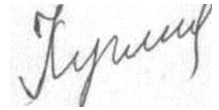


**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ім. І. І. МЕЧНИКОВА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

КУЧМА МАКСИМ ВЯЧЕСЛАВОВИЧ

УДК: 578.825.13:612.017.1:578.74(043.3)

**ОСОБЛИВОСТІ ВАКЦИНАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ І СПОСОБИ
ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИВІРУСНИХ ЩЕПЛЕНЬ У
ДІТЕЙ З ХРОНІЧНОЮ ВЕБ-ІНФЕКЦІЄЮ**



14.03.08 – імунологія та алергологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України».

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Попов Микола Миколайович**, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», головний науковий співробітник лабораторії протимікробних засобів

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Карабан Олег Михайлович**, Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, завідувач кафедри загальної гігієни та епідеміології;

доктор медичних наук, професор **Бісюк Юрій Анатолійович**, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, професор кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології.

Захист відбудеться « 26 » червня 2019 р. о 12.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» за адресою: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 14-16.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 14-16).

Автореферат розісланий « 24 » травня 2019 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
Д 64.618.01, к. мед. н.



Воронкіна І.А.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Первинне інфікування широко розповсюдженим вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ), що вражає більше ніж 90 % населення Землі, відбувається частіше за все в ранньому дитинстві та призводить до пожиттєвої персистенції вірусу (Trottier H., Buteau C., Robitaille N., 2012). У здорових людей в крові може визначатися від 0,915 копій/мл до 2585,5 копій/мл ВЕБ (Smatti M., Yassine H., 2017). Як відомо, ВЕБ здатен безпосередньо інфікувати В-лімфоцити та епітеліоцити (Szymula A., Palermo R., 2018). Встановлено, що у серопозитивних здорових осіб інфіковано до 50 В-лімфоцитів на 1 млн моноклеарів крові (Henrik H., Jerpe F., Mads M., 2007). З вірусів групи герпесу ВЕБ має найбільший тропізм до клітин імунної системи і здатен вражати також Т-лімфоцити (механізм детально невідомий), нормальні кілери, макрофаги і гранулоцити (через Fc-рецептори імуноглобулінів і Toll-2-рецептори) (Bennett N. et al., 2007). Персистенція ВЕБ знижує функціональну активність цих клітин та сприяє розвитку вторинних імунодефіцитів. Поліморфізм перебігу ВЕБ-інфекції характеризується широким різноманіттям. ВЕБ є етіологічним фактором інфекційного моноклеозу та асоціюється із низкою таких захворювань як лімфогранулематоз, лімфома Беркітта, назофаренгіальна лімфома, гепатит, фіброміалгія, васкуліт, синдром хронічної втоми, загальний варіабельний імунодефіцит тощо (Wass M., 2018). Гостра (маніфестна чи субклінічна) ВЕБ-інфекція в більшості випадків закінчується довічною латентною персистенцією вірусу, але у частини хворих переходить в хронічну форму, що викликає симптомокомплекс суттєво знижуючий якість життя людини. Тригерами реактивації ВЕБ є масований вплив іншого чужорідного антигену та дія різноманітних імуносупресивних чинників, (Глей А. І., 2009, Виговська О. В., 2014, Дуда О. К., 2015, Arai A., 2019). Одним із наслідків реактивації ВЕБ є імуносупресія, що призводить до вторинного імунодефіциту у людей з хронічною ВЕБ-інфекцією (ХВЕБІ) (Yan Xing 2013, Онофрійчук О. С. та ін., 2014).

Відомо, що серед усіх вакцинованих дітей, від 5 до 10 % одразу після імунізації не відповідають достатнім рівнем специфічного імунітету, а з часом після щеплення частка незахищених значно зростає (Казмирчук В. Е. та ін., 2015, Харит С.М., 2016, Голубовська О. А., 2019). Категорія дітей з ХВЕБІ, з одного боку, являє собою групу ризику щодо інфекційних захворювань та їх ускладнень, і потребує активної імунопрофілактики у першу чергу, але з іншого боку, є саме тим контингентом, в якого може не відбуватися формування стійкого, довготривалого специфічного імунітету та спостерігаються більші ризики несприятливих подій після імунізації (Волянський А. Ю., 2019). Визначений тропізм ВЕБ до лімфоїдної тканини та імунокомпетентних клітин може призводити до порушень формування адаптивного імунітету (Guerreiro

М., 2010, Пікуль К. В. та ін., 2011, Казмирчук В. Е. та ін., 2017). Знижена здатність до утворення специфічної імунної відповіді у дітей з ХВЕБІ окрім індивідуальних проблем ускладнює створення популяційного імунітету (Волянський А. Ю., 2019). Це спонукає до вивчення стану передвакцинального та післявакцинального імунітету у дітей молодшого шкільного віку з ХВЕБІ, зокрема за планового щеплення від вірусних інфекцій - кору, епідемічного паротиту та краснухи. Дослідження в цьому напрямку є вкрай актуальним, враховуючи різке зростання захворюваності на кір за останні роки та неефективність протиепідемічних заходів (Голубовська О. А., 2018, Волянський А. Ю., 2019). За даними європейського центру контролю та профілактики захворювань за 2018-2019 роки 13 % переохворівших на кір було вакциновано одноразово, а 9 % - дворазово. Це в свою чергу потребує винайдення терапевтичних підходів до підвищення ефективності щеплення та стійкості вакцинального протівірусного імунітету у дітей з ХВЕБІ і буде мати безперечні соціально-економічні бенефіції шляхом подолання розповсюдження інфекційних хвороб серед населення України.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних робіт ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України»: «Особливості формування вакцинального імунітету після планового щеплення дітей з хронічною герпесвірусною інфекцією», номер держреєстрації 0115U000544; «Вивчення індивідуальних особливостей порушень імунної відповіді на вакцинацію з метою персоніфікації імунопрофілактики у дітей дошкільного віку», номер держреєстрації 0118U004053. Дисертантом проведено дослідження специфічного гуморального імунітету, стану загального (клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланки) імунітету та цитокінового статусу 6-7 річних дітей з ХВЕБІ, запропоновано передвакцинальну корекцію дітей з ХВЕБІ для підвищення ефективності вакцинації проти кору, епідемічного паротиту та краснухи.

Мета та завдання дослідження. *Метою дослідження* було означення основних факторів формування напруженого та довгострокового специфічного імунітету та підвищення ефективності вакцинації проти кору, епідемічного паротиту та краснухи (КПК) у дітей з ХВЕБІ.

Завдання дослідження:

1. Оцінити стан специфічного та загального імунітету у 6-7-річних дітей з ХВЕБІ перед ревакцинацією проти КПК.

2. Встановити характер зв'язку між недостатнім рівнем специфічних антитіл до кору, краснухи, паротиту перед ревакцинацією у дітей з ХВЕБІ та характером субпопуляційних змін серед Т- та В-лімфоцитів, цитокінової реакції і неспецифічної реактивності організму.

3. Дослідити динаміку формування вакцинального імунітету у 6-7-річних дітей з ХВЕБІ після ревакцинації проти КПК та встановити взаємозв'язок між недостатнім виробленням специфічних антитіл та станом клітинної, гуморальної, фагоцитарної ланок імунітету, утворенням клітин пам'яті (TSM⁺-, TEM⁺-, TEMRA⁺-, CD20⁺CD27⁺-лімфоцитів) та цитокиновою реакцією.

4. Визначити прогностичні показники формування недостатнього, нетривалого вакцинального імунітету у дітей з ХВЕБІ за щеплення вакциною КПК.

5. Дослідити ефективність застосування передвакцинальної комплексної терапії (ПКТ) з метою підвищення ефективності щеплення дітей з ХВЕБІ та розробити оптимальний підхід до створення в них напруженого довготривалого специфічного імунітету до кору, краснухи, епідемічного паротиту.

Об'єкт дослідження: імунологічні фактори, відповідальні за формування недостатньої специфічної імунної відповіді у 6-7-річних дітей з ХВЕБІ, ефективність застосування передвакцинальної комплексної терапії для створення напруженого стійкого вакцинального імунітету проти кору, краснухи, епідемічного паротиту.

Предмет дослідження: показники загального та специфічного імунного статусу дітей з ХВЕБІ у передвакцинальному періоді та після ревакцинації проти кору, краснухи, епідемічного паротиту.

Методи дослідження: загальноклінічні (обстеження дітей з ХВЕБІ), імунологічні (вивчення специфічного гуморального та загального (клітинного, гуморального, фагоцитарного) імунітету, цитокинового статусу), цитологічні та культуральні (визначення проліферативної активності лімфоцитів та цитокін-продукуючого потенціалу мононуклеарів у культурі *in vitro*), молекулярно-генетичні (визначення ДНК ВЕБ), статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено комплексне імунологічне дослідження стану та напруженості специфічного імунітету до кору, епідемічного паротиту, краснухи, а також перебігу вакцинального процесу у дітей старшого дошкільного віку з ХВЕБІ. Вперше визначено взаємозв'язок між окремими показниками загального імунітету та станом специфічного імунітету до КПК у дітей з ХВЕБІ. Доведено, що слабка імунна відповідь на щеплення проти КПК у цих дітей пов'язана з дисбалансом субпопуляційного складу лімфоцитів, зниженням кількості CD4⁺-, CD25⁺CD4⁺-, CD8⁺CD137⁻, Th1(IFN γ ⁺)-клітин, збільшенням CD8⁺CD137⁺-клітин, зниженням проліферативної здатності лімфоцитів, низькою поглинальною, біоцидною та метаболічною активністю лейкоцитів. Вперше встановлено, що для дітей з ХВЕБІ з відсутністю стійкого захисного імунітету проти референтних вірусних інфекцій є характерним порушення цитокинової регуляції імунної відповіді, розбалансованість співвідношення про- та протизапальних цитокінів,

збільшення рівня прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-2, TNF α ; недостатність продукції IFN α та IL-4, який необхідний для розвитку специфічної гуморальної відповіді. Вперше виявлено виснаження функціональних резервів мононуклеарів у дітей з ХВЕБІ - спонтанна та індукована продукція IL-4 та індукована продукція TNF α , IFN α , IL-10 поступалася аналогічним показникам здорових дітей. Вперше встановлено, що для дітей з ХВЕБІ властиво зниження концентрацій IL-15 та IL-21 цитокінів, які необхідні для формування імунологічної пам'яті, зниження утворення В- та Т-клітин пам'яті під час формування вакцинального імунітету, як центральних (ТСМ), так і ефекторних (ТЕМ, ТЕМРА).

