

УДК 616.127-002.4-092:578.85.1

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ УВЕИТАХ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Смелянская М.В., Перемот С.Д.,
Волянский А.Ю., Мартынов А.В.,
Кашпур Н.В., Бачук Н.Ю., Мороз М.П.

ГУ "Институт микробиологии и иммунологии
им. И.И.Мечникова НАМН Украины", Харьков

В последние годы нарастают удельный вес и частота вирусных увеитов как у детей, так и у взрослых [1]. Это связано не только с возрастанием роли вирусных инфекций в патологии человека, но и с улучшением диагностики вирусных инфекций [2]. Полученные нами ранее данные показывают, что вирусные агенты поражают увеальный тракт, проникая через гематоофтальмический барьер с клетками крови [3]. Персистирующая герпесвирусная (ГВ) инфекция, поддерживает хронизацию патологического процесса глаз [4]. По нашему мнению, именно персистирующая ГВ-инфекция оказывает основное влияние на показатели иммунного статуса обследованных пациентов [9]. Обнаружение вирусного антигена в клетках крови может быть как этиологическим агентом при заболеваниях глаз, в первую очередь увеитов, так и показателем функционального состояния иммунной системы. [3]

Учитывая, что в патогенезе увеитов ведущая роль принадлежит иммуновоспалительным местным и общим реакциям [5,7], а поиск эффективных методов их лечения невозможен без учета характера и степени иммунных нарушений в организме, целью данной работы было дать характеристику особенностям иммунных расстройств у этой категории больных.

Материалы и методы. Иммунологические исследования проведены у 56 больных рецидивирующими увеитами, находившихся на амбулаторном и стационарном лечении в Харьковской городской офтальмологической больнице № 14 им.Л.Л.Гиршмана, а также в поликлинике № 6 Московского района г.Харькова.

Среди клинических форм заболевания передний увеит установлен у 31 больного (55,4%), задний увеит - у 5 больных (8,9%), периферический увеит - у 2 больных (3,6%), панувеит - у 18 больных (32,1%).

Для установления этиологического диагноза было проведено вирусологическое обследование, включающее в себя исследование методом флюоресцирующих антител (МФА) соскобов с роговицы и конъюнктивы на наличие антигена ГВ и определение в лейкоцитах крови антигенов вирусов. Использовали поликлональные мышинные антитела против HSV₁, HSV₂, HHV₆, CMV, VZV, EBV фирмы Santa Cruz Biotechnology, Inc.

Клетки CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ определяли с помощью моноклональных антител иммуноферментным методом. Для установления концентрации сывороточных IgA, IgM, IgG использовали общепринятый метод радиальной иммунодиффузии в геле. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по их способности захватывать инертные частицы латекса (размер 1,0 мкм производства «Биостерол», Украина). Уровень цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6) в сыворотке крови исследовали с помощью иммуноферментных тест-систем фирмы "ProCon" (Россия). Окислительно-восстановительную активность нейтрофилов определяли с помощью спонтанного и стимулированного НСТ-теста. Состояние системы комплемента оценивали по общей комплементарной активности сыворотки 50% - ым гемолизом эритроцитов. Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в крови проводили методом селективной преципитации ЦИК в 3,5% - м полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000) с последующим определением концентрации белка в преципитата. Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) с фитогемагглютинином (ФГА)

Полученные результаты обрабатывали на персональном компьютере методами вариационной статистики с помощью t-критерия Стьюдента и показателя достоверности P.

В качестве показателей нормы приняты результаты обследования 30 здоровых доноров.

Результаты и обсуждение. Вирусная этиология заболевания была установлена у 47 (83,9%), у 9 (16,1%) больных природа заболевания была другой. Среди этиологических факторов увеитов выявлены следующие агенты герпесвирусов (соскоб/лейкоциты): HSV₁ - 10/87%; HSV₂ - 5/35%; HHV₆ - 7/68%; CMV-13/88%; EBV- 9/91%; VZV - 2/24%.

При изучении иммунореактивности больных рецидивирующими увеитами герпесвирусной (ГВ) этиологии было установлено, что данная патология протекает на фоне дисфункции иммунной системы и нарушения механизмов иммунорегуляции гомеостаза организма, скорее всего вызванные персистирующей герпесвирусной инфекцией.

