $\gamma$  ниже, а IL-4 и IL-6, напротив, выше, чем при изолированных формах заболеваний.

*Ключевые слова:* вирус простого герпеса, ревматоидный артрит, цитокины.

*Pronina N.A., Sviridova V.S., Kologrivova E.N., Eliseeva L.V., Naslednikova I.O., Urazova O.I., Novitsky V.V.,  
Voronkova O.V., Sukhalentseva N.A., Gorbunova E.B.*

## INFLUENCE OF HERPES SIMPLEX VIRUS PERSISTENCE UPON PRODUCTION OF CYTOKINES BY IMMUNOCOMPETENT CELLS IN RHEUMATOID ARTHRITIS

**Abstract.** Using modern immunological methods of studies, we investigated some immunopathogenetic aspects of rheumatoid arthritis complicated by chronic herpesvirus infection. It was established that both rheumatoid arthritis, and chronic herpesvirus infection are accompanied by pronounced imbalance in production of immunoregulatory Th1/Th2-cytokines produced in immunocompetent cells of peripheral blood. In case of rheumatoid arthritis combined with herpes simplex infection, IL-2 and IFN $\gamma$  levels were decreased, whereas IL-4 and IL-6 levels proved to be increased, as compared with isolated diseases under study. (*Med. Immunol., vol. 11, N 1, pp 91-94*)

## Введение

В последние годы в инфекционной патологии все большее значение приобретают герпесвирусы.

### Адрес для переписки:

Наследникова Ирина Олеговна  
634057, г. Томск, ул. К. Ильмера, 8, кв. 96.  
Тел.: (3822) 76-19-06, (913) 822-30-20.  
E-mail: ira\_naslednikova@mail.ru

По данным ВОЗ, вирусом простого герпеса инфицировано около 90% взрослого и детского населения планеты [3, 9]. Вирус простого герпеса, обладающий способностью длительно сохраняться в макроорганизме, может поражать различные органы и системы, вызывая хроническую форму инфекции. Наличие вируса в организме приводит к поражению слизистых оболочек, кожных

покровов, глаз, центральной нервной системы, печени [4, 6].

Кроме того, существует мнение о возможной роли вируса простого герпеса в качестве триггерного агента в развитии ревматоидного артрита. Предположение о возможной этиопатогенетической роли вируса основывается на фактах обнаружения его антигена в тканях суставов и клетках крови больных ревматоидным артритом [1, 5, 8].

В связи с этим, целью настоящего исследования явилась оценка влияния персистенции вируса простого герпеса на цитокинпродуцирующую способность мононуклеаров периферической крови при ревматоидном артрите.

## Материалы и методы

В программу исследования были включены 46 пациентов (26 мужчин и 20 женщин) в возрасте от 40 до 50 лет. В первую группу вошли 20 пациентов, страдающих ревматоидным артритом без клинических и лабораторных проявлений герпесвирусной инфекции. Вторую группу составили 12 пациентов с ревматоидным артритом,

который сочетался с хронической герпесвирусной инфекцией в стадии ремиссии. Диагностический титр антител к вирусу простого герпеса типа 1 составлял от 1:800 до 1:3200, антитела к вирусу простого герпеса 2 типа отсутствовали. Обострение герпесвирусной инфекции отмечалось не более 5 раз в год. В третью группу были включены 14 пациентов, страдающих герпесвирусной инфекцией. Титр антител к вирусу простого герпеса типа 1 составлял от 1:800 до 1:3200, антитела к вирусу простого герпеса типа 2 не выявлялись.

Концентрацию иммунорегуляторных цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IFN $\gamma$ ) определяли в супернатантах культур мононуклеаров. Выделенные на градиенте плотности Ficoll-Paque («Pharmacia», Швеция) мононуклеарные клетки ( $2 \times 10^6$  клеток/мл) культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 0,3 мг/мл L-глутамин, 10 мМ HEPES («Flow», Великобритания), 100 мкг/мл гентамицина и 5% CO $_2$  в течение 24 ч. Продукцию иммуоцитокинов стимулировали добавлением в среду фито-

**ТАБЛИЦА 1. ПРОДУКЦИЯ ИММУОЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ (ПГ/МЛ) У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ( $\bar{x} \pm m$ )**

