

Гизингер О.А.<sup>1</sup>, Шеметова М.А.<sup>2</sup>

## Цитокиновый дисбаланс у пациентов с герпесвирусной инфекцией и методы его коррекции

ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Челябинск

Giesinger O.A., Shemetova M.A.

### Cytokine imbalance in patients with herpesvirus infection and methods of its correction

#### Резюме

Зарегистрировано снижение интерлейкина 2 (ИЛ-2) в сыворотке крови пациенток с рецидивирующей формой генитального герпеса. Для коррекции выявленных нарушений использован рекомбинантный ИЛ-2. Проведен сравнительный анализ эффективности рекомбинантного ИЛ-2 в комплексной терапии рецидивирующего генитального герпеса у 45 женщин в возрасте от 20 до 35 лет, диагноз которым был выставлен на основании комплекса клинико-лабораторных показателей и сбора анамнестических данных. Показано, что применение комплексной схемы терапии, включающей Валацикловир по 500 мг 2 раза в сутки 5 дней Ронколейкин® подкожно 1 раз в сутки 3 дня по 0,5 мг с интервалом 3 дня приводило к восстановлению содержания ИЛ-2 и способствовало снижению рецидивов герпетической инфекции.

**Ключевые слова:** инфекции, вызванные вирусом папилломы человека, интерлейкин-2, герпетическая инфекция

#### Summary

A decrease in interleukin-2 (IL-2) in the serum of patients with a recurrent form of genital herpes was registered. To correct the revealed disorders, recombinant IL-2 was used. A comparative analysis of the efficacy of recombinant IL-2 in the complex therapy of recurrent genital herpes in 45 women aged 20 to 35 years, diagnosed on the basis of a set of clinical and laboratory indicators and the collection of anamnestic data. It was shown that the use of a complex therapy regimen including Valaciclovir 500 mg twice a day for 5 days Roncoleukin subcutaneously once a day for 3 days for 0.5 mg with an interval of 3 days resulted in the restoration of IL-2 content and contributed to a decrease in relapses of herpetic infection.

**Keywords:** papilloma virus infection, interleukin-2, herpes infection

#### Введение

Значительная часть населения подвержена заболеваниям, вызванными вирусами герпеса 1 и 2 типов, среди которых генитальный герпес (ГГ) занимает лидирующие позиции по частоте встречаемости и тяжести клинических проявлений [1]. Спектр выявляемых при ГГ нарушений затрагивает наиболее значимые звенья гомеостатического регулирования: нарушение состава и функционально-метаболического статуса моно- и полинуклеарных лейкоцитов, раскоординированность реакций иммунного регулирования, нарушение функционирования ключевых медиаторов антиоксидантной системы [2,6]. Перспективной стратегией иммунотерапии является использование препаратов, способных нормализовать нарушенное равновесие в системе Th1/Th2 лимфоцитов, повышать синтез ключевых медиаторов ИЛ-2, ИФН-γ, восстанавливать активность НК-клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов, фагоцитов (нейтрофильных гранулоцитов и макрофагов) [3]. Решением

проблемы восполнения недостатка эндогенных цитокинов может стать использование рекомбинантных цитокинов, например, рекомбинантного ИЛ-2 (Ронколейкин®). Биологические эффекты рекомбинантного ИЛ-2 делают обоснованным его применение в комплексной терапии ГГ за счет его влияния на активность метаболических процессов на клеточном и субклеточном уровнях, способность стабилизировать систему перекисного окисления липидов клеточных мембран, влиять на процессы клональной пролиферации и дифференциации Т- и В-лимфоцитов [4]. Полагаем, что применение рекомбинантного ИЛ-2 в комплексе с противовирусными препаратами приведет к ликвидации клинических и иммунологических нарушений, регистрируемых при рецидивирующем ГГ.

**Цель исследования** - на основании анализа клинических и иммунологических показателей обосновать применение рекомбинантного интерлейкина -2 в терапии рецидивирующего генитального герпеса.

