



## ЦИТОКИНЫ РАННЕЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

**Ю.В. ИВАНОВ<sup>1</sup>**  
**М.В. ШИПИЛОВ<sup>2</sup>**  
**В.В. ИВАНОВ<sup>3</sup>**

<sup>1)</sup> Клиническая больница №83  
Федерального медико-  
биологического агентства  
России, г. Москва

<sup>2)</sup> Смоленский государственный  
университет

<sup>3)</sup> Консультативно-  
диагностическая поликлиника  
№1, г. Смоленск

*e-mail: med\_infect@land.ru*

Исследована концентрация белков ранней фазы воспаления: интерферона- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) и интерлейкина-8 (IL-8) – в сыворотке крови 96 больных острыми респираторными вирусными инфекциями методом иммуноферментного анализа. Контролем служила кровь здоровых доноров. Определено повышение IFN- $\alpha$  в остром периоде гриппа рН1N1 (среднетяжёлого и тяжёлого течения), среднетяжелых форм парагриппа и респираторно-синцитиальной вирусной инфекции, а IL-8 – в остром периоде аденовирусной инфекции (среднетяжёлой формы) и при тяжёлом течении гриппа рН1N1. Только тяжёлое течение гриппа рН1N1 характеризовалось одновременным повышением IFN- $\alpha$  и IL-8 (причём повышение IL-8 было многократным). Полученные результаты были использованы при создании экспертной системы "Экспресс-диагностика и прогноз течения ОРВИ".

Ключевые слова: интерферон- $\alpha$ , интерлейкин-8, грипп, парагрипп, аденовирусная инфекция, респираторно-синцитиальная вирусная инфекция.

**Введение.** Интерферон- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) и Интерлейкин-8 (IL-8) являются регуляторными белками, активно участвующими преимущественно в начальном этапе воспалительного процесса. Они относятся к тем цитокинам, которые "запускают" каскад цитокиновых реакций, обеспечивающих адекватный врождённый неспецифический локальный и системный ответ на внедрение чужеродного агента. Повышенная продукция IFN- $\alpha$  иммунокомпетентными клетками в месте воспаления происходит практически сразу после внедрения вируса (уже через 30-40 минут), а повышенная концентрация данного цитокина в периферической крови определяется через 2-8 часов с начала запуска инфекционного процесса [1, 3].

Основная функция белков ранней фазы состоит в клеточной активации [1, 3-5]. Так, IFN- $\alpha$  является наиболее мощным из цитокинов активатором макрофагов. К тому же, он активизирует НК-клетки и подавляет пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Основная роль IL-8 состоит в хемотаксическом и активирующем воздействии, прежде всего, на нейтрофилы: в дегрануляции и стимуляции лейкоцитов, усилении миграции фагоцитов в место внедрения чужеродного микроорганизма, следующих по градиенту концентрации сигнала в направлении к его источнику, и стимуляции фагоцитоза, а также в усилении иммунокомпетентными клетками синтеза молекул адгезии [4, 5]. Как и другие про- и противовоспалительные цитокины, данные белки являются важнейшим звеном биологической мультисистемы – "цитокиновой сети", необходимой организму для осуществления межклеточных взаимодействий, что является основой поддержания клеточного гомеостаза [1, 3].

Хотя продукция белков-регуляторов в зоне воспаления осуществляется многочисленными клетками организма, не обязательно относящимися к иммунокомпетентным, более интенсивная продукция IFN- $\alpha$  происходит активированными макрофагами, а IL-8, помимо макрофагов, – нейтрофилами [5]. Так как при попадании в общий (системный) кровоток IFN- $\alpha$  и IL-8, как и любые другие цитокины, быстро разрушаются и/или связываются с соответствующими рецепторами, их высокий уровень в периферической крови определяется, преимущественно, при тяжёлых инфекционных заболеваниях (сепсисе, тяжёлом течении пневмонии, инфекции новорождённых и др.) с достаточно большой зоной поражения. Например, установленную прямую корреляцию между тяжестью течения и уровнем IL-8 (с более высокими значениями у больных с неблагоприятным исходом) было рекомендовано использовать в качестве дополнительного прогностического критерия течения сепсиса [10].

