

журн.Імунологія та алергологія,№2,2006,стор.

УДК 612.017.: 61 – 008]: 57.083.3: [.615: 612.017.1]: 616- 022: 578.825.1

**ВЛИЯНИЕ ЭРБИСОЛА® УЛЬТРАФАРМ ПРИ РЕЦИДИВУЮЩЕЙ  
ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ НА ПРОДУКЦИЮ ИЛ-4, ИЛ-10  
И ЭКСПРЕССИЮ АКТИВАЦИОННЫХ МОЛЕКУЛ**

Дранник Г.Н., Свидро Е.В., Курченко А.И., Вагалюк Л.Н., Фесенкова В.И.  
Национальный медуниверситет им. А.А. Богомольца, Институт урологии АМН  
Украины

Данной статьей мы завершаем серию материалов (см. №№2 и 4 за 2005 год) об исследованных нами аспектах воздействия нового отечественного препарата эмбрионального происхождения «Эрбисола УЛЬТРАфарм» на состояние системного иммунитета у пациентов с частыми и длительно протекающими рецидивами инфекции, обусловленной вирусом простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ или HSV1,2). Информирование об этом являлось целью предыдущих публикаций и легло в основу настоящей работы, т.к. она посвящена оценке ранее неоглашенных результатов углубленного иммунологического исследования у больных ВПГ-инфекцией.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Напомним, что исследованием в целом было охвачено 93 пациента с HSV-инфекцией, что подтверждалось общепризнанными критериями диагностики [в соответствии с 1]. Эти лица были разделены на 2 сопоставимых группы: в исследуемую (группа И) вошло 55 пациентов, а в контрольную (группа К) – 38 больных. В группе контроля лечение проводилось традиционно [2,3], а в группе И в течение 20 дней дополнительно ежедневно больные получали внутримышечные инъекции 2 мл раствора препарата Эрбисол УЛЬТРАфарм (НПЦ «Эрбис», г. Киев).

Для изучения лимфокинопродуцирующей функции иммунокомпетентных клеток в отношении ИЛ-4 и –10 использовалась периферическая кровь, извлеченная у больных рецидивирующей формой орофациального или генитального герпеса в 1-й и 21-й дни от начала лечения. Число рецидивов в среднем составляло  $5,3 \pm 1,4$  (HSV1) и  $2,7 \pm 0,6$  (HSV2) случая. В группе И исследованию подверглись 20 лиц, а в контрольной – 14 пациентов. Нормой служили данные 15 практически здоровых доноров соответствующего возраста.

Спонтанную и митоген-стимулированную продукцию лимфокинов определяли в клеточных супернантатах с использованием иммуноферментных тест-систем фирмы DIACONE Research (Франция) на аппарате STAT-Fax-303 Plus.

журн.Імунологія та алергологія,№2,2006,стор.

Изучение состояния лимфокинопродуцирующей способности CD4<sup>+</sup>-клеток было продиктовано разноплановыми литературными данными об имеющихся нарушениях в работе системы цитокинов при герпес-вирусной инфекции [4,5] с учетом общепризнанной определяющей роли клеточного звена в формировании и реализации антигерпесного иммунитета. Мы также имели собственные материалы по динамике изменений данной функции клеток при их обработке *in vitro* различными разведениями препарата Эрбисол УЛЬТРАфарм.