## Материалы и методы

За период с сентября 2015 года по март 2017 года под наблюдение были взяты 45 женщин в возрасте от 20 до 35 лет (группа 1) с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией, обратившихся в Челябинский Областной кожно-венерологический диспансер (гл. врач д.м.н. О.Р. Зиганшин), медицинский центр Ситимед (Челябинск). Проведенное исследование было открытым, когортным, проспективным. От пациенток, решивших принять участие в исследовании получено письменное информированное согласие в соответствии с основами законодательства РФ. Группа 2 была сформирована из 40 женщин, без соматической патологии и генитальной герпесвирусной инфекции. Объектом изучения являлись периферическая кровь, забранная с учетом требований преаналитического этапа лабораторной диагностики. Все значимые для исследования данные были взяты из амбулаторных карт и историй болезни, зафиксированы в индивидуально разработанных картах, внесены в специально созданную статистическую базу данных для последующей обработки. Клинический мониторинг больных с рецидивирующим ГГ осуществлялся путём описания клинического статуса: осмотр наружных половых органов, влагалища, шейки матки в зеркалах, бимануальное влагалищное обследование, пальпацию паховых лимфатических узлов. Описание субъективных симптомов включало: наличие или отсутствие болезненных высыпаний в области половых органов и/или перианальной области, зуд/боль, парестезии в области поражения, болезненность во время половых контактов, общие симптомы интоксикации (повышенная температура тела, головная боль, тошнота, недомогание, миалгия, нарушение сна). В мониторинг объективных симптомов входило: наличие гиперемии и отека кожи в области поражения, наличие везикулезных элементов, увеличение и болезненность паховых лимфатических узлов. Гинекологический осмотр пациенток осуществляли при первичной явке и на стадии диспансерного наблюдения в интервале через 3-6 месяцев. Критерии исключения: тяжёлая соматическая патология, сахарный диабет, онкозаболевания, беременность, лактация, ВИЧ инфекции, другие ИППП, несогласие пациенток на участие в исследовании. В соответствии с МКБ-10 и «Клиническими рекомендациями Российского общества дерматовенерологов и косметологов по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями» под ред. А.А. Кубановой [8] пациенткам был выставлен диагноз - герпетическая инфекция половых органов и мочевого тракта. Частота рецидивов герпетической инфекции:  $3 \pm 1,5$  раз в год, межрецидивный период  $3,10 \pm 0,25$  месяца. В группе 1 (пациентки с рецидивирующим ГГ) были выделены две подгруппы: подгруппа 1А, состоящая из 20 женщин и подгруппа 1Б, состоящая из 25 женщин. Пациентки подгруппы 1А получали терапию препаратом Валацикловир по 500 мг 2 раза в день в течение 5 дней, пациентки подгруппы 1 Б получали Валацикловир по 500 мг 2 раза в день в течение 5 дней и Ронколейкин® (Биотех, СПб), подкожно 1 раз в

сутки по 0,5 мг с интервалом 3 дня, на курс 3 инъекции. Лабораторное исследование проведенное на базе клинико-диагностической лаборатории медицинского центра Ситимед (Челябинск), лаборатории Гемотест (Москва), иммунологического отдела НИИ иммунологии ФГОУ ВО ЮУГМУ (Челябинск) [5], включало: обнаружение генетического материала возбудителей методом ПЦР, общий анализ крови, иммунограмму с определением субпопуляций лимфоцитов, концентрации цитокинов: ИЛ-2, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$ , ТНФ- $\alpha$  методом ИФА (результат выражали в пг/мл). Статистический анализ полученных данных проводили с помощью математического пакета «Statistica 6.0». Стандартная обработка выборок включала расчет средних арифметических величин и ошибок средних. Достоверность различий средних значений между выборками определяли с применением непараметрического критерия Манна – Уитни. Статистически значимые отличия считали при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