Повышение уровня IFN- $\alpha$  в остром периоде со снижением до нормы в периоде реконвалесценции характеризует патогенез многих острых вирусных инфекций, в том числе и острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) [5]. Исследования уровня IL-8 в различных биологических жидкостях больных ОРВИ также проводились, но они были неполными и разнонаправленными. Так, повышенный уровень IL-8 в плазме крови и носоглоточной слизи был обнаружен у детей раннего возраста с тяжёлым течением респираторно-синцитиальной вирусной инфекции (РС-инфекции); причем этот высокий уровень IL-8 в плазме крови прямо коррелировал с тяжестью заболевания [7]. В недавнем исследовании больных гриппом рН1N1 достоверное повышение, оказавшееся значительным (в 8,2 раза), уровня IL-8 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой было определено именно у больных с тяжёлым течением заболевания. Этот повышенный показатель был статистически значимо выше, чем уровень IL-8 у больных со среднетяжёлым течением заболевания [8]. Другими исследователями [9] была определена повышенная концентрация IL-8 у больных с тяжёлым течением гриппа рН1N1, характеризующимся развитием острого респираторного дистресс-синдрома. У больных же со среднетяжёлым течением гриппа рН1N1 уровень IL-8 достоверно не отличался от нормы, что дало авторам основание предположить, что хемокин IL-8 наиболее активно участвует в реализации системной воспалительной реакции, обусловленной гиперпродукцией провоспалительных цитокинов эффекторными клетками крови, именно при тяжёлом течении заболевания и – наряду с другими цитокинами (в частности, IL-6 и фактором некроза опухоли- $\alpha$ ), уровень которых был повышен как при среднетяжёлой, так и тяжёлой формах, – также может являться ярким маркером тяжелого течения гриппа А/Н1N1 [8, 9].

Однако в доступной нам литературе не оказалось работ, исследующих данные белки у больных ОРВИ различной этиологии (наиболее часто встречающихся в популяции) в сопоставлении друг с другом.

**Цель настоящей работы** – изучение динамики уровня белков ранней фазы воспаления (IFN- $\alpha$  и IL-8) у больных ОРВИ с определением возможной их патогенетической и прогностической роли.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 86 больных средней тяжести в возрасте 15–54 лет: гриппом рН1N1 (n=18), гриппом А/Н3N2 (n=17), аденовирусной инфекцией (n=17), парагриппом (n=21) и РС-инфекцией (n=13). Отдельную группу (n=10) составили больные с тяжёлым течением рН1N1 и летальным исходом в возрасте 19–61 лет. Кровь забирали в остром периоде (1–2 день болезни) и периоде реконвалесценции (на 7–9 день болезни). Диагноз подтверждали с помощью метода полимеразной цепной реакции или реакции непрямой гемагглютинации (выявлением специфических антител с ростом их титра в 4 и более раз). Уровень цитокинов 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) [2]. В случае нормального распределения каждой из выборок межгрупповые различия выявляли при помощи 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 – показатель наименее подверженный влиянию со стороны индивидуальных колебаний признака. В таком случае выборки между собой 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 [2]. Уровень значимости при проверке всех статистических гипотез –  $p < 0,05$  (доверительная вероятность  $> 0,95$ ).

Контролем служила кровь 17 здоровых доноров в возрасте 19–40 лет, у которых медиана и диапазон значений IFN- $\alpha$  составили 0,85 (0–8,6) пг/мл, а IL-8 – 8,3 (0,2–250) пг/мл. Полученные нами значения контрольной группы лиц согласуются со средними показателями, полученными при обследовании сыворотки крови 68 здоровых доноров фирмой-производителем тест-систем "Вектор-Бест": IFN- $\alpha$  – 0–5 пг/мл, IL-8 2 пг/мл (0–10 пг/мл).

**Результаты.** Сравнительная характеристика динамики концентрации исследуемых цитокинов в остром периоде и периоде ранней реконвалесценции в сыворотке крови больных ОРВИ представлена в табл. 1.