Регистрируемый показатель		Пациенты с ревматоидным артритом		Пациенты с хронической герпесвирусной инфекцией
		Без герпесвирусной инфекции	В сочетании с герпесвирусной инфекцией	
IL-2	Базальный уровень	6,2 $\pm$ 0,6	3,9 $\pm$ 0,5 $p_1 < 0,05$	6,7 $\pm$ 0,4 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
	Стимулированный уровень	17,8 $\pm$ 1,0	13,1 $\pm$ 0,5 $p_1 < 0,05$	21,44 $\pm$ 1,2 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
IFN $\gamma$	Базальный уровень	57,7 $\pm$ 7,4	43,1 $\pm$ 4,2 $p_1 > 0,05$	50,3 $\pm$ 9,6 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
	Стимулированный уровень	80,9 $\pm$ 7,0	64,9 $\pm$ 2,9 $p_1 < 0,05$	96,4 $\pm$ 10,1 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
IL-4	Базальный уровень	15,7 $\pm$ 4,1	14,5 $\pm$ 2,8 $p_1 > 0,05$	28,0 $\pm$ 4,3 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
	Стимулированный уровень	22,6 $\pm$ 1,9	23,4 $\pm$ 1,8 $p_1 > 0,05$	61,8 $\pm$ 3,6 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
IL-6	Базальный уровень	194,7 $\pm$ 6,7	218,3 $\pm$ 10,6 $p_1 < 0,05$	123,13 $\pm$ 4,19 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
	Стимулированный уровень	578,6 $\pm$ 10,1	582,1 $\pm$ 9,4 $p_1 > 0,05$	396,0 $\pm$ 12,1 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$

**Примечание.**  $p_1$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с группой пациентов с ревматоидным артритом;  $p_2$  – с группой пациентов с ревматоидным артритом в сочетании с герпесвирусной инфекцией.

гемагглютина (ФГА) («Difco», Германия). Содержание цитокинов в супернатантах оценивали с помощью твердофазного иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией, прилагаемой производителем тест-систем («Cytimmune», США). Оптическую плотность растворов регистрировали на микропланшетном фотометре «Multiskan EX» («ThermoLabSystems», Финляндия). Концентрацию цитокинов рассчитывали по калибровочной кривой.

Для проверки нормальности распределения показателей использовали критерий Колмогорова–Смирнова; равенство выборочных средних проверяли по t-критерию Стьюдента (в случае нормального распределения) и U-критерию Манна–Уитни (при отклонении распределения от нормального).

## Результаты и обсуждение

Состояние системы медиаторов иммунного ответа у больных с ревматоидным артритом характеризует особенности воспалительного процесса и в конечном счете определяет темпы его развития [1, 7, 8]. Как показало проведенное нами исследование, у пациентов с ревматоидным артритом в сочетании с герпесвирусной инфекцией спонтанный ( $3,9 \pm 0,5$  пг/мл) и стимулированный ФГА ( $13,1 \pm 0,5$  пг/мл) уровень IL-2 оказался достоверно ниже, чем у пациентов с ревматоидным артритом и хронической герпесвирусной инфекцией (табл. 1).

Кроме того, у пациентов с ревматоидным артритом в сочетании с герпесвирусной инфекцией ФГА-стимулированная секреция IFN $\gamma$  ( $64,9 \pm 2,9$  пг/мл) также была статистически значимо ниже соответствующих значений у больных ревматоидным артритом ( $p_1 < 0,05$ ) и пациентов с хронической герпесвирусной инфекцией ( $p_2 < 0,05$ ) (табл. 1).

В то же время конституциональная ( $28,0 \pm 4,3$  пг/мл) и стимулированная ФГА ( $61,8 \pm 3,6$  пг/мл) секреция IL-4 у пациентов с хронической герпесвирусной инфекцией оказалась достоверно ниже таковой у больных с ревматоидным артритом, сочетанным с герпесвирусной инфекцией и без таковой (табл. 1).

Аналогичная тенденция регистрировалась и в отношении продукции IL-6, основной механизм действия которого, как известно, связан с участием в качестве кофактора в процессах пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, их созревании и преобразовании в плазматические Ig-синтезирующие клетки [3, 7]. Так, у пациентов с хронической герпесвирусной инфекцией был зарегистрирован статистически значимо более низкий уровень спонтанной ( $123,13 \pm 4,19$  пг/мл) и ФГА-индуцированной ( $396,0 \pm 12,1$  пг/мл) се-

креции IL-6 по сравнению с соответствующими значениями у пациентов групп сравнения. Обращало на себя внимание и то, что у пациентов с ревматоидным артритом в сочетании с герпесвирусной инфекцией спонтанный уровень IL-6 ( $218,3 \pm 10,619$  пг/мл) был достоверно выше, чем в других группах исследования (табл. 1).

В ряде работ было показано, что как при ревматоидном артрите, так и при хронической герпесвирусной моноинфекции имеет место дисбаланс равновесия Th1/Th2 в направлении гиперактивации гуморальных реакций [1, 4, 6, 7, 10]. Вместе с тем полученные нами данные свидетельствуют о том, что при сочетании у пациентов ревматоидного артрита и персистенции вируса простого герпеса уровень продукции цитокинов Th1-типа (IL-2, IFN $\gamma$ ) ниже, а секреции Th2-медиаторов (IL-4, IL-6) выше, чем при изолированных формах заболеваний.

