

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С ОПОЯСЫВАЮЩИМ ГЕРПЕСОМ И ПОСТГЕРПЕТИЧЕСКОЙ НЕВРАЛГИЕЙ

Кныш С.В., Маркелова Е.В., Неvezкина Т.А.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Владивосток, e-mail: immunolog.vl@gmail.com

Особенности нарушений механизмов иммунного ответа при опоясывающем герпесе в настоящее время недостаточно ясны. Изучение адаптивного и врожденного иммунитета позволяет обнаружить фундаментальные основы патогенеза опоясывающего герпеса. Цель исследования: определить сывороточное содержание и проанализировать роль цитокинов – TNF α , IL-17, IL-6, IL-10, IL-4 у пациентов с опоясывающим герпесом и постгерпетической невралгией, с разной выраженностью и длительностью болевого синдрома. Пациенты с опоясывающим герпесом в период дебюта заболевания. Забор сыворотки осуществлялся в первые сутки госпитализации. Ретроспективно пациенты были разделены на 3 группы по интенсивности болевого синдрома и наличию или отсутствию постгерпетической невралгии. TNF α был низким у всех обследованных пациентов ($p < 0,05$). IL-17 был достоверно выше, в сравнении с контрольной группой, у пациентов с постгерпетической невралгией. IL-10 статистически снижался у всех пациентов, при этом в группе с постгерпетической невралгией он был достоверно ниже, чем в группах пациентов без данного осложнения. Каких-либо различий в сывороточных уровнях IL-4 и IL-6 выявлено в исследовании не было.

Ключевые слова: опоясывающий герпес, цитокины, постгерпетическая невралгия, TNF α , IL-6, IL-17, IL-10, IL-4.

CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH HERPES ZOSTER AND POSTHERPETIC NEURALGIA

Knysh S.V., Markelova E.V., Nevezkina T.A.

FSBEI HE Pacific State Medical University MOH Russia, Vladivostok, e-mail: immunolog.vl@gmail.com

Features of the disorders of the immune response's mechanisms in herpes zoster is currently not clear enough. The study of adaptive and innate immunity reveals the fundamental basis of the pathogenesis of herpes zoster. The aim of the study was to determine serum concentration and analyze the role of cytokines – TNF α , IL-17, IL-6, IL-10, IL-4 in patients with herpes zoster, postherpetic neuralgia and different severity and duration of pain syndrome. Materials and methods: patients with herpes zoster at the onset of the disease. Serum sampling was carried out in the first day of hospitalization. Retrospectively, the patients were divided into 3 groups according to the intensity of pain and the presence or absence of postherpetic neuralgia. Results: TNF α was reduced in all examined patients ($p < 0,05$). IL-17 was significantly higher in comparison with control in patients with postherpetic neuralgia. IL-10 decreased statistically in all patients, while in the group with postherpetic neuralgia it was significantly lower than in the groups without this complication. There were no differences in the serum levels of IL-4 and IL-6.

Keywords: herpes zoster, cytokines, postherpetic neuralgia, TNF α , IL-6, IL-17, IL-10, IL-4.

Вирус ветряной оспы (varicella zoster virus, VZV) - важный представитель герпес вирусов, способный к пожизненной персистенции в организме человека. Особенностью данного вируса является его жизненный цикл, состоящий из периода первичного инфицирования с клинической манифестацией в виде ветряной оспы, длительной латенции, без клинических проявлений и часто без лабораторных маркеров, и реактивации вируса с развитием опоясывающего герпеса, способного привести к развитию хронического нейропатического болевого синдрома – постгерпетической невралгии [1].

Серьезной проблемой для современной медицины остается причина реактивации вируса, способы ее предикции и профилактики. Изучение адаптивного и врожденного иммунитета привело к получению различных результатов, с отсутствием единой картины того, какой механизм является ключевым в сохранении латенции вируса и защите организма человека от реактивации вируса [2-4]. Существуют разночтения о том, что более важно для реактивации вируса. Ослабление литического механизма пролонгирует вирусное воспаление, однако, согласно мнению ряда исследователей, положительно влияет на латенцию вируса, не позволяя начаться реактивации. Безусловно, важную роль играют различные про- и противовоспалительные цитокины.

Фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) интересен исследователям больше с позиции повышенного риска обострения герпетической инфекции при использовании анти-TNF- α препаратов, однако мнения как о механизмах реализации его функции при опоясывающем герпесе, так и о рисках реактивации VZV на фоне биологической терапии различаются и требуют дальнейшего изучения [5].

