

УДК 616.523:616.6

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ГЕРПЕСЕ

**О.В. Азовцева**

Изучена распространенность генитального герпеса, приведены показатели оценки иммунного статуса методом проточной цитометрии.

*Ключевые слова:* генитальный герпес; проточная цитометрия; иммунофенотипы.

Роль вирусов в этиологической структуре заболеваний, передаваемых половым путем, относится к одной из важнейших и недостаточно изученных проблем инфекционной патологии. Генитальный герпес (ГГ) – одна из самых распространенных форм герпетической инфекции – занимает, по данным ВОЗ, 3-е место среди инфекций, передающихся половым путем, уступая по частоте лишь гонорее и негонококковому уретритам [1]. В США ежегодно регистрируют 6–10 млн случаев ГГ, из которых примерно 3/4 имеют тенденцию к латентному или рецидивирующему течению. ГГ, диагностируемый только вирусологически у 1,0–1,5 % беременных женщин, дает интранатально инфицирование от 0,003–0,05 % всех живорожденных детей, а при наличии пузырьковых поражений кожи и слизистых повышает риск инфицирования плода в родах до 40–60 % [2, с. 39–43]. Первичное инфицирование вирусом простого герпеса первого типа воздушно-капельным путем достигает 50 % популяции к 6–7-летнему возрасту (экстрагенитальный герпес) [2]. По данным Т.П. Пашаниной с соавт. (2002), у детей с частыми респираторными заболеваниями антиген ВПГ обнаружен у 36 % обследованных антиген ЦМВ – у 14 %, а антитела к ВПГ-1 выявлены у 72 % пациентов. Увеличилась частота выявления герпес-вирусов среди причин урологической патологии у детей. Так, причиной УП в 40 % является вирус Эпштейна – Барра, реже ВПГ-2 и цитомегаловирус человека [3, с. 169].

Цель исследования – изучение иммунофенотипов клеток крови у больных ГГ и определение их диагностической и прогностической значимости при этом заболевании.

**Материалы и методы исследования.** Проведен анализ динамики впервые выявленного ГГ. Исследованы иммунофенотипы клеток крови методом проточной цитометрии у больных с клиническими проявлениями герпетической инфекции.

### **Результаты исследований и их обсуждение.**

Проведен анализ частоты выявляемости первичным ГГ с учетом возрастной группы населения. В течение всего периода наблюдения преобладают две возрастные группы: 20–29 лет и 30–39 лет. Следует обратить внимание, что нередко ГГ заболевают и молодые люди 15–17 лет, это связано с недостаточной осведомленностью школьников об инфекциях, передающихся половым путем, их последствиях и профилактике. Аналогичная ситуация по частоте выявляемости ГГ в различных возрастных группах отмечена и по Новгороду.

При анализе половозрастной структуры ГГ установлено, что в сравниваемых по полу группах ГГ у женщин, по сравнению с мужчинами, чаще регистрируется в молодом возрасте (15–17 лет – 12 %, 18–19 лет – 37 %), тогда как у мужчин на эти возрастные группы приходится 0 % и 28 % соответственно.

В возрасте после 40 лет и старше ГГ в обеих группах регистрируется редко, однако у мужчин он встречается несколько чаще (6,1 % против 1 %).

Анализ половозрастной заболеваемости в динамике показал, что почти во всех возрастных группах все-таки чаще болели женщины. Такая половозрастная динамика заболеваемости первично выявленным ГГ возможно связана с более активным посещением врачей лицами женского пола и их своевременным лечением, а также более ответственным отношением лиц женского пола к безопасному сексу.