Доведено ефективність застосування передвакцинальної комплексної терапії, що поєднує препарати противірусної, імуномодулюючої та дезінтоксикаційної дії, яка включає інозин пранобекс (Нормомед), рекомбінантний IFN α -2b (Віферон), спиртовий екстракт *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L. (Протекфлазид), цитруліну малат (Стімом), в комплексній корекції імунних порушень у дітей, хворих на ХВЕБІ, і справляє достовірний стимулюючий вплив на формування напруженого стійкого специфічного імунітету за вакцинації проти КПК.

Практичне значення отриманих результатів. Результати досліджень окреслили показники, які дозволяють до вакцинації прогнозувати у дітей з ХВЕБІ неможливість формування напруженого та довгострокового вакцинального імунітету: зниження частки CD4⁺-клітин, активованих CD25⁺CD4⁺-лімфоцитів, Т-цитотоксичних (CD8⁺ CD137⁻) та Th1 (IFN γ ⁺)-лімфоцитів, збільшення Т-супресорів (CD8⁺CD137⁺), низька проліферативна активність лімфоцитів, низька поглинальна та біоцидна активність фагоцитів, підвищений вміст прозапальних цитокінів поряд зі зниженням концентрації IFN α , IL-4, IL-15 та IL-21, зниження спонтанної та індукованої продукції IL-4 та індукованої продукції TNF α , IFN α , IL-10 у культурі мононуклеарів. За цими прогностичними показниками до імунізації можуть бути визначені пацієнти, які потребують попередньої передвакцинальної терапевтичної підготовки. Вказане дозволить знизити кількість незахищених від актуальних інфекцій серед дитячого населення, зменшити ризики поствакцинальних реакцій та ускладнень, підвищити рівень популяційного імунітету щодо окремих вірусних інфекційних захворювань. За результатами проведеного дослідження отримано патент України № 132004 від 11.02.2019 «Спосіб прогнозування можливості прояву побічних реакцій на вакцинацію у дітей».

Основні матеріали й наукові положення дисертації впроваджені у навчальний процес на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗУ (акт впровадження від 11.12.2017 р.), кафедрі мікробіології, вірусології

та імунології ім. професора Д. П. Гриньова, кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету МОЗУ (акти впровадження від 04.05.2018 та 22.10.2018 відповідно), кафедрах клінічної імунології та мікробіології та поліклінічної педіатрії Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗУ (акти впровадження від 04.03.2019 та 17.05.2019), впроваджені в лікувальний процес в Харківському медичному центрі мікробіології та імунології (акт впровадження 31.08.2018) і медичному оздоровлюючому центрі Fortis (акт впровадження 07.09.2018).

Особистий внесок здобувача. Матеріали, представлені у роботі, є особистим внеском здобувача у вирішення задачі щодо визначення імунологічних факторів, які відповідають за недостатню специфічну імунну відповідь у 6-7-річних дітей з ХВЕБІ, що дозволило розробити прогностичні показники можливості неефективності імунізації у цих дітей. Здобувачем запропоновано застосування передвакцинальної комплексної терапії для створення напруженого стійкого вакцинального імунітету проти кору, краснухи, паротиту у таких дітей з ХВЕБІ. Вибір теми, завдання дослідження, розробка імунореабілітаційних заходів для дітей з ХВЕБІ сформовані дисертантом під керівництвом наукового керівника доктора медичних наук, професора М. М. Попова. Дисертантом самостійно проведено аналіз актуальності та дослідження стану вакцинопрофілактики в Україні та проблем щеплення дітей з хронічною герпетичною патологією, опрацювання мети, вибір методик, умов досліджень. Значний обсяг клінічних досліджень та щеплення дітей з ХВЕБІ було виконано особисто дисертантом. Автором здійснено аналіз отриманих даних, формулювання висновків та практичних рекомендацій за матеріалами дослідження, підготовлено відповідні розділи звітів та публікацій.

Персональний внесок автора у всіх опублікованих із співавторами працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку наукових праць.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації репрезентовано у формі доповідей і тез на 25-му з'їзді товариства мікробіологів та паразитологів (Харків, 2011), у матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках» (Київ, 2016), міжнародної науково-практичної конференції «Мечніковські читання – 2016. Актуальні проблеми парентеральних інфекцій» (Харків, 2016), міжнародної науково-практичної конференції «Медична наука та практика: актуальні питання взаємодії» (Київ, 2017), міжнародної науково-практичної конференції «Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями» (Харків, 2017), міжнародної науково-практичної конференції «The development of medical sciences problems and solutions» (Брно, 2018), міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні наукові дослідження представників медичної науки – прогрес медицини майбутнього» (Київ, 2018),

міжнародної науково-практичної конференції «Сучасний вимір медичної науки та практики» (Дніпро, 2018), науково-практичної конференції «Теорія і практика вакцинопрофілактики інфекційних захворювань» (Харків, 2018), VII всеукраїнської науково-практичної конференції алергологів Слобожанщини «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (Харків, 2019), першому національному форумі імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів (за участю міжнародних спеціалістів) (Харків, 2019).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 15 наукових праць (2 одноосібно), з них 2 монографії, 4 статей (2 – у наукових фахових виданнях України, 2 – у міжнародних виданнях, 2 – включено до наукометричних баз), 1 патент, 8 тез у матеріалах міжнародних конференцій, з'їздів та форумів.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена за загальноприйнятою формою на 179 сторінках машинописного тексту і складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та практичних рекомендацій, списку використаних джерел, що містить 165 посилань (кирилицею – 80, латиницею – 85), додатку. Дисертація ілюстрована 28 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Під спостереженням протягом 2015 - 2018 років перебувало 120 дітей з ХВЕБІ віком 6-7 років (дівчат було 40 %, хлопчиків – 60%), які потребували ревакцинації проти кору, краснухи та епідемічного паротиту згідно з календарем вакцинації України. Для щеплення всіх дітей було застосовано вакцину Пріорикс (GlaxoSmithKline Biologicals, Бельгія). У дітей, взятих у дослідження визначався, так званий, атипичний клінічний варіант ХВЕБІ, який найбільш часто зустрічається та характеризується неспецифічністю та поліморфністю ознак і проявляється в першу чергу астено-вегетативним синдромом. У дослідження не включали дітей з тяжкими генералізованими формами ХВЕБІ з ураженням нервової системи, гломерулонефритами, міокардітами, гепатитами та з онкологічними лімфопроліферативними захворюваннями асоційованими з ВЕБ. Діагноз ХВЕБІ встановлено на підставі анамнезу, скарг, клінічних, інструментальних та лабораторних досліджень. Активна персистенція ВЕБ, яку оцінювали на підставі виявлення ДНК ВЕБ в сироватці крові та слинні кількісним та якісним методом ПЛР, спостерігалася у більшості дітей (83 %). В усіх дітей впродовж 6 місяців (та довше) були підвищені рівні IgG до ядерного антигену ВЕБ та у більшості дітей (92 %) були підвищені рівні IgG до ранніх антигенів ВЕБ, що вказує на хронічний перебіг інфекції. У частини дітей були підвищені рівні IgM та IgG до капсидного антигену ВЕБ. Групу порівняння склали 50 клінічно

здорових дітей порівняних за віком та статтю, в анамнезі яких був відсутній перенесений інфекційний мононуклеоз, в їх крові та слині не знайдено ДНК ВЕБ, в крові відсутні IgM та не підвищені рівні IgG до антигенів ВЕБ.

Стан специфічного імунітету був визначений до та після щеплення КПК вакциною в термінах 1, 6 місяців та 1 рік методом ІФА. Згідно до інструкції захисним рівнем антитіл до кору вважали значення $>0,20$ МО/мл, до краснухи - >15 МО/мл, паротиту - >24 МО/мл.

Дослідження характеру та динаміки порушень загального імунітету у дітей проведено до та через 1, 6 місяців та 1 рік після ревакцинації.

Лейкоцити з периферичної крові виділяли на 3 % розчині желатину за стандартною схемою. Мононуклеарні лейкоцити одержували з периферичної крові у градієнті щільності фіколу-верографіну 1,077.

Популяційний та субпопуляційний вміст лімфоцитів визначали методом непрямой мембранної імунофлюоресценції з використанням МКАТ анти-CD3, -CD4, -CD8, -CD16, -CD11b, -CD25, -CD20 («Сорбент», ГІЦ «Інститут імунології» (Росія)). Для визначення вмісту у популяції мононуклеарів Т- та В-клітин пам'яті ($CCR7^+CD45RA^-(TCM)$, $CCR7^-CD45RA^-(TEM)$, $CCR7^-CD45RA^+(TEMRA)$, $CD22^+CD72^+(BM)$) використовували відповідні МКАТ («Ab D Serotec» Велика Британія, «Alexis Biochemicals» Сан Дієго, США).

