

Шипилов М.В.<sup>1</sup>, Иванов В.В.<sup>2</sup>

## Интерферон- $\gamma$ – основа противовирусной защиты при острых респираторных вирусных инфекциях

1 - ГОУ ВПО "Смоленский государственный университет", г. Смоленск; 2 - ОГБУЗ "Консультативно-диагностическая поликлиника №1", г. Смоленск

*Shipilov M.V., Ivanov V.V.*

### Interferon- $\gamma$ – the basis of antiviral protection in acute respiratory viral infections

#### Резюме

Цель работы: изучение концентрации интерферона- $\gamma$  в сыворотке крови 95 больных острыми респираторными вирусными инфекциями методом иммуноферментного анализа. Выявлено повышение концентрации цитокина в остром периоде гриппа рН1N1, гриппа А/Н3N2, аденовирусной инфекции, парагриппа и респираторно-синцитиальной вирусной инфекции (в сравнении с контролем), не приходящее в норму к периоду реконвалесценции ( $p < 0,05$ ), что подтверждает его активное участие в противовирусной защите. В тоже время, высокая концентрация интерферона- $\gamma$  при гриппе рН1N1 является прогностически неблагоприятным признаком.

Ключевые слова: интерферон- $\gamma$ , грипп, парагрипп, аденовирусная

#### Summary

Objective: To study the concentration of interferon- $\gamma$  in the serum of 95 patients with acute respiratory viral infections by enzyme immunoassay. Revealed increased concentration of cytokine in the acute stage of influenza рН1N1, influenza А/Н3N2, adenovirus infection, parainfluenza and respiratory syncytial virus infection (compared with control) are not coming back to normal for the period of convalescence ( $p < 0,05$ ), which confirms its actively involved in antiviral defense. At the same time, high concentrations of interferon- $\gamma$  in influenza рН1N1 is a poor prognostic sign.

Keywords: interferon- $\gamma$ , influenza, parainfluenza, adenoviral infection, respiratory syncytial virus infection, ARVI

#### Введение

Интерфероны входят в состав биологической мультисистемы – "цитокиновой сети", осуществляющей межклеточные взаимодействия и тем самым поддерживающей клеточный гомеостаз на неизменном уровне. Является установленным факт важнейшей роли интерферонов в осуществлении врожденной неспецифической локальной и системной воспалительной реакции организма [1].

Существуют несколько типов интерферонов, наиболее важную роль среди которых играют интерферон- $\gamma$  и интерферон- $\alpha$ , обладающие синергичным действием (т.е. усиливающим противовирусную активность друг друга). Продукция интерферона- $\gamma$  может осуществляться практически всеми клетками человеческого организма (при соответствующей стимуляции), но чаще – активированными Тh1-лимфоцитами, реже – В-лимфоцитами, NK-клетками, макрофагами. Данный цитокин активизирует клетки моноцитарно-макрофагального звена, NK-клетки, Т- и В-лимфоциты, способствуя усилению их цитотоксичности, продукции молекул адгезии и других провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Так,

на модели инфекционно-токсического шока мышей показано усиление интерфероном- $\gamma$  выработки интерлейкина-4, интерлейкина-10, интерлейкина-12, интерлейкина-17, эотаксина и др., т.к. после введения мышам антител к интерферону- $\gamma$  уровень этих факторов в крови уменьшался. Также выявлено патогенное действие высоких доз интерферона- $\gamma$  на тонкую кишку мышей [2].

Работы по изучению уровня интерферона- $\gamma$  при острых респираторных вирусных инфекциях малочисленны и в ряде случаев противоречивы. Так, повышенный уровень интерферона- $\gamma$  был обнаружен в носоглоточной слизи детей раннего возраста с тяжелым течением респираторно-синцитиальной вирусной инфекции [3]. Отсутствие статистически значимых различий концентрации интерферона- $\gamma$  с контролем как при среднетяжелом, так и тяжелом течении гриппа рН1N1 было определено Nagai N. et al [4], что может свидетельствовать о хороших компенсаторных возможностях клеточных популяций, синтезирующих данный цитокин. В другом исследовании были также определены нормальные показатели концентрации интерферона- $\gamma$  в периферической крови больных средне-

тяжелой формой гриппа рН1N1, однако отмечалось достоверное повышение его концентрации при тяжелом течении заболевания, в связи с чем авторы посчитали повышенный уровень интерферона- $\gamma$  отличительным признаком (критерием) тяжелого течения гриппа рН1N1 [5].