IL-6 в случае опоясывающего герпеса описан крайне поверхностно. Известно о повышении экспрессии IL-6 в коже, как проявлении клеточного стресса, что адекватно вписывается в модель дисфункции иммунной системы при данном заболевании [6]. Однако единого мнения о роли данного цитокина в патогенезе опоясывающего герпеса в настоящее время нет.

О роли IL-17 и IL-10 при опоясывающем герпесе также отсутствуют полные и однозначные данные [7; 8], однако, учитывая исследования, в которых было обнаружено изменение уровня Т-хелперов 17 типа при опоясывающем герпесе, можно предполагать возможность нарушения взаимодействия IL-17 и IL-10 и последующего изменения Т-клеточной активности.

IL-4 также малоизучен при опоясывающем герпесе. Предполагается его роль, как цитокина, участвующего в формировании антител класса Е, однако достаточных данных о влиянии на патогенез или клиническое течение заболевания в мировой литературе нет [9].

Таким образом, суммируя вышеизложенное, можно утверждать, что отсутствует единое мнение о влиянии факторов иммунной системы на течение опоясывающего герпеса. Это обуславливает необходимость проведения углубленного анализа данного аспекта проблемы и позволяет сформулировать цель данного исследования.

Цель исследования: определить сывороточное содержание и проанализировать роль цитокинов TNF α , IL-17, IL-6, IL-10, IL-4 у пациентов с опоясывающим герпесом с разной выраженностью и длительностью болевого синдрома.

Материалы и методы исследования

Для выполнения поставленной цели нами было обследовано 106 пациентов, находящихся на лечении в ГБУЗ «ККБ № 2» г. Владивостока в 2016-2019 гг. с диагнозом опоясывающий герпес. Возраст больных составил от 25 до 74 лет ($46,1 \pm 2,6$). Группу контроля составили 30 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу. У всех пациентов диагноз был установлен на основании клинической картины и был лабораторно верифицирован путем определения ДНК вируса ветряной оспы в материале, полученном из очагов поражения на коже и слизистых оболочках с использованием метода амплификации нуклеиновых кислот в реальном времени (количественная полимеразная цепная реакция). Реактивация вируса была подтверждена определением антител IgG к гликопротеину Е в сыворотке крови (anti-VZV IgG-gE). У всех пациентов проводился мониторинг жалоб, клинических проявлений и уровней исследуемых цитокинов в сыворотке крови на 1-е сутки госпитализации. Пациенты получали симптоматическую и противовирусную терапию. Через 3 месяца после выписки проводилось мониторинговое состояние пациентов с анкетированием и оценкой характера и длительности болевого синдрома. Это позволило выделить группу в 24 человека с постгерпетической невралгией (ПГН – 3 группа). Пациенты без постгерпетической невралгии на основании данных, полученных с использованием цифровой ранговой шкалы (ЦРШ), были распределены на две группы по выраженности болевого синдрома в острый период болезни. Были выделены: группа 1, со слабым и умеренным болевым синдромом (ЦРШ 1-4 балла во время острого периода болезни), и группа 2, с сильным болевым синдромом (ЦРШ 5 и более баллов во время острого периода болезни). Данные об обследованном контингенте представлены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика пациентов

Показатель	Группа 1 (n=42)	Группа 2 (n=40)	Группа 3 (n=24)
ЦРШ (M±m)	3,2±0,4	8,6±0,8	6,7±0,4
Средний возраст, лет (M±m)	44,2±3,2	48,4±2,6	57,5±3,6
ПГН	Нет	Нет	Да

В рамках данного исследования проведено изучение нескольких медиаторов иммунной системы: фактора некроза опухоли-альфа (TNF α), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-17 (IL-17), интерлейкина-10 (IL-10), интерлейкина-4 (IL-4).

Определение TNF α , IL-6, IL-17, IL-10, IL-4 в сыворотке венозной крови проводили с помощью реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (USA) методом сэндвич-варианта

твердофазного иммуноферментного анализа, согласно инструкциям производителя. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Расчет количества проводили путем построения калибровочной кривой с помощью прикладного программного обеспечения. Количество выражали в пг/мл. Данные представляли в виде медианы и двух квартилей (Me, Q25, Q75). Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%, т.е. нулевые гипотезы отвергались в том случае, когда достигнутый уровень значимости Р используемого статистического критерия принимал значения менее 5%. Статистическая обработка проводилась с использованием программы SPSS Statistics v.16. Внутри- и межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Манна – Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

Содержание исследованных цитокинов в сыворотке крови обследованного контингента представлено в таблице 2.