Механизмы дизрегуляции синтеза цитокинов у пациентов с сочетанной патологией недостаточно изучены. Безусловно, основу патогенеза вирусной инфекции, сопровождающей течение аутоиммунного процесса, составляет не один, а несколько иммунопатологических факторов. Существуют данные о том, что вирус простого герпеса вызывает значительные нарушения в системе преимущественно провоспалительных цитокинов [2, 9]. Как правило, подавляется способность инфицированных иммунокомпетентных клеток синтезировать IL-1 и IL-2 за счет избыточной продукции простагландинов, которая сопутствует течению как ревматоидного артрита, так и персистенции вируса простого герпеса [2, 3, 8].

Сведения литературы указывают также на ассоциацию вирусной инфекции с потерей способности Т-лимфоцитами экспрессировать рецепторы к IL-2. Уменьшение количества этих рецепторов приводит к угнетению эффектов цитокина, являющегося основным ростовым фактором для Т-клеток, что, вероятно, способствует прогрессирующему истощению популяции Т-лимфоцитов [2, 7, 10].

Существует также предположение о том, что вирус простого герпеса может блокировать экспрессию антигенов МНС, сигналы Т-клеточной костимуляции, механизмы регуляции транскрипции генов IFN $\gamma$  и IL-2 и их секрецию Т-лимфоцитами [4, 9]. Совокупность всех этих факторов вызывает нарушение формирования антигенспецифического клона Т-лимфоцитов в виду смещения баланса Th1/Th2 в пользу Th2, что мы и наблюдали в нашей работе.

Таким образом, наличие хронической герпесвирусной инфекции у пациентов с ревматоидным артритом приводит к более глубоким совокупным дефектам цитокиновой продукции, а следова-

тельно, и всей иммунной системы. Полученные данные указывают на необходимость дальнейшего изучения влияния вирусной инфекции на течение ревматоидного артрита.

## Благодарности

Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» (Государственный контракт № 02.512.11.2040; Государственный контракт № 02.512.11.2112; Государственный контракт № 02.512.12.0013), а также при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации (НШ-2334.2008.7) и молодых российских ученых (МД-3659.2007.7).

## Список литературы

1. Камолов З.С. Функциональная активность естественных киллеров и продукция интерлейкинов при ревматоидном артрите // Аллергология и иммунология. — 2004. — Т. 5, № 1. — С. 95-98.
2. Кологривова Е.Н. Роль местного иммунитета слизистой ротовой полости в патогенезе хронических воспалительных и неопластических процессах. — Дис. ... докт. мед. наук. — Томск, 2001. — 287 с.
3. Мальханов В.Б., Шевчук Н.Е., Марванова З.Р. Цитокиновый статус больных офтальмогерпесом // Вопросы вирусологии. — 2004. — Т. 49, № 1. — С.28-30.
4. Наследникова И.О. Имунопатогенез персистентных вирусных инфекций. Дис. ... докт. мед. наук. — Томск, 2005. — 343 с.
5. Петров А.В., Дударь Л.В., Малый К.Д. Персистенция различных инфекционных агентов в мононуклеарных лейкоцитах крови в дебюте ревматоидного артрита // Терапевтический архив. — 2004. — № 5. — С. 32-35.
6. Редькин Ю.В., Одокиенко А.Ю. Показатели интерферонового статуса при герпетической инфекции // Russian Journal of Immunology. — 2004. — Vol. 9, № 1. — С. 178-180.
7. Славянская Т.А., Сепиашвили Р.И. Роль цитокинов в иммунопатологии // Аллергология и иммунология — 2004. — Т. 5, № 1. — С. 42-47.
8. Maksymowych W. P., Suarez-Almazor M. E., Buenviaje H., Cooper B.L., Degeus C., Thompson M., Russell A.S. HLA and cytokine gene polymorphisms in relation to occurrence of palindromic rheumatism and its progression to rheumatoid arthritis // Journal Rheumatology. — 2002. — Vol. 29. — P. 2319-2326.
9. Reading P.C., Whitney P.G., Barr D.P., Wojtasiak M., Mintern J.D., Waithman J., Brooks A.G. IL-18, but not IL-12, Regulates NK cell activity following intranasal herpes simplex virus type 1 infection // Journal Immunology. — 2007. — Vol. 179(5). — P. 3214-3221.
10. Trinchieri G., Pflanz S., Kastelein R.A. The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T-cell responses // Immunity. — 2003. — Vol. 19. — P. 641-644.

*поступила в редакцию 28.08.2008  
отправлена на доработку 09.09.2008  
принята к печати 11.11.2008*