Вміст у сироватці крові імуноглобулінів класів М, А, G визначали спектрофотометричним методом.

Фагоцитарну активність лейкоцитів оцінювали за їх здатністю поглинати бактерії *S. aureus* (штам 209). Бактерицидну властивість фагоцитів оцінювали за методом S.Nielsen. Кисеньзалежну метаболічну активність фагоцитів вивчали у спонтанному та індукваному зимозаном НСТ-тесті відповідно до рекомендації Е.У.Пастер та ін.

Проліферативну активність лімфоцитів оцінювали за рівнем спонтанної, ФГА- та ІЛ-2-індукованої бласттрансформації клітин у культурі *in vitro* (РБТЛ).

Цитокіни TNF α , IFN α , IFN γ , ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-15, ІЛ-21 у сироватці крові та в культурі мононуклеарів визначали методом ІФА з використанням тест-систем Ridascreen (Німеччина). Для дослідження спонтанної та індукваної продукції цитокінів кров вносили в стерильну пробірку з гепарином (150 од/мл). Мононуклеари в кількості $1,5 \times 10^6$ кл/мл виділяли на градієнті фікол-верографіні (1,076-1,078), інкубували при 37 С і 5 % CO $_2$ протягом 24 годин у середовищі RPMI-1640 (спонтанна продукція) та з додаванням ФГА (Sigma, США) з кінцевою концентрацією 50 мкг/мл (стимульована продукція). Після інкубації клітини осаджували при 1,5 тис. об./хв. протягом 10 хв. Отриманий осад супернатанта заморожували і зберігали при -20 °С до моменту тестування.

Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові визначали методом селективної преципітації поліетиленгліколю-6000.

Дизайн дослідження. Для встановлення факторів загального імунітету, асоційованих з напруженістю та довготривалістю специфічного імунітету, за рівнем захисних антитіл діти з ХВЕБІ були розподілені на дві групи: 1 група (78 дітей, 65 %) - ті, що перед ревакцинацією не мали захисного рівня специфічних IgG до однієї або декількох досліджуваних інфекцій; 2 група (42 дитини, 35 %) - ті, що мали захисний рівень специфічних IgG до всіх досліджуваних інфекцій; 3 група (50 дітей) - здорові діти. У дітей було досліджено стан загального імунітету, а саме популяційного та субпопуляційного складу лімфоцитів, їх функціональної здатності, вмісту нормальних IgM, IgG та IgA у сироватці крові, функціональних характеристик фагоцитів, продуктивності цитокинової мережі і її резервних можливостей – до ревакцинації КПК. Значні порушення у стані загального імунітету, які могли вплинути на формування специфічної імунної відповіді, були виявлені в 1 групі дітей. У дітей 2 групи значних порушень в імунному статусі не спостерігалось.

На наступному етапі у частини дітей 1 групи (30 дітей) після ревакцинації було на протязі року (через 1, 6 та 12 місяців) повторно проведено оцінку рівня специфічних IgG до кору, краснухи, паротиту, та виявлено, що формування напруженого поствакцинального імунітету у більшості з них не відбувається. Було проаналізовано ті зміни факторів загального імунітету, які впливають на відсутність формування довготривалого специфічного імунітету у цих дітей. Для посилення специфічної імунної відповіді другій частині дітей з 1 групи (35 дітей) перед ревакцинацією була призначена комплексна терапія протягом 1 місяця. Після ревакцинації КПК були сформовані наступні групи дітей з ХВЕБІ (з відсутністю передвакцинального захисного рівня специфічних антитіл): 1 група (35 дітей), які отримали комплексну передвакцинальну терапію; 2 група (30 дітей), які не отримували терапії; 3 група (30 дітей) - здорові діти.

Статистичну обробку даних здійснювали із застосуванням методу варіаційної статистики: вираховували середню арифметичну величини (M), їх помилки (m), стандартні відхилення. Роботу проводили з використанням пакету програм STATISTICA v.S.S.A (StatSoft Inc., США). З огляду на нормальне розподілення досліджуваних величин значимість розрізень оцінювалася за допомогою критерію Стюдента для вибірок різного об'єму. Розрізнення вважалися статистично значимими при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Наші дослідження продемонстрували, що у здорових дітей 6-річного віку одноразово вакцинованих у 12 місяців був відсутній захисний рівень антитіл: проти кору – у 4 %, проти краснухи - у 5 %, проти епідемічного паротиту – у 12 %. У більшості здорових дітей (58 %) рівень IgG проти кору був середнім (0,80 –

1,50 МО/мл), у 4 % - мінімальний (0,2 – 0,4 МО/мл) і у 4 % дітей він був високим (2,00 МО/мл і вищим). Проти краснухи середній захисний рівень IgG (40-50 МО/мл) спостерігався у 46 % дітей, мінімальний (15 – 20 МО/мл) – у 10 %, високий (100 МО/мл і вищий) – у 4 %. Проти паротиту середній захисний рівень IgG (50 – 100 МО/мл) спостерігався у 30 % дітей, мінімальний (24 – 30 МО/мл) – у 20%, високий (200 МО/мл і вищий) – у 2 %.

Вивчення специфічного імунітету у дітей з ХВЕБІ показало, що відсутність захисного рівня IgG (або на межі захисту) проти паротиту спостерігалось у 58 % з них, проти краснухи - у 52 %, проти кору - у 46 %. У цих дітей, на відміну від здорових, не було високих рівнів IgG проти жодного збудника, з яких проводилась вакцинація; мінімальні захисні рівні IgG проти паротиту були у 32 %, проти кору – у 35 %, проти краснухи – у 30 %. Середній рівень протикорових АТ реєструвався лише у 17 % дітей з ХВЕБІ.

Дослідження показали, що імунний статус у дітей з ХВЕБІ 1 та 2 груп є відмінним від такого у здорових дітей (табл. 1), але у різній мірі. Стан загального імунітету у дітей 1 групи показав низку достовірних відмінностей від більшості показників групи здорових дітей.

Таблиця 1

Популяційний та субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові та їх функціональна активність у дітей з ХВЕБІ перед ревакцинацією

Показники	Групи дітей		
	1 (n=78)	2 (n=42)	3 (n=50)
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	6,90 \pm 0,60	6,78 \pm 0,61	6,69 \pm 0,44
Лімфоцити, %	46,9 \pm 3,13*	43,7 \pm 1,7	38,3 \pm 1,6
$\times 10^9/\text{л}$	3,2 \pm 0,23*	2,9 \pm 0,23	2,5 \pm 0,24
CD3 ⁺ -клітини, %	60,1 \pm 2,8	61,9 \pm 3,0	64,5 \pm 2,2
CD4 ⁺ -клітини, %	28,1 \pm 2,6* ^{**}	35,4 \pm 2,5	38,6 \pm 1,9
CD8 ⁺ -клітини, %	35,8 \pm 1,3*	30,0 \pm 1,3	28,4 \pm 1,2
CD20 ⁺ -клітини, %	21,9 \pm 0,8*	19,8 \pm 0,8	16,8 \pm 0,8
CD25 ⁺ CD4 ⁺ -клітини, %	3,9 \pm 1,6* ^{**}	5,1 \pm 1,5*	6,7 \pm 0,5
CD16 ⁺ CD56 ⁺ -клітини, %	11,7 \pm 0,8	11,9 \pm 0,8	11,3 \pm 1,4
CD8 ⁺ CD11b ⁻ , % (Т-цит. кл.)	13,0 \pm 0,4*	16,1 \pm 0,4*	19,8 \pm 0,5
CD8 ⁺ CD11b ⁺ , % (Т-супр.)	19,8 \pm 0,4* ^{**}	13,4 \pm 0,4*	9,4 \pm 0,4
Th1 (ИФγ ⁺), %	8,9 \pm 0,9*	10,3 \pm 1,02	11,0 \pm 1,1
Th2 (ИЛ-4 ⁺), %	12,9 \pm 1,17	12,2 \pm 1,12	12,1 \pm 1,4
Th1/Th2	0,68 \pm 0,08* ^{**}	0,84 \pm 0,09	0,91 \pm 0,09
РБТЛ спонтанна, %	4,1 \pm 0,9* ^{**}	5,4 \pm 0,9*	7,6 \pm 0,5
РБТЛ ФГА – індукована, %	43,3 \pm 4,6* ^{**}	50,4 \pm 5,2*	63,4 \pm 4,2
РБТЛ ИЛ-2- індукована, %	22,2 \pm 2,5*	25,1 \pm 2,8*	32,3 \pm 2,0

Примітки: * - p < 0,05 між 1, 2 групами та здоровими дітьми; ** - p < 0,05 між групами 1 і 2.

У дітей з ХВЕБІ 1 групи реєструвалося вірогідне підвищення, порівняно з контролем, відносної та абсолютної кількості лімфоцитів, відносного вмісту $CD8^+$, Т-супресорів ($CD8^+ CD137^+$) та $CD20^+$ -лімфоцитів. Разом з тим, у цих дітей відмічено зниження відносної кількості $CD4^+$ - та активованих $CD25^+ CD4^+$ -лімфоцитів, Т-цитотоксичних лімфоцитів ($CD8^+ CD137^-$), Th1 ($IFN\gamma^+$)-клітин. Окрім того, у дітей 1 групи спостерігалось достовірне зниження проліферативної активності лімфоцитів, як спонтанної, так і ФГА- та ІЛ-2-індукованої (табл. 1). Показники загального імунного статусу дітей з ХВЕБІ 2 групи мали достовірні відмінності від параметрів здорових дітей, що характеризувалися зниженням відсотку активованих лімфоцитів $CD25^+ CD4^+$, цитотоксичних клітин $CD8^+ CD137^-$, а також, як і у дітей 1 групи – спонтанної та індукованої проліферативної здатності лімфоцитів у дещо меншій мірі, ніж у дітей 1 групи (табл.1).