Так, изучение Т-системы иммунитета показало, что у больных ГВ увеитами наблюдается снижение содержания в периферической крови Т-общих лимфоцитов (CD3⁺) ($50,7 \pm 0,6\%$ ($0,81 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$), в норме - $61,6 \pm 0,6\%$ ($0,97 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$)); Т-активных лимфоцитов ($32,7 \pm 0,5\%$ ($0,52 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$), в норме - $45,1 \pm 0,4\%$ ($0,71 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$)), Т-хелперов (CD4⁺) ($30,8 \pm 0,9\%$ ($0,49 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$), в норме - $39,8 \pm 1,1\%$ ($0,63 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$)); сопровождающееся снижением иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺ - клеток) ($1,58 \pm 0,08$, в норме - $2,01 \pm 0,09$) и увеличением индекса Т-общие / Т-активные лимфоциты ($1,50 \pm 0,05$, в норме $1,36 \pm 0,03$) (табл. 1).

При изучении функциональной активности Т-клеток было обнаружено незначительное ($p > 0,05$)

снижение их бласттрансформирующей способности на ФГА (33964 ± 3786 имп/мин, в норме 35670 ± 3965 имп/мин) на фоне достоверного увеличения уровня спонтанной бласттрансформации (1934 ± 203 имп/мин, в норме 1211 ± 125 имп/мин, $p < 0,05$) (табл.6.4). При этом индекс стимуляции РБТЛ на ФГА характеризовался достоверным снижением

($17,5 \pm 1,5$, в норме $29,4 \pm 2,1$; $p < 0,05$)

При исследовании активационных молекул на Т-лимфоцитах было выявлено достоверное повышение содержания в крови Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2, трансферрину и DR-антигены (табл.1).

Таблица 1. Показатели Т-системы иммунитета у больных рецидивирующими герпесвирусными увеитами

Показатели	Больные (n=47)		Норма, (n=30)
	М±т	% от нормы	М + т
1. Лейкоциты , 10%	$5,8 \pm 0,50$	101,7	$5,7 \pm 0,43$
2. Лимфоциты, %, 10%	$27,9 \pm 0,91$ $1,61 \pm 0,07$	99,6 101,2	$28,0 \pm 1,0$ $1,59 \pm 0,07$
3. Т-общие лимфоциты (CD3 ⁺), %, 10%	$50,7 \pm 0,6$ * $0,81 \pm 0,05$ *	82,3 83,5	$61,6 \pm 0,6$ $0,97 \pm 0,05$
4. Т-активные лимфоциты, %, 10%	$32,7 \pm 0,5$ * $0,52 \pm 0,03$ *	72,5 73,2	$45,1 \pm 0,4$ $0,71 \pm 0,04$
5. Индекс Т-общие / Т-активные	$1,50 \pm 0,05$ *	110,3	$1,36 \pm 0,03$ *
6. Т-хелперы (CD4 ⁺), %, 10%	$30,8 \pm 0,9$ * $0,49 \pm 0,03$ *	77,3 77,7	$39,8 \pm 1,1$ $0,63 \pm 0,03$
7. Т-супрессоры (CD8 ⁺), %, 10 ⁹ /л	$19,4 \pm 0,9$ $0,31 \pm 0,03$	97,9 100,0	$18,8 \pm 0,8$ $0,31 \pm 0,02$
8. Индекс CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -клетки	$1,58 \pm 0,08$ *	78,6	$2,01 \pm 0,09$
9. РБТЛ спонтанная, имп/мин	1934 ± 203 *	159,7	1211 ± 125
10. РБТЛ, индуцированная ФГА, имп/мин	33964 ± 3786	95,2	35670 ± 3965
11. Индекс стимуляции РБТЛ на ФГА	$17,5 \pm 1,5$ *	59,5	$29,4 \pm 2,1$
12. R-Transfer ⁺ Т-лимфоциты, %	$12,4 \pm 0,11$ *	688,8	$1,8 \pm 0,1$
13. DR ⁺ Т-лимфоциты, %	$12,6 \pm 0,09$ *	466,6	$2,7 \pm 0,1$