По данным молекулярно-генетического исследования, среди пациенток с ВПГ, включенных в исследование моноинфекция ВПГ-1 наблюдалась у 10 женщин (22,2%), моноинфекция ВПГ-2 у 10 больных (22,2%), мультиинфекция двумя типами вируса ВПГ 1,2 у 25 женщин (55,2%). Основными жалобами пациенток были: жалобы на болезненные высыпания в области половых органов и перианальной области, болезненность во время полового акта, зуд слизистых оболочек влагалища и вульвы различной интенсивности. Анализ субпопуляционного состава лейкоцитов периферической крови выявил снижение количества Т-лимфоцитов (CD3+), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+), Т-хелперов (CD3+CD4+), натуральных киллеров (CD16+CD56+), рецепторов поздней активации (HLA-DR+), повышение экспрессии рецепторов В-лимфоцитов (CD19+, CD20+), что на наш взгляд является закономерным патогенетическим процессом. На выявленные дисфункции, с одной стороны, влияет снижение пролиферации и дифференцировки лимфоцитов. С другой стороны, у больных ГГ отмечается нарушение про- и антиапоптогенной регуляции в связи со снижением экспрессии белка-регулятора апоптоза BCL-2 [11]. Снижение контроля апоптоза вызывает нарушение иммунного гомеостаза и приводит к различным патологическим процессам, в частности к оксидативному стрессу и нарушению проницаемости митохондриальной и ядерной мембран лимфоцитов [7]. Указанные механизмы реализуются в условиях изменения цитокинового профиля в крови, процессов свободно-радикального окисления [9]. При проведении исследования установлено, что у больных с рецидивами ГГ достоверно значимо повышается концентрация в сыворотке ИЛ- 8, ИЛ- 10, снижается ИФН- $\gamma$ , ТНФ- $\alpha$ , ИЛ-2 до начала лечения и наблюдается нормализация содержания ИЛ-2, ИФН - $\gamma$ , ТНФ- $\alpha$ , ИЛ-8 после комплексной терапии рекомбинантным ИЛ-2 (табл.1).

Таблица 1.

Анализ рецидивов ГГ при монотерапии с использо-

**Таблица 1. Содержание цитокинов (пг/мл) в сыворотке периферической крови женщин с рецидивирующим генитальным герпесом, (M±m)**

Цитокины	Здоровые группа 2 n=40	Женщины с признаками манифестации герпетической инфекции гениталий n=45 группа 1 n=45			
		подгруппа 1А n=20		подгруппа 1Б n=25	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
ИЛ-2	2,65±0,17	1,26±0,13	1,25±0,17	1,28±0,11*	2,67±0,19**
ИЛ-10	3,87±0,26	6,54±0,22	6,52±0,23	6,49±0,25*	5,91±0,24
ИФН-γ	10,96±0,55	6,13±0,12	6,44±0,15	6,17±0,14*	10,88±0,56**
ИЛ-8	5,96±0,88	17,26±0,13	7,99±0,19	17,06±0,19*	5,98±0,79**
ТНФ-α	1,48±0,15	0,76±0,11	1,06±0,21	0,75±0,13*	1,49±0,14**

*Примечание. p - показатель значимости различий между группами по критерию Манна-Уитни, \*-различия между показателями в подгруппах 1А и 1Б., \*\*-различия между показателями в подгруппах до и после лечения*

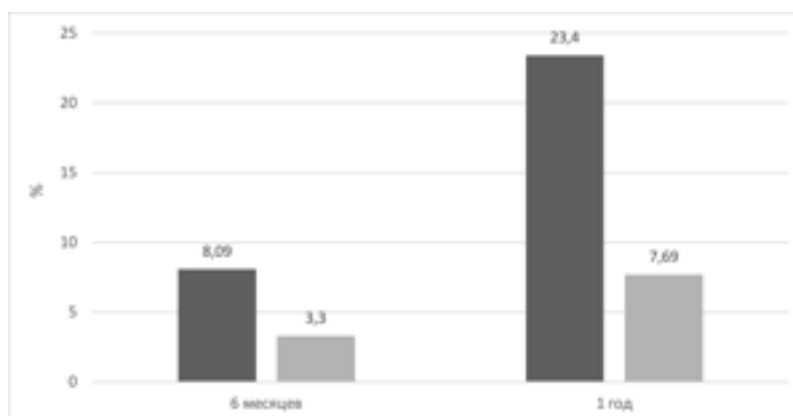
ванием только препарата Валациклоvir показал следующее: рецидив отмечен у 8,09% женщин подгруппы 1А, при этом интенсивность клинических проявлений стала значительно менее выраженной, однако содержание ИЛ-2 оставалось достоверно сниженным, не изменившись в процессе лечения. В группе пациенток, получавших комплексную терапию с применением рекомбинантного ИЛ-2, рецидив был отмечен только у одной пациентки -3,3%, содержание ИЛ-2 нормализовалось до референсных показателей у здоровых женщин. Необходимо отметить, что рекомбинантный ИЛ-2 хорошо переносился большими, аллергических реакций не отмечено, не было зарегистрировано осложнений, побочных реакций или нежелательных эффектов. За период с 7 по 12 месяц наблюдения рецидивы выявлены у 23,4% пациенток из группы, получавших монотерапию препаратом Валациклоvir, длительность рецидива составила в среднем 10,03±1,14 дня. В группе женщин, получавших комплексную терапию с применением рекомбинантного ИЛ-2, за этот же период наблюдения, выявлена нормализация содержания рекомбинантного ИЛ-2 (Ронколейкин®), эпизоды рецидива генитального герпеса выявлены у 7,69%