При вивченні рівней нормальних імуноглобулінів сироватки крові було встановлено, що у дітей з ХВЕБІ 1 групи концентрації IgM, IgG та вміст ЦІК достовірно перевищували їх значення у дітей 2 групи та здорових дітей.

У дітей з ХВЕБІ 1 і 2 груп, порівняно із здоровими, була знижена поглинальна, біоцидна та метаболічна активність лейкоцитів. Всі показники, що характеризують фагоцитарну активність, достовірно відрізнялися між групами у бік їх більшого зниження у дітей 1 групи (табл. 2).

Таблиця 2

Фагоцитарна та біоцидна активність лейкоцитів дітей з ХВЕБІ до ревакцинації

Показники	Групи дітей		
	1 (n=78)	2 (n=42)	3 (n=50)
Фагоцитарне число (ФЧ), %	48,4 ± 6,00*	56,1 ± 2,40*	64,3 ± 2,41
Фагоцитарний індекс (ФІ)	4,0 ± 0,33* ^{***}	5,7 ± 0,30*	6,5 ± 0,29
Біоцидність, %	10,3 ± 0,69* ^{***}	6,8 ± 0,62*	4,8 ± 0,62
НСТ-тест спонт., %	7,6 ± 0,99* ^{***}	9,5 ± 0,93*	11,8 ± 1,0
НСТ-тест інд., %	18,1 ± 2,4* ^{***}	22,7 ± 2,1*	28,8 ± 2,1

Примітки: * - $p < 0,05$ між 1, 2 групами та здоровими дітьми; ** - $p < 0,05$ між групами 1 і 2.

Отримані дані вказують на достовірні відмінності у фагоцитарній та біоцидній активності лейкоцитів дітей з ХВЕБІ 1 та 2 груп. Слід зазначити, що фагоцитарна ланка імунітету відіграє виключну роль у розвитку повноцінної імунної реакції. Від її функціональної активності залежить якість презентації антигенів, ступінь активації Т- та В-лімфоцитів, цитокиновий баланс організму.

При вивченні цитокинового статусу дітей з ХВЕБІ, що не мали захисних рівнів специфічних антитіл перед ревакцинацією (1 група), було встановлено, що в них, на відміну від здорових дітей, а також від дітей 2 групи у сироватці крові реєструвався підвищений вміст прозапальних цитокінів. Їх концентрація перевищувала значення контролю: $TNF\alpha$ – у 2,5 разів, $IL-1\beta$ – у 1,4 разів, $IL-2$ – в 1,7 разів. Рівень протизапального сегменту цитокінів був різноспрямованим. Концентрація $IL-10$ також перевищувала контрольну в 1,8 разів, тоді як вміст $IL-4$ був нижче норми в 1,6 разів. Концентрація $IFN\alpha$ у дітей 1 групи була зниженою у 1,54 разів, $IFN\gamma$ – у 1,26 разів вищою за рівень контролю (рис. 1).

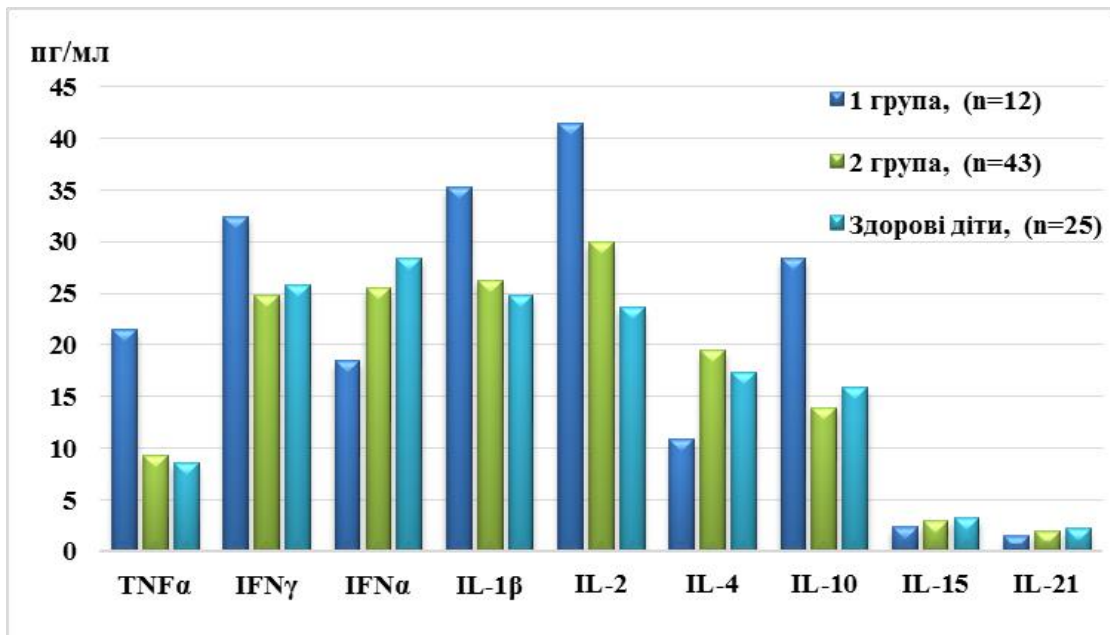


Рис. 1. Вміст цитокінів у сироватці крові дітей з ХВЕБІ до ревакцинації.

Також характерним для дітей з ХВЕБІ 1 групи був знижений вміст у сироватці $IL-15$ (у 1,4 рази) та $IL-21$ (у 1,5 рази) - цитокінів, які відіграють значну роль у протівірусному захисті та у формуванні і підтриманні стійкого специфічного імунітету. Результати даного етапу проведених досліджень свідчать, що визначення рівня продукції прозапальних цитокінів та $IL-4$, $IL-10$, $IL-15$ і $IL-21$ у дітей з ХВЕБІ має перспективу для використання у якості прогностичного критерію формування вакцинального імунітету з метою застосування персонального підходу та підвищення ефективності їх імунізації.

Для визначення функціональних можливостей мононуклеарів у дітей було визначено продукцію цитокінів в їх супернатантах до вакцинації. Спонтанна продукція цитокінів характеризує поточний стан, а індукована – ресурс цитокинової мережі. Було виявлено виснаження функціональних резервів мононуклеарів у дітей 1 групи - індукована продукція цитокінів поступалася аналогічному показнику здорових дітей: $TNF\alpha$ - в 1,8 разів, $IFN\alpha$ - у 2,6 разів, $IL-4$ - у 1,4 разів, $IL-10$ - у 1,7 разів (рис. 2). У рівнях спонтанної та

індукованої продукції $IFN\gamma$ та $IL-2$ не було зафіксовано статистично значущих відмінностей у дітей 1 групи порівняно з контрольною. Спонтанна продукція $IL-1\beta$ у дітей 1 групи була дещо вище, ніж у здорових дітей, а індукована продукція $IL-1\beta$ – дещо нижче. Діти 2 групи мали тип реагування на стимуляцію, східний з групою контролю. Статистично значущі відмінності спостерігалися тільки в рівнях спонтанної та індукованої продукції $IL-10$.

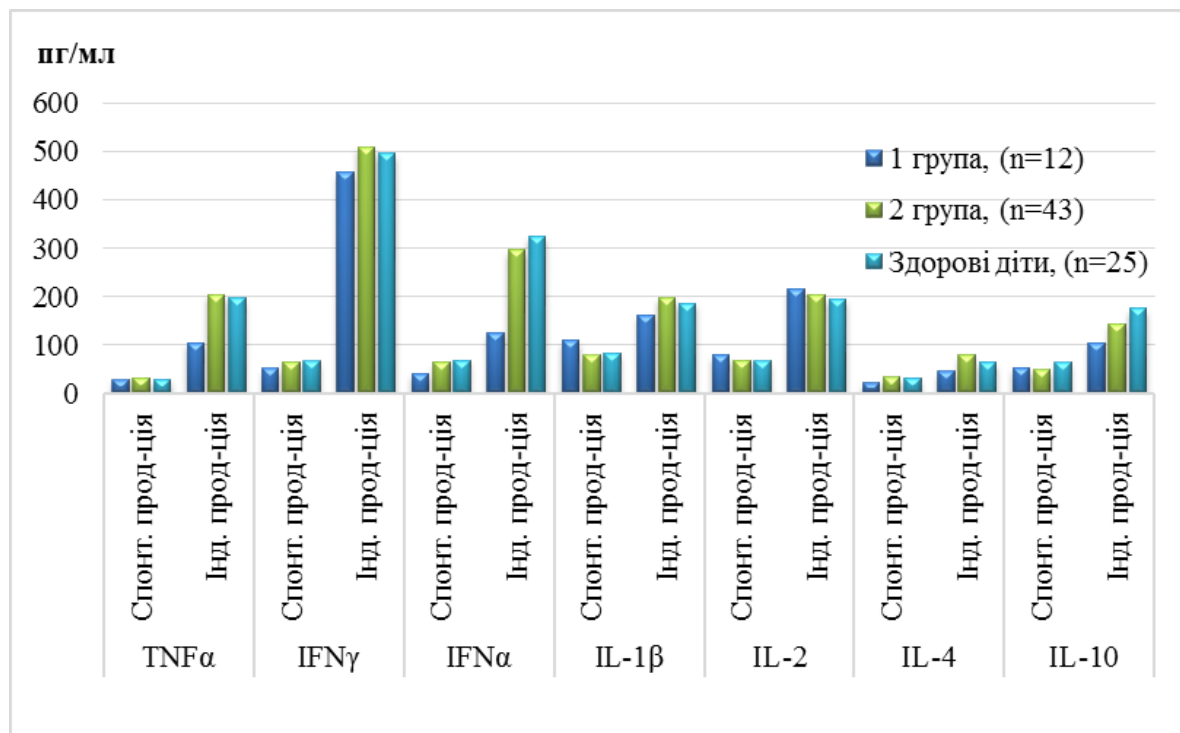


Рис. 2. Рівні спонтанної та індукованої продукції цитокінів мононуклеарами крові у дітей з ХВЕБІ до ревакцинації.

