

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Новикова И.А.¹, Романива О.А.²

¹ УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

² ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Резюме. Система цитокинов играет важную роль в формировании устойчивости к вирусу герпеса, в связи с чем определение цитокинового профиля при часто рецидивирующей герпетической инфекции является необходимым исследованием. Однако особенности функционирования цитокиновой сети в межрецидивный период заболевания исследованы мало, а полученные данные разноречивы. В данной работе проведена комплексная оценка продукции цитокинов лейкоцитами цельной крови *ex vivo* у 15 пациентов с часто рецидивирующей герпетической инфекцией, вызванной вирусом простого герпеса, в период клинической ремиссии. Выявлено снижение продукции IL-1 β , IL-8 и IL-10, а также диспропорция в цитокиновом спектре с преобладанием синтеза IFN γ и IL-8 над производством IL-10, а IL-4 и IL-13 – над продукцией IL-1 β . Обнаружены различия в характере корреляций у пациентов и здоровых лиц между содержанием активированных лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺ и CD3⁺CD4⁺CD25⁺), естественных киллеров (CD3⁺CD16/56⁺), NKT-клеток и уровнем продукции цитокинов, что может быть обусловлено сменой преимущественных продуцентов цитокинов при герпес-вирусных инфекциях.

Ключевые слова: герпетическая инфекция, ремиссия, продукция цитокинов

Адрес для переписки:

Романива Оксана Александровна
врач-иммунолог, ГУ «Республиканский научно-
практический центр радиационной медицины
и экологии человека»
246049, Беларусь, г. Гомель, ул. 60 лет СССР, 26,
кв. 92.
Тел.: +375 (291) 27-40-64, 8-10 (232) 48-50-11.
E-mail: Romanivaok@rambler.ru

Авторы:

Новикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая
кафедрой клинической лабораторной диагностики,
аллергологии и иммунологии УО «Гомельский
государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Беларусь
Романива О.А. — врач-иммунолог, ГУ
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»,
г. Гомель, Беларусь

Поступила 12.04.2013

Отправлена на доработку 07.05.2013

Принята к печати 25.06.2013

FEATURES OF CYTOKINE PRODUCTION IN PATIENTS WITH RECURRENT HERPETIC INFECTION

Novikova I.A.^a, Romaniva O.A.^b

^a State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

^b Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

Abstract. Cytokines play an important role in resistance to herpesvirus infections. Therefore, studies of cytokine profile are necessary in recurrent herpetic infection. However, functional studies of cytokine network upon remission of the disease yielded controversial results. In this paper, we provide some results concerning comprehensive evaluation of *ex vivo* cytokine production by whole blood leukocytes drawn from 15 patients observed during clinical remission of recurrent Herpes Simplex virus infection. We have found a decrease of IL-1 β , IL-8 and IL-10 production, as well as imbalance of cytokine profile, with predominance of IFN γ and IL-8 synthesis over IL-10 production, along with increased IL-4 and IL-13 levels to IL-1 β contents. Differently directed correlations between the content of activated lymphocytes (CD3⁺HLA-DR⁺ and CD3⁺CD4⁺CD25⁺), natural killers (CD3⁺CD16/56⁺), NKT-cells and cytokine production levels were found in the groups of patients and healthy individuals. These differences may be due to shifts in major cytokine-producing populations in herpesvirus infections. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 6, pp 571-576)

Keywords: Herpes infection, remission, cytokine production

Address for correspondence:

Romaniva Oksana A.
Clinical Immunologist, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology
246049, Belarus, Gomel, 60 years of the USSR str., 26, apt 92.
Phone: +375 (291) 27-40-64, 8-10 (232) 48-50-11.
E-mail: Romanivaok@rambler.ru

Authors:

Novikova I.A., MD, PhD (Medicine), Professor, Chief, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergy and Immunology, State Medical University, Gomel, Republic of Belarus
Romaniva O.A., Clinical Immunologist, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