Таблица 2

Показатели сывороточного содержания цитокинов в исследуемых группах

Показатели (Me; Q25; Q75), пг/мл	Группа контроля (n=30)	Группа 1 (n=32)	Группа 2 (n=30)	Группа 3 (n=24)
TNF α	4,4 2,2; 6,4	1,4 * 1,1; 1,98	1,45 * 0,98; 2,04	2,4 * 1,56; 3,01
IL-6	2,34 0,73; 6,23	1,96 0,43; 5,2	2,01 0,69; 5,1	1,45 0,9; 5,4
IL-17	3,94; 3,45; 4,45	3,12 ^x 2,7; 4,12	4,1 [†] 3,1; 4,61	5,32 ^{*x†} 4,3; 7,42
IL-10	10,4 7,9; 11,9	5,13 ^{*x} 2,4; 7,9	4,45 ^{*†} 3,7; 8,6	2,56 ^{*x†} 0,75; 5,7
IL-4	6,4 1,47; 7,2	5,34 1,12; 8,32	6,3 0,96; 6,7	5,54 1,4; 6,5

Примечание. Статистическая достоверность различий между группами: с группой контроля - $p < 0,05$ – *; $p < 0,001$ – **; между группой 1 и группой 3 – $p < 0,05$ – x; между группой 1 и группой 2 – $p < 0,05$ – #; между группой 2 и группой 3 – $p < 0,05$ – †

При анализе выявлено: уровень TNF α был достоверно снижен во всех трех группах без различий между группами. Каких-либо различий в сывороточном содержании IL-4 и IL-6 выявлено не было. Уровень IL-17 был достоверно выше в сравнении с контролем и остальными двумя группами пациентов лишь в группе 3. Показатель IL-10 статистически снижался у всех пациентов, при этом в группе с ПГН он был достоверно ниже, чем в группах без данного осложнения.

В эксперименте, описанном в работе М. Minami с соавт. (2002), была отмечена высокая частота реактивации вируса простого герпеса у линии мышей TNF α (-/-) [10].

Учитывая протективный эффект данного провоспалительного цитокина, можно полагать, что его дефицит при опоясывающем герпесе в первые сутки заболевания также ассоциирован с реактивацией заболевания, однако нельзя забывать что в случае опоясывающего герпеса и реактивации вируса также важную роль играют и другие цитокины, связанные с фактором некроза опухоли, в том числе и IL-10. В то же время различные результаты, полученные в исследованиях частоты возникновения опоясывающего герпеса при использовании анти-TNF α терапии, подчеркивают многогранность и неоднозначность данного механизма.

IL-6, несмотря на провоспалительную функцию и ожидаемое изменение своего содержания при манифестации опоясывающего герпеса, не отличался от контрольных значений. В работе C.N. Somo с соавт. (2018) указывается на его положительную роль в ограничении репликации VZV в нейронах в условиях эксперимента [11]. Это позволяет предположить, что нарушение индукции IL-6 связано с механизмом реактивации вируса и развития заболевания, однако на текущем уровне исследований четкая картина данного процесса не установлена.

Сывороточное содержание IL-17 в нашем исследовании было повышено лишь у пациентов группы 3, с постгерпетической невралгией, в отличие от данных, представленных в исследовании A. Zajkowska с соавт. (2016), которые зарегистрировали повышение как IL-17, так и IL-4 у всех пациентов с опоясывающим герпесом [12]. Нарушение баланса провоспалительных цитокинов у пациентов с постгерпетической невралгией в исходе опоясывающего герпеса ранее не было описано в мировой литературе, что позволяет нам считать, что полученные нами данные являются актуальными в фокусе изучения данной проблемы.

IL-10 - плеiotропный цитокин, выполняющий широкий ряд функций, связанных в первую очередь с подавлением воспалительной реакции. Конституционально высокий уровень IL-10 отрицательно сказывается на качестве вакцинации против VZV [13], что, вероятно, обусловлено его влиянием на клеточное звено иммунитета. Интересным является более выраженное снижение данного цитокина в группе пациентов с постгерпетической невралгией, что может трактоваться с нескольких позиций. Возможно, дефицит IL-10 связан с его повышенным потреблением, запускающим супрессию литического характера манифестации VZV, что пролонгирует эпизод заболевания и ведет к постгерпетической невралгии. С другой стороны, данный выраженный дефицит может быть конституционально обусловлен и быть предиктором развития реактивации вируса и манифестации опоясывающего герпеса.