Таблица 1

**Сравнительная характеристика уровня цитокинов (IFN- $\alpha$  и IL-8)  
у больных ОРВИ**

Группы больных ОРВИ в зависимости от этиологии		Медиана цитокина (диапазон значений), пг/мл	
Период	Цитокин	Острый период	Реконвалесценция
Грипп рН1N1 (среднетяжёлое течение)	IFN- $\alpha$	13,2 (0–82,6) <sup>#</sup> , n = 17	2,1 (0–13,7) <sup>*</sup> , n = 17
	IL-8	10,2 (4,5–28,9) <sup>*</sup> , n = 15	14,1 (1,2–250), n = 14
Грипп рН1N1 (тяжёлое течение /умершие/)	IFN- $\alpha$	8,55 (0–500) <sup>#</sup> , n = 10	–
	IL-8	104,5 (12,7–250) <sup>#</sup> , n = 10	–
Грипп А/Н3N2	IFN- $\alpha$	0,55 (0–31,1) <sup>**</sup> , n = 14	1,4 (0–19,5), n = 13
	IL-8	14,55 (1,4–201,9) <sup>*</sup> , n = 14	5,85 (1,9–93,4), n = 12
Аденовирусная инфекция	IFN- $\alpha$	5,8 (0–148), n = 17	2,95 (0–51,6), n = 12
	IL-8	51,6 (3,6–250) <sup>#</sup> , n = 17	11,85 (1,9–250), n = 12
Парагрипп	IFN- $\alpha$	9,05 (0–193,7) <sup>#</sup> , n = 18	2,25 (0–44,9), n = 16
	IL-8	10,8 (2,0–250) <sup>*</sup> , n = 20	23,6 (4,3–111,2), n = 16
РС-инфекция	IFN- $\alpha$	4,95 (0,2–49,0) <sup>#</sup> , n = 12	2,7 (0–11,7), n = 13
	IL-8	25,3 (1,7–176,3), n = 13	34,9 (0,8–250), n = 13

Примечание:

\* – достоверные различия показателей в динамике заболевания ( $p < 0,05$ ).

\*\* – достоверные различия между группой больных с тяжёлым течением гриппа рН1N1 и другими ОРВИ, находящимися в остром периоде заболевания ( $p < 0,05$ ).

# – достоверное отличие от контроля ( $p < 0,05$ ).

n – число обследованных пациентов.

Отмечено повышение концентрации IFN- $\alpha$  в остром периоде среднетяжёлого ( $p < 0,001$ ) и тяжёлого течения гриппа рН1N1 ( $p < 0,05$ ), парагриппа ( $p < 0,05$ ),

РС-инфекции ( $p < 0,05$ ). Похожая тенденция выявлена и в остром периоде аденовирусной инфекции, но она не носила достоверного характера ( $p = 0,055$ ,  $p > 0,05$ ). У больных гриппом А/Н3N2 в остром и реконвалесцентном периодах заболевания уровень IFN- $\alpha$  в крови не изменялся.

Достоверных отличий концентрации IFN- $\alpha$  у больных с тяжёлым течением гриппа рН1N1 в сравнении с его среднетяжёлым течением (острым периодом) определено не было ( $p > 0,05$ ), однако уровень IFN- $\alpha$  статистически значимо был выше у каждой из указанных двух выборок в сравнении с соответствующим периодом среднетяжёлого течения гриппа А/Н3N2 ( $p < 0,05$ ).

У всех групп больных ОРВИ к периоду реконвалесценции уровень IFN- $\alpha$  в сравнении с контролем был нормализован ( $p > 0,05$ ), что достаточно характерно для провоспалительных цитокинов, активно участвующих на начальном этапе инфекционного процесса (в фазе активации).

Наивысший уровень IL-8 (в более чем в 12 раз по сравнению с нормой) был зарегистрирован у лиц с тяжёлым течением рН1N1 с неблагоприятным прогнозом (104,5 пг/мл), что может соответствовать максимальной активации иммунных клеток (прежде всего макрофагов) в зоне воспаления. Данная концентрация IL-8 была статистически значимой не только в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ), но и с острым периодом среднетяжёлого течения гриппа А как рН1N1 ( $p < 0,01$ ), так и А/Н3N2 ( $p < 0,05$ ), а также парагриппа ( $p < 0,05$ ). Помимо этого, определено статистически значимое повышение (в 6,2 раза) уровня IL-8 в остром периоде аденовирусной инфекции (51,6 пг/мл) по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) и с группой больных среднетяжёлым течением гриппа рН1N1 ( $p < 0,05$ ) с нормализацией данного показателя к периоду реконвалесценции.