В работе для более глубокого изучения иммунного статуса больные ГГ обследованы методом проточной цитометрии (таблица 1). Из таблицы видно, что часть данных достоверно отличается от показателей здоровых лиц, другая часть показателей достоверно не изменяется. Так, общее количество лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов не отличается от показателей

здоровых лиц, тогда как Т-лимфоциты, несущие CD5, снижены у больных по сравнению с нормой ( $P < 0,05$ ), хотя все Т-лимфоциты, несущие CD3-фенотип, достоверно не отличаются от аналогичных показателей у здоровых лиц ( $P > 0,05$ ). Количество Т-хелперов/индукторов, несущих CD3, CD4, несколько ниже, чем в группе здоровых лиц, но достоверно не отличается. Также не отличаются от нормы показатели цитотоксических клеток и В-лимфоцитов зрелых субпопуляций, несущих CD19. В1- и В2-лимфоциты, несущие соответственно иммунофенотипы CD20+CD5+ и CD20+CD5, достоверно ниже нормы ( $P < 0,001$ ). Снижение всех клеток, несущих иммунофенотипы CD20, отвечающих за синтез антител, вероятно, способствует низкому накоплению противогерпетических антител, следствием чего является персистенция вирусных антигенов. Все естественные киллеры, несущие CD16+CD56+ при полном отсутствии CD3, не отличаются от показателей нормы, хотя имеют тенденцию к снижению абсолютного числа. Натуральные киллеры с высоким цитотоксическим потенциалом, несущие только CD8, при отсутствии CD3, достоверно не отличаются от нормальных показателей, но имеют тенденцию к его снижению. Количество Т-клеток антителозависимой цитотоксичности, несущих CD3+CD16+CD56+ при герпес-вирусной инфек-

ции, имеет тенденцию к его снижению. Количество Т-клеток антителозависимой цитотоксичности, несущих CD3+CD16+CD56+ при герпес-вирусной инфекции, несколько выше и приближается к достоверности.

Исследованиями установлено увеличение числа HLA-DR иммунофенотипов от числа CD3-клеток по сравнению с показателями у здоровых лиц ( $P < 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о потенциальной возможности иммунного ответа к распознаванию вируса герпеса и его реализации. Однако ряд факторов, связанных как со свойствами возбудителя, так и с иммунным статусом человека, не позволяют реализовать потенциальные возможности генетически детерминированного иммунного ответа против вирусной инфекции. Исследованиями выявлено снижение числа активизированных Т-лимфоцитов, несущих апоптотический маркер CD95 среди CD3, по сравнению с нормой в 3 раза (206 против 625,  $P < 0,001$ ). Эти данные свидетельствуют о преждевременной гибели иммунокомпетентных клеток, в том числе Т-лимфоцитов, участвующих в противовирусной защите. Возможно, вирус герпеса обладает способностью индуцировать гены апоптоза Т-лимфоцитов, обеспечивая, тем самым, самосохранность в организме.

Содержание Т-лимфоцитов, несущих ИЛ-2 рецепторы (от числа CD3), иммунофенотипа

Таблица 1 – Показатели иммунофенотипирования у больных ГГ

Имунофенотипы	ГГ, М ± m	Здоровые, М ± m	P
L	4960±339,3	5860±775,7	>0,05
CD45+ (high)	1688,4±155,7	1742±142,8	>0,05
CD14+ (high)	212±54,9	353,3±116,3	>0,05
CD14+ (low)	2140±399,2	2566,7±987,3	>0,05
CD14+ (low)+ CD45+ (low)	92,5±9,98	166,6±49,4	>0,05
CD3+	1203±116,8	1116±88,2	>0,05
CD5+CD20-	695,7±162,7	1095±33,5	<0,05
CD3+CD4+	575±54,9	640±37,0	>0,05
CD3+CD8+	546,7±67,9	420±35,3	>0,05
CD8+	715±74,8	586±66,9	>0,05
CD19+	162±29,9	256±82,9	>0,05
CD20+CD5+	38,3±9,98	150±7,0	<0,001
CD20+CD5-	50±11,9	285±12,3	<0,001
CD3-CD16&56+	233,3±67,9	344±84,6	>0,05
CD3-CD8+	150±33,9	168±70,5	>0,05
CD3+CD16&56+	114,4±26,9	80±19,3	>0,05
HLA-DR+	152,5±36,9	83,3±8,8	<0,05
CD3+ CD95+	206±20,9	625±100,5	<0,001
CD25+	366±68,8	112,5±56,2	<0,001

