

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

Лядова Тетяна Іванівна

УДК 616.98:578.825]-092-097-085.37-078:575.174.015.3

**ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНО-ГЕНЕТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ У
ПАТОГЕНЕЗІ, КЛІНІЧНИХ ПРОЯВАХ ТА НАСЛІДКАХ ВЕБ-ІНФЕКЦІЇ
ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ**

14.03.08 – імунологія та алергологія



АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі загальної та клінічної імунології та алергології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна МОН України.

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор **Попов Микола Миколайович**, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», директор

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Кузнецова Лариса Володимирівна**, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, професор кафедри клінічної, лабораторної імунології та алергології;

доктор медичних наук, професор **Курченко Андрій Ігорович**, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, завідувач кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики;

доктор медичних наук, професор **Ходак Лариса Анатоліївна**, Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, завідувач кафедри дитячих інфекційних хвороб.

Захист відбудеться « 15 » травня 2018 р. о 13.00 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 « 13 » квітня 2018 р.

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



Бруснік С. В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Актуальність вивчення Епштейна-Барр вірусної інфекції в патології людини має величезне значення. Це обумовлено значною епідеміологічною роллю і соціальною значимістю. Так, згідно з епідеміологічними даними, при досягненні повноліття більше 90% людей є інфікованими вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ) (Маврутенков В.В., 2009; Крамарев С.О. та ін., 2013; Шарипова Е.В. и др., 2013; Balfour NN Jr., 2015). Неухильне зростання числа групи захворювань, спричинених цим вірусом, як серед дорослих, так і дітей, обумовлює необхідність всебічного його вивчення і розробки ефективних методів профілактики і лікування (Васильєва Н.А. та ін., 2014; Козько В.М. та ін., 2014).

Слід зазначити, що протягом тривалого часу ВЕБ-інфекцію асоціювали виключно з інфекційним мононуклеозом (ІМ) у дітей, але в останні роки він все частіше діагностується серед дорослого населення (Казмірчук В.Є. та ін., 2011; Cohen J.H. et al., 2011; Терьошин В.О. та ін., 2014). Поліморфізм клінічних проявів ВЕБ-інфекції характеризується широким різноманіттям – це інапарантні, маніфестні форми, хронічні персистуючі форми (Возианова Ж.І. та ін. 2005; Thorley-Lawson et al., 2013). У клінічній практиці зустрічаються форми ІМ при яких крім класичної тріади, можливі й інші клінічні прояви, пов'язані з ураженням серця: міо-, ендо- або перикардити; центральної та периферичної нервової системи: менінгіти, менінгоенцефаліти, моно- або полірадикулоневрити; нирок: нефрити; залозистих органів: панкреатити або орхіти та ін. (Дубинська Г.М. та ін., 2012; Balfour NN Jr. 2013; Ходак Л.А. та ін., 2015). В даний час ВЕБ пов'язують з лихоманкою неясного генезу, низкою лімфопроліферативних, онкологічних, демієлінізуючих, аутоімунних, неврологічних та інших захворювань (Разгуляева А.В. и др., 2012; Montes-Moreno S. et al., 2012; Parvaneh N. et al., 2013; Руденко А.О. та ін., 2015). ВЕБ вважається одним з найбільш поширених збудників опортуністичних інфекцій (Долгих М.С. 2011; Семенова Т.В. и др., 2015; Аистова А.Г. 2015). Таке різноманіття клінічних форм ВЕБ-інфекції стає зрозумілим якщо врахувати, що ВЕБ-інфекція є інфекційною хворобою з хронічною персистенцією вірусу.

Особливостями патогенезу ВЕБ-інфекції є те, що найбільший тропізм даний вірус проявляє по відношенню до імунокомпетентних клітин, а саме, до лімфоцитів з фенотипом CD21⁺, моноцитів, макрофагів, нейтрофілів і епітеліоцитів носоглотки, що визначає характер клінічних уражень, тому, по суті, цей процес є інфекцією імунної системи (Gibson J. et al., 2010; Друцкая М.С. и др., 2011). Активна проліферація вірусу у всіх лімфоїдних органах призводить до структурних змін, які зачіпають усі ланки імунної системи, порушення яких мають комбінований характер що є причиною тривалого перебігу захворювання і довічної персистенції вірусу та небажаних наслідків хвороби (Красницкая А.С. и др., 2012; Кіш П.П. та ін., 2013).

Відкритим є питання щодо можливості розгляду персистенції ВЕБ в організмі людини як форми своєрідного симбіозу, чи, навпаки, вона асоційована з імунодефіцитними станами, механізми яких вивчаються по теперішній час (Горейко Т. В., 2011). В останні роки збільшується кількість

публікацій, які свідчать про провідну роль імунних механізмів в патогенезі ВЕБ-інфекції, активну участь цитокінів (ЦК) при формуванні регуляторних захисних реакцій, однак фактори, що призводять до тривалої персистенції ВЕБ, частих рецидивів і прогресування захворювання вивчені ще недостатньо. (Кетлинский С.А. и др., 2008; Свинцова Т.А. и др., 2013).

Прогнозування результатів ВЕБ-інфекції залежить від наявності та ступеня виразності імунної дисфункції, генетичної схильності до тих чи інших ВЕБ-асоційованих захворювань, а також від ряду зовнішніх чинників (стреси, інфекції, операційні втручання, несприятливий вплив навколишнього середовища), які впливають на імунну систему (Дубинська Г.М. та ін., 2012; Thorley-Lawson D.A. et al., 2013). У ряді досліджень вивчається роль поліморфізму окремих генів у розвитку і перебігу запального процесу та його асоціація з характером імунної відповіді та наслідками хвороби (Kawai T. et al., 2010; Torres S. et al., 2013). Слід зазначити, що роль TLR9 в патогенезі, клінічних проявах та наслідках ВЕБ-інфекції практично не вивчалася (Carvalho A. et al., 2011; Paradowska E. et al., 2016).

Актуальність проведення зазначених досліджень також визначається необхідністю пошуку ефективних схем терапії, спрямованих на реабілітацію імунної системи, сприянню регресії порушень та профілактику рецидивів при різних формах ВЕБ-інфекції, тому вивчення особливостей імунних порушень, типів реагування, продукції основних ЦК, ролі TLR у інфекційному процесі, що зумовлений ВЕБ-інфекцією, має безсумнівний інтерес для науки та клінічної практики та обґрунтовує актуальність теми дисертації.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна: «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликаний герпесвірусами» (№ держреєстрації 0112U005911). Дисертантом проведено дослідження та вивчення ролі низки показників імунної системи, вмісту цитокінів, аутоімунних маркерів у хворих з різними формами ВЕБ-інфекції, проведено оцінку ефективності імуноотропних препаратів.

Мета і завдання дослідження. *Мета* – підвищення ефективності лікування, прогнозування перебігу та попередження наслідків ВЕБ-інфекції на підставі вивчення молекулярно-генетичних механізмів та імунних розладів.

Завдання дослідження:

1. Провести генотипування вірусу Епштейна-Барр, визначити частоту циркулюючих генотипів у хворих з різними формами захворювання.

2. Дослідити характер порушень в імунній системі у хворих на ВЕБ-інфекцію.

3. Визначити особливості цитокінового статусу залежно від форми захворювання.

4. Встановити особливості продукції про- та протизапальних цитокінів у хворих залежно від перебігу захворювання.

5. Оцінити наявність аутоімунних маркерів у хворих на ВЕБ-інфекцію, з'ясувати умови та строки появи специфічних антитіл та виявити їх роль у перебігу інфекційного процесу.

6. Проаналізувати поширеність поліморфізму -1486 Т/С, rs187084 гену TLR-9 у хворих на ВЕБ-інфекцію та встановити його зв'язок з перебігом хвороби.

7. Встановити кореляційні залежності між перебігом хвороби та імунними, аутоімунними та біохімічними показниками. Виділити з них найбільш інформативні показники та з'ясувати можливість їхнього використання для контролю за перебігом захворювання.

8. Дослідити клініко-імунологічну ефективність застосування препарату алоферон (алокін-альфа) та рекомбінантного інтерферону $\alpha 2\beta$ (віферону) при корекції імунних порушень у хворих з різними формами ВЕБ-інфекції.

Об'єкт дослідження: інфекційний мононуклеоз, хронічна ВЕБ-інфекція.

Предмет дослідження: комплекс імунологічних, серологічних, вірусологічних та клініко-біохімічних параметрів у динаміці захворювання у хворих на ВЕБ-інфекцію.

Методи дослідження: загальноклінічні (обстеження пацієнтів на гострі та хронічні форми ВЕБ), імунологічні (вивчення фагоцитарної активності нейтрофілів, імунних показників, вмісту цитокінів), біохімічні (визначення активності АлАт, АсАт), імуноферментні (визначення вмісту антитіл до антигенів ВЕБ) та молекулярно-генетичні (визначення ДНК ВЕБ, генотипів ВЕБ, поліморфізму TLR9) дослідження крові хворих на ВЕБ-інфекцію, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Підсумком комплексних імунологічних, серологічних та молекулярно-генетичних досліджень стали нові уявлення про участь та роль імунної системи у патогенезі та наслідках ВЕБ-інфекції.