Received 12.04.2013

Revision received 07.05.2013

Accepted 25.06.2013

Рецидивирующие формы герпес-вирусной инфекции встречаются, по данным различных авторов, у 5-30% людей трудоспособного возраста [8]. Их развитие напрямую связано с нарушением клеточных и гуморальных механизмов иммунологической резистентности, в частности с дефектами цитокиновой сети [2, 7, 13]. Наиболее изучена система интерферонов, которые обеспечивают как прямой противовирусный эффект, так и активацию защитных механизмов непораженных клеток [7, 13]. Однако, помимо интерферонов, в механизмах противовирусной защиты участвуют и другие цитокины, действие которых реализуется через стимуляцию синтеза интерферонов (IL-1 β , IL-2, TNF α , IL-12, IL-18), активацию клеток-продуцентов интерферонов, прежде всего естественных киллеров, общую регуляцию цитокинового каскада [2, 6, 10, 11, 13]. У ряда цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6 и IL-12) описан прямой антивирусный эффект [9, 10]. Множественные и многоуровневые биологические эффекты цитокинов суммируются с формированием так называемого противовирусного состояния. Нарушение баланса цитокиновой сети, в частности доминирование цитокинов, продуцируемых Th2-лимфоцитами (IL-4, IL-10, IL-13), рассматривается как предрасполагающий фактор повышенной чувствительности к инфекции, вызванной вирусом простого герпеса (ВПГ) [2, 7, 13]. В то же время, хотя роль цитокинов в формировании устойчивости к ВПГ несомненна, особенности функционирования цитокиновой сети при рецидивирующей герпес-вирусной инфекции исследованы мало и преимущественно при обострении заболевания.

Цель исследования: комплексная оценка цитокинового статуса у пациентов хронической рецидивирующей герпетической инфекцией (ХРГИ) в межрецидивный период.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 15 пациентов (1 мужчина и 14 женщин в возрасте от 25 до 50 лет) с ХРГИ в стадии ремиссии со средней длительностью течения заболевания 12 лет, частотой обострений от 6 до 24 раз в год. Наличие инфекции, вызванной ВПГ 1 и 2 типа, подтверждали на основании данных анамнеза, клинических проявлений, а также выявления ДНК ВПГ методом ПЦР в соскобе из высыпаний и специфических антител классов IgM и IgG в сыворотке крови методом ИФА. У 12 пациентов диагностирована герпетическая инфекция внегенитальной локализации (лабиальный, назальный герпес, герпес кожи щек, подбородка, век), у 3 пациентов – сочетанной локализации (внегенитальная + аногенитальная). Всем пациентам проведено стандартное клинико-лабораторное обследование, оценка

иммунограммы, а также определение продукции IFN γ , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-13 лейкоцитами цельной крови *ex vivo*.

Материалом для исследования служила стабилизированная гепарином (25 ЕД/мл) венозная кровь, которую набирали в стерильные пробирки и инкубировали при 37 °С в течение 24 часов. После инкубации кровь центрифугировали, немедленно отбирали супернатанты плазмы и хранили до тестирования при -30 °С. Содержание IFN γ , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-13 в полученном материале оценивали методом иммуноферментного анализа (тест-системы фирмы DRG, Германия). Контролем служили результаты обследования 10 здоровых лиц, сходных по гендерно-возрастным признакам. Формирование контрольной группы осуществлялось на основании результатов анкетирования и общего лабораторного обследования добровольцев [1].

Статистический анализ проводили с помощью программы STATISTICA (версия 6.0). С учетом проверки на нормальность распределения использованы непараметрические методы статистики – критерии Манна–Уитни (для несвязанных выборок), Спирмена (для корреляционного анализа). Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Числовые значения в таблицах представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25%; 75%).

Результаты и обсуждение

Результаты комплексной оценки продукции цитокинов нестимулированными клетками цельной крови пациентов представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, у пациентов с ХРГИ в ремиссии заболевания спонтанная продукция клетками цельной крови IL-1 β , IL-8 и IL-10 оказалась значимо ниже, чем в контроле ($p = 0,035$; $p = 0,002$; $p = 0,007$ соответственно). Содержание в культурах крови IL-6 имело тенденцию к снижению, тогда как продукция остальных изученных нами цитокинов, в том числе и IFN γ , – значимо не изменялась.