В связи с неоднозначным изменением уровня интерферона- $\gamma$  в крови больных острыми респираторными инфекциями (согласно литературным данным), целью настоящей работы явилось исследование уровня интерферона- $\gamma$  у больных острыми респираторными вирусными инфекциями различной этиологии и на разных этапах заболевания с определением возможной его патогенетической и прогностической роли.

## Материалы и методы

Обследовано 85 больных средней тяжести в возрасте 15-54 лет: гриппом рН1N1 (n=18), гриппом А/Н3N2 (n=17), аденовирусной инфекцией (n=17), парагриппом (n=20) и респираторно-синцитиальной вирусной инфекцией (n=13). Отдельную группу (n=10) составили больные с тяжелым течением гриппа рН1N1 с летальным исходом в возрасте 19-61 лет. Кровь забирали в остром периоде (1-2 день болезни) и в периоде реконвалесценции (на 7-9 день болезни). Диагноз был подтвержден с помощью метода полимеразной цепной реакции или реакции непрямой гемагглютинации (выявлением специфических антител с ростом их титра в 4 и более раз). Уровень исследуемого фактора определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа коммерческими тест-системами ЗАО "Вектор-Бест", Россия.

Результаты клинических и лабораторных исследований были внесены в специально разработанные карты индивидуального обследования пациентов с последующим представлением в виде электронных таблиц Microsoft Excel 2007. Статистическая обработка результатов исследований была проведена с использованием пакета StatGraphics 15.0.

Нормальность распределения вариационных рядов (соответствие закону Гаусса) проверяли с помощью критериев согласия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Вилкса, одного из самых мощных критериев нормальности. При выполнении гипотезы нормальности распределения в качестве точечной оценки характеристики центра группирования значений случайной величины использовали выборочное среднее (Mo) [6].

В случае нормального распределения каждой из выборок межгрупповые различия выявляли с помощью t-критерия Стьюдента и точного критерия Фишера для сравнения дисперсий. При не выполнении гипотезы нормальности распределения в качестве точечной оценки характеристики центра группирования значений случайной величины использовали медиану (Me) – показатель наименее подверженный влиянию со стороны индивидуальных колебаний признака. Между собой выборки сравнивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни – рангового критерия, хорошо приспособленного для анализа малых выборок и робастного к виду закона их распределения, а также двухвыборочного критерия Колмогорова-Смирнова [6]. Уровень значимости при проверке всех статистических гипотез –  $p \leq 0,05$  (доверительная вероятность  $> 0,95$ ).

Контролем служила кровь 17 здоровых доноров в возрасте 19-40 лет (Me = 0,1 пг/мл). Полученные нами значения интерферона- $\gamma$  контрольной группы лиц согласуются со средним показателем, полученным при обследовании сыворотки крови 68 здоровых доноров фирмой-производителем тест-систем "Вектор-Бест": 2 пг/мл (с вариацией от 0 до 10 пг/мл).

## Результаты и обсуждение

Сравнительная характеристика динамики концентрации интерферона- $\gamma$  (в остром периоде и в периоде реконвалесценции) в сыворотке крови больных острыми респираторными вирусными инфекциями представлена в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1. Сравнительная характеристика уровня интерферона- $\gamma$  у больных острыми респираторными вирусными инфекциями

Группы больных в зависимости от этиологии	Медиана интерферона- $\gamma$ (диапазон значений), пг/мл	
	Острый период	Период реконвалесценции
Грипп рН1N1 (среднетяжелое течение)	1,1 (0 - 39,1) <sup>**</sup> , n = 17	0,15 (0 - 15,9) <sup>*</sup> , n = 16
Грипп рН1N1 (тяжелое течение /умершие/)	1,25 (0 - 128,4), n = 10	-
Грипп А/Н3N2	8,7 (0 - 48,9), n = 13	6,3 (0 - 11,4), n = 13
Аденовирусная инфекция	0,12 (0 - 111,9) <sup>**</sup> , n = 17	0,25 (0 - 12,8) <sup>*</sup> , n = 12
Парагрипп	5,1 (0 - 66,6), n = 19	5,3 (0 - 11,8), n = 16
РС-инфекция	8,3 (0 - 97,9), n = 12	3,7 (0 - 17,6), n = 13
Контроль, пг/мл	0,1 (0 - 10,6), n=17	