Требующим внимания является отношение исследованных провоспалительных цитокинов TNF α , IL-6, IL-17 к IL-10. При анализе соотношения TNF α к IL-10 было

установлено достоверное повышение данного показателя ($p<0,05$) у всех пациентов в сравнении с контрольной группой. У пациентов с опоясывающим герпесом и постгерпетической невралгией показатель также был выше в сравнении с группой 1 и группой 2 ($p<0,05$). Такая же картина, характерная только для группы 3, была обнаружена и при сравнении соотношений IL-6 или IL-17 с IL-10 ($p<0,05$). Суммация этих данных представлена в таблице 3 и подчеркивает комплексность нарушений в системе про- и противовоспалительных цитокинов, а учитывая генетическое сродство IL-10 и интерферонов 3 типа [14], подчеркивает значимость изучения последних как, возможно, одного из ключевых звеньев в патогенезе опоясывающего герпеса.

Таблица 3

Отношение исследованных провоспалительных цитокинов с IL-10 в сыворотке крови
обследованных пациентов

Показатели (Me; Q25; Q75)	Группа контроля (n=30)	Группа 1 (n=32)	Группа 2 (n=30)	Группа 3 (n=24)
TNF α :IL-10	0,42 0,28; 0,53	0,33 ^x 0,27; 0,39	0,3 [†] 0,25; 0,36	0,9 ^{**x†} 0,54; 1,5
IL-6:IL-10	0,21 0,12; 0,46	0,31 ^x 0,17; 0,39	0,43 [†] 0,26; 0,57	0,87 ^{**x†} 0,56; 1,2
IL-17:IL-10	0,36 0,31; 0,39	0,63 ^{**x} 0,51; 0,82	0,71 ^{*†} 0,53; 0,8	2,12 ^{**x†} 1,32; 2,9

Примечание. Статистическая достоверность различий между группами: с группой контроля - $p<0,05$ – *; между группой 1 и группой 3 – $p<0,05$ – ^x; между группой 1 и группой 2 – $p<0,05$ – [#]; между группой 2 и группой 3 – $p<0,05$ – [†]

Отсутствие достоверных отличий в содержании IL-4 предполагает развитие нарушений в системе Т-хелперов. Учитывая, что IL-4 является маркерным цитокином 2 типа Т-хелперов, и наличие снижения уровня TNF α , который вместе с интерфероном-гамма сопровождает 1 тип Т-клеточного ответа, мы предполагаем, что в реактивации VZV и развитии опоясывающего герпеса важную роль играет нарушение не только на уровне гуморальных факторов, но и смещение соотношения Т-хелперов в сторону преобладания Т-хелперов 2 типа, что также характерно для хронической вирусной инфекции, вызванной вирусом простого герпеса и вирусом Эпштейна-Барр [15].

Заключение

Подводя итог вышесказанному, реактивация VZV, а также пролонгирование инфекции и формирование постгерпетической невралгии связано с серьезными дефектами на уровне про- и противовоспалительных цитокинов, при этом нельзя однозначно сказать об

однаправленности процесса, особенно у пациентов с постгерпетической невралгией в исходе основного заболевания. Выявленный дефицит TNF α и IL-10 у всех пациентов с опоясывающим герпесом в комбинации с увеличением сывороточного уровня IL-17 в группе пациентов с постгерпетической невралгией говорят о дисфункции воспалительной реакции, а повышение соотношения TNF α , IL-6, IL-17 к IL-10 подчеркивает возможность реализации данного нарушения за счет вовлечения различных механизмов иммунного регулирования. Полученные нами результаты позволяют предположить существование дисбаланса в функционировании клеточного иммунитета за счет нарушения соотношения Т-хелперных лимфоцитов. Проблема иммунных нарушений при опоясывающем герпесе, ответственных за реактивацию, персистенцию и пролонгацию вирусного процесса, требует дальнейших исследований, учитывающих комплексные параметры на различных уровнях реализации иммунного ответа.