В других группах обследуемых больных среднетяжёлой формой ОРВИ (грипп рН1N1, грипп А/Н3N2, парагрипп, РС-инфекция), несмотря на визуальное повышение показателя и более значительный диапазон значений в исследуемые периоды заболевания, статистически значимого изменения уровня IL-8 в крови в сравнении с контролем выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

**Обсуждение результатов.** В связи с преобладающим местным (дистантным), а не системным действием исследованных цитокинов, а также их быстрым разрушением и связыванием со специфическими рецепторами в кровотоке, не удивительно, что их концентрация в периферической крови очень слабо отражает те процессы, которые происходят в зоне воспаления, поэтому отсутствие изменений уровня IFN- $\alpha$  и IL-8 при гриппе А/Н3N2 является достаточно прогнозируемым фактом.

В ходе настоящего исследования была определена следующая закономерность: в подавляющем большинстве среднетяжёлых форм ОРВИ изученной нами этиологии (грипп рН1N1, парагрипп, РС-инфекция, аденовирусная инфекция) в системном кровотоке отмечено повышение только одного из исследуемых факторов, что может свидетельствовать о превалировании в раннюю фазу инфекционного процесса (фазу активации) активности определённых клеточных популяций крови, ответственных за синтез белка-регулятора ранней фазы: моноцитов/макрофагов – IFN- $\alpha$  (чаще) или моноцитов/макрофагов и нейтрофилов – IL-8 (реже). И только тяжёлое течение гриппа рН1N1 характеризовалось одновременным повышением уровня обоих факторов (причём в случае IL-8 это повышение было многократным). Данное обстоятельство наводит на мысль о возможном «сломе» защитных механизмов при гриппе рН1N1, характеризующимся бесконтрольной активацией как моноцитов/макрофагов, так и нейтрофилов с усиленной выработкой ими исследуемых цитокинов, прямо или косвенно (путём иницирования каскада цитокиновых реакций) участвующих в дальнейшем в реализации механизмов повреждения различных тканей с последующим нередким летальным исходом, т.е. в так называемом "цитокиновом шторме (буре)", что согласуется с данными литературы [8, 9].

В связи с определенной в результате исследования «обычной» схемой реагирования цитокиновой сети в виде умеренного повышения концентрации только одного из факторов: IFN- $\alpha$  (чаще) или IL-8 (реже) –, отклонения от данной схемы можно рассматривать как дисбаланс функционирования системы



иммунокомпетентных клеток. Наиболее выраженные изменения касались, кроме тяжелого течения гриппа рН1N1, и аденовирусной инфекции, в остром периоде которой было выявлено значительное (в 6 раз) повышение уровня ИЛ-8. Возможно, избыточная стимуляция нейтрофилов, не наблюдаемая при других среднетяжелых формах ОРВИ и характеризующаяся повышением продукции ИЛ-8, при аденовирусной инфекции является компенсаторной реакцией иммунной системы на недостаточную активность макрофагов по выработке IFN- $\alpha$ , приводящей к "выпадению" части IFN- $\alpha$  из цепочки цитокиновых реакций. Выявленный в результате исследования нормальный уровень IFN- $\alpha$  в остром периоде данного заболевания, по-видимому объясняется тем, что ИЛ-8 может ингибировать активность IFN- $\alpha$  [5].

**Выводы.** Таким образом, на примере белков ранней фазы воспаления выявлено, что оба фактора, играют важную роль в начальной фазе инфекционного процесса, причем при среднетяжелых формах ОРВИ различного генеза обычно превалирует выработка IFN- $\alpha$  в сравнении с ИЛ-8. Усиление же синтеза ИЛ-8 соответствующими клеточными популяциями крови наблюдается лишь в остром периоде аденовирусной инфекции и при тяжелом течении гриппа рН1N1.

**Заключение.** Высокий уровень ИЛ-8 (в 10 и более раз) может указывать на тяжелое, неблагоприятное течение гриппа рН1N1. Динамика уровня IFN- $\alpha$ , характеризующаяся повышением в остром периоде со снижением в сыворотке крови к периоду реконвалесценции при нормальных показателях ИЛ-8, может свидетельствовать о благоприятном течении ОРВИ. На основе полученных данных концентрация исследуемых цитокинов в сыворотке крови была нами использована в качестве одного из дополнительных критериев прогноза в разработанной экспертной системе "Экспресс-диагностика и прогноз течения ОРВИ" [6].