Примечание: \* – достоверные различия показателей в динамике заболевания ( $p \leq 0,05$ ). \*\* – достоверные различия между группой больных с тяжелым течением гриппа рН1N1 и другими острыми респираторными вирусными инфекциями, находящимися в остром периоде заболевания ( $p \leq 0,05$ ). ^ – достоверное отличие от контроля ( $p \leq 0,05$ ). n – число обследованных пациентов.

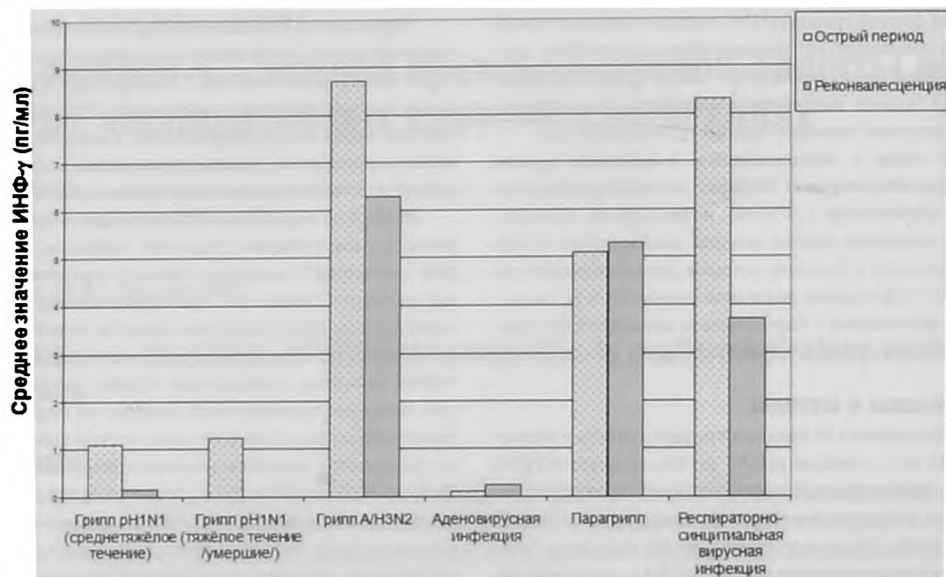


Рис. 1. Распределение уровня интерферона- $\gamma$  в сыворотке крови больных острыми респираторными вирусными инфекциями различной этиологии в зависимости от периода болезни

В результате исследования выявлено достоверное повышение концентрации интерферона- $\gamma$  в остром периоде и в периоде реконвалесценции у больных всех обследуемых групп ( $p \leq 0,05$ ). Уровень интерферона- $\gamma$  в остром периоде у больных с тяжелым течением гриппа pH1N1 был достоверно выше, чем при среднетяжелом течении гриппа pH1N1 ( $p \leq 0,001$ ), а также аденовирусной инфекции ( $p \leq 0,05$ ).

В периоде реконвалесценции больных исследуемых острых респираторных вирусных инфекций самый низкий статистически значимый уровень интерферона- $\gamma$  – хотя и больший по сравнению с контролем ( $p \leq 0,01$ ) – был у пациентов со среднетяжелым течением гриппа pH1N1 в сравнении с больными острыми респираторными вирусными инфекциями другой изученной нами этиологии (гриппом A/H3N2, аденовирусной инфекцией, парагриппом, респираторно-синцициальной вирусной инфекцией).

Изменение уровня интерферона- $\gamma$  в течение заболевания при острых респираторных вирусных инфекциях носило разнонаправленный характер. Так, при гриппе pH1N1 было отмечено достоверное снижение концентрации цитокина к периоду реконвалесценции ( $p \leq 0,01$ ), а при аденовирусной инфекции, наоборот, – повышение ( $p \leq 0,05$ ). При гриппе A/H3N2, парагриппе и респираторно-синцициальной вирусной инфекции в течение всего периода заболевания отмечалась высокая концентрация интерферона- $\gamma$ , однако изменения с течением времени не носили достоверного характера ( $p > 0,05$ ).