Примечание. * - отличия достоверные по сравнению с показателями нормы ($p < 0,05$)

При исследовании В-системы иммунитета выявлены следующие изменения (табл.2). У больных увеитами прослеживалась тенденция ($p > 0,05$) к повышению содержания в периферической крови В-лимфоцитов (CD22⁺) ($21,5 \pm 0,9$ % ($0,34 \pm 0,02 \times 10^9$ /л), в норме - $19,3 \pm 0,7$ % ($0,30 \pm 0,02 \times 10^9$ /л)) и тенденция ($p > 0,05$) к снижению содержания IgM ($0,79 \pm 0,08$ г/л, в норме - $1,02 \pm 0,09$ г/л). Содержание в слезе секреторного IgA у больных

увеитами было достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в норме ($0,16 \pm 0,02$ г/л, в норме - $0,27 \pm 0,02$ г/л). Кроме этого, у больных увеитами наблюдалось повышение содержания в сыворотке крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) ($3,25 \pm 0,2$ г/л, в норме - $1,76 \pm 0,13$ г/л) ($p < 0,05$) и увеличение среди них доли средне- и низкомолекулярных комплексов ($69,1 \pm 2,4$ %, в норме $49,4 \pm 2,2$ %) ($p < 0,05$).

Таблица 2. Показатели В-системы иммунитета больных рецидивирующими герпесвирусными увеитами

Показатели	Больные (n=47)		Норма (n=30)
	М + т	% от нормы	М + т
1. Лейкоциты , 10 /л	$5,8 \pm 0,50$	101,7	$5,7 \pm 0,43$
2. Лимфоциты, %, 10 ⁹ /л	$27,9 \pm 0,91$ $1,61 \pm 0,07$	99,6 101,2	$28,0 \pm 1,0$ $1,59 \pm 0,07$
3. В- лимфоциты (CD22 ⁺), %, 10 ⁹ /л	$21,5 \pm 0,9$ $0,34 \pm 0,02$	111,4 113,3	$19,3 \pm 0,7$ $0,30 \pm 0,02$
4. IgM, г/л	$0,79 \pm 0,08$	77,5	$1,02 \pm 0,09$

5. IgG, г/л	11,9 ± 0,6	95,2	12,5 ± 0,6
6. IgA, г/л	1,1 ± 0,09	100,0	1,1 ± 0,09
7. ЦИК, г/л	3,25 ± 0,2 *	184,6	1,76 ± 0,13
8. средне- и низкомолекулярные ЦИК, г/л, % от общего содержания ЦИК	2,24 ± 0,15* 69,1 ± 2,4*	260,4 139,8	0,86 ± 0,07 49,4 ± 2,2

Примечание. * - отличия достоверные по сравнению с показателями нормы ($p < 0,05$)

Фагоцитарное звено иммунитета у больных рецидивирующими ГВ увеитами характеризовалось достоверным снижением фагоцитарной способности клеток крови и некоторым ($p > 0,05$) повышением их кислородзависимой метаболической активности (табл. 3). При изучении фагоцитарной способности клеток крови установлено, что фагоцитарное число и фагоцитарный индекс снижены по срав-

нению с нормой соответственно на 19,9% и 15,6%. Показатель спонтанного НСТ-теста, отражающий метаболическую активность клеток, напротив, повышен, по сравнению с нормой, на 14,1% на фоне некоторого истощения их метаболического резерва, о чем свидетельствует снижение индекса стимуляции НСТ-теста на 18,0% ($1,19 \pm 0,06$, в норме - $1,45 \pm 0,07$).

Таблица 3. Показатели фагоцитарного звена иммунитета больных хроническими герпесвирусными рецидивирующими увеитами

Показатели	Больные (n=47)		Норма (n=30) M ± t
	M ± t	% от нормы	
1. Фагоцитарное число, %	49,7 ± 1,51*	80,1	62,03 ± 1,90
2. Фагоцитарный индекс	7,6 ± 0,20*	84,4	9,00 ± 0,22
3. НСТ-тест спонтанный, %	20,2 ± 1,44	114,1	17,7 ± 0,9
4. НСТ-тест индуцированный, %	24,1 ± 1,21	93,7	25,7 ± 1,27
5. Индекс стимуляции НСТ-теста	1,19 ± 0,06*	82,0	1,45 ± 0,07

Примечание. * - отличия достоверные по сравнению с показателями нормы ($p < 0,05$).