На наступному етапі у динаміці протягом 1 року були вивчені рівні IgG до кору, краснухи, паротиту у дітей з ХВЕБІ після ревакцинації. Встановлено, що через 1 місяць після вакцинації у 98 % здорових дітей спостерігаються специфічні антитіла до кору, у 98 % - до краснухи, у 96 % до паротиту у захисних концентраціях. На відміну від здорових, у жодної дитини з ХВЕБІ 1 групи не спостерігалось утворення високих рівней специфічних антитіл до кору, краснухи, епідемічного паротиту поряд зі значно більшим відсотком дітей, у яких антитіла визначалися у мінімальних захисних концентраціях. Також виявлено, що у дітей з ХВЕБІ 1 групи, порівняно зі здоровими, впродовж року відбувається прогресивне зниження рівнів антитіл - з часом відсоток дітей, що мають мінімальні захисні рівні IgG підвищується, як і частка тих, в яких специфічні IgG до цих інфекцій у захисних концентраціях відсутні (рис.3) .

Імунізація дітей 1 та 2 груп не викликала протягом вивчених часових етапів (1, 6 та 12 місяців) достовірних змін в абсолютному та відносному вмісті у периферичній крові $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ - клітин.

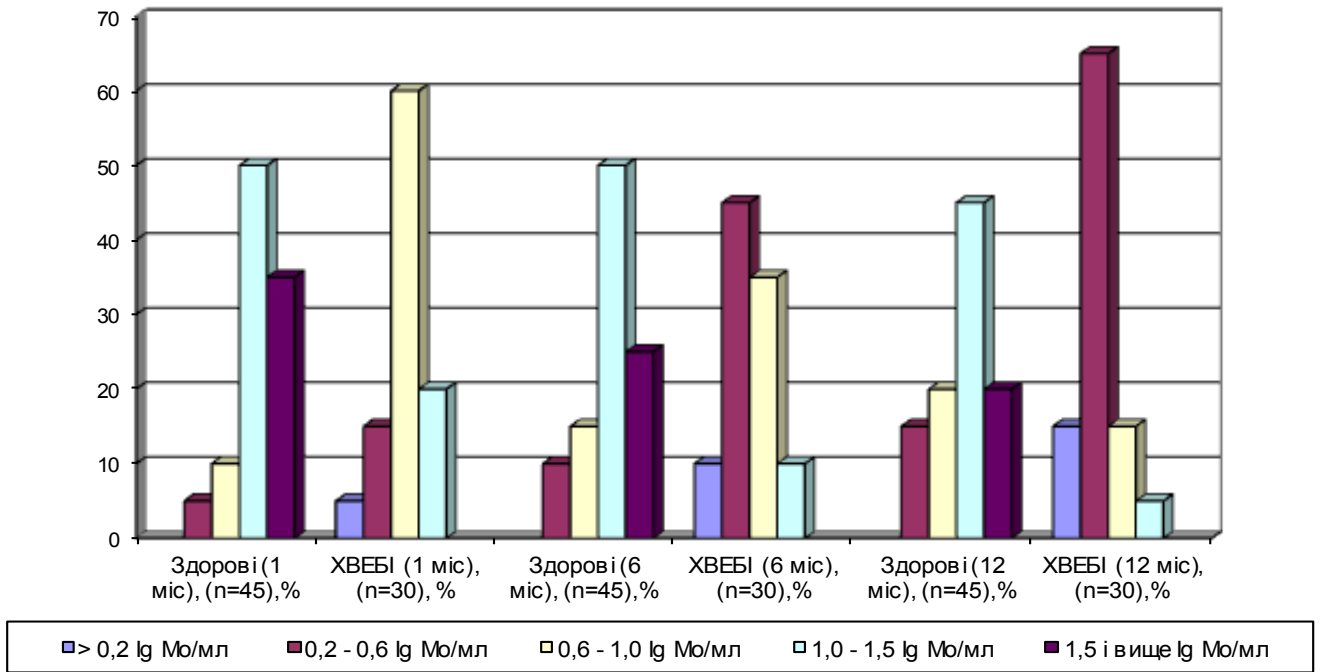


Рис. 3. Динаміка рівнів протикорових АТ у здорових та дітей з ХВЕБІ 1 групи, впродовж 1 року після ревакцинації

Зростання числа $CD25^+CD4^+$ -клітин через 1 місяць після вакцинації у цих пацієнтів, були менш виражені, ніж у здорових дітей. У дітей з ХВЕБІ 2 групи, цей показник підвищувався значніше ($p < 0,05$), ніж у дітей 1 групи. Порівняно з групою здорових дітей, у дітей з ХВЕБІ 1 та 2 груп після вакцинації не спостерігалось збільшення числа цитотоксичних лімфоцитів ($CD8^+ CD137^-$), при тому через 1 місяць у дітей 1 групи зростала концентрація Т-супресорів ($CD8^+ CD137^+$). На 6 місяць показники імунного статусу дітей з ХВЕБІ 1 та 2 груп поверталися до вихідних значень. Аналіз РБТЛ продемонстрував, що у дітей 2 групи проліферативна здатність лімфоцитів суттєво вища, ніж у дітей 1 групи - за рівнем відповіді на ФГА та ІЛ-2 лімфоцити дітей 2 групи були близькі до лімфоцитів здорових дітей. У дітей з ХВЕБІ 1 та 2 груп під впливом імунізації, як і у здорових дітей, протягом 1 місяця спостерігалися незначні коливання у сироватці крові вмісту нормальних IgA, IgM, IgG. На 6 поствакцинальний місяць їх концентрація стабілізувалася на довакцинальному рівні.

При вивченні формування клітин пам'яті у дітей з ХВЕБІ під впливом імунізації було встановлено, що у дітей 1 групи через 1 місяць, за активного перебігу імунних процесів, а також у наступні терміни утворюється менше Т- та В-клітин пам'яті, як центральних, так і ефекторних, ніж у дітей 2 групи та здорових (табл. 3).

Вміст Т- і В-клітин пам'яті у периферичній крові дітей з ХВЕБІ після
ревакцинації КПК

Клітини	Групи	До вакцинації	Термін після вакцинації		
			1 міс.	6 міс.	1 рік
CD22 ⁺ CD27 ⁺ (BM), %	1	15,1 ± 2,2	16,8 ± 2,4	18,0 ± 1,8 ^{***}	15,9 ± 2,3 ^{***}
	2	17,9 ± 2,0	18,0 ± 2,3	22,0 ± 2,2 ^{*,**}	18,3 ± 2,4
	3	18,3 ± 2,1	19,8 ± 2,2	23,5 ± 3,1 [*]	19,2 ± 2,2
CCR7 ⁺ CD45RA ⁻ (TCM), %	1	11,9 ± 1,7	12,0 ± 1,7	14,7 ± 1,7 ^{***}	12,4 ± 1,7
	2	12,1 ± 1,3	12,4 ± 1,4	18,2 ± 1,9 ^{*,**}	13,5 ± 1,4
	3	12,6 ± 1,3	12,8 ± 1,3	19,6 ± 2,3 [*]	14,6 ± 1,4
CCR7 ⁻ CD45RA ⁻ (TEM), %	1	18,5 ± 2,1	19,1 ± 2,1 ^{***}	21,7 ± 2,5 ^{***}	20,3 ± 2,2
	2	20,1 ± 2,1	20,4 ± 2,1	25,1 ± 2,6	20,5 ± 2,2
	3	20,5 ± 2,1	24,5 ± 2,1	29,0 ± 2,8	20,2 ± 2,1
CCR7 ⁻ CD45RA ⁺ , (TEMRA), %	1	7,3 ± 0,8	7,3 ± 0,8 ^{***}	12,7 ± 1,1 ^{***}	7,9 ± 0,8 ^{***}
	2	8,0 ± 0,9	8,1 ± 0,9	15,6 ± 1,1 ^{*,**}	9,2 ± 1,0
	3	9,1 ± 0,6	10,0 ± 0,7	17,2 ± 1,2 [*]	11,8 ± 1,0

Примітки: * - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками до імунізації; ** - $p < 0,05$ між показниками ХВЕБІ 1 і 2 груп; *** - $p < 0,05$ між показниками ХВЕБІ 1 і 2 груп і здорових дітей. 1 група – діти з ХЕБВІ, у яких не вироблялись специфічні антитіла у захисних рівнях (78 осіб); 2 група – діти з ХЕБВІ, у яких специфічні антитіла визначались у захисних рівнях (42 осіб); 3 група – здорові діти (50 осіб).