CD25+ достоверно увеличено по сравнению с нормой, они отвечают за активацию и пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов. Действительно, в наших исследованиях содержание CD8-клеток, отвечающих за цитотоксичность, имеет тенденцию к увеличению. Несмотря на увеличение содержания указанных фенотипов, функционально они не обеспечивают цитотоксичность, что, вероятно, связано с более быстрой их гибелью. Исследованиями установлено снижение апоптотических иммунофенотипов CD95 среди Т-лимфоцитов, что косвенно свидетельствует о гибели CD8-клеток, так как они являются общей субпопуляцией общих Т-лимфоцитов. Также исследованиями выявлено достоверное снижение CD20-клеток, отвечающих за гуморальное звено иммунитета, что также может влиять на нейтрализацию вируса меньшим количеством антител, что в определенной степени создает условия для накопления и персистенции вируса в организме.

Содержание средних/больших лимфоцитов, хотя и достоверно увеличено выше нормы, но эти клетки не способны участвовать в полном объеме иммунного ответа, тем более, что общее содержание этих клеток значительно ниже в общей популяции лимфоцитов. Они не способны компенсировать недостаточность иммунной системы в элиминации вируса герпеса из организма.

Во время нашего исследования больные получали препарат аллокин-альфа, обладающий противовирусным и иммуномодулирующим эффектом. Из таблицы 2 видно, что аллокин-альфа оказывает влияние на многие иммунофенотипы клеток крови. Так, если содержание лейкоцитов в 1 мкл крови до лечения было выше нормы, то после лечения оно нормализовалось. Если количество всех Т-лимфоцитов, несущих CD3-кластеры, до лечения не отличалось от нормальных показателей, то после лечения содержание этих клеток повышалось выше таковых в контрольной группе. Следовательно, общие Т-лимфоциты отвечают активацией и пролиферацией на введение указанного препарата. Это, вероятно, связано с тем, что после лечения произошла сенсibilизация Т-лимфоцитов на первичное введение аллокин-альфа, т. е. этот препарат запускает в динамике лечения специфические иммунные реакции. Содержание иммунофенотипов CD5+CD20- после лечения также повышается, но их значение достоверно не отличается от показателей здоровых лиц. CD5+CD20- являются субпопуляцией лимфоцитов, относящихся к тимоцитам, и они в специфичности иммунного ответа повторяют закономерности реагирования общего числа Т-лимфоцитов, хотя пул этих клеток

наиболее чувствителен к внешним и внутренним воздействиям. Содержание CD3+CD4+ клеток, относящихся преимущественно к хелперной субпопуляции лимфоцитов до лечения не отличалось от показателей здоровых лиц, тогда как после лечения их содержание стало выше нормальных показателей. Если количество цитотоксических лимфоцитов, несущих CD3+CD8+ кластеры, до лечения достоверно не отличалось от показателей здоровых лиц, то после лечения уровень этих клеток так же, как и Т-хелперов, повышался и их значения превысили показатели у здоровых лиц. Это связано с тем, что указанные субпопуляции лимфоцитов (CD3+CD4+ и CD3+CD8+) входят в состав общих Т-лимфоцитов и, соответственно, повторяют их закономерности, т. е. специфичность в иммунном ответе. Иммунофенотипы, несущие CD3+CD8+dim, т. е. клетки с низкой экспрессией кластерных молекул, не среагировали на вводимый препарат, вероятно, это связано с недостаточной плотностью кластерных молекул, которые неспособны осуществлять адгезию со структурными компонентами препарата. Неспецифические CD8-клетки, отвечающие лишь за цитотоксичность, не отличаются от показателей здоровых лиц ни до, ни после лечения, хотя имеется некоторая тенденция к увеличению их количества. В определенной степени цитотоксичность, обусловленная CD8-кластером, связана не только со специфичностью иммунного ответа, но и отвечает за неспецифические реакции цитотоксичности.