Учитывая, что фагоциты в поддержании процесса хронического воспаления в тканях играют одну из центральных ролей [6], а продуцируемые ими вещества обладают противовоспалительными и цитотоксическими свойствами [8], а также то, что роль фагоцитов в патофизиологии рецидивирующего увеита мало изучена, мы сочли важным при исследовании фагоцитарного звена иммунитета обратить внимание на эти свойства клеток.

При изучении цитокинпродуцирующей

способности мононуклеаров крови было обнаружено достоверное повышение у больных увеитами спонтанной продукции основных провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , ФНО α и ИЛ-6 и положительная тенденция в индуцированной продукции этих цитокинов (табл.4).

Таблица 4. Цитокинпродуцирующая активность мононуклеаров крови больных рецидивирующими герпесвирусными увеитами

Цитокины	Больные (n=47) M ± t	% от нормы	Норма (n=30) M ± t
1. ИЛ- 1 β , пг/мл			
Спонтанная	145,9 ± 16,7*	163,1	62,03 ± 6,90
Индуцированная	264,1 ± 27,9	120,4	219,3 ± 21,1
2. ФНО α , пг/мл			
Спонтанная	166,8 ± 17,6*	162,7	102,5 ± 11,3
Индуцированная	280,1 ± 30,7	129,5	216,3 ± 23,1
3. ИЛ-6, пг/мл			
Спонтанная	141,6 ± 15,7*	182,7	77,5 ± 8,2
Индуцированная	208,1 ± 24,4	127,3	163,4 ± 17,5

Примечание. * - отличия достоверные по сравнению с показателями нормы ($p < 0,05$).

Выводы. Анализируя полученные данные о характере иммунореактивности больных с рецидивирующими герпесвирусными увеитами, можно заключить:

1. Рецидивирующие ГВ увеиты протекают на фоне депрессии Т-звена иммунитета, сниженной фагоцитарной активности, сопровождающейся дефицитом секреторного IgA;
2. Наблюдаемые иммунные расстройства и хронический воспалительный процесс тесно связаны с нарушениями цитокинового баланса и повышенной продукцией иммунокомпетентными клетками провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6;
3. Наблюдаемое у больных рецидивирующими ГВ увеитами повышение содержания в сыворотке крови мелко- и среднемолекулярных иммунных комплексов, которые, как известно, обладают цитотоксичностью, и снижение содержания в сыворотке комплемента - вероятно, за счет его потребления этими комплексами, - свидетельствует о том, что ЦИК в патофизиологии рецидивирующего увеита выступают как фактор поддержания воспаления (за счет постоянной активации компонентов комплемента и образования C3a и C5a) и как фактор деструкции тканей за счет активации лизосомных протеолитических ферментов лейкоцитов, привлекаемых и концентрируемых в месте воспаления хемотаксинами.

References

1. Senchenko N., Sh'uko A., Malishev V. Uveitis.- ГЭОТАР-Медиа.-2010.-P.144.
2. Kazmirchuk V., Malcev D. The clinic, diagnostic and treatment of human herpesvirus infections- Kiev, 2009.- P.248
3. Peremot S.D., Martynov A.V., Smelyanskaya M.V., Persistent herpesviruses as trigger factors of the somatic deceases. *Annals of Mechnikov Institute*. 2006; 4: 29 - 33.
4. Tabbara KF. Infectious uveitis: a review. *Arch Soc Esp Ophthalmol*. 2000 Apr;75(4):215-59.
5. Vanichkin A.A. The value of immunological factors in the development of endogenous uveitis: Abstract. Thesis. . Candidate. Honey. Science / A.A. Vanichkin. - Odessa, 1985.-20p.
6. Degtyarenko TV Features of immunological reactivity in patients with different course of recurrent herpetic keratitis / TV Degtyarenko, TB Gaydamak, E. Dragomiretskaya // *Oftalmol. Journal* 2000. - № 5. - S. 30-36.
7. Zaitseva N. Results and prospects of development of immunological studies in ophthalmology / NS Zaitsev. M., 1995. - S. 189 -217.
8. Paludan S.R. Requirements for the induction of interleukin-6 by herpes simplex virus-infected leukocytes / S.R. Paludan // *J. Virol*. 2001. - Vol. 75.-P. 8008-8015.
9. Bezdetko PA, Bachuki NJ, Smelyanskaya MV The