В процессе проводимого лечения больных ОРВИ рекомендуется учитывать возможность развития цитокинового дисбаланса, связанного с усилением синтеза белков ранней фазы воспаления, в связи с чем в перспективе патогенетически обоснованным, по нашему мнению, будет устранение возникшего нарушения с помощью лекарственных препаратов, корригирующих уровень ИЛ-8 и IFN- $\alpha$ . Особенно эта коррекция должна касаться лечения больных с тяжелым течением гриппа рН1N1.

### Литература

1. Гавришева, Н.А. Инфекционный процесс: Клинические и патофизиологические аспекты: Учебное пособие. / Н.А. Гавришева, Т.В. Антонова. – СПб.: ЭЛБИ–СПб. – 2006. – 282 с.
2. Кобзарь, А.И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников / А.И. Кобзарь. – М.: Физматлит. – 2006. – 816 с.
3. Нагоев, Б.С. О роли цитокинов в регуляции иммунной системы при инфекционных заболеваниях / Б.С. Нагоев, М.Х. Нагоева, Э.А. Камбачокова // Материалы III Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 28-30 марта 2011 года). – Инфекционные болезни. – 2011. – Том 9. – Приложение №1. – М. – 2011. – С. 260.
4. Симбирцев, А. С. Интерлейкин-8 и другие хемокины / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 9 – 14.
5. Тотолян, А.А. Клетки иммунной системы / А.А. Тотолян, И.С. Фрейдлин. – СПб.: Наука. – 2000. – 231 с. – (серия учебных пособий. Т. 1., Т. 2).
6. Усков, А.А. Экспертная система "Экспресс-диагностика и прогноз течения ОРВИ" / А.А. Усков, М.В. Шипилов // Информатика, математическое моделирование, экономика: сборник научных статей по итогам Международной научно-практической конференции (г. Смоленск, 22 апреля 2011 г.). – Смоленск. – 2011. – Т.1 – С. 185-188.
7. Bermejo-Martin, J.F. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children / J.F. Bermejo-Martin (and oth.) // Eur. Cytokine Netw. – 2007. – Vol. 18. – № 3. – P. 162-167.
8. Bermejo-Martin, J.F. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza / J.F. Bermejo-Martin (and oth.) // Crit Care. – 2009. – Vol. 13. – №6. – P. 201.
9. Hagau, N. Clinical aspects and cytokine response in severe H1N1 influenza A virus infection. / N. Hagau (and oth.) // Crit. Care. – 2010. – Vol 14. – №6. – P 203.
10. Mera, S. Multiplex cytokine profiling in patients with sepsis / S. Mera (and oth.) // APMIS. – 2011. – Vol. 119. – №2. – P. 155-163.



## **CYTOKINES EARLY PHASE OF INFLAMMATION IN PATIENTS WITH ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS**

**U.V. IVANOV<sup>1</sup>**  
**M.V. SHIPILOV<sup>2</sup>**  
**V.V. IVANOV<sup>3</sup>**

*<sup>1)</sup> Clinical hospital №83 of the  
Federal Medical-Biological  
Agency of Russia, Moscow*

*<sup>2)</sup> Smolensky State University*

*<sup>3)</sup> Advisory-diagnostic  
polyclinic №1, Smolensk*

*e-mail: med\_infect@land.ru*

Investigated the concentration of proteins of the early phase of inflammation: interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) and interleukin-8 (IL-8) in the serum of 96 patients with acute respiratory viral infections by enzyme immunoassay. Control was blood of healthy donors. Defined increase of IFN- $\alpha$  in the acute stage of influenza pH1N1 (moderate and severe), moderate forms of parainfluenza and respiratory syncytial virus infection, and IL-8 – in the acute phase of adenovirus infection (moderate form) and in severe influenza pH1N1. Only the severity of influenza pH1N1 characterized by a simultaneous increase immediately IFN- $\alpha$  and IL-8 (increasing IL-8 was repeated). The results were used to create an expert system "Express-diagnosis and prognosis of ARVI".

Key words: interferon- $\alpha$ , interleukin-8, influenza, parainfluenza, adenoviral infection, respiratory syncytial virus infection, ARVI.