За результатами генотипування ДНК ВЕБ у Харківському регіоні виявлено переважне поширення генотипу ВЕБ-1 як серед хворих на ІМ, так і при ХВЕБ-інфекції. Встановлено, що клінічний перебіг захворювання, розвиток ускладнень та характер імунних порушень не мали вірогідних відмінностей у хворих з різними генотипами ВЕБ.

Вперше надано комплексну всебічну характеристику імунних порушень, про- та протизапальних ЦК, аутоімунних, генетичних маркерів в патогенезі захворювання та встановлено їх роль як предикторів перебігу та наслідків ВЕБ-інфекції. Визначено імунні показники, типи цитокінового реагування, генетичні маркери, які сприяють переходу ІМ у паст-інфекцію та з якими асоційований розвиток ХВЕБ-інфекції. Досліджено імунний статус хворих на ХВЕБ-інфекцію, визначено характер порушень в клітинній, гуморальній та фагоцитарній ланках імунної системи. Встановлено, що розвиток вторинного імунодефіцитного стану при ХВЕБ пов'язаний переважно з розладами Т-ланки імунітету; пригніченням функціональної активності Т-лімфоцитів; зниженням проліферативної здатності Т-клітин, продукувати та повноцінно відповідати на активуючу дію ІЛ-2; дисбалансом між Th1-, Th2-клітинами; здатністю

формувати високоактивні Т-цитотоксичні лімфоцити; збільшенням серед $CD8^+$ Т-клітин вмісту $CD8^+CD28^-$ -клітин, здатних пригнічувати Т-клітинну імунну відповідь.

Вперше встановлено, що реактивація ВЕБ-інфекції, головним чином, пов'язана із зниженням в периферичній крові ІФН- α та ІФН- γ ; зниженою здатністю імунокомпетентних клітин до їх продукції; з низькою противірусною активністю цитотоксичних Т-лімфоцитів та натуральних кілерів; зі зниженням продукції ІЛ-2 та ІЛ-12 мононуклеарами крові; нездатністю специфічних ІgM та ІgG ефективно нейтралізувати вірус.

Проведене комплексне та порівняльне дослідження вмісту про- та протизапальних ЦК у пацієнтів з різними формами захворювання дозволило доповнити дані щодо характеру та участі складових цитокинової ланки в імуногенезі ВЕБ-інфекції, встановити їх диференційно-діагностичне значення для прогнозування перебігу та наслідків хвороби. Вперше встановлено чотири типи ЦК-реагування на ВЕБ-інфекцію: нормореактивний, дисоціативний, гіпореактивний та гіперреактивний.

Встановлено, що у хворих на ІМ при нормореактивному та гіперреактивному типі виявляється гладкий перебіг хвороби з формуванням паст-інфекції. При дисоціативному типі перебіг ІМ характеризується затяжною реконвалесценцією з тривалим збереженням реплікативної активності ВЕБ та схильністю до хронізації процесу.

Розширено наукові дані щодо ролі аутоімунних процесів при різних формах ВЕБ-інфекції. В періоді реактивації ХВЕБ виявлено достовірне збільшення вмісту аутоантитіл до нативної ДНК, рівнів антифосфоліпідних антитіл та антитіл до мікросом печінки і нирок порівняно з показниками групи контролю ($p < 0,05$) з тенденцією до зменшення рівнів у періоді реконвалесценції та ремісії.

Вперше при ВЕБ-інфекції проведено визначення поліморфізму -1486T/C гену TLR-9, яке дозволило з'ясувати, що присутність у геномі хворих на ІМ генотипу СС є специфічним для хворих на ІМ (СІ:1,16-9,2 і OR=3,26), що дозволяє оцінювати його як позитивну асоціацію, порівняно з отриманими показниками для гомозиготного типу ТТ (СІ:0,12-0,82 і OR=0,31), який оцінюється як негативна асоціація та відсутність асоціації з ІМ для гетерозиготного генотипу ТС (СІ:0,46-2,4 і OR=1,05). При виявленні гомозиготної алелі СС -1486T/C гену TLR-9 вірогідність дисоціативного типу реагування є прогнозованою, що асоційовано із затяжним перебігом хвороби та реконвалесценції та розвитком можливих ускладнень, на відміну від генотипів ТС та ТТ, для яких є типовим гладкий перебіг ІМ. При ХВЕБ дослідження поширеності окремих генотипів виявило домінування генотипу ТС, порівняно з генотипами ТТ та СС. Розподіл частот поліморфізму -1486T/C гену TLR-9 продемонстрував асоціацію для генотипу ТС при ХВЕБ та відсутність таких для генотипів ТТ та СС.

Дослідження характеру кореляційних зв'язків та структур у періоді розпаду ІМ виявило напруженість імунної системи за типом гіперкомпенсації (КЛВ/КЛМ=1,49), а в періоді реконвалесценції – в режимі гіперкомпенсації за

відсутності явищ декомпенсації. При ХВЕБ в періоді реактивації відзначено різко виражену диспропорцію (КЛВ/КЛМ=0,65), що свідчить про перебування імунної системи в кризовому режимі функціонування з явищами виснаження.

Доведено ефективність застосування препарату, який містить алоферон 1 мг (алокін-альфа) та рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2\beta$ (віферон) в комплексній корекції імунних порушень у хворих при хронічних формах ВЕБ-інфекції, що спричиняє достовірний позитивний вплив на динаміку основних клінічних симптомів, показників імунограми та цитокінового профілю.

Практичне значення отриманих результатів. Рекомендовано систему моніторингу перебігу та наслідків ВЕБ-інфекції на підставі дослідження рівнів ЦК з метою визначення характеру та типу реагування. У хворих на ІМ при виявленні достовірних підвищень у 5,2-7,7 рази ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-2, ІЛ-12, ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- α , ІФН- γ , ТФР- $\beta 1$ діагностовано нормореактивний тип, що характеризує гладкий перебіг хвороби без ускладнень. Гіперреактивний тип реагування у хворих на ІМ діагностується на підставі достовірно високих рівнів ЦК порівняно з показниками при нормореактивному типі (перевищення в середньому в 1,5-2 рази) і даними контрольної групи (у 8,2-10,3 разів), ($p < 0,01$). Виявлення вірогідно підвищених рівнів прозапальних ЦК (ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-12 та ІЛ-6) та ІФН- α , ІФН- γ на фоні низьких рівнів ІЛ-2 і протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР- $\beta 1$ дозволяє діагностувати дисоціативний тип, який асоційований із затяжним перебігом та хронізацією (патент на корисну модель №120402).

У хворих на ХВЕБ при виявленні дисоціативного типу реагування визначається низька продукція прозапальних ЦК (ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-6 та ІЛ-12), ІФН- α та ІФН- γ , тоді як рівні протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР- $\beta 1$ виявляються вірогідно підвищеними і перевищують контрольні в середньому в 5,7 та в 6 разів ($p < 0,01$). Гіпореактивний тип характеризується низькими концентраціями про- та протизапальних ЦК, які статистично не відрізняються від контрольних значень ($p > 0,05$), що відзначається затяжним перебігом та частими реактиваціями (патент на корисну модель №121021).

З метою прогнозування ризиків можливих ускладнень при ВЕБ-інфекції рекомендовано спосіб, що полягає у визначенні рівнів специфічних антитіл до фосфоліпідів (IgM і IgG), антитіл до нативної ДНК IgG (ADNA 2) і антитіл IgG до мікросом печінки і нирок (anti-LKM-1) (патент на корисну модель №123507).

На підставі визначення поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 при виявленні гомозиготної алелі СС -1486Т/С у хворих на ІМ визначають високий ризик дисоціативного типу реагування, який асоційовано із затяжним перебігом хвороби та реконвалесценції та розвитком ускладнень. При визначенні генотипів ТС та ТТ можливе прогнозування гладкого перебігу ІМ. У хворих на ХВЕБ при виявленні гомозиготної алелі ТТ -1486Т/С визначають високий ризик гіпореактивного типу імунного реагування, який асоційовано з високою частотою реактивації протягом року.

Для корекції імунних порушень у хворих на ВЕБ-інфекцію науково обґрунтовано та доведено ефективність застосування у складі комплексної терапії препаратів алокін-альфа (алоферон 1 мг) у вигляді підшкірних ін'єкцій через день курсом 6 ін'єкцій та віферон (1 000 000 МО) двічі на день з

інтервалом у 12 годин протягом 10 днів у вигляді супозиторіїв та валацикловір (500 мг) у дозі 1000 мг 3 рази на добу протягом 14 днів.