Рівень цитокинової реакції на вакцинацію проти КПК оцінювали через 1 тиждень. У дітей з ХВЕБІ 2 групи, як і у здорових, вакцинація супроводжувалася підвищенням у крові рівнів прозапальних цитокінів TNF α і IL-1 β (в 2 та в 2,5 рази відповідно) і паралельним зростанням протизапальних цитокінів IL-4 та IL-10 (в 1,5 і 1,7 разів відповідно); зросли рівні IFN α та IFN γ (в 2,7 та в 2,8 рази відповідно). Підвищення під впливом вакцинації в 2 рази рівня IL-2 у цієї групи дітей вказує на активацію механізмів адаптивного Т-клітинного захисту. У здорових дітей концентрація IFN α підвищилася у 2,5 рази, IFN γ - у 2,9 разів та IL-2 – у 2,4 рази. Після щеплення у цитокинової продукції дітей з ХВЕБІ 1 групи спостерігалися такі відмінності від дітей 2 групи, та групи контролю: вміст TNF α взагалі не мав достовірних відмінностей від вихідного рівня (у групах порівняння він зростав більше, ніж удвічі), концентрації інших досліджених цитокінів зростали повільніше, ніж в обох групах порівняння, і хоч і мали мінімальне достовірне відхилення від вихідних довакцинальних показників, значно поступалися інтенсивності їх змін у 2 та 3 групах. Так у дітей 1 групи рівень IL-2 зростав тільки в 1, 2 рази (у 2 рази менш,

ніж у здорових дітей). Характерним було в період активного розвитку імунного процесу повільніше зростання концентрації ІЛ-1 β та також спостерігалася більш слабка, у порівнянні з 2 групою і контролем, продукція ІЛ-21 та ІЛ-15, що є важливим для проліферації та диференціювання Т- та В-лімфоцитів та розвитку імунологічної пам'яті.

Враховуючи дані, отримані нами за вивчення загального імунітету, цитокинової регуляції імунного реагування та формування клітин імунологічної пам'яті у дітей з ХВЕБІ, в яких спостерігалася нездатність до виробки стійкого довготривалого імунітету після щеплення вакциною проти КПК, ми вважаємо доцільним проводити вакцинацію таких дітей на фоні попередньої корекції їх імунного та загального стану, зміненого, під дією ХВЕБІ. За 1 місяць до вакцинації частині досліджуваних дітей з ХВЕБІ (35 дітям) була призначена комплексна противірусна терапія: інозиту пранобекс (Нормомед) - з розрахунку 50 мг/кг 3-4 рази на добу двома курсами по 7 днів з такою ж перервою), рекомбінантний IFN α -2b (Віферон) по 500 000 МО 2 рази на добу з інтервалом у 12 годин протягом 10 днів, екстракт рослин *Deschampsia caespitosa* L., *Calamagrostis epigeios* L. (Протефлазід) по 9 крапель 2 рази на добу протягом 30 днів). Для лікування астено-вегетативного синдрому та збільшення енергетичного потенціалу імунокомпетентних клітин був призначений також цитруліну малат (Стимол) по 1 г 2 рази на добу протягом 30 днів. Було встановлено, що вакцинація дітей з ХВЕБІ на фоні попередньої комплексної терапії (ПКТ) приводить до суттєвого зниження впродовж 1 року числа серонегативних дітей і підвищення в них рівней IgG до концентрацій, притаманних клінічно здоровим (табл.4).

Таблиця 4

Рівень антитіл проти кору у дітей з ХВЕБІ, щеплених на фоні комплексної передвакцинальної терапії (1 група) та без застосування терапії (2 група)

Групи	Час, після вакцинації	Число дітей, %					
		рівні IgG (МО/мл)					
		< 0,20	0,21-0,40	0,41-0,60	0,61-1,00	1,01-1,50	1,51-3,00
1 (n=35)	Через 1 міс	-	8,5%	11,4%	17,1%	37,0 %	25,6%
	Через 1 рік	-	11,4%	22,8%	39,9%	14,3%	11,4%
2 (n=30)	Через 1 міс	6,6%	26,4%	39,6%	16,5%	9,9%	-
	Через 1 рік	9,9%	46,2%	13,2%	27,4%	3,3%	-
Здорові (n=30)	Через 1 міс	-	6,6%	9,9%	23,1%	33,3%	26,4%
	Через 1 рік	-	9,9%	19,8%	33,3%	16,5%	19,8%

Через 1 рік у всіх дітей з ХВЕБІ, вакцинованих на фоні ПКТ (1 група), спостерігався захисний рівень протикорових антитіл, 54,3 % дітей мали достатньо високі рівні IgG - 0,61-1,50 МО/мл, а 16 % - вищі за 1,50 МО/мл; у 11,4 % рівень був мінімальним;. На цей строк у дітей, імунізованих без ПКТ (2 група) у 10 % захисні IgG були відсутні і у 46,2 % вони визначалися у мінімальних захисних рівнях.

З метою оцінки ступеню ефективності корекції зміненого стану загального імунітету дітей з ХВЕБІ, які отримали ПКТ (1 група), було проведене дослідження популяційного складу лімфоцитів крові та їх функціональної активності. (табл. 5).

Таблиця 5

Популяційний та субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові та їх функціональна активність у дітей з ХВЕБІ після комплексної передвакцинальної терапії (1 група) та без застосування терапії (2 група)

Показники	Групи дітей		
	1(n=35)	2 (n=30)	Здорові (n=30)
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	$6,83 \pm 0,52$	$7,10 \pm 0,60$	$6,49 \pm 0,44$
Лімфоцити, % $\times 10^9/\text{л}$	$40,4 \pm 3,12^{**}$	$46,9 \pm 3,13^{*..**}$	$38,3 \pm 1,6$
	$2,7 \pm 0,20$	$3,2 \pm 0,23^{*..**}$	$2,5 \pm 0,24$
CD3 ⁺ -клітини, %	$60,0 \pm 2,4$	$58,1 \pm 2,8$	$64,5 \pm 2,2$
CD4 ⁺ -клітини, %	$36,9 \pm 1,9^{**}$	$30,1 \pm 2,6^{*..**}$	$38,6 \pm 1,9$
CD8 ⁺ -клітини, %	$29,1 \pm 1,0^{**}$	$35,8 \pm 1,3^{*..**}$	$28,4 \pm 1,2$
CD20 ⁺ -клітини, %	$17,5 \pm 0,7^{**}$	$21,9 \pm 0,8^{*..**}$	$16,8 \pm 0,8$
CD25 ⁺ CD4 ⁺ -клітини, %	$6,1 \pm 1,1^{**}$	$3,9 \pm 1,6^{*..**}$	$6,7 \pm 0,5$
CD16 ⁺ CD56 ⁺ -клітини, %	$11,4 \pm 1,1$	$11,7 \pm 0,8$	$11,5 \pm 1,2$
CD8 ⁺ CD11b ⁻ , % (Т-цит. кл.)	$18,2 \pm 0,3^{**}$	$14,1 \pm 0,3^{*..**}$	$18,6 \pm 0,4$
CD8 ⁺ CD11b ⁺ , % (Т-супр.)	$10,0 \pm 0,4^{**}$	$17,9 \pm 0,4^{*..**}$	$9,4 \pm 0,4$
Th1 (ИФγ ⁺), %	$11,1 \pm 1,2^{**}$	$8,7 \pm 0,9^{*..**}$	$11,3 \pm 0,9$
Th2 (ИЛ-4 ⁺), %	$11,7 \pm 1,4$	$12,9 \pm 1,17$	$12,1 \pm 1,4$
Th1/Th2	$0,90 \pm 0,08^{**}$	$0,67 \pm 0,07^{*..**}$	$0,91 \pm 0,09$
РБТЛ спонтанна, %	$6,5 \pm 0,5^{**}$	$4,7 \pm 0,9^{*..**}$	$7,4 \pm 0,6$
РБТЛ ФГА – індукована, %	$62,1 \pm 4,5^{**}$	$48,3 \pm 4,6^{*..**}$	$65,8 \pm 4,3$
РБТЛ ИЛ-2- індукована, %	$30,2 \pm 1,9^{**}$	$24,2 \pm 2,3^{*..**}$	$32,3 \pm 2,0$

Примітки: * - $p < 0,05$ у порівнянні з показниками здорових дітей; ** - $p < 0,05$ між показниками дітей з ХВЕБІ 1 і 2 груп.

У дітей, хворих на ХВЕБІ, після проведеної до вакцинації ПКТ, відбувалася позитивна динаміка у популяційному складі лімфоцитів з нормалізацією окремих показників. Проведена терапія сприяла зниженню частки загальних лімфоцитів, CD8⁺-, CD20⁺-, Т-супресорів (CD8⁺ CD137⁺), разом з нормалізацією відносної кількості CD4⁺-, CD8⁺ CD137⁻, Th1 (ИФγ⁺)-клітин, а також збільшенням активованих лімфоцитів - CD25⁺CD4⁺. Окрім того, застосування ПКТ дозволило суттєво покращити функціональну здатність лімфоцитів з усіх параметрів бласттрансформуючої активності, фактично досягнувши її повної нормалізації.

Таким чином, проведений аналіз визначив, що у дітей, щеплених на фоні ПКТ, яка включає препарати, що мають високу противірусну активність (інозин пранобекс, рекомбінантний IFNα-2b, екстракт рослин *Deschampsia caespitosa* L., *Calamagrostis epigeios* L.) та цитруліну малат, (збільшує метаболічний та енергетичний потенціал клітин), відбувається підвищення рівня специфічних антитіл та подовження терміну їх перебування у сироватці крові. Це пов'язане з нормалізацією популяційної та субпопуляційної кількості та функціональної здатності лімфоцитів, збільшенням активованих лімфоцитів CD25⁺CD4⁺, підвищенням функціональної, поглинальної та біоцидної активності фагоцитів, що, як наслідок, приводить до більшого накопичення Т- і В-клітин пам'яті.