обследуемых, длительность рецидива составила 5,3±1,42 дня (p <0,05) (рис. 1).

Оценка этиологической эффективности проведенной терапии через 6 месяцев и через 1 год показала отсутствие генетического материала вируса герпеса 1,2 типов через 6 месяцев в группе пациентов, получавших Валациклоvir у 9,09% женщин и в группе получавших комплексную терапию препаратом Ронколейкин® у 5,69% женщин. Частота выявления ВПГ через 1 год в группе пациенток, получавших только Валациклоvir и в подгруппе, где пациентки получали рекомбинантный ИЛ-2 составила 12,66% и 6,89% соответственно (p <0,05) (рис.2).

### Заключение

Таким образом, терапия сочетающая противовирусные препараты и подкожное введение рекомбинантного ИЛ-2 достоверно снижала частоту рецидивов ГГ, что свидетельствует о целесообразности введения, предлагаемой нами схемы в комплекс терапевтических мероприятий. В пользу патогенетической обоснованности предлагаемого метода свидетельствует тот факт, что при инфицирова-



**Рисунок 1. Оценка рецидивов герпетической инфекции при различных схемах терапии**

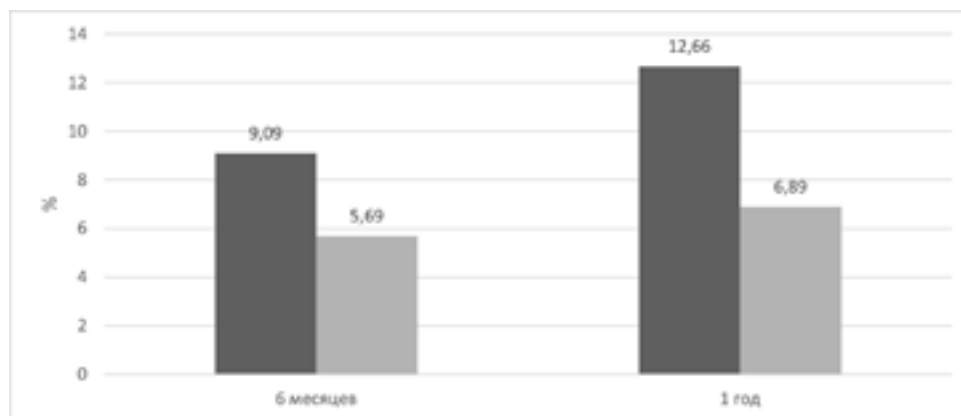


Рисунок 2. Этиологическая эффективность комплексной терапии генитального герпеса с применением рекомбинантного ИЛ-2 (Ронколейкин®)