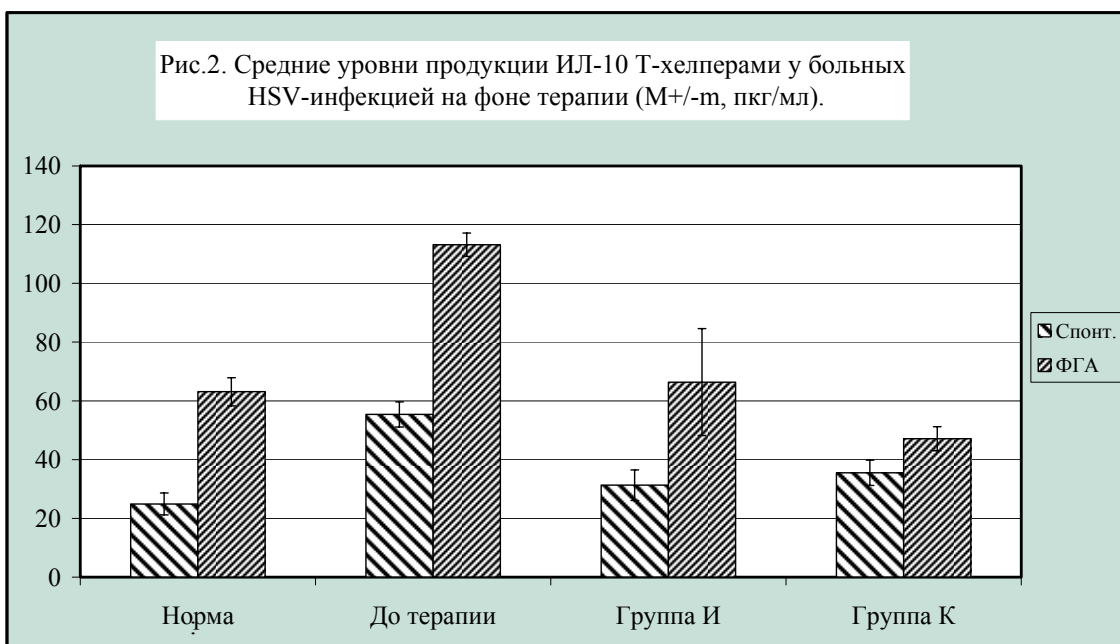
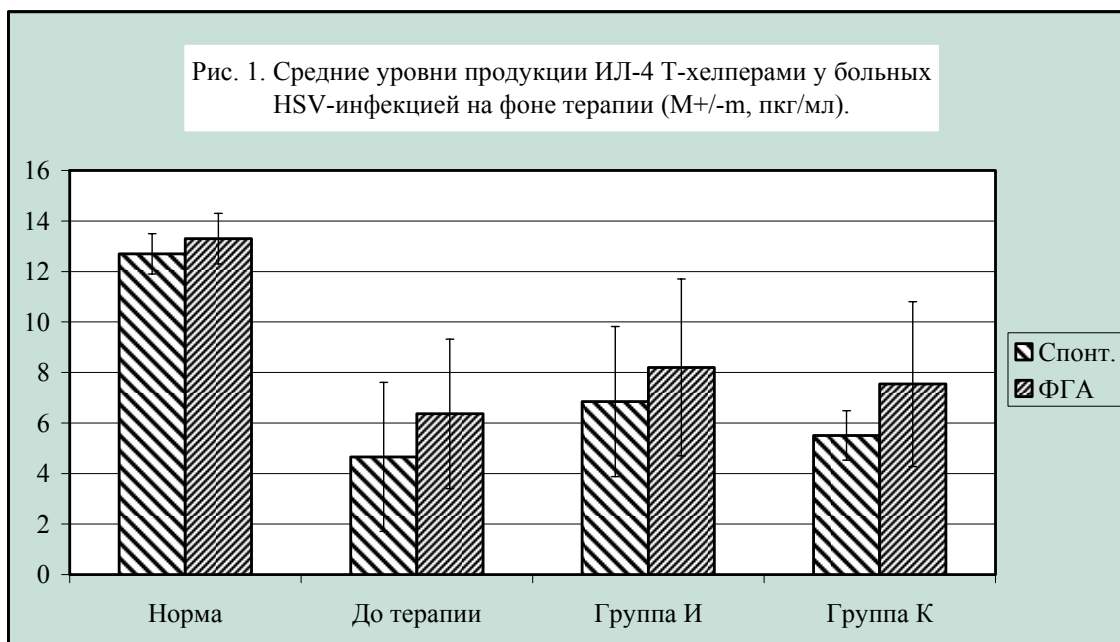
Дополнительную информацию о функциональном статусе клеток предполагалось получить на основании установления выраженности экспрессии активационных молекул на мембранах моноцитов (HLA-DR<sup>+</sup>) и Т-хелперов (CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>), что было сделано благодаря проточной цитофлюориметрии с задействованием панелей моноклональных антител Simultest на аппарате FACScan (Becton Dickinson, США). Для исследования использовали цельную кровь, изъятую в 1-й, 8-й и 21-й дни от начала терапии.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 9,0 for Windows 2000 на ПК IBM Pentium II. При оценке полученных значений высчитывали следующие параметры: средние значения, ошибку средней, стандартное отклонение, критерий достоверности Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов с рецидивирующей формой герпесинфекции было зафиксировано значительное угнетение как спонтанной, так и ФГА-индуцированной продукции CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами интерлейкина 4 на фоне значительного возрастания параметров ИЛ-10-продукции. Так, в отношении ИЛ-4 (данные иллюстрирует Рис.1.) исходный (до лечения) средний уровень нестимулированного синтеза составлял  $4,66 \pm 2,95$ , а средняя величина его митоген-индуцированной продукции –  $6,36 \pm 2,96$  пкг/мл при норме  $12,7 \pm 0,8$  и  $13,3 \pm 1,0$  пкг/мл соответственно).