Содержание NK-клеток, несущих иммунофенотипы CD3+CD16&56 и отвечающих за антителозависимую специфичность, т. е. за совокупную специфическую и неспецифическую цитотоксичность, повышается как до лечения у больных ГВИ, так и, особенно, после лечения. Вероятней всего, повышение количества этих клеток связано со специфической цитотоксичностью, так как в состав этих иммунофенотипов входят CD3-клетки, содержание которых, как было указано ранее, также увеличено. Количество зрелых В-лимфоцитов, несущих CD19-кластер, достоверно не отличается от нормальных показателей, хотя имеется некоторая тенденция к их увеличению. В то же время содержание CD19-клеток, присутствующих совместно с кластерами CD23 иммунофенотипа после лечения значительно увеличивается и достигает достоверного значения ( $P < 0,001$ ). Это косвенно свидетельствует о повышении синтеза антител, в целом, и IgE в частности. Так, CD19-клетки отвечают за синтез всех иммуноглобулинов, а CD19+CD23+ клетки дополнительно еще и за синтез IgE. Вероятно, аллокин-альфа запускает не только гуморальный иммунный ответ с синтезом нормальных

Таблица 2 – Оценка иммунного статуса методом проточной цитометрии у больных рецидивирующей ГГ до и после лечения аллокином-альфа, n = 7

Показатели	До лечения, M ± m	P <sub>N</sub>	После лечения, M ± m	P <sub>N</sub>	P*
WBC (лейкоциты)**	6985,7±809,5	>0,05	5266,6±322,4	>0,05	>0,05
CD45+	2604,2±254,2	<0,01	2040±244,9	>0,05	>0,05
CD3+	1431,4±188,1	>0,05	1855±200,7	<0,001	>0,05
CD5+CD20-	1090,5±143,1	>0,05	1731±182,1	<0,001	>0,05
CD3+CD4+	770±121,4	>0,05	998,3±131,4	<0,05	>0,05
CD3+CD8+	582,8±117,8	>0,05	635±78,8	<0,01	>0,05
CD3+CD8dim+	87,8±28,3		82,5±10,2		>0,05
CD8+	725,71±132,1	>0,05	743,3±78,8	>0,05	>0,05
CD3+CD16&56+	295,9±58,6	<0,01	389,6±64,5	<0,001	>0,05
CD19+	224,2±20,2	>0,05	355±45,4	>0,05	>0,05
CD19+ CD23+	166,4±45,5		957,5±197,1		<0,001
CD20+CD5+	126,6±38,2	>0,05	716,8±182,8	<0,001	<0,001
CD20+CD5-	321,3±153,8	>0,05	1445,3±319,1	<0,001	<0,001
CD3-CD16&56+	312,8±50	>0,05	208,3±17,9	>0,05	>0,05
CD3-CD8+	137,1±21,4	>0,05	108,3±10,7	>0,05	>0,05
CD3-CD56brig+	1,31±0,25		3,96±2,32		>0,05
CD3+CD25+	334,2±58,3	<0,001	423,3±64,5	<0,001	>0,05
CD3+CD45RA+	800,7±212,8		1032,3±135,1		>0,05
CD4+ / all CD8+	1,22 ± 0,17		1,41±0,24		>0,05

Примечание: P\* – сравнение до и после лечения; P<sub>N</sub> – сравнение с нормой.

антител, но и вызывает в определенной степени гиперреактивность. Также повышенное содержание CD23 свидетельствует о гиперпродукции цитокинов, что отражается в целом на “каскаде” иммунных реакций, в том числе гуморального типа.

Количество В-1а лимфоцитов от всех В, несущих иммунофенотип CD20+CD5+, значительно повышается после лечения препаратом, причем как по сравнению с нормой, так и с их показателями до лечения. Эти клетки являются особой субпопуляцией В-лимфоцитов, специфичность которых соответствует зародышевой, а их увеличение свидетельствует не только о поликлональности иммунного ответа, но и об аутоиммунных процессах. Вероятно, элиминация возбудителя герпес-вируса идет через некроз клеток, т. е. по типу иммунопатологии, на которую ранее указали А.К. Шубладзе и И.Ф. Баринский (1994). Количество В2-лимфоцитов также значительно повышается в динамике после лечения аллокином-альфа. Эти клетки отвечают за более специализированное направление антителопродукции, преимущественно одной специфичности и, как правило, работают в кооперации с CD4-Т-лимфоцитами (Th-2 типа), содержание которых также повышается, что установлено нашими исследованиями.