Список литературы

1. Park S.Y., Kim J.Y., Kwon J. S., Na Y.J., Kim M-C., Chong Y.P., Lee S-O., Choi S-H., Kim Y.S., Woo J.H., Kim S-H. Relationships of varicella zoster virus (VZV) specific cell-mediated immunity and persistence of VZV DNA in saliva and the development of postherpetic neuralgia in patients with herpes zoster. *J. Med. Virol.* 2019. P. 1-6. DOI: 10.1002/jmv.25543.
2. Маркелова Е.В., Кныш С.В., Невежкина Т.А., Байбарина Е.В. Альфа-герпесвирусы: современный взгляд на структуру // Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. № 4. С. 5-9.
3. Depledge D.P., Sadaoka T., Ouwendijk W.J.D. Molecular Aspects of Varicella-Zoster Virus Latency. *Viruses.* 2018. Vol. 10(7). No. 349. DOI: 10.3390/v10070349.
4. Sen N., Sung P., Panda A., Arvin A.M. Distinctive Roles for Type I and Type II Interferons and Interferon Regulatory Factors in the Host Cell Defense against Varicella-Zoster Virus. *J. Virol.* 2018. Vol. 92(21). e01151-18. DOI: 10.1128/JVI.01151-18.
5. Winthrop K.L., Baddley J.W., Chen L., Liu L., Grijalva C.G., Delzell E., Beukelman T., Patkar N.M., Xie F., Saag K.G., Herrinton L.J., Solomon D.H., Lewis J.D., Curtis J.R. Association between the initiation of anti-tumor necrosis factor therapy and the risk of herpes zoster. *JAMA.* 2013. Vol. 309. No. 9. P. 887-895. DOI: 10.1001/jama.2013.1099.
6. Jarosinski K.W., Carpenter J.E., Buckingham E.M., Jackson W., Knudtson K., Moffat J.F., Kita H., Grose C.. Cellular Stress Response to Varicella-Zoster Virus Infection of Human Skin Includes Highly Elevated Interleukin-6 Expression. *Open Forum Infect Dis.* 2018. Vol. 5(6). ofy118. DOI: 10.1093/ofid/ofy118.

7. Kim M.S., Kim D.J., Na C.H., Shin B.S. A Study of the Changes of T Helper 17 Cells and Regulatory T Cells in Herpes Zoster. *Ann. Dermatol.* 2017. Vol. 29(5). P. 578-585. DOI: 10.5021/ad.2017.29.5.578.
8. Zhang L., Yuan S., Cheng G., Guo B. Type I IFN promotes IL-10 production from T cells to suppress Th17 cells and Th17-associated autoimmune inflammation. *PLoS One.* 2011. Vol. 6(12). e28432. DOI: 10.1371/journal.pone.0028432.
9. Smith-Norowitz T.A., Josekutty J., Lev-Tov H., Kohlhoff S., Norowitz K.B., Silverberg J.I., Chice S., Durkin H.G., Bluth M.H. IgE anti-varicella zoster virus and other immune responses before, during, and after shingles. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2009. Vol. 39(1). P. 43-50.
10. Minami M., Kita M., Yan X.Q., Yamamoto T., Iida T., Sekikawa K., Iwakura Y., Imanishi J. Role of IFN-gamma and tumor necrosis factor-alpha in herpes simplex virus type 1 infection. *J. Interferon Cytokine Res.* 2002. Vol. 22(6). P. 671-676.
11. Como C.N., Pearce C.M., Cohrs R.J., Baird N.L. Interleukin-6 and type 1 interferons inhibit varicella zoster virus replication in human neurons. *Virology.* 2018. Vol. 522. P. 13-18. DOI: 10.1016/j.virol.2018.06.013.
12. Zajkowska A., Garkowski A., Świerzińska R., Kułakowska A., Król M.E., Ptaszyńska-Sarosiek I., Nowicka-Cieluszecka A., Pancewicz S., Czupryna P., Moniuszko A., Zajkowska J. Evaluation of Chosen Cytokine Levels among Patients with Herpes Zoster as Ability to Provide Immune Response. *PLoS One.* 2016. Vol. 11(3). e0150301. DOI: 10.1371/journal.pone.0150301.
13. Gershon A.A., Brooks D., Stevenson D.D., Chin W.K., Oldstone M.B.A., Gershon M.D. High Constitutive Interleukin 10 Level Interferes With the Immune Response to Varicella-Zoster Virus in Elderly Recipients of Live Attenuated Zoster Vaccine. *J. Infect Dis.* 2019. Vol. 219(8). P. 1338-1346.
14. Gad H.H., Dellgren C., Hamming O.J., Vends S., Paludan S.R., Hartmann R. Interferon-lambda is functionally an interferon but structurally related to the interleukin-10 family. *J. Biol. Chem.* 2009. Vol. 284(31). P. 20869-20875.
15. Кныш С.В., Малков В.А., Ширяева А.В., Байбарина Е.В. Оценка состояния субпопуляций Т-лимфоцитов при хронической герпетической инфекции // *Российский иммунологический журнал.* 2019. Т. 13(22). № 2. С. 305-307.