ИЛ-10-продуцирующая способность Т-хелперов описывалась такими средними значениями (показано на Рис.2.): величина спонтанного синтеза равнялась  $55,4 \pm 4,3$  пкг/мл (у здоровых лиц –  $24,9 \pm 3,7$  пкг/мл), а ФГА-стимулированная продукция достигала  $113,2 \pm 4,0$  пкг/мл, что почти в 2 раза превосходило результаты у доноров ( $63,1 \pm 4,8$  пкг/мл).



После терапии в обеих группах определено незначительное увеличение спонтанной и ФГА-индуцированной продукции CD4<sup>+</sup>-клетками ИЛ-4 (в среднем до 6,85 $\pm$ 2,97 и 8,2 $\pm$ 3,5 пкг/мл соответственно в исследуемой группе и до 5,51 $\pm$ 0,98 и 7,54 $\pm$ 3,26 пкг/мл соответственно в контроле), что не позволило достичь нормальных значений, а также не продемонстрировало достоверную разницу во влиянии на эти показатели различных терапевтических подходов (без использования и с применением Эрбисола УЛЬТРАфарм). Представляется важным, что при обработке

журн.Імунологія та алергологія,№2,2006,стор.

данным препаратом *in vitro* Т-хелперов от аналогичных пациентов мы наблюдали противоположный эффект – ингибирование продукции ИЛ-4. Столь демонстративное расхождение требует, видимо, перепроверки данных, с другой стороны, специалистам известна проблема отсутствия ожидаемых результатов при лечении больных препаратами, которые были действенны в отношении клеток данных пациентов *in vitro*.

Динамика изменений ИЛ-10-синтезирующей способности у Т-хелперов была иной, чем в случае с ИЛ-4. Включение иммуномодулятора Эрбисола УЛЬТРАфарм в лечебный алгоритм приводило к более выраженному, чем в гр. К, снижению спонтанной и, особенно, митоген-стимулированной продукции ИЛ-10 (средние уровни составили соответственно  $31,3 \pm 5,2$  и  $66,40 \pm 18,2$  пкг/мл). В то же время в группе сравнения зафиксированы в среднем значения в пределах  $35,5 \pm 4,3$  и  $47,10 \pm 4,1$  пкг/мл соответственно. Очевидно, что параметр ФГА-индуцированной ИЛ-10-продукции после введения Эрбисола УЛЬТРАфарм характеризуется большой вариативностью данных ( $p < 0,05$ ), тем не менее при проведении коррелятивного анализа с особенностями клинического течения заболевания у большинства пациентов этой группы наблюдалось снижение числа рецидивов и длительности таких эпизодов, что оптимизировало показатели нетрудоспособности на протяжении года наблюдения.