нии лимфотропными вирусами происходит нарушение межклеточных взаимодействий, обеспечиваемое ключевыми цитокиновыми медиаторами, в том числе ИЛ-2-цитокинном, участвующим в клеточной стимуляции, пролиферации и регуляции ангиогенеза [10]. Нормализация содержания ИЛ-2 приводит к восстановлению иммунного гомеостаза, нормализации клинического состояния пациенток, снижения количества и тяжести рецидивов. Механизм выявленных нами событий заключается в том, что при вирусных инфекциях центральную роль в регуляции иммунного ответа играют Th1 плеiotропные цитокины, в частности, интерлейкин-2 (ИЛ-2) [1]. Оказывая аутокринное воздействие на Th1 клетки и паракринное на субпопуляцию Th2-лимфоцитов, ИЛ-2 контролирует баланс Th1/Th2 реакций. По нашему мнению, высокая клиническая эффективность терапии с применением рекомбинантного ИЛ-2 обусловлена его способностью балансировать и синхронизировать количество и качество CD4+ и CD8+ субпопуляций лимфоцитов, обратная корреляция между которыми достоверно возрастает при инфицировании вирусом герпеса 1, 2 типов. Кроме того, применение рекомбинантного ИЛ-2 снимает напряжение в биологических системах адаптации в ответ

на воздействие вирусных антигенов, восстанавливая ход иммунологических реакций. Вышеперечисленные обстоятельства делают обоснованным использование рекомбинантного ИЛ-2 в комплексной терапии вирусных инфекций гениталий, вызванных вирусами герпеса 1, 2 типов. ■

*Гизингер Оксана Анатольевна - профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, д.б.н., доцент, Шеметова Мария Александровна – врач-дерматовенеролог, соискатель кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Автор, ответственный за переписку - Гизингер О.А., 454097, Челябинск, ул. Воровского, 64, Южно-Уральский медицинский университет, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, тел 89193194604, E-mail-OGizinger@gmail.com*

## Литература:

1. Аковбян В.А., Масюкова С.А., Владимирова Е.В. [и др.] Генитальный герпес: современные проблемы и пути их решения *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2003; 5(1): 4-18.
2. Брызжикова, Т.С. *Этиологические особенности и клинико-иммунологические проявления современной герпетической инфекции : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург; 1995.*
3. Долгушин И.И., Гизингер О.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на нейтрофилы цервикального секрета у женщин с микоплазменной инфекцией. *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физкультуры*. 2008; 4:29-31.
4. Гизингер О.А., Семенова И.В., Летяева О.И., Зиганшин О.Р., Униговская М.В., Романенко О.А., Никушкина К.В., Орнер И.Ю., Семенов Ю.А. Комплексное иммунорегуляторное воздействие ультразвуковой кавитации и рекомбинантного ИЛ-2 (rIL-2) на факторы антимикробной резистентности урогенитального тракта при кандидозно-микоплазменной инфекции. *Российский иммунологический журнал*. 2012; 3: 62-63.
5. Гизингер О.А., Долгушин И.И. Система провоспалительных цитокинов у женщин с урогенитальным трихомониазом. *Медицинская иммунология*. 2005; 5-6: 601-604.
6. *Клинические рекомендации Российского общества дерматовенерологов и косметологов (2013) по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями» под ред.*

- А.А. Кубановой. М.; 2015.
7. Гизингер О.А., Долгушин И.И., Телешева Л.Ф. Иммунологические и микробиологические аспекты действия низкоинтенсивного лазера на факторы местного иммунитета репродуктивного тракта женщин с хламидийной инфекцией. *Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2006; 4: 105-109.
  8. Ziolkowska-Seta I., Madry R., Kraszewska E. et al. TP53, BCL2 and BAX analysis in 199 ovarian cancer patients treated with taxane-platinum regimens. *J. Leuc. Biol.* 1996; 4: 28-32.
  9. Исаков В.А. Герпесвирусные и папилломавирусные инфекции. / Глава в кн: "Инфекции, передаваемые половым путем". / Под ред. В.А. Аковбяна, В.И. Прохоренкова, Е.В. Соколовского. Учебное пособие для системы послевузовского профобразования врачей. М.: Медиа Сфера; 2007.
  10. Симбирцев А. С. Интерлейкин-2 и рецепторный комплекс интерлейкина-2 в регуляции иммунитета. *Иммунология.* 1998; 6: 3-8.
  11. Singh R., Kumar A., Creery W.D. [et al.] Dysregulated expression of IFN- $\gamma$  and IL-10 and impaired IFN- $\gamma$ -mediated responses at different disease stages in patients with genital herpes simplex virus-2 infection. *Clin. Exp. Immunol.* 2003;1: 97-107.