Существуют противоречивые данные по поводу продукции IL-1 β в культуре клеток крови у пациентов с герпес-вирусной инфекцией. Описана способность ВПГ 1 и 2 типов индуцировать синтез IL-1 β моноцитами и макрофагами [11]. Вместе с тем имеются сведения об угнетении функциональной активности фагоцитирующих клеток и снижении синтеза провоспалительных цитокинов при герпес-вирусной инфекции [4]. В наших предыдущих исследованиях, напротив, показано повышение базальной активации нейтрофилов в НСТ-тесте у пациентов ХРГИ в ремиссии заболевания [3], однако способность к выработке IL-1 β оказалась сниженной. Возможно, это связано с тем, что продукция кис-

ТАБЛИЦА 1. СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В КУЛЬТУРАХ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРГИ

Показатели, пкг/мл	Здоровые доноры n = 10	Пациенты ХРГИ n = 15
IFN γ	7,6 (6,2; 8,8)	9,1 (7,2; 10,1)
IL-1 β	164, (51,5; 275,4)	44,2 (22,6; 90,3)*
IL-4	6,9 (5,0; 9,5)	6,3 (5,0; 8,2)
IL-6	355,2 (182,2; 643,1)	188,0 (152,9; 335,2)
IL-8	2242,5(2047,2; 2348,4)	1559,0 (1350,1; 1926,0)*
IL-10	33,0 (16,8; 59,0)	12,5 (9,3; 16,4)*
IL-12p40	181,2 (99,6; 265,9)	156,4 (85,2; 187,4)
IL-13	10,9 (4,9; 16,6)	7,1 (3,6; 19,5)

Примечание. * – различия значимы в сравнении с группой доноров, $p < 0,05$ (критерий Манна–Уитни).

лородных радикалов и синтез IL-1 β происходит разными субпопуляциями нейтрофилов, вероятность чего предполагают и другие авторы. Кроме того, следствием повышения кислород-продуцирующей активности нейтрофилов является интенсификация свободнорадикальных процессов, продукты которых, как показано, могут, в зависимости от концентрации, не только стимулировать, но и блокировать воспалительные реакции [14].

Угнетение продукции IL-1 β лейкоцитами цельной крови пациентов с ХРГИ, возможно, является одной из причин снижения синтеза IL-8 (см. табл. 1), что дополнительно подтверждается выявлением прямой взаимосвязи между этими параметрами (IL-1 β ↔IL-8; $r_s = 0,61$; $p = 0,02$).

Несколько неожиданным для нас оказалось угнетение выработки IL-10 у пациентов с часто рецидивирующей герпетической инфекцией. Существуют данные, что ВПГ непосредственно активирует синтез IL-10 [7, 8]. В ряде исследований выявлено повышение как спонтанной, так и стимулированной продукции IL-10 клетками крови пациентов с ХРГИ [2, 13]. Наши результаты согласуются с данными В.В. Новицкого, который также продемонстрировал факт снижения нестимулированной продукции IL-10 в культурах цельной крови пациентов в межрецидивный период заболевания [6]. Возможно, такие противоречивые результаты обусловлены двойственной ролью IL-10 при герпетической инфекции. С одной стороны, IL-10 идентифицирован как иммунодепрессивный и противовоспалительный медиатор, способный подавлять продукцию Th1-цитокинов, а также большинства цитокинов фагоцитирующих клеток [7, 13]. В то же время показано, что IL-10 может действовать как провоспалительный и/или иммуностимулирующий цитокин [12]. С этих позиций снижение продукции IL-10 у пациентов в ремиссии заболевания вполне объяснимо.

Интересно отметить, что показатели цитокиновой продукции у здоровых лиц отличались большой индивидуальной вариабельностью, что

четко видно из рисунка 1, особенно по значениям IL-1 β и IL-10.

В то же время у пациентов с ХРГИ, напротив, значения этих параметров были однородными, что дополнительно подтверждает закономерный характер выявленных нами изменений. По продукции IL-10 только у одного пациента выявлены значительные отклонения от параметров остальных пациентов (рис. 1В). Каких-либо клинических особенностей течения герпесвирусной инфекции у него не отмечалось.

Известно, что в снижении устойчивости к герпес-вирусам и возникновении рецидивов заболевания важное значение имеет нарушение баланса между цитокинами, обладающими про- и противовоспалительными свойствами [7, 8]. Поэтому расчет соотношений параметров отдельных цитокинов может оказаться клинически полезным для мониторинга заболевания [2].