Интересно, что из других медиаторов иммунной системы наиболее тесную связь с уровнем спонтанной продукции ИЛ-10 прослеживали в отношении величины неиндуцированного синтеза ИФН- $\gamma$  - обратно пропорциональная зависимость, в очередной раз подчеркивающая колоссальное сдерживающее значение ИЛ-10 в отношении лимфокинопродуцирующей функции Т-хелперов 1 типа и опосредуемых ими реакций клеточного иммунитета. Кроме того, это совпадает с литературными сообщениями о наличии у бессимптомных носителей вирусов герпеса высоких концентраций в крови ИФН- $\gamma$  при низком содержании ИЛ-10 и длительном наблюдении высокой концентрации в сыворотке ИЛ-10 у больных с рецидивами герпеса [6]. Таким образом, коррекция имеющейся у пациентов с рецидивами ВПГ-инфекции дисгармонии в продукции ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10 CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами, эффективно обеспечиваемая Эрбисолом УЛЬТРАфарм, делает его одним из

перспективных препаратов иммунокорректирующего действия у данной категории больных.

Обратимся к результатам исследования экспрессии активационных молекул у больных с рецидивами ВПГ-инфекции (средние величины приводятся в Таб.1).

До терапии в обеих группах у пациентов были достоверно снижено содержание HLA-DR<sup>+</sup> на поверхности моноцитов, а также CD25<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup> антигенов на мембранах CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов.

После введения Эрбисола УЛЬТРАфарм (на 21-й день лечения) получены убедительные различия в относительном количестве Т-хелперов-носителей CD95<sup>+</sup> и моноцитов, экспрессирующих HLA-DR<sup>+</sup>. В обоих случаях достигнуто повышение доли выявляемых клеток с искомыми молекулами. Средний показатель числа CD4<sup>+</sup> CD95<sup>+</sup>-клеток был единственным из определяемых параметров, приблизившимся к аналогичной величине у здоровых лиц и продемонстрировавшим существенную разницу во влиянии на него разных лечебных подходов.

CD95<sup>+</sup> или Fas традиционно воспринимается в первую очередь как важный фактор, увеличивающий чувствительность экспрессирующей его клетки к апоптогенным стимулам, которым в данном случае для CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов может служить повторный контакт с ИЛ-2. В этом контексте не исключено, что произошедшая у пациентов под влиянием препарата Эрбисол УЛЬТРАфарм активация синтеза лимфокинов Т-хелперами 1 типа, включая ИЛ-2, при подавлении ИЛ-10-продукции, нуждается в привлечении апоптоза в качестве противовеса небезопасной избыточной стимуляции CD4<sup>+</sup>-клеток на фоне ингибирования репликации инфекционного агента и иных признаков стихающего рецидива HSV-инфекции.

Достаточный уровень экспрессии HLA-DR<sup>+</sup> на моноцитах необходим для слаженной работы данных клеток с Т-хелперами 1 типа, что имеет при герпетической инфекции особое значение, т.к. CD4<sup>+</sup>-клетки, секретирова ИФН-γ для моноцитов, способствуют уничтожению патогенов внутри фаголизосом и предотвращают использование данных клеток в виде резервуаров, хранящих в себе вирусы. В этой связи даже небольшое увеличение числа моноцитов, экспрессирующих на себе молекулы HLA-DR<sup>+</sup>, трактуется как позитивное изменение в иммунной системе больных герпесинфекцией. Что касается отсутствия нормализации данного показателя

журн.Імунологія та алергологія,№2,2006,стор.

после лечения, то это может рассматриваться как одно из важных условий хронического рецидивирующего течения инфекционного процесса. В этом плане применение однократного курса лечения Эрбисолом УЛЬТРАфарм не дает возможности надеяться на полное прекращение рецидивов, хотя и уменьшает их частоту и длительность на период от 6 месяцев до 1 года после терапии.