Основні матеріали й положення дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес і наукову роботу кафедри інфекційних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 13.04.2017), кафедри інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 12.04.2017), кафедри інфекційних хвороб Одеського національного медичного університету (акт впровадження від 22.03.2017), кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією Української медичної стоматологічної академії (акт впровадження від 23.03.2017), кафедри мікробіології, вірусології та імунології імені проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 10.04.2017), кафедри загальної гігієни та епідеміології Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 27.03.2017). Результати наукового пошуку використовуються в науково-практичній діяльності КЗОЗ «Обласна клінічна інфекційна лікарня» (акт впровадження від 15.03.2017); КЗОЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня №1» (акт впровадження від 09.03.2017); КЗОЗ «Харківська клінічна лікарня на залізничному транспорті» №1 (акт впровадження від 06.03.2017); КЗОЗ «Харківська міська поліклініка №25» (акт впровадження від 21.03.2017); КЗОЗ «Харківська міська клінічна лікарня №13» (акт впровадження від 20.03.2017); КЗОЗ «Красноградська центральна районна лікарня» (акт впровадження від 02.03.2017).

Особистий внесок здобувача. Матеріали, представлені у роботі, є особистим внеском здобувача у вирішення проблеми визначення імунологічних порушень, генетичних маркерів та клінічних проявів у хворих на ВЕБ-інфекцію, що дозволило оптимізувати діагностику, розробити схему моніторингу можливих порушень та ускладнень і провести корекцію виявлених розладів. Завдання дослідження запропоновані дисертантом та скореговані науковим консультантом доктором медичних наук, професором М. М. Поповим. Дисертантом самостійно проведено аналіз сучасних наукових літературних даних, інформаційно-патентний пошук за темою дисертації, самостійно проводилися консультації та лікування хворих на базі кафедри, особисто проведено перераховані дослідження, статистичну обробку, узагальнення та інтерпретацію отриманих даних, сформульовано висновки та практичні рекомендації.

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

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень висвітлені та викладені у формі доповідей та тез на: науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми клініки, профілактики ВІЛ-інфекції і захворювань з парентеральним шляхом передачі» (Харків, 2011 р.); науково-практичній конференції «Щорічні терапевтичні читання: лікувально-діагностичні технології сучасної терапії» (Харків, 2013 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2013 р.); the 1-st International conference

«Science and education in Australia, America and Eurasia: Fundamental and applied science» (Australia, Melbourne, 2014 p.); всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів «Фармакотерапія и профілактика інфекційних та паразитарних хвороб» (Тернопіль, 2014 p.); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями», присвяченій 170-й річниці з дня народження І. І. Мечникова (Харків, 2015 p.); ІХ з'їзді інфекціоністів України «Інфекційні хвороби: поступи і проблеми в діагностиці, терапії та профілактиці» (Тернопіль, 2015 p.); всеукраїнській науково-практичній конференції «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти» (Суми, 2016 p.); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Мечниковські читання – 2016. Актуальні проблеми парентеральних інфекцій» (Харків, 2016 p.); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Здобутки та перспективи боротьби з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)» (Харків, 2017 p.); науковій конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження у сучасній науці» (Харків, 2017 p.); науковій конференції «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 2018 p.).

Публікації за темою дисертації. За матеріалами дисертації опубліковано 39 наукових праць (11 одноосібно), у тому числі 2 навчальних посібника, 26 статей (з них 18 - у наукових фахових виданнях України, 8 – у міжнародних виданнях, 16 – включено до наукометричних баз), 3 патенти України на корисну модель; 8 тез доповідей на наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 310 сторінках і включає анотацію, вступ, огляд літератури, об'єкт та методи досліджень, сім розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки і практичні рекомендації. Дисертація ілюстрована 48 таблицями і 54 рисунками. Бібліографічний список містить 402 джерела, в тому числі 185 кирилицею і 217 латиницею і займає 45 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Об'єкт та методи дослідження. Дослідження виконано на клінічній базі кафедри загальної та клінічної імунології та алергології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна – Комунальному закладі охорони здоров'я «Обласна клінічна інфекційна лікарня» (головний лікар – доктор медичних наук, професор П. В. Нартов).

Включення пацієнтів до програми обстеження та лікування проводилося за наступними критеріями: 1) наявність клінічних проявів ВЕБ-інфекції; 2) етіологічне підтвердження захворювання маркерами реплікативної активності ВЕБ (серологічними та молекулярно-генетичними методами дослідження); 3) вік хворих від 18 до 57 років; 4) добровільна згода пацієнта на участь в дослідженні. Під час дослідження дотримувалися положень Гельсінської Декларації Всесвітньої Медичної Асоціації, етичного кодексу лікаря України, інформування хворого про характер дослідження. Під час

виконання роботи дотримувались принципів біоетики та вимог законодавства щодо проведення біомедичних досліджень: Конституції України (1996), Основ законодавства України про охорону здоров'я (1992); Настанови з клінічних досліджень МОЗ України №42-7.0:2005 «Лікарські засоби. Належна клінічна практика» (2005). Відповідно до Міжнародної статистичної класифікації хвороб Десятого перегляду (версія 2007 р.), клінічний діагноз у хворих, що увійшли в дослідження, визначався як В27, верифікація клінічного діагнозу ІМ проводилася відповідно до рекомендацій Ж.І. Возіанової і співавт. (2001).

Для досягнення поставленої мети був обстежений 321 пацієнт з ВЕБ-інфекцією, серед них ІМ встановлено у 43% (n=138), хронічну форму ВЕБ-інфекції (ХВЕБ) – 57% (n=183). Вік обстежених пацієнтів знаходився в діапазоні від 18 до 57 років – середній вік (33,1±11,7) років. Жінки становили 57,6% (n=185), чоловіки – 42,4% (n=136) (співвідношення жінки-чоловіки 1,2 : 1,0). За віком, статтю, супутньою патологією групи були співвідносні.

Групу порівняння складала 20 клінічно здорових молодих людей віком 24,1±3,2 років без ознак гострої або будь-якої хронічної патології, які були обстежені на маркери ВЕБ. В анамнезі життя цих пацієнтів були відсутні дані про перенесений ІМ, а «серологічний профіль» характеризувався наявністю в крові тільки EBNA - IgG і відсутністю ДНК ВЕБ у плазмі крові і слині.

Клінічне обстеження передбачало вивчення скарг, епідеміологічного анамнезу, анамнезу захворювання та життя, об'єктивний огляд пацієнтів, загальноклінічні та інструментальні дослідження в динаміці. Всім хворим проводилося обстеження з акцентом на стан периферійних лімфовузлів, органів грудної та черевної порожнини, показники діяльності серцево-судинної системи, термометрію, ультразвукове обстеження, рентгенографію, бактеріологічне дослідження мазків з носоглотки на патогенну мікрофлору і дифтерію, загальноприйняті та спеціальні біохімічні дослідження: клінічний аналіз крові, сечі, вміст загального білірубіну, прямого білірубіну, непрямого білірубіну; активність АлАТ, АсАТ, ГГТ; протеїнограма.

Матеріалом для дослідження була кров та сироватка (СК) хворих на ВЕБ-інфекцію, які були отримані в періоді розпалу та реактивації захворювання (І період) та в період реконвалесценції та ремісії (ІІ період). Кров для досліджень збирали натще із ліктьової вени у кількості 10 мл у стерильну пробірку типу «Епендорф».

Клінічні, біохімічні, інструментальні дослідження проводилися у відповідних лабораторіях Обласної клінічної інфекційної лікарні; молекулярно-генетичні, вміст ЦК (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-12, ІЛ-4, ІЛ-10, ТФР β 1, ІФН- α , ІФН- γ), рівень специфічних антитіл до фосфоліпідів (IgM і IgG), антитіл до нативної ДНК IgG (ADNA 2) і антитіл IgG до мікросом печінки і нирок (anti-LKM-1) в сироватці крові визначено – у лабораторії «Вірола» (ліцензія МОЗ України № 597055 від 30.01.2012 р.), у лабораторії «Synevo» (ліцензія МОЗ України №599651 від 26.12.2011 р.), серологічні дослідження – у лабораторії «Аналітика» (ліцензія МОЗ України № 554074 від 20.05.2010 р.).

Молекулярно-генетичні дослідження включали визначення реплікативної активності ВЕБ, яку оцінювали на підставі виявлення в СК та слині ДНК ВЕБ

кількісним та якісним методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). СК зберігали при -70°C , допускалося тільки одноразове розмороження СК безпосередньо перед дослідженням.

Для виявлення ДНК ВЕБ методом ПЛР із зворотною транскрипцією з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією продуктів ампліфікації використовували набори реагентів «Амплісенс» (Росія). Виділення ДНК із зразків проводили за допомогою набору для виділення ДНК фірми «Минипреп» (Силекс-М, Російська Федерація (РФ)), використовуючи методику сорбції ДНК на сорбенті по Boom R. та співавт. (1990). Ампліфікацію ДНК проводили з використанням набору «Амплификация ДНК» (Силекс-М, РФ) на ампліфікаторі БІС.

Генотипування ВЕБ проводили за допомогою рестрикційного аналізу. Для верифікації типів ВЕБ (ВЕБ-1 і ВЕБ-2), були використані специфічні праймери. Геномну ДНК виділяли за допомогою «Комплекту для виділення ДНК/РНК з сироватки або плазми крові» (ЛитТех, РФ). Відбір слини для ПЛР проводили в стерильну пробірку в кількості 0,2 мл. Тотальний препарат ДНК з проби слини виділяли методом фенолхлорферментної екстракції з використанням якості носія препарату тРНК і осадженням нуклеїнових кислот у ізопропіловий спирт.