Проведенный нами анализ соотношений показателей продукции различных цитокинов в культурах крови позволил выявить у пациентов с ХРГИ значимое повышение, относительно контрольных значений, соотношений IFN γ /IL-10 и IL-8/IL-10 ($p = 0,012$ и $p = 0,031$ соответственно). Вместе с тем индексы соотношений IL-1 β /IL-4 и IL-1 β /IL-13, напротив, были ниже, чем у здоровых лиц ($p = 0,041$ и $p = 0,048$ соответственно) (табл. 2).

Приведенные результаты свидетельствуют, что в период клинической ремиссии у пациентов ХРГИ наблюдается относительное преобладание продукции IFN γ и IL-8 над синтезом IL-10, а IL-4 и IL-13 – над продукцией IL-1 β .

В ранее опубликованных работах нами указывалось, что для пациентов ХРГИ в ремиссии заболевания характерно повышение содержания активированных лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺ и CD3⁺CD4⁺CD25⁺) на фоне снижения количества естественных киллеров (CD3⁺CD16/56⁺) и вариабельных изменений NKT-клеток [5]. Учитывая, что эти субпопуляции лимфоцитов сами являются продуцентами важнейших цитокинов, мы проанализировали наличие взаимо-

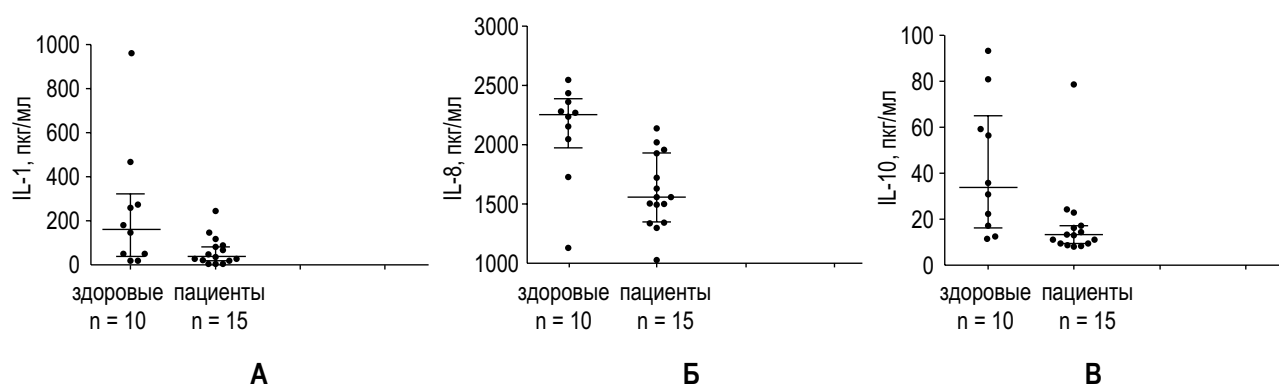


Рисунок 1. Распределение параметров продукции IL-1β (А), IL-8 (Б) и IL-10 (В) клетками цельной крови здоровых лиц и пациентов с ХРГИ

Примечание. Горизонтальные линии отражают значения медианы и интерквартильного размаха (25%; 75%).

ТАБЛИЦА 2. СООТНОШЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Показатель, расч. ед.	Здоровые доноры n = 10	Пациенты ХРГИ n = 15
IFN-γ / IL-10	0,3 (0,1; 0,5)	0,7 (0,4; 1,1)*
IL-8 / IL-10	71,2 (38,4; 101,8)	125,1 (90,1; 162,3)*
IL-1β / IL-4	23,4 (5,1; 29,8)	6,5 (3,9; 12,8)*
IL-1β / IL-13	13,2 (6,9; 36,4)	5,9 (2,2; 18,7)*

Примечание. * – различия значимы в сравнении с группой доноров, $p < 0,05$ (критерий Манна–Уитни).