effectiveness of hlorofillipta in treatment of keratitis and uveitis etiology / P.A.Bezdetko, N.Yu.Bachuk, M.V.Smelyanskaya .-*Journal of Ophthalmology*, 2001. № 1 - С 47 -50.

УДК 616.127-002.4-092:578.85.1

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ УВЕИТАХ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Смелянская М.В., Перемот С.Д., Волянский А.Ю., Мартынов А.В., Кашпур Н.В., Бачук Н.Ю., Мороз М.П.

Рецидивирующие герпесвирусные увеиты протекают на фоне депрессии Т-звена иммунитета, сниженной фагоцитарной активности, сопровождающейся дефицитом секреторного IgA. Наблюдаемые иммунные расстройства и хронический воспалительный процесс тесно связаны с нарушениями цитокинового баланса и повышенной продукцией иммунокомпетентными клетками провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6. Вирусиндуцированный иммунологический дисбаланс характеризуется угнетением функциональной активности клеточного звена иммунитета, а также повышением уровня ЦИК с формированием гипериммунокомплексного синдрома и снижением уровня общего комплемента. Формирование синдрома вторичного иммунодефицита можно расценить как результат длительной персистенции герпесвирусов и проявление хронического внутрисосудистого воспаления, патогенетически связанного с увеитом.

УДК 616.127-002.4-092:578.85.1

ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ ПРИ УВЕЇТАХ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Смілянська М.В., Перемот С.Д., Волянський А.Ю., Мартинов А.В., Кашпур Н.В., Бачук Н.Ю., Мороз М.П.

Рецидивуючі герпесвірусні увеїти протікають на тлі депресії Т-ланки імунітету, зниженою фагоцитарної активності, що супроводжується дефіцитом секреторного IgA. Імунні розлади, що спостерігаються і хронічний запальний процес тісно пов'язані з порушеннями цитокинового балансу та підвищеною продукцією імунокомпетентними клітинами прозапальних цитокинів - ІЛ-1 β , ФНО α , ІЛ-6. Вірусиндукований імунологічний дисбаланс характеризується пригніченням функціональної активності клітинної ланки імунітету, а також підвищенням рівня ЦИК з формуванням гіперімунокомплексного синдрому та зниженням рівня загального компліменту. Формування синдрому вторинного імунодефіциту можна розцінити як результат тривалої персистенції герпесвірусів і прояв хронічного внутрішньосудинного запалення, патогенетично пов'язаного з увеїтом.

UDC 616.127-002.4-092:578.85.1

**FEATURES OF IMMUNE STATUS IN UVEITIS
HERPESVIRUS ETIOLOGY**

**Smelyanskaya MV, Peremot SD, Volyansky A,
Martynov AV, Kashpur NV, Bachuk NY, Moroz MP**

Recurrent herpetic uveitis occurring against the backdrop of depression T-mediated immunity, decreased phagocytic activity, accompanied by deficiency of secretory IgA. Observed immune disorders and chronic inflammation is closely associated with impaired cytokine balance and immune cells increased production of proinflammatory cytokines, IL-1 β , TNF, IL-6. Virusindutsirovanny immunological disorders characterized by inhibition of the functional activity of cellular immunity, as well as increased levels of CEC with the formation giperimunokompleksnogo syndrome and reduced total compliment. Formation of secondary immunodeficiency syndrome can be viewed as the result of long-term persistence of herpes viruses and the manifestation of chronic intravascular inflammatory pathogenesis associated with uveitis

Keywords: herpes, uveitis, immunity