Содержание НК-клеток, несущих иммунофенотип CD16&56 без присутствия CD3+клеток, достоверно не отличается от показателей здоровых лиц, хотя наблюдается некоторая тенденция к снижению числа этих клеток после лечения. Это говорит о том, что неспецифическое звено цитотоксичности в меньшей степени, чем специфическое играет роль в противовирусной защите при ГВИ. То же самое наблюдается с содержанием НК-клеток с высоким цитотоксическим потенциалом, но без CD3, т. е. неспецифическая цитотоксичность играет при этой инфекции второстепенную роль, тогда как содержание CD56 bright-клеток с высоким уровнем кластерных белков на мембране этих клеток увеличивается после лечения. Однако основная роль отводится им не в реакциях цитотоксичности клеток, а в регуляции иммунного ответа и продукции цитокинов. Они в большей степени вовлекаются в иммунный ответ, чем вышеуказанные НК-клетки.

Нашими исследованиями выявлено значительное повышение содержания CD3+CD25+ иммунофенотипов, которые отвечают за активацию и пролиферацию клеток на раннем этапе иммунного ответа, и функция этих субпопуляций во многом зависит от сывороточного содержания и продукции ИЛ-2. Это говорит о увеличении чис-

ла CD3+CD25+ клеток, косвенно свидетельствующих о повышении содержания ИЛ-2 при ГВИ.

В наших исследованиях выявлено увеличение иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 у больных ГВИ после лечения указанным препаратом, что свидетельствует о положительном влиянии аллокин-альфа в целом на иммунный ответ, так как иммунорегуляторные субпопуляции, выражающиеся индексом, являются одним из показателей нормального иммунного ответа (Р.М. Хаитов с соавт., 1995). Число наивных/покоящихся Т-лимфоцитов, несущих иммунофенотип CD3CD45RA, в динамике лечения существенно не изменяется, хотя имеется некоторая тенденция к увеличению содержания этих клеток, что, вероятно, связано со специфическим иммунным ответом за счет CD3-клеток, число которых повышается при данном заболевании.

Таким образом, исследованием установлено иммунорегуляторное влияние аллокин-альфа, используемого в комплексной терапии больных ГГ. В частности, этот препарат оказывает существенное влияние на содержание общего числа лейкоцитов, лимфоцитов, общих Т-лимфоцитов, CD5+CD20-лимфоцитов, CD3+CD4+клеток, составляющих преимущественно хелперную субпопуляцию лимфоцитов. Особенное влияние этого препарата установлено на содержание НК-клеток, несущих иммунофенотипы CD3+CD16&56 и клеток, несущих CD19+CD23+кластеры. Также отмечено влияние

препарата и на лимфоциты, отвечающие за гуморальный иммунитет, а именно, на количество В1а клеток, лимфоцитов, несущих иммунофенотип CD20+CD5-. Установлено влияние препарата и на CD3+CD25+, что косвенно свидетельствует о повышении содержания сывороточного ИЛ-2. Следовательно, аллокин-альфа положительно влияет как на показатели клеточного, так и гуморального иммунитета, причем преимущественно на специфические реакции иммунного ответа.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы”.

### *Литература*

1. *Поздеев О.К.* Медицинская микробиология / О.К. Поздеев; под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2001. 768 с.
2. *Марченко Л.А.* Генитальный герпес и его влияние на репродуктивное здоровье женщин / Л.А. Марченко И.П. Лушкова // Качество жизни. Медицина. Болезни репродуктивной системы. 2004. № 3.
3. *Набока Ю.Л.* Персистенция герпетических и папилломных вирусов в биоптатах почек у детей с обструктивной урологической патологией / Ю.Л. Набока // Российская науч.-практ. конф. “Узловые вопросы борьбы с инфекцией”. СПб., 2004.