связей между ними. Выявлены различия в характере корреляций у пациентов и здоровых лиц. Так, в контрольной группе отмечалась значимая обратная взаимосвязь $CD3^+CD4^+CD25^+$ клеток с продукцией IL-6 и IL-8 ($r_s = -0,68$; $p = 0,03$ и $r_s = -0,73$; $p = 0,02$ соответственно), а NKT-клеток – с содержанием IL-1β ($r_s = -0,65$; $p = 0,03$). У пациентов количество $CD3^+CD4^+CD25^+$ коррелировало с продукцией только IL-4 ($r_s = -0,68$; $p = 0,004$), но дополнительно появились взаимосвязи $CD3^+HLA-DR^+$ IL-4 ($r_s = -0,63$; $p = 0,011$) и $CD3^+HLA-DR^+$ IL-13 ($r_s = -0,54$; $p = 0,034$), а также NKT IL-13 ($r_s = -0,58$; $p = 0,020$). Интересно отметить, что в группе здоровых лиц отмечалась сильная взаимосвязь $CD3^+CD16^+/56^+$ IFNγ ($r_s = 0,91$, $p < 0,001$). Это вполне объяснимо, так как NK-клетки являются продуцентами IFNγ, который в то же время сам активирует NK [13]. В то же время у пациентов такая взаимосвязь оказалась не значимой, а содержание $CD3^+CD16^+/56^+$ лимфоцитов было ассоциировано с продукцией IL-10 ($r_s = 0,58$; $p = 0,022$). Изменение характера взаимосвязей субпопуляций лимфоцитов с уровнем продукции различных цитокинов может быть обусловлено сменой преимущественных продуцентов цитокинов, описанной при герпес-вирусных инфекциях, а также снижением отвечаемости клеток на цитокины [13].

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало у пациентов с хронической рецидивирующей герпетической инфекцией тяжелого течения в период клинической ремиссии заболевания снижение спонтанной продукция клетками крови IL-1β, IL-8 и IL-10 на фоне дисбаланса цитокинов и изменения характера взаимосвязей субпопуляций лимфоцитов с уровнем синтеза различных цитокинов.

Выводы

У больных хронической рецидивирующей герпетической инфекцией в период клинической ремиссии снижена, относительно контрольной группы, спонтанная продукция IL-1β, IL-8 и IL-10 лейкоцитами цельной крови, а также характерны диспропорции в цитокиновом спектре: относительное преобладание продукции IFNγ и IL-8 над синтезом IL-10, а IL-4 и IL-13 – над IL-1β.

Выявлено наличие отрицательной взаимосвязи количества активированных лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$ и $CD3^+CD4^+CD25^+$) с продукцией IL-4 и IL-13 в культурах цельной крови пациентов, тогда как для здоровых лиц характерна взаимосвязь $CD3^+CD4^+CD25^+$ IL-6 и $CD3^+CD4^+CD25^+$ IL-8. Количество NK-клеток у пациентов ассоциировано с продукцией IL-10, а у здоровых лиц – с продукцией IFNγ.

Список литературы

1. Гомоляко А.В., Новикова И.А., Шитикова М.Г., Злотникова М.В. Регионарные показатели субпопуляционного состава лимфоцитов здоровых жителей Гомельской области // Клиническая медицина. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 67-74.
2. Желтова О.И., Старостина Н.М., Тихонова М.А., Леплина О.Ю., Черных Е.Р., Останин А.А. Особенности иммунитета больных с хроническими рецидивирующими инфекциями // Иммунология. – 2011. – № 4. – С. 205-209.
3. Злотникова М.В., Новикова И.А. Функциональная активность нейтрофилов и перекисное окисление липидов при тяжелой форме герпетической инфекции // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 1. – С. 70-76.
4. Мезенцева М.В., Щербенко В.Э., Наровлянский А.Н., Фарфаровский М.С., Павлов В.И., Павлова С.В., Ершов Ф.И. Особенности производства интерферонов и цитокинов при генитальном герпесе // Вопросы вирусологии. – 2003. – № 6. – С. 33-37.
5. Новикова И.А., Злотникова М.В. Субпопуляционный состав лимфоцитов у больных герпетической инфекцией тяжелого течения // Медицинская иммунология. – 2010. – № 4-5. – С. 330-336.
6. Новицкий В.В. Изменение продукции иммунорегуляторных цитокинов мононуклеарами крови при хронической герпесвирусной инфекции // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 5. – С. 43-45.