### **ВЫВОДЫ**

1. При активации инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типа, с наличием частых и длительных рецидивов имеет место угнетение способности  $CD4^+$ -лимфоцитов к спонтанному и индуцированному синтезу ИЛ-4 при одновременном увеличении показателей продукции ИЛ-10.
2. Выявлено, что при рецидиве HSV-инфекции достоверно снижена содержание HLA-DR<sup>+</sup>-моноцитов, а также у Т-хелперов, экспрессирующих  $CD25^+$  и  $CD95^+$ .
3. Выраженность этих нарушений прямо коррелирует с риском развития частых и длительных рецидивов инфекции простого герпеса.
4. Назначение Эрбисола УЛЬТРАфарм при HSV-индуцированных заболеваниях способствует у большинства пациентов нормализации повышенных показателей продукции ИЛ-10, преимущественно происходит стимуляция ФГА-индуцированной ИЛ-10-синтезирующей способности  $CD4^+$ -лимфоцитов на фоне недостоверного увеличения спонтанной и митоген-стимулированной способности этих клеток к продукции ИЛ-4.
5. При применении Эрбисола УЛЬТРАфарм также наблюдается достоверное увеличение уровня  $CD95^+$ -экспрессии на поверхности  $CD4^+$ -лимфоцитов. Показатели экспрессии антигенов HLA-DR<sup>+</sup> у моноцитов, а также  $CD25^+$  у Т-хелперов увеличиваются незначительно, как и в группе контроля.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Диагностика герпес-вирусных инфекций человека: меморандум совещания ВОЗ. – Бюлетень ВОЗ .- 2001.- Т.69. - №3. - С.11-19.
2. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передаваемых половым путем. / М.: Мед. лит. – 2004. – 272 с.
3. Марченко Л.А., Лушкова И.П., Шуршалина А.В. Лечение больных с рецидивирующим генитальным герпесом.// Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т.3. - №6. – С. 90-93.
4. Сухих Г.Т., Лазарев В.А. Генитальный герпес: состояние иммунитета в разные периоды инфекционного процесса.// Terra Medica. - 2001. - №4. – С. 12-14.
5. Хорошилова Н.В., Сетдикова Н.К., Трофимова Е.И. Особенности иммунного статуса у больных с хронической вирусной инфекцией.// Рус. ж. ВИЧ/СПИД и родственные проблемы. – 1998. - №2. – С.34-35.
6. Шульженко А.Е., Хутиева Л.М., Абрамов И.Г. Роль эндогенного интерферона в патогенезе рецидивирующей герпетической инфекции.// Рус. ж. ВИЧ/СПИД и родственные проблемы. – 1998. - №2. – С.25.
7. Стентон Гланц Медико-биологическая статистика./ М.: Практика. – 1999. – 463 с.

## РЕЗЮМЕ

### **ВПЛИВ ЕРБІСОЛА® УЛЬТРАФАРМ ПРИ РЕЦИДИВУЮЧІЙ ГЕРПЕТИЧНІЙ ІНФЕКЦІЇ НА ПРОДУКЦІЮ ІЛ.-4, ІЛ.-10 ТА ЕКСПРЕСІЮ АКТИВАЦІЙНИХ МОЛЕКУЛ.**

Драннік Г., Свідро О., Курченко А., Вагалюк Л., Фесенкова В.

Встановлено, що призначення Ербісола® УЛЬТРАфарм хворим на рецидивуючу герпетичну інфекцію у комплексі з ацикловіром сприяє пригніченню спонтанної та ФГА-індукованої ІЛ-10-синтезуючої здатності CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів. Лікування цим препаратом стимулює CD95<sup>+</sup>-експресію на Т-хелперах, але експресія CD25<sup>+</sup> на цих лімфоцитах залишається зниженою (як і HLA-DR<sup>+</sup>-експресія на моноцитах).

## SUMMARY

### **AN INFLUENCE OF ERBISOL® ULTRAPHARM APPLICATION IN RELAPSES OF HVS-INFECTION ON IL-4, IL-10 PRODUCTION AND ON EXPRESSION OF ACTIVATING MOLECULES.**

**Drannik G., Swidro O., Kurchenko A., Vagaluk L, Fesenkova V.**

It has been established that the prescription of erbisol ultrapharm in the patients with relapses of Herpes simplex infection in complex therapy with acyclovir is inhibiting the spontaneous and FGA-inductory IL-10-productory ability of CD4<sup>+</sup>-lymphocytes. Prescription of this preparation is a stimulating CD95<sup>+</sup>-expression on T-helpers, but expression CD25<sup>+</sup> of retain on the reducing level (it the same to HLA-DR<sup>+</sup> expression on monocytes too).