Обсуждение результатов. Подтверждено, что повышенная продукция интерферона- $\gamma$  является универсальным защитным механизмом иммунной системы в ответ на внедрение и репликацию респираторного вируса (вне

зависимости от его типа). Однако изменения уровня исследованного фактора в остром периоде заболевания и к периоду реконвалесценции у больных острыми респираторными вирусными инфекциями изученной нами этиологии были различными, но наиболее значительными они наблюдались у больных гриппом pH1N1.

Так, у больных гриппом pH1N1 достоверно более высокий уровень интерферона- $\gamma$  был установлен при тяжелом течении с неблагоприятным исходом в сравнении с его среднетяжелым течением, что согласуется с данными литературы [5] и, по-видимому, является одной из причин, способствующей запуску деструктивных механизмов, альтерации и т.п., приводя в итоге к летальному исходу. Самый низкий показатель интерферона- $\gamma$  у больных гриппом pH1N1 в периоде реконвалесценции (в сравнении с другими острыми респираторными вирусными инфекциями в том же периоде) может свидетельствовать о более значительной активации Th1-лимфоцитов в начале заболевания с относительно более быстрым истощением компенсаторных возможностей клеток к периоду реконвалесценции и/или, о повышенном потреблении интерферона- $\gamma$  с течением времени.

## Заключение

Для оценки состояния противовирусной защиты организма и прогноза течения острых респираторных вирусных инфекций рекомендуется исследовать интерферон- $\gamma$  в сыворотке крови, особенно при гриппе pH1N1. Так, концентрация данного цитокина в сыворотке крови была нами использована в качестве одного из важных критериев прогноза в разработанной экспертной системе "Экспресс-диагностика и прогноз течения острых респираторных вирусных инфекций" [7].

В связи с выявленной более высокой концентрацией цитокина у больных с тяжелым течением гриппа pH1N1 с последующим летальным исходом в сравнении со средне-тяжелым течением, патогенетически обоснованным является перспективное применение при данном заболевании лекарственных препаратов, блокирующих излишнюю продукцию интерферона- $\gamma$  в месте воспаления и/или корригирующих его концентрацию в периферической крови. ■

*Шипилов М.В., к.м.н., доцент кафедры психологии ГОУ ВПО "Смоленский государственный университет", г. Смоленск; Иванов В.В., к.м.н., врач-инфекционист ОГБУЗ "Консультативно-диагностическая поликлиника №1" г. Смоленск; Автор, ответственный за переписку - Шипилов М.В. 214031, г. Смоленск, проспект Строителей, дом 14-В, кв. 11, тел.: 8(951)6944168, E-mail: mshipilov@front.ru, mshipilov@rambler.ru*

## Литература:

1. Нароев Б.С., Нароева М.Х., Камбачокова Э.А. О роли цитокинов в регуляции иммунной системы при инфекционных заболеваниях. Материалы III Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 28-30 марта 2011 года). Инфекционные болезни 2011; 9 (Приложение 1): 260.
2. Tilahun A.Y., Holz M., Wu T.T., David C.S., Rajagopalan G Interferon gamma-dependent intestinal pathology contributes to the lethality in bacterial superantigen-induced toxic shock syndrome. PLoS One 2011; 6 (2): e16764.
3. Bermejo-Martin J.F., Garcia-Arevalo M.C., De Lejarazu R.O. et al. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children Eur Cytokine Netw 2007; 18(3): 162-7.
4. Hagau N., Slavcovici A., Gongnanu D.N. et al. Clinical aspects and cytokine response in severe H1N1 influenza A virus infection Crit Care 2010; 14(6): R203.
5. Bermejo-Martin J.F., Ortiz de Lejarazu R., Pumarola T. et al. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza Crit Care 2009; 13(6): R201.
6. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников. М.: Физматлит; 2006.
7. Усков А.А., Шипилов М.В. Экспертная система "Экспресс-диагностика и прогноз течения ОРВИ". Информатика, математическое моделирование, экономика: сборник научных статей по итогам Международной научно-практической конференции; 2011 апрель 22; Смоленск 2011; 1: 185-8.