Поліморфну ділянку -1486 Т/С, rs187084 гену TLR9 проводили за допомогою ампліфікації методом ПЛР шляхом визначення довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ)-ПЛР з використанням NcoI рестриктази та олігонуклеотидних праймерів. ДНК праймери до генів-мішеней були синтезовані фірмою «Литех» (РФ).

Специфічні противірусні антитіла (VCA IgM, VCA IgG, EA IgM, EA IgG і EBNA IgG) в сироватці крові визначали методом твердофазного імуоферментного аналізу (тІФА) наборами виробництва «IBL» (Німеччина) і «Вектор-Бест» (РФ) згідно з інструкціями виробника. У частини пацієнтів для диференціальної діагностики проводили серологічні обстеження на ВПГ-1, ВПГ-2, ЦМВ, токсоплазму, віруси гепатитів (А, В і С), ВІЛ-інфекцію. Для цього використовували наступні тест-системи для тІФА: анти-ВГА-IgM, анти-ЦМВ-IgM, анти-Токсо-IgM, HBsAg, анти-HCV-total і анти-ВІЛ-1+2-total, виробництва: «Вектор-Бест» (РФ), «IBL» (Німеччина).

Основні субпопуляції лімфоцитів периферичної крові (CD3^+ ; CD4^+ ; CD8^+ ; CD16^+ ; $\text{CD8}^+\text{CD28}^+$; $\text{CD8}^+\text{CD28}^-$; CD20^+ ; CD25^+) визначали за допомогою проточної лазерної цитометрії на апараті FACS-Calibur (США) з використанням моноклональних антитіл. Для ідентифікації в цитоплазмі Т-лімфоцитів $\text{INF}\gamma^+$ (Th1-клітини), IL-4 (Th2-клітини) використовували моноклональні антитіла $\text{INF}\gamma$ – PC-5, IL-4 – PE, $\text{TFR}\beta$ – FITC (eBioscience, Beckman Coulter, R&D System). Для дослідження вмісту Ig класів А, М, G в крові застосовували метод простої радіальної імунодифузії в гелі. Концентрацію ЦК визначали по Діжону.

Для дослідження ЦК профілю (ФНП- α , IL-1 β , IL-6, IL-2, IL-12, ІФНа, ІФН γ , IL-4, IL-10 та $\text{TFR}\beta$ 1) в СК хворих на ВЕБ-інфекцію використовували метод тІФА з використанням наборів реагентів ЗАТ «Вектор-Бест»

(Новосибірськ, РФ) та DRG Instruments GmbH (США), користуючись інструкцією виробників.

Концентрацію рівнів специфічних антитіл до фосфоліпідів клітинних мембран (IgM і IgG), антитіл до нативної ДНК IgG (ADNA 2) і антитіл IgG до мікросом печінки і нирок (anti-LKM-1) визначали в сироватці крові методом тІФА з використанням комерційних тест-систем ТОВ НПЛ «Гранум» (Харків, Україна) та BioRad (США), EUROIMMUN (Німеччина).

Результати досліджень опрацьовано методом варіаційної та кореляційної статистики з використанням програми «Statistica 10.0 for Windows». Для кожного варіаційного ряду розраховували середню арифметичну (M), середнє квадратичне відхилення (σ), середню помилку середньої арифметичної (m). Також використовувалися методи параметричної й непараметричної статистики. Кількісний і якісний аналіз внутрішньосистемних і міжсистемних кореляційних зв'язків проводився з використанням методу кореляційних структур та послідовного аналізу Вальда. Розрахунки кореляцій виконано за Пірсоном та Кендалом. Оцінка вірогідності різниць середніх величин в групах (p) проводилася за допомогою критерію Стьюдента (t). Відмінності вважалися статистично значущими при $p < 0,05$. Розподіл генотипів визначали, застосовуючи закон Харді-Вайнберга. Перевірку на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга здійснено за допомогою критерію χ^2 . Порівняння частот алелей та генотипів між групами, які досліджувались, проводили шляхом аналізу таблиць спряження та точного тесту Фішера. Для порівняння частот варіантів у незв'язаних групах вираховували відношення шансів (OR) із визначенням 95% довірливого інтервалу (CI). Відносний ризик розвитку захворювання та ускладнення оцінювали за допомогою показника OR.

Результати дослідження та їх обговорення. Типовими клінічними проявами ІМ, які виявлялися у 100% хворих, були підвищення температури тіла, лімфаденопатія. У більшості кількості реєструвалися загальна слабкість (84%), збільшення мигдаликів (82%). Нальоти у ротоглотці виявлялися у 99 (71,7%) пацієнтів, серед яких у вигляді некротичної ангіни – у 4 осіб (4%), лакунарної – у 61 хворого (61,6%) і фолікулярної ангіни – у 34 хворих (34,4%). Об'єктивно у 54,8% хворих відзначався обкладений язик. Головний біль реєструвався у 92 пацієнтів (66,6%), болі в горлі при ковтанні у 95 хворих (69%), збільшення розмірів печінки у 91 (66%) хворого, спленомегалія – у 73 (53%) хворих на ІМ. Пальпаторно відзначалося збільшення розмірів печінки в середньому на $2,04 \pm 0,2$ см. З меншою частотою виявлялися порушення сну у 33 (24%) хворих, нудота – у 25 (18%) та висипка у 14 пацієнтів (10%). Характер висипки у хворих на ІМ мав плямистий та плямисто-папульозний характер.

Таким чином, клінічна симптоматика періоду розпалу ІМ у більшості обстежених хворих характеризувалася явищами інтоксикації, лімфаденопатії, тонзилітом та гепатолієнальним синдромом.

У 85% хворих на ІМ показники клінічного аналізу крові характеризувалися підвищенням загальної кількості лейкоцитів $12,7 \pm 0,8 \times 10^9/\text{л}$. Виражене збільшення вмісту лімфоцитів в періоді розпалу хвороби виявлено у 124 (90%) хворих і лише у 14 (10%) кількість лімфоцитів не перевищувала

норму. Більше ніж у 1/3 хворих відзначався моноцитоз 43 (31,2%), відсотковий вміст моноцитів складав $12,3 \pm 0,8\%$. Патологічні зміни в клінічному аналізі сечі (незначна протеїнурія, лейкоцитурія, циліндрурія) реєструвалися в період розпалу у 42% хворих ІМ (58 пацієнтів). Відзначалося підвищення АлАТ (у 3-4 рази вище за норму та складала в середньому $2,5 \pm 0,2$ ммоль/(г×л) ($p < 0,05$). Ці зміни зникали по мірі поліпшення загального стану хворих і нормалізації біохімічних показників.

У хворих на ХВЕБ найбільш частим клінічним синдромом був астеновегетативний, який проявлявся скаргами хворих на загальну слабкість в 69%, швидкій стомлюваності в 73%, головному болю у 85%, порушеннях сну в 45%, і ураженням дихальних шляхів у вигляді тонзиліту і фарингіту більше 3 разів на рік у 72% випадків. Синдром лімфаденопатії зареєстровано у 121 хворого на ХВЕБ. Лімфаденопатія характеризувалася переважно збільшенням передньошийних і задньошийних лімфатичних вузлів. Артралгії, міалгії, невралгії і менінгеальні симптоми було діагностовано у 49,7% хворих на ХВЕБ. Синдром тривалого субфебрилітету характеризувався коливаннями температури тіла протягом дня від $37,2^{\circ}\text{C}$ до $37,5^{\circ}\text{C}$ і спостерігався у 90 пацієнтів на ХВЕБ. І лише у 10% випадків був підтверджений гепатолієнальний синдром. У більшості хворих дані клінічного обстеження свідчили про поліморфність і неспецифічний характер клінічних проявів, проте, вони характеризувались стійкістю і тривалістю. Більше ніж у 2/3 хворих на ХВЕБ відзначався лімфоцитоз (64,7% хворих) та моноцитоз (62,4%) відповідно. Відсотковий вміст лімфоцитів у середньому склав $39,5 \pm 2,1\%$, а моноцитів – $11,3 \pm 0,9\%$.

Профіль АТ та ДНК ВЕБ у ранньому періоді ІМ характеризувалися достовірним підвищенням концентрації VCA IgM (100%), EA IgG (82%), VCA IgG (58%), низькою частотою верифікації IgG до NA (12%), наявністю ДНК ВЕБ як у крові, так і у слині (85 та 96% відповідно). Слід зазначити, що у 13% випадків відзначалася асоціація ВЕБ з ВГЛ-6 типу. У періоді реконвалесценції у хворих на ІМ профіль АТ та ДНК ВЕБ характеризувався достовірним зменшенням титрів VCA IgM, яке виявлялося у 70% порівняно з періодом розпалу хвороби. Тенденцію до зниження також мали й EA IgG – з 82% до 72% хворих, тоді як антитіла до VCA IgG достовірно підвищувалися з 58% до 85% хворих. Частота виявлення IgG до NA складала 27% проти 12% порівняно з періодом розпалу ІМ. Виявлення ДНК ВЕБ як у крові, так і слині хворих було достовірно меншим порівняно з періодом розпалу хвороби (49 та 25% проти 85 та 96% відповідно).

Профіль АТ та ДНК ВЕБ, вивчений у хворих на ХВЕБ, характеризувався відсутністю VCA IgM, низькою частотою виявлення EA IgG (12%) та високими титрами VCA IgG (92%) та NA IgG (94%), при чому частота виявлення ВЕБ ДНК у крові була значно нижче за таку у хворих на ІМ у періоді розпалу і складала 48% порівняно з 85%, що, вочевидь, зумовлено невисоким рівнем віремії у даної категорії хворих. У слині ДНК ВЕБ виявлялася значно частіше (93% пацієнтів). У 68 хворих на ХВЕБ (37%) відзначалася асоціація з ДНК ВГЛ-6 типу.

Проведене генотипування ДНК ВЕБ серед 100 зразків хворих на ВЕБ-інфекцію дозволило встановити генотип вірусу у 59% (58 хворих). Зокрема серед хворих на ІМ верифікувати тип ВЕБ вдалося у 73% (38 хворих), тоді як у хворих на ХВЕБ даний показник був значно нижчим і дорівнював 45,5% (20 хворих). Типування ВЕБ-1 серед пацієнтів на ІМ було позитивним у 63,5% (33 хворих), тоді як частота виявлення ВЕБ-2 була значно меншою і складала 9,6% (5 осіб). Так, частота типу ВЕБ-1 у хворих на ХВЕБ складала 36,7% (16 осіб), ВЕБ-2 вдалося виявити у 4,5% (2 особи) та мікст-форму ВЕБ-1+ВЕБ-2 було виявлено у 4,5% (2 хворих).

Таким чином, в результаті дослідження було встановлено, що генотип ВЕБ-1 є домінуючим як при гострому, так і при ХВЕБ у Харківському регіоні. Крім того, було досліджено визначення відмінностей між клінічними проявами ІМ і генотипом вірусу ВЕБ. Аналізуючи наявність окремих клінічних проявів ІМ у хворих з різними генотипами ВЕБ, встановлено, що серед хворих з верифікованим генотипом ВЕБ-1 та ВЕБ-2 виявлені відмінності у клінічних проявах захворювання, розвитку ускладнень та характері імунних порушень не відзначалися статистичною вірогідністю ($p > 0,05$).

Враховуючи важливу роль імунних механізмів у патогенезі ВЕБ-інфекції, а також наявність суперечливих даних щодо цього питання, проаналізовано стан показників клітинної, гуморальної, фагоцитарної ланок імунітету та продукції ЦК у хворих з різними формами ВЕБ-інфекції.

Так, гладкий перебіг ІМ з подальшим переходом у паст-інфекцію без хронізації інфекційного процесу був встановлений у 63,3% хворих (38 пацієнтів) (І група). Серед даної групи хворих виявлено активацію імунітету, що характеризувалося збільшенням вмісту $CD3^+$ ($p < 0,001$); $CD4^+$ ($p < 0,001$); $CD8^+$ ($p < 0,001$); $CD16^+$ ($p < 0,01$); $CD20^+$ ($p < 0,001$); $CD8^+CD28^+$ ($p < 0,05$); $CD25^+$ ($p < 0,01$); підвищенням вмісту Th1 ($p < 0,01$); збільшенням співвідношення Th1/Th2 ($p < 0,001$), що обумовлено підвищенням відносного вмісту Th1-клітин. Такий характер змін підтверджує, що ефективний захист та елімінація збудника формуються при трансформації Т-хелперної відповіді в бік Th1-клітин. Зміни з боку гуморальної ланки імунітету характеризувалися вірогідним збільшенням IgA та IgM ($p < 0,01$); незначним зменшенням функціональної активності фагоцитів: ФІ (%) та ФЧ ($p < 0,05$).

Затяжний перебіг ІМ з хронізацією при катamnестичному спостереженні був виявлений у 36,7% (22 хворих) (ІІ група). Показники імунного статусу характеризувалися помірним підвищенням вмісту Т-лімфоцитів: $CD3^+$ ($p < 0,01$); $CD4^+$ ($p < 0,01$); $CD8^+$ ($p < 0,01$), які були нижче за значення І-ої групи у 1,3, 1,5 та 1,4 рази, вміст $CD16^+$ перевищував контрольні значення у 1,3 рази ($p < 0,05$), однак був нижчим за показники І групи. При даному варіанті перебігу ІМ відзначалось підвищення вмісту $CD8^+CD28^-$ ($p < 0,05$); вірогідне підвищення вмісту Th2 ($p < 0,01$); відношення Th1/Th2 за рахунок Th2-клітин. Виявлені зміни у гуморальній ланці імунної відповіді характеризувалися вірогідним підвищенням вмісту IgG, ЦІК ($p < 0,01$) та значним зменшенням ФІ (%) та ФЧ ($p < 0,01$) на тлі довготривалої реплікативної активності ВЕБ. Отримані дані підтверджують наявність у даної групи хворих дисбалансу в субпопуляціях

CD4⁺-лімфоцитів, що регулюють та контролюють розвиток клітинних та гуморальних реакцій, що може визначати високу частоту формування хронічної персистируючої форми ІМ.

При ХВЕБ встановлено вірогідне підвищення рівнів CD8⁺ (p<0,05); CD20⁺, CD8⁺CD28⁻ та Th2 (ІЛ-4⁺), (p<0,01); вірогідне зменшення відносного вмісту CD16⁺ та CD8⁺CD28⁺ (p<0,01); співвідношення CD8⁺CD28⁺/CD8⁺CD28⁻ та Th1/Th2 (p<0,01); тенденцією до зниження вмісту CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺ та Th1 (ІФНγ⁺) (p>0,05). Виявлені дані дозволяють прийти до висновку, що при реактивації ХВЕБ-інфекції відзначається дисбаланс у співвідношенні вмісту Th1/Th2 (p<0,01) за рахунок підвищення відносного вмісту Th2-клітин, що підтверджує наявність імунної дисфункції, яка проявляється пригніченням клітинної ланки імунної відповіді. Зміни з боку гуморальної ланки характеризувалися вірогідним збільшенням вмісту ІgG та ЦК (p<0,01); зниженням фагоцитарної активності: ФІ (%) та ФЧ (p<0,05).

Прогресуючий характер змін імунних показників як при ІМ, так і ХВЕБ вказує на формування вторинного клітинного імунного дисбалансу, активації гуморальної ланки імунного захисту, зміною рівноваги імунорегуляторних медіаторів у бік ЦК Th2 при формуванні хронічних форм ВЕБ-інфекції.

Аналіз середніх рівнів основних ЦК у периферичній крові хворих на ІМ в періоді розпалу хвороби (І період) та в періоді реконвалесценції (ІІ період) дозволив встановити певні особливості. При первинному обстеженні в періоді розпалу у хворих на ІМ виявлено вірогідне підвищення вмісту всіх досліджуваних ЦК порівняно з аналогічними показниками контрольної групи (p<0,05). Так, вміст прозапальних ЦК перевищував показники контролю майже у 5,2 рази для ФНП-α; в 8,2 рази для ІЛ-1β; у 2,2 рази для ІЛ-6; у 2,5 рази для ІЛ-12. Рівні ІЛ-2 перевищували у 4,2 рази контрольні значення, ІФН-γ та ІФН-α – в 3,2 та 2,8 рази (табл. 1).

Вміст протизапальних ЦК ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФРβ1 також відрізнявся статистичною достовірністю порівняно з контрольними значеннями і перевищував їх у 8,4 рази, 5,3 рази та 5 разів відповідно (p<0,05).

Аналіз отриманих даних дозволив встановити, що в кластер з вираженими відхиленнями від нормативу увійшли ІЛ-1β – перший ранг (t=10,35, p<0,001), ТФРβ1 – другий ранг (t=10,7, p<0,001), ІЛ-4 – третій ранг (t=10,32, p<0,001); в другий кластер з помірними відхиленнями від нормативу – ФНП-α (t=7,47, p<0,001), ІЛ-2 (t=6,24, p<0,001), ІФН-α (t=6,19, p<0,001), ІФН-γ (t=5,71, p<0,001), ІЛ-10 (t=5,56 p<0,001), та в кластер з незначним підвищенням – ІЛ-12 (t=4,73, p<0,001), ІЛ-6 (t=3,61, p<0,001). Ступінь відхилення від нормативу протизапальних ЦК складала (t=8,67, p<0,001), що у 1,4 рази перевищувало показники вмісту прозапальних ЦК (t=6,37, p<0,001). Отримані дані вказують на присутність дисбалансу у продукції ЦК у гострому періоді захворювання, що, може сприяти затяжному перебігу хвороби.

У періоді реконвалесценції рівні ЦК вірогідно знижувалися, однак контрольних значень не досягали, що свідчить про затяжний період реконвалесценції з тривалим збереженням клінічної симптоматики та біохімічними порушеннями, що є характерною ознакою ВЕБ-інфекції.

Таблиця 1

Рівні основних ЦК у сироватці крові хворих на ІМ в динаміці (М±m)

Показники (пкг/мл)	Контроль (n=20)	ІМ, період розпалу (n=40)	ІМ, період реконвалесценції (n=40)
ФНП-α	32,42±2,02	168,51±18,1 ^{1,2}	64,34±12,7 ¹
ІЛ-1β	29,42±2,4	238,5±20,6 ^{1,2}	84,9±10,7 ¹
ІЛ-6	39,65±1,8	88,15±13,3 ¹	77,35±13,1 ¹
ІЛ-2	39,62±2,06	164,4±19,9 ^{1,2}	75,23±7,2 ¹
ІЛ-4	20,72±1,66	166,6±14,04 ^{1,2}	61,64±8,2 ¹
ІЛ-10	18,77±1,14	98,5±15,9 ^{1,2}	38,42±4,2 ¹
ІЛ-12	50,4±4,5	128,5±15,9 ^{1,2}	68,35±7,4 ¹
ІФН-α	35,01±2,1	98,81±10,09 ^{1,2}	50,64±5,12 ¹
ІФН-γ	33,2±1,81	100,5±11,64 ^{1,2}	60,89±6,09 ¹
ТФРβ1	58,1±4,8	290,5±22,34 ^{1,2}	112,6±11,3 ¹

Примітки: ¹ - достовірна різниця з показниками контрольної групи (p<0,05); ² - достовірна різниця з показниками в періоді реконвалесценції (p<0,05).

Так, рівень ФНП-α та ІЛ-6 в 2 рази перевищували значення контрольної групи, ІЛ-1β втричі, (p<0,01). Вміст ІЛ-2, ІЛ-12, ІФН-α та ІФН-γ у періоді реконвалесценції виявився більшим за контроль у 1,9; 1,4; 1,4 та 1,8 рази. Не відбувалося нормалізації значень протизапальних ЦК: ІЛ-4, перевищував контрольні значення втричі (p<0,01); ІЛ-10 та ТФРβ1 – майже вдвічі (p<0,01). При визначенні ступеня відхилення від контрольних значень встановлено, що в кластер з вираженими відхиленнями від нормативу не потрапив жоден показник, в кластер з помірними відхиленнями від нормативу потрапили наступні ЦК: ІЛ-1β (t=5,06, p<0,001); друге – ІЛ-4 (t=4,86, p<0,001); третє місце мав ІЛ-2 (t=4,76, p<0,001); четверте – ІЛ-10 (t=4,52, p<0,001); п'яте місце посів ТФРβ1 (t=4,44, p<0,001); шосте – ІФН-γ (t=4,36, p<0,001). До кластеру з незначними відхиленнями попали ІЛ-6 (t=2,85, p<0,05); ІФН-α (t=2,82, p<0,001); ФНП-α (t=2,48, p<0,05) та ІЛ-12 (t=2,07, p<0,05).

Ступінь активності протизапальних ЦК (t=4,6; p<0,001) в 1,3 рази перевищував показники прозапальних ЦК (t=3,48; p<0,001).

Таким чином, ІМ характеризується активацією Th1, яка супроводжується гіперпродукцією таких ЦК як ФНП-α, ІЛ-2, ІФН-γ, а також ЦК, що продукуються Th2 – ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10 та Th3 –ТФРβ1. Рівні ЦК у періоді реконвалесценції свідчать про відсутність повної нормалізації, що, ймовірно, характеризує затяжний період реконвалесценції, який у частини хворих може призводити до хронізації процесу.

Дослідження цитокинового профілю у хворих на ХВЕБ у періоді реактивації (І період) та ремісії (ІІ період) дозволило встановити, що зміни в рівнях ЦК порівняно з контрольною групою носили досить помірний характер. Так, у періоді реактивації підвищення рівнів ФНП-α, ІЛ-1β, ІЛ-2 та ІЛ-12 вдвічі

перевищувало контрольні значення ($p < 0,05$), рівень ІЛ-6 – у 2,5 рази, рівень ІФН- α та ІФН- γ були нижчими за контрольні значення, але не відрізнялися вірогідністю ($p > 0,05$), тоді як рівні ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1 перевищували контроль у 3,6; 4,8 та 2,9 рази відповідно ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2

Рівні основних ЦК у сироватці крові хворих на ХВЕБ в динаміці (М \pm м)

Показники (пкг/мл)	Контроль (n=20)	ХВЕБ, період реактивації (n=40)	ХВЕБ, період ремісії (n=40)
ФНП- α	32,42 \pm 2,02	62,57 \pm 6,72 ^{1,2}	42,45 \pm 5,72
ІЛ-1 β	29,42 \pm 2,4	58,1 \pm 5,12 ^{1,2}	37,4 \pm 6,3
ІЛ-6	39,65 \pm 1,8	100,44 \pm 12,1 ¹	80,35 \pm 11,2 ¹
ІЛ-2	39,62 \pm 2,06	78,14 \pm 8,02 ¹	74,75 \pm 7,5 ¹
ІЛ-4	20,72 \pm 1,66	75,64 \pm 7,2 ¹	58,64 \pm 6,4 ¹
ІЛ-10	18,77 \pm 1,14	88,42 \pm 6,2 ^{1,2}	53,65 \pm 6,3 ¹
ІЛ-12	50,4 \pm 4,5	100,5 \pm 11,9 ^{1,2}	57,75 \pm 7,4
ІФН- α	35,01 \pm 2,1	28,83 \pm 5,09	32,64 \pm 5,12
ІФН- γ	33,2 \pm 1,8	25,46 \pm 9,4	35,33 \pm 4,04
ТФР β 1	58,1 \pm 4,8	166,7 \pm 11,7 ^{1,2}	76,6 \pm 11,3

Примітки. ¹ - достовірна різниця з показниками контрольної групи ($p < 0,05$); ² - достовірна різниця з показниками в періоді реконвалесценції ($p < 0,05$).

До кластеру з вираженими відхиленнями від нормативу увійшов протизапальний ІЛ-10 ($t=11,05$, $p < 0,001$), в другий кластер увійшли ТФР β 1 ($t=8,59$, $p < 0,001$) – другий ранг; третій ранг – ІЛ-4 ($t=7,43$, $p < 0,001$); четвертий ранг – ІЛ-6 ($t=5,07$, $p < 0,001$); п'ятий ранг – ІЛ-2 ($t=4,97$, $p < 0,001$); шостий ранг – ІЛ-1 β ($t=4,65$, $p < 0,001$); сьомий ранг – ФНП- α ($t=4,3$, $p < 0,001$); восьмий ранг – ІЛ-12 ($t=3,94$, $p < 0,001$); ІФН- α ($t=1,12$, $p > 0,05$) – дев'ятий ранг; та останнє місце – ІФН- γ ($t=0,81$, $p > 0,05$). Звертають на себе увагу виражені відхилення протизапальних ЦК – ІЛ-10, ТФР β 1 та ІЛ-4 порівняно з прозапальними ЦК. Так, ступінь активності прозапальних ЦК ($t=3,55$; $p < 0,001$) виявився майже в 2,5 рази нижче порівняно з показниками протизапальних ЦК ($t=9,02$; $p < 0,001$), що свідчить про дисфункцію у продукції досліджуваних показників з активацією ЦК, що продукуються Th2 – ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10.

В стадії ремісії рівні прозапальних ЦК – ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-12 та ІФН- α , ІФН- γ мали тенденцію до нормалізації, достовірно не перевищуючи контрольні значення, при цьому рівні ІЛ-6 та ІЛ-2 в 1,9 рази перевищували показники контролю. Рівні протизапальних ЦК ІЛ-10, ІЛ-4 та ТФР β 1 перевищували контрольні в 2,9; 2,8 та 1,3 рази відповідно.

В періоді ремісії було виділено 2 кластера: з помірними та незначними відхиленнями ЦК. У перший кластер потрапив ІЛ-4 ($t=5,74$; $p < 0,001$) – перше рангове місце; ІЛ-10 ($t=5,45$; $p < 0,001$) – другий ранг; ІЛ-2 ($t=4,52$; $p < 0,001$) – третій ранг; до другого кластеру увійшли: ІЛ-6 ($t=3,59$; $p < 0,001$) – четвертий

ранг; до кластеру з мінімальними відхиленнями ввійшли прозапальні ЦК–ФНН- α ($t=1,65$, $p>0,05$) – п'ятий ранг; ТФР β 1 ($t=1,51$; $p<0,05$) – шостий; ІЛ-1 β ($t=1,18$; $p>0,05$) – сьомий ранг; ІЛ-12 ($t=0,85$, $p>0,05$) – восьме місце; ІФН- γ ($t=0,48$; $p>0,05$) та ІФН- α ($t=0,43$; $p>0,05$) посіли останні місця. Активність протизапальних ЦК ($t=4,23$; $p<0,001$) у хворих на ХВЕБ на 57,2% перевищувала показники прозапальних ЦК ($t=1,81$; $p>0,05$) в періоді ремісії.

Таким чином, прозапальні та протизапальні ЦК у хворих на ХВЕБ в періоді ремісії мають розбалансованість за рахунок превалювання протизапальних ЦК на фоні нормалізації прозапальних ЦК.

Дослідження рівнів ЦК дозволило встановити вірогідне підвищення концентрацій як прозапальних і протизапальних ЦК у хворих на ІМ з подальшою тенденцією до нормалізації в періоді реконвалесценції. Аналогічна динаміка характеризувала показники ЦК при ХВЕБ з вірогідним підвищенням у стадії реактивації з подальшим зниженням в періоді ремісії. Слід зазначити, що нормалізації рівня ЦК до контрольних значень не відбувалося в жодній з груп порівняння, що свідчить про затяжний перебіг реконвалесценції.

Аналізуючи динаміку цитокінового профілю у хворих на ІМ нами були виявлені три типи ЦК-реагування: I – нормореактивний тип (достовірне підвищення прозапальних і протизапальних ЦК), II – дисоціативний (високі показники прозапальних ЦК на тлі низьких значень ІЛ-2 і протизапальних ЦК) та III – гіперреактивний (високі концентрації як прозапальних, так і протизапальних ЦК). При та ХВЕБ виявлено два типи ЦК-реагування: I – гіпореактивний (низькі концентрації як прозапальних, так і протизапальних ЦК) і II – дисоціативний (низькі значення прозапальних ЦК на тлі високих протизапальних).

Аналіз вмісту ЦК у сироватці хворих на ІМ при нормореактивному типі ЦК-реагування виявив достовірне збільшення всіх досліджуваних показників в середньому в 5,2-7,7 рази ($p<0,001$) порівняно з контрольними рівнями. Даний тип реагування було виявлено у 42,5% хворих.

У хворих на ІМ з дисоціативним типом реагування тип ЦК відповіді характеризувався значним підвищенням рівнів ФНН- α та ІЛ-1 β , які перевищували показники контрольної групи у 6,1 рази на тлі досить помірно підвищених рівнів ІЛ-6, ІФН- γ , ІФН- α та ІЛ-12, які статистично не відрізнялися від контрольних даних, та ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1, які достовірно відрізнялися від показників групи контролю ($p<0,05$). Дисоціативний тип реагування було виявлено у 35% хворих.

При гіперреактивному типі реагування у хворих на ІМ вміст ЦК характеризувався достовірно високими рівнями показників порівняно з аналогічними у пацієнтів з нормореактивним типом (в середньому в 1,5-2,2 рази) і даними контрольної групи (в середньому в 8,2-10,1 раз), ($p<0,05$). Цей тип був виявлений у 22,5% хворих на ІМ.

При порівнянні виразності та тривалості основних клініко-біохімічних показників у пацієнтів на ІМ з різними типами ЦК реагування нами були виявлені, що у хворих на ІМ з встановленим нормореактивним типом – показники основних клінічних симптомів відрізнялися меншою тривалістю

порівняно з аналогічними у хворих з дисоціативним типом та гіперреактивним типом.

У хворих з ХВЕБ-інфекцією при дисоціативному типі реагування спостерігалася низька продукція прозапальних ЦК та ІЛ-2, тоді як рівні протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФРβ1 достовірно підвищувалися відповідно до активності процесу. Рівень ІЛ-4 перевищував в 6,08 рази показники контрольної групи, ІЛ-10 – у 6,9 рази та ТФРβ1 – у 2,9 разів перевищував середні значення групи контролю ($p < 0,001$). Даний тип імунного реагування було виявлено у 47 хворих з ХВЕБ, що склало 58,7% від загальної кількості обстежених хворих.

Серед пацієнтів з ХВЕБ з виявленим гіпореактивним типом реагування синтез прозапальних і протизапальних ЦК характеризувався їх низькими концентраціями (середні рівні ІЛ-1β складали $58,21 \pm 4,1$ пг/мл ($p < 0,05$); ФНП-α – $61,09 \pm 5,4$ пг/мл ($p < 0,05$); ІЛ-6 – $41,19 \pm 4,5$ пг/мл ($p > 0,05$); ІЛ-2 – $49,11 \pm 5,1$ пг/мл ($p > 0,05$); ІЛ-4 – $58,12 \pm 5,7$ пг/мл ($p < 0,05$); ІЛ-10 – $49,59 \pm 4,3$ пг/мл ($p < 0,05$); ІЛ-12 – $67,8 \pm 5,7$ пг/мл ($p > 0,05$); ІФН-α – $30,6 \pm 4,3$ пг/мл ($p > 0,05$); ІФН-γ – $25,3 \pm 6,3$ пг/мл ($p > 0,05$); ТФРβ1 – $71,6 \pm 8,7$ пг/мл ($p > 0,05$). Даний тип імунної відповіді було встановлено у 41,3% хворих.

Таким чином, виявлені типи ЦК реагування у хворих із різними формами ВЕБ-інфекції дозволяють судити про перебіг і наслідки хвороби. Визначення нормореактивного і гіперреактивного типу свідчить про гладкий перебіг ІМ, дисоціативний тип дає підставу прогнозувати затяжний перебіг, ускладнення та можливу хронізацію захворювання. Це дозволяє контролювати динаміку інфекційного процесу, вчасно діагностувати розвиток вторинної імунної недостатності і своєчасно провести її корекцію.

У зв'язку з тим, що ВЕБ відносять до групи «доведених онковірусів», асоційованих з низкою онкологічних і аутоімунних захворювань, нами проведені дослідження рівнів окремих аутоімунних маркерів. У періоді розпалу ІМ жоден з досліджуваних показників достовірно не відрізнявся від контрольних значень ($p > 0,05$). Слід зазначити, що максимально підвищені рівні аутоімунних антитіл у розпалі ІМ можуть бути маркером ускладнень при ІМ.

Аналіз отриманих даних при ХВЕБ дозволив встановити, що в періоді реактивації захворювання було виявлено достовірне підвищення титрів досліджуваних аутоімунних показників порівняно з показниками контрольної групи стосовно рівнів ADNA-2 та anti-LKM-1 ($p < 0,05$), тоді як рівні антитіл до фосфоліпідів достовірно не відрізнялися від контрольних даних ($p > 0,05$). Дослідження їх у періоді ремісії дозволило констатувати їх зменшення порівняно з даними періоду реактивації, однак вони не досягали рівнів контрольних значень.

Отримані результати дають підставу вважати, що у пацієнтів з різними варіантами ВЕБ-інфекції виявляються аутоімунні порушення, які необхідно враховувати при визначенні тактики лікування з метою підвищення ефективності проведеної медикаментозної терапії та профілактики можливих ускладнень з акцентуванням уваги щодо можливого розвитку аутоімунної патології.

Проведене дослідження поліморфізму -1486T/C гену TLR-9 у хворих з ВЕБ-інфекцією та у пацієнтів контрольної групи виявило генотипи TT, TC, CC. Частота виявлення генотипу TT складала – 22,1% (30 пацієнтів), генотипу TC – 54,4% (74 пацієнта), генотипу CC – 23,5% (32 хворих). Домінуючим генотипом був гетерозиготний генотип TC, який реєструвався у більшій частині обстежених пацієнтів (54%), тоді як частота верифікації гомозиготних генотипів TT та CC дорівнювала 22% та 24% відповідно. У пацієнтів контрольної групи генотип TT був виявлений у 40,0% (16 пацієнтів), гетерозиготний генотип TC – у 45,3% (18 пацієнтів), тоді як гомозиготний генотип CC був виявлений у 14,7% (6 пацієнтів).

Частота розподілу виявлених генотипів -1486T/C SNP гену TLR-9 у хворих на ІМ була наступною: генотип TT – 17% (9 хворих), TC – 46% (24 хворих) та CC – 37% (19 хворих). Слід зазначити, що гомозиготний генотип CC був верифікований значно частіше серед групи хворих на ІМ порівняно з даними контрольної групи – 37% проти 15%, тоді як гомозиготний генотип TT, навпаки, частіше реєструвався у контрольній групі пацієнтів – 40% проти 17%. Частота верифікації гетерозиготного генотипу TC була майже однаковою в обох групах дослідження – 46% та 45%. Частота зустрічаємості генотипу TT -1486T/C гену TLR-9 достовірно відрізнялася порівняно з аналогічними даними контрольної групи і складала 17 ± 37 проти 40 ± 49 ($p < 0,05$). Не виявлено достовірної різниці частоти зустрічаємості генотипу TC -1486T/C гену TLR-9 від показників контрольної групи – 46 ± 50 проти 45 ± 50 ($p > 0,05$). Однак даний показник відрізнявся статистично значущо від показників контрольної групи для генотипу CC і складав 37 ± 48 проти 15 ± 36 ($p < 0,05$).

При аналізі розподілу частот зустрічаємості генотипів -1486 T/C гену TLR-9 у хворих на ІМ були встановлені статистично значимі відмінності для генотипів TT та TC в групі хворих на ІМ і контрольній групі. Так, для гомозиготного генотипу TT цей показник складав 17% проти 40% ($p < 0,05$), для генотипу CC – 37% проти 15% ($p < 0,05$), тоді як для гетерозиготного генотипу TC розподіл частот не мав статистично значущої відмінності порівняно з показниками контрольної групи і з однаковою частотою виявлявся у досліджуваних групах хворих 46% проти 45% ($p > 0,1$).

Згідно з розрахованим показником відношення шансів присутність у геномі хворих на ІМ гомозиготного генотипу CC є специфічним для хворих на ІМ (CI:1,16-9,2 і OR=3,26 відповідно), що дозволяє оцінювати його як позитивну асоціацію, порівняно з отриманими показниками для гомозиготного типу TT (CI:0,12-0,82 і OR=0,31 відповідно) та гетерозиготного генотипу TC (CI:0,46-2,4 і OR=1,05), які оцінюються як негативна асоціація генотипу TT з ІМ та відсутність асоціації з ІМ для генотипу TC.

Таким чином, дослідження частоти зустрічаємості окремих генотипів виявило домінування генотипів CC та TT порівняно з гетерозиготним генотипом TC. Вивчення розподілу частот зустрічаємості поліморфізму -1486T/C гену TLR-9 для різних генотипів продемонструвало специфічність змін для генотипу CC у хворих на ІМ та відсутність таких для генотипів TT та TC.

Частота розподілу виявлених генотипів -1486T/C SNP гену TLR-9 у пацієнтів з ХВЕБ була наступною: генотип ТТ – 11% (5 хворих), ТС – 73% (32 хворих) та СС – 16% (7 хворих). Слід зазначити, що гомозиготний генотип СС був верифікований майже з однаковою частотою серед груп досліджуваних пацієнтів – 16 та 15%, відповідно, тоді як гомозиготний генотип ТТ, навпаки, частіше реєструвався серед контрольної групи пацієнтів – 40% проти 11%. Частота верифікації гетерозиготного генотипу ТС значно була вище в групі пацієнтів з ХВЕБ – 73% проти 45%. Частота зустрічаємості генотипу ТТ -1486T/C гену TLR-9 достовірно відрізнялася від аналогічних даних контрольної групи і складала – 11 ± 31 проти 40 ± 49 ($p < 0,001$). Також досліджуваний показник відрізнявся статистично значущо від показників контрольної групи для генотипу ТС і складав 73 ± 44 проти 45 ± 50 ($p < 0,001$). Не було статистично значущих відмінностей частоти зустрічаємості генотипу СС -1486T/C гену TLR-9 від показників контрольної групи – 16 ± 37 проти 15 ± 36 ($p > 0,05$).

При аналізі розподілу частот зустрічаємості генотипів -1486 T/C гену TLR-9 були встановлені статистично значимі відмінності на рівні $p < 0,05$ для генотипів ТТ та ТС в групі хворих з ХВЕБ і контрольній групі. Так, для гомозиготного генотипу ТТ цей показник складав 11% проти 40% ($p < 0,05$), для генотипу ТС – 73% проти 45% ($p < 0,05$), тоді як для генотипу СС розподіл частот не мав статистично значущої відмінності порівняно з показниками контрольної групи і з однаковою частотою виявлявся у досліджуваних групах хворих – 16% проти 15% ($p > 0,05$). Згідно з розрахованим показником відношення шансів присутність у геномі хворих з ХВЕБ гетерозиготного генотипу ТС (СІ:1,3-8,1 і OR=3,26 відповідно) є специфічним для хворих з ХВЕБ, що дозволяє оцінювати його як позитивну асоціацію, порівняно з отриманими показниками для гомозиготних типів ТТ (СІ:0,06-0,59 і OR=0,19) та генотипу СС (СІ:0,33-3,5 і OR=1,07, відповідно), які оцінюються як негативна асоціація генотипів з хронічними формами ВЕБ-інфекції.

Таким чином, аналіз результатів дослідження дозволяє прийти до висновку, що у хворих з ХВЕБ достовірно частіше ніж в контрольній групі виявляється поліморфізм -1486T/C гену TLR-9. Розподіл частот зустрічаємості поліморфізму -1486T/C гену TLR-9 дозволив встановити асоціацію генотипу ТС з хронічними формами ВЕБ-інфекції.

Для визначення впливу поліморфізму -1486T/C гену TLR-9 на продукцію прозапальних та протизапальних ЦК нами було проведено аналіз частоти окремих алельних варіацій залежно від типу ЦК реагування. Нормореактивний тип було виявлено у 5% (2 хворих) з гомозиготним генотипом ТТ та у 37% (15 хворих) з гетерозиготним генотипом ТС. Слід зазначити, що генотипу СС при нормореактивному типі виявлено не було. Дисоціативний тип продукції ЦК було виявлено у 10% (4 хворих), які мали гетерозиготну алель ТС та 25% (10 хворих) з гомозиготною алеллю СС. Цей тип імунного реагування не був характерним для генотипу ТТ. Гіперреактивний тип реєструвався при генотипі ТТ у 17,5% (7 хворих), тоді як при гетерозиготному генотипі ТС зазначений тип був виявлений у 5% (2 хворих). Встановлено, що частота виявлення Т-алелі

складала 75% (30 хворих на ІМ), частота виявлення С-алелі складала 77,5% (31 хворий). Домінуючим генотипом серед хворих на ІМ виявився гетерозиготний генотип ТС, який виявлявся при кожному типі імунного реагування. Але згідно наших даних щодо вивчення розподілу частот зустрічаємості поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 було продемонстровано специфічність змін для генотипу СС у хворих на ІМ та відсутність таких для генотипів ТТ та ТС.

Таким чином, при виявленні гомозиготної алелі СС -1486Т/С гену TLR-9 вірогідність дисоціативного типу реагування є прогнозованою, що асоційовано із затяжним перебігом хвороби та реконвалесценції та розвитком можливих ускладнень, на відміну від генотипів ТС та ТТ, для яких є типовим гладкий перебіг ІМ.

Аналогічні дослідження у хворих на ХВЕБ дозволили встановити наступне: дисоціативний тип ЦК-реагування було виявлено у 2,3% (1 хворий) з гомозиготним генотипом ТТ, у 45,5% (20 хворих) з гетерозиготним генотипом ТС та у 15,9% (7 хворих) з гомозиготним генотипом СС; гіпореактивний тип було виявлено у 9,1% (4 хворих), які мали гомозиготну алель ТТ, та 27,3% (12 хворих) з гетерозиготною алеллю ТС. Слід зазначити, що гомозиготної алелі СС при цьому типі реагування виявлено не було. Частота виявлення Т-алелі складала 84,1% (37 хворих) на ХВЕБ, частота виявлення С-алелі складала 88,6% (39 хворих). Домінуючим генотипом серед хворих на ХВЕБ виявився гетерозиготний генотип ТС, який виявлявся у 71,4% хворих з дисоціативним типом та у 75% хворих з гіпореактивним типом реагування.

Вивчення частоти поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 у хворих з ХВЕБ дозволило встановити достовірну значиму асоціацію генотипу ТС з хронічними формами ВЕБ-інфекції, що є вельми специфічним для даної групи хворих. Спираючись на отримані дані і враховуючи інтегральну участь імунологічних чинників в патогенезі ВЕБ-інфекції, нами був проведений кореляційний аналіз взаємозв'язків між стандартними клініко-лабораторними характеристиками ВЕБ-інфекції та досліджуваними імунологічними показниками.

Виявлені порушення в клітинній та гуморальній ланці імунітету; цитокиновий статус; вміст аутоантитіл; поліморфізм -1486Т/С гену TLR-9 у хворих дозволили уточнити ланки імуногенезу при гострому на хронічному перебігу ВЕБ-інфекції (рис. 1 та рис. 2).

Згідно з отриманими даними у хворих на ІМ гладкий перебіг захворювання характеризується вірогідним підвищенням в периферичній крові вмісту CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD20⁺, CD8⁺CD28⁺-клітин ($p < 0,05$), підвищенням вмісту Th1-клітин та трансформацією імунної відповіді в бік Th1-клітин; з боку гуморальної ланки – вірогідним збільшенням IgA та IgM ($p < 0,01$); продукції ЦК за нормореактивним та гіперреактивним типом ЦК відповіді; низьким вмістом аутоантитіл; асоціацією з поліморфізмом -1486Т/С гену TLR-9 – ТТ, ТС.

Затяжний перебіг ІМ з формуванням хронізації характеризується помірним підвищенням CD8⁺; CD20⁺, ($p < 0,05$), підвищенням вмісту CD8⁺CD28⁻ ($p < 0,05$); вірогідним підвищенням вмісту Th2-клітин ($p < 0,01$); зміною у співвідношенні вмісту Th1/Th2 ($p < 0,01$) за рахунок підвищення відносного

вмісту Th2 клітин; вірогідним підвищенням IgG та ЦК ($p < 0,01$), значним зменшенням ФІ (%) та ФЧ ($p < 0,01$) на фоні довготривалої реплікативної активності ВЕБ; дисоціативним типом ЦК відповіді; підвищеним вмістом аутоантитіл; асоціацією з поліморфізмом -1486Т/С гену TLR-9 – СС.