Ссылки 7-14 см. в References (смр. 576). See References for numbers 7-14 at p. 576

References

1. Gomolyako A.V., Novikova I.A., Shitikova M.G., Zlotnikova M.V. Regionarnye pokazateli subpopulyatsionnogo sostava limfotsitov zdorovykh zhiteley Gomel'skoy oblasti [Regional indicators lymphocyte subpopulation composition of healthy residents of the Gomel region]. *Klinicheskaya meditsina – Clinical Medicine*, 2010, vol. 4, no. 2, pp. 67-74.
2. Zheltova O.I., Starostina N.M., Tikhonova M.A., Leplina O.Yu., Chernykh E.R., Ostanin A.A. Osobennosti immuniteta bol'nykh s khronicheskimi retsidiviruyushchimi infektsiyami [Features of immunity in patients with chronic recurrent infections]. *Immunologiya – Immunology*, 2011, no. 4, pp. 205-209.
3. Zlotnikova M.V., Novikova I.A. Funktsional'naya aktivnost' neytrofilov i perekisnoe okislenie lipidov pri tyazhelyoy forme gerpeticheskoy infektsii [The functional activity of neutrophils and lipid peroxidation in severe herpes infections]. *Problemy zdorov'ya i ekologii – Problems of Health and Ecology*, 2011, no. 1, pp. 70-76.
4. Mezentseva M.V., Shcherbenko V.E., Narovlyanskiy A.N., Farfarovskiy M.S., Pavlov V.I., Pavlova S.V., Ershov F.I. Osobennosti proizvodstva interferonov i tsitokinov pri genital'nom gerpese [Features of production of interferons and cytokines in genital herpes]. *Voprosy virusologii – Problems of Virology*, 2003, no. 6, pp. 33-37.
5. Novikova I.A., Zlotnikova M.V. Subpopulyatsionnyy sostav limfotsitov u bol'nykh gerpeticheskoy infektsiey tyazhelogo techeniya [Subpopulations of lymphocytes in patients with herpes infection of severe]. *Meditsinskaya immunologiya – Medical Immunology*, 2010, no. 4-5, pp. 330-336.
6. Novitskiy V.V. Izmenenie produktsii immunoregulyatornykh tsitokinov mononuklearami krovi pri khronicheskoy gerpesvirusnoy infektsii [Changing production of immunoregulatory cytokines blood mononuclear cells in patients with chronic herpes virus infection]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika – Clinical Laboratory Diagnostics*, 2005, no. 5, pp. 43-45.
7. Aurelian L. Herpes Simplex Virus Type 2 Vaccines: New Ground for Optimism? *J. Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2004, vol. 1, no. 3, pp. 437-445.
8. Derek D.S., Keith R.J. Herpes Simplex Virus Remodels T-Cell Receptor Signaling, Resulting in p38-Dependent Selective Synthesis of Interleukin-10. *Journal of virology*, 2007, vol. 81, no. 22, pp. 12504-12514.
9. Drescher K.M., Whittum-Hudson J.A. Herpes Simplex Virus Type 1 Alters Transcript Levels of Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-6 in Retinal Glial Cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 1996, vol. 3, no. 11, pp. 2302-2312.
10. Ellermann-Eriksen S. Macrophages and cytokines in the early defence against herpes simplex virus. *Virology Journal*, 2005, vol. 2, no. 59.
11. Malmgaard L., Paludan S.R., Mogensen S.C., Ellermann-Eriksen S. Herpes simplex virus type 2 induces secretion of IL-12 by macrophages through a mechanism involving NF- κ B. *Journal of General Virology*, 2000, vol. 81, pp. 3011-3020.
12. Prete G.D., Carli M.D., Almerigogna F., Giudizi M.G., Biagiotti R., Romagnani S. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *The Journal of Immunology*, 1993, vol. 150, no. 2, pp. 353-360.
13. Singh R., Kumar A., Creery W.D., Ruben M., Giulivi A., Diazmitoma F. Dysregulated expression of IFN γ and IL-10 and impaired IFN γ mediated responses at different disease stages in patients with genital herpes simplex virus-2 infection. *Clin. Exp. Immunol.*, 2003, vol. 133, pp. 97-107.
14. Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Mark T.D., Croninc, Mazura V., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007, vol. 39, no. 1, pp. 44-84.