ВИСНОВКИ

У роботі обґрунтовані підходи до вирішення актуального наукового завдання – підвищення ефективності вакцинопрофілактики проти кору, краснухи та епідемічного паротиту дітей з ХВЕБІ шляхом застосування комплексної передвакцинальної терапії для отримання повноцінного специфічного імунітету. На підставі дослідження взаємозв'язку основних показників загального імунітету з захисним рівнем специфічних антитіл виявлено фактори, відповідальні за вади формування напруженого довготривалого імунітету у дітей з ХВЕБІ після ревакцинації КПК; запропоновано і доведено ефективність комплексної передвакцинальної терапії - противірусної, імуномодулюючої, дезінтоксикаційної та енерготропної дії, призначеної для корекції імунних порушень і відтворення повноцінної імунної відповіді на щеплення проти кору, краснухи та епідемічного паротиту у дітей з ХВЕБІ.

1. Значний відсоток раніше вакцинованих дітей з ХВЕБІ на час ревакцинації проти кору, краснухи, епідемічного паротиту не мають у сироватці крові антитіл до цих інфекцій у захисних рівнях: 46 % – до кору; 52 % – до краснухи; 58 % – до епідемічного паротиту. Переважна більшість дітей, у сироватці яких присутні антитіла у захисних рівнях, містять їх у мінімальних значеннях.

2. Низький рівень стану специфічного імунітету у дітей з ХВЕБІ перебуває у прямому зв'язку з показниками загального імунітету: зниженням кількості $CD4^+$ -клітин, активованих $CD25^+CD4^+$ -лімфоцитів, Т-цитотоксичних ($CD8^+CD137^-$)- та $Th1(ИФ\gamma^+)$ -лімфоцитів ($p<0,05$); підвищенням Т-супресорів ($CD8^+ CD137^+$) ($p<0,05$); зменшенням проліферативної активності лімфоцитів ($p<0,05$); низькою поглинальною, біоцидною та метаболічною активністю лейкоцитів крові ($p<0,05$); зростанням вмісту прозапальних цитокінів $IL-1\beta$, $IL-2$, $TNF\alpha$ у сироватці крові та недостатністю продукції $IL-4$, який необхідний для розвитку специфічної гуморальної відповіді ($p<0,05$); слабким потенціалом мононуклеарів крові до продукції $IFN\alpha$, $TNF\alpha$, $IL-4$, $IL-10$. Поєднання зазначених факторів суттєво гальмує розвиток повноцінної імунної відповіді на вакцинацію та формування стійкого довгострокового імунітету.

3. Суттєві відмінності процесу формування стійкого специфічного імунітету у дітей з ХВЕБІ пов'язані з дисбалансом у цитокіновій мережі, порушенням механізмів цитокінової регуляції імунних процесів, недостатньою продукцією $IL-15$ та $IL-21$, неефективним функціонуванням фагоцитарної ланки імунітету (низькою поглинальною та травною здатністю фагоцитів), яка не забезпечує повноцінне презентування антигенів для імунної відповіді, недостатністю продукції як центральних ($CD22^+ CD27^+$, $CCR7^+ CD45RA^-$), так і ефektorних ($CCR7^- CD45RA^-$, $CCR7^- CD45RA^+$) клітин пам'яті.

4. Окреслені прогностичні показники формування недостатнього, нетривалого вакцинального імунітету у дітей з ХВЕБІ за щеплення вакциною КПК: зниження $CD4^+$ -клітин, $Th1(ИФ\gamma^+)$ -, $CD25^+CD4^+$ -, $CD8^+ CD137^-$ лімфоцитів, підвищення $CD8^+ CD137^+$ лімфоцитів, низька проліферативна активність лімфоцитів, низька поглинальна, біоцидна та метаболічна активність фагоцитів, підвищений вміст прозапальних цитокінів $IL-1\beta$, $IL-2$, $TNF\alpha$ поряд зі зниженням концентрації $IFN\alpha$, $IL-4$, $IL-15$ та $IL-21$, зниження спонтанної та індукованої продукції $IL-4$ та індукованої продукції $TNF\alpha$, $IFN\alpha$, $IL-10$.

5. Вакцинація дітей з ХВЕБІ на тлі прийому комплексної передвакцинальної терапії приводить до підвищення рівня продукції специфічних антитіл до значень здорових осіб того ж віку, подовжує термін їх перебування у сироватці крові ($p<0,05$). Щеплення дітей з ХВЕБІ на фоні комплексної передвакцинальної терапії, у порівнянні з дітьми з ХВЕБІ, які не отримували передвакцинальної лікарської підготовки, супроводжується нормалізацією популяційної та субпопуляційної кількості лімфоцитів, збільшенням активованих лімфоцитів $CD25^+CD4^+$, зменшенням Т-супресорів - $CD8^+ CD137^+$, інтенсифікацією проліферативної активності лімфоцитів ($p<0,05$), достовірним посиленням поглинальної та біоцидної здатності лейкоцитів ($p<0,05$); нормалізує співвідношення у цитокіновій мережі, стимулює синтез

IFN α , IL-4, підвищення продукції IL-15 та IL-21 ($p < 0,05$) та накопичення ТСМ-та ВМ-клітин імунологічної пам'яті ($p < 0,05$).

ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Features of the formation of vaccinal immunity after routine vaccination of children with chronic herpesvirus infection / Volyansky A. Yu., Peremot S. D., Kashpur N. V., Kuchma M. V. Development and modernization of medical science and practice : experience of Poland and prospects of Ukraine : [collective monograph]. Lublin, 2017. P.192–209. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*
2. Імунопрофілактика – надійний засіб в комплексі протиепідемічних заходів / Волянський А. Ю., Романова О. А., Кучма М. В., Моїсеєнко Т. М., Конарева К. С., Попов М. М. Харків: НТМТ, 2011. 68 с. *(Дисертантом зібрано та проаналізовано літературні джерела, підготовлено матеріал до друку).*
3. Влияние герпесвирусной инфекции на иммунную систему и иммунный ответ организма на вакцинацию [электронный ресурс] / Волянский А. Ю., Кучма М. В., Колотова Т. Ю., Клыса Т. Л., Кучма И. Ю., Конорева Е. С., Смелянская М. В., Перемот С. Д., Кашпур М. В., Давыденко М. Б. *Анали Мечниковського інституту*. 2016. № 3. С. 31–40. URL: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv *(Дисертантом зібрано та проаналізовано літературні джерела, підготовлено матеріал до друку).*
4. Состояние популяционного противокоревого иммунитета на фоне эпидемического подъёма заболеваемости корью в Украине в 2017 – 2018 гг. / Смелянская М. В., Юдин И. П., Кучма М. В., Голубовская О. А., Подолук О. А. *Клиническая инфектология и паразитология*. Минск, 2018. № 2. С. 166–171. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*
5. Кучма М. В. Цитокиновий статус дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією до та після вакцинації від кору. *Проблеми безперервної медичної освіти та науки*. 2018. №4. С. 83–86.
6. The level of specific immunity against measles in preschool children in Kharkiv in 2018 / Smilyanska M. V, Volyansky A. Yu., Kashpur N. V., Klisa A. O., Kuchma M. V. The development of medical sciences: problems and solutions. Brno, 2018. С.161–165. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*

7. Спосіб прогнозування можливості прояву побічних реакцій на вакцинацію у дітей : пат. № 132004 Україна. u 2018 08521 / Смілянська М. В., Кашпур Н. В., Перемот С. Д., Волянський А. Ю., Кучма М. В. ; заявл. 06.08.2018 ; опубл. 11.02.2019. Бюл. № 3. 5 с. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку)*.
8. Волянський А. Ю., Перемот С. Д., Кучма М. В. Характер змін в цитокіновому статусі дітей з хронічною герпетичною інфекцією у поствакцинальному періоді. Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках : матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Київ, 2016. С. 47–51. *(Дисертантом проведено дослідження рівнів цитокінів, статистичний аналіз, сформульовано висновки)*.
9. Динаміка накопичення Т і В-клітин пам'яті у дітей з хронічною герпесвірусною інфекцією після імунізації АДП та КПК вакцинами / Волянський А. Ю., Смілянська М. В., Перемот С. Д., Кашпур Н. В., Кучма М. В. Медична наука та практика: актуальні питання взаємодії : матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Київ, 2017. С. 53–57. *(Дисертантом проведено дослідження накопичення клітин пам'яті, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку)*.
10. Вміст цитокінів профілю Th1 (IFN γ та IL-2) та цитокінів профілю Th2 (IL-4 та IL-10) у дітей з хронічною герпесвірусною інфекцією у дітей з хронічною герпесвірусною інфекцією у поствакцинальному періоді / Волянський А. Ю., Перемот С. Д., Смілянська М. В., Кашпур Н. В., Кучма М. В.. Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями : матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Харків, 2017. С. 94–95. *(Дисертантом проведено дослідження рівнів цитокінів, статистичний аналіз, сформульовано висновки)*.
11. Підходи до лікування дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією для посилення ефективності імунної відповіді на вакцинацію проти кору / Волянський А. Ю., Смілянська М. В., Перемот С. Д., Кучма М. В., Кашпур Н. В. Актуальні питання виявлення та лікування алергічних захворювань : матеріали науково-практичної конференції алергологів Слобожанщини. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. Київ, 2019. № 2. С. 70. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку)*.
12. Специфічний імунітет проти епідемічного паротиту у дітей дошкільного віку м. Харкова у 2018 році / Смілянська М. В., Волянський А. Ю., Перемот С. Д., Кашпур Н. В., Кліса А. О., Кучма М. В. Сучасні наукові

дослідження представників медичної науки – прогрес медицини майбутнього : матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 6-7 квітня 2018 р. Київ, 2018. С.103–106. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*

13. Стан специфічного імунітету до краснухи у дітей дошкільного віку м. Харкова / Смілянська М. В., Перемот С. Д., Волянський А. Ю., Кашпур Н. В., Кліса А. О., Кучма М. В. Сучасний вимір медичної науки та практики : матеріали міжнародної науково-практичної конференції. Дніпро, 2018. С. 96–101. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*
14. Волянський А. Ю., Кучма М. В., Конорева К. С. Визначення напруженості вакцинального імунітету при плановій вакцинації дітей з хронічною формою герпетичної інфекції. Мечниківські читання – 2016. Актуальні проблеми парентеральних інфекцій : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 12-13 травня 2016 р. Харків, 2016. С. 37–38. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*
15. Кучма М. В. Корекція астенічного стану та противірусне лікування дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією перед щепленням проти кору, краснухи та епідемічного паротиту з метою посилення специфічної імунної відповіді. Перший національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів (за участю міжнародних спеціалістів). *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2019. № 1 (Додаток). С.54–55.

АНОТАЦІЯ

Кучма М.В. Особливості вакцинального імунітету і способи підвищення ефективності противірусних щеплень у дітей з хронічною ВЕБ-інфекцією. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія. – ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», Харків, 2019.

Наукові положення дисертації містять результати дослідження особливостей загального імунітету та його взаємозв'язку з формуванням специфічного вакцинального імунітету у 6-7 річних дітей з хронічною ВЕБ – інфекцією (ХВЕБІ) за ревакцинації проти кору, паротиту та краснухи (КПК).

Вперше доведено, що низький рівень специфічного імунітету проти КПК у дітей з ХВЕБІ пов'язан з зменшенням CD25⁺CD4⁺-, CD8⁺CD11b⁻- та Th1

(IFN γ^+)-клітин, збільшенням CD8⁺CD11b⁻ зростанні вмісту прозапальних цитокінів (ФНПа, ІЛ-1 β , ІЛ-2), зниженні рівня ІЛ-4, ІФНа, ІЛ-15 і ІЛ-21; зниження спонтанної та індукованої продукції ІЛ-4.

Виявлено, що у дітей з ХВЕБІ формування недостатнього специфічного імунітету супроводжується підвищенням Т-супресорів (CD8⁺CD11b⁺) поряд зі зменшенням Т та В-лімфоцитів пам'яті (CCR⁺CD45RA⁻), (CCR⁻CD45RA⁻, CCR⁻CD45RA⁺), (CD22⁺CD27⁻).

Доведено ефективність для корекції імунних порушень у дітей з ХВЕБІ перед ревакцинацією застосування комбінації інозину пранобексу (Нормомед), ІФНа-2b (Віферон), екстрактів *Deschampsia caespitosa* L. та *Calamagrostis epigeios* L. (Протефлазид), цитруліну малату (Стимол). Проведення терапії чинить виражений нормалізуючий ефект на змінені імунологічні показники дітей з ХВЕБІ і після ревакцинації КПК сприяє інтенсивній продукції специфічних антитіл і тривалому зберіганню їх захисного рівня.

Ключові слова: вакцинопрофілактика, напруженість і довготривалість специфічного імунітету, хронічна ВЕБ-інфекція, кір, краснуха, епідемічний паротит.

АННОТАЦІЯ

Кучма М.В. Особенности вакцинального иммунитета и способы повышения эффективности противовирусных прививок у детей хронической ВЭБ-инфекцией. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.08 - иммунология и аллергология. – ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины», Харьков, 2019.

Научные положения диссертации содержат результаты исследования особенностей общего иммунитета и его взаимосвязи с формированием специфического вакцинального иммунитета у 6-7 летних детей с хронической ВЭБ - инфекцией (ХВЭБИ) после ревакцинации против кори, паротита и краснухи (КПК).

Впервые доказано, что низкий уровень специфического иммунитета против КПК у детей с ХВЭБИ связан с уменьшением CD25⁺CD4⁺-, CD8⁺CD11b⁻- и Th1 (IFN γ^+)- клеток, увеличением CD8⁺CD11b⁻ клеток, повышением уровней провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-2), снижением уровня ИЛ-4, ІФНа, ІЛ-15 и ІЛ-21; снижением спонтанной и индуцированной продукции ІЛ-4.

Виявлено, що у дітей з ХВЭБИ формування низкого специфічного імунітету супроводжується підвищенням Т-супресорів (CD8⁺CD11b⁺) наряду

с уменьшением Т и В-лимфоцитов памяти (CCR + CD45RA-), (CCR-CD45RA-, CCR-CD45RA +), (CD22 + CD27-).

Доказана эффективность для коррекции иммунных нарушений у детей с ХВЕБИ перед ревакцинацией применения комбинации инозина пранобекса (Нормомед), ИФН α -2b (Виферон), экстрактов *Deschampsia caespitosa* L. и *Calamagrostis epigeios* L. (Протефлазид), цитруллина малата (Стимол). Проведение терапии оказывает нормализующий эффект на измененные иммунологические показатели детей с ХВЭБИ и после ревакцинации КПК способствует интенсивной продукции специфических антител и длительному сохранению их защитного уровня.

Ключевые слова: вакцинопрофилактика, напряженность и продолжительность специфического иммунитета, хроническая ВЭБ-инфекция, корь, краснуха, эпидемический паротит.

SUMMARY

Kuchma M.V. Features of vaccine immunity and ways to increase the effectiveness of antiviral vaccinations in children with chronic VEB infection. – Manuscript.

The thesis for the scientific degree of Candidate of medical science in the specialty 14.03.08 - immunology and allergology. – State Institution «I.Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, 2019

The main scientific provisions of the dissertation include the results of the study of the features of general immunity and its relationship with the formation of specific vaccine immunity in children with chronic EBV infection (CEBVI) after immunization according to the national calendar of vaccination.

The 46% of the children with CEBVI in the period of revaccination did not have a protective titre of antibodies against measles, 52% - against rubella, 58% - against parotit, and those who have protective antibodies titer, they were present at minimum concentrations. It has been shown that the low level of specific immunity in children with CEBVI is directly related to a number of indicators of general immunity: imbalance of the subpopulation composition of lymphocytes, in particular the reduction of the share of general CD4⁺, activated CD25⁺CD4⁺, T-cytotoxic CD8⁺CD11b⁻ and Th1 (IFN γ ⁺)-lymphocytes in combination with low proliferative activity of T-lymphocytes, decrease in absorption and biocidal capacity of neutrophils of blood, imbalance of cytokine regulation, which consists in increasing the content of proinflammatory cytokines (TNF α , IL-1 β , IL-2) along with disbalance of anti-inflammatory factors, which manifests itself in lowering the level of IL-4 against the background of elevated - IL-10, a decrease in levels of IFN α and IFN γ . It has been determined that the special significance due to the inability to form protective levels

of specific blood pressure to vaccine antigens is to reduce the concentration of IL-15 and IL-21 in children with CEBVI in the prevaccination period, as cytokines that determine the ability to develop and maintain a stable specific immunity in response to virus vaccine.

Revealed that children with CEBVI who did not have a protective titre of specific AT before revaccination formation of unstable specific immunity was associated with an increase in T-suppressors ($CD8^+ CDIIb^+$) along with a decrease in the proportion of T-cytotoxic lymphocytes ($CD8^+ CDIIb^-$), central ($CCR^+ CD45RA^-$) and effector ($CCR^- CD45RA^-$, $CCR^- CD45RA^+$) T-lymphocytes, as well as B-lymphocytes of memory ($CD22^+ CD27^-$).

The effectiveness of the use of complex prevaccination therapy with drugs that produce immunomodulatory effect on cellular and phagocytic immunity together with direct antiviral, in particular, anti-herpetic action, in the correction of immune disorders in children with chronic EBV infection is proved. Conducting therapy with Normomed, drugs containing inosin pranobeks, viferon - containing human recombinant $IFN\alpha-2b$, Proteflazid - the extract *Deschampsia caespitosa L.* and *Calamagrostis epigeios L.*, Stymol - containing citrulline malate, has a pronounced normalizing effect on altered immunological parameters of children with CEBVI, and after immunization promotes the rapid, intensive production of specific antibodies and the long-term preservation of their protective titre.

Key words: vaccine prophylaxis, tension and long-term specific immunity, chronic VEB infection, measles, rubella, epidemic parotitis, vaccine prophylaxis, tension and long-term specific immunity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АТ – антитіла

ВЕБ – вірус Епштейна-Барр

ІФА – імуноферментний аналіз

ПЛР - полімеразна ланцюгова реакція

ПКТ – протівірусна комплексна терапія

ХВЕБІ – хронічна вірус Епштейна-Барр інфекція

РБТЛ – реакція бласттрансформації лімфоцитів

ВМ – B-lymphocytes of memory

CD - клітина, що містить молекулу CD (Cluster Disignation)

ІFN - interferon

ІL – interleukine

ТСМ - T- central lymphocytes of memory

ТЕМ - T- efektor lymphocytes of memory

Th – T helper

TNF α - tumornecrosis factor α

TLR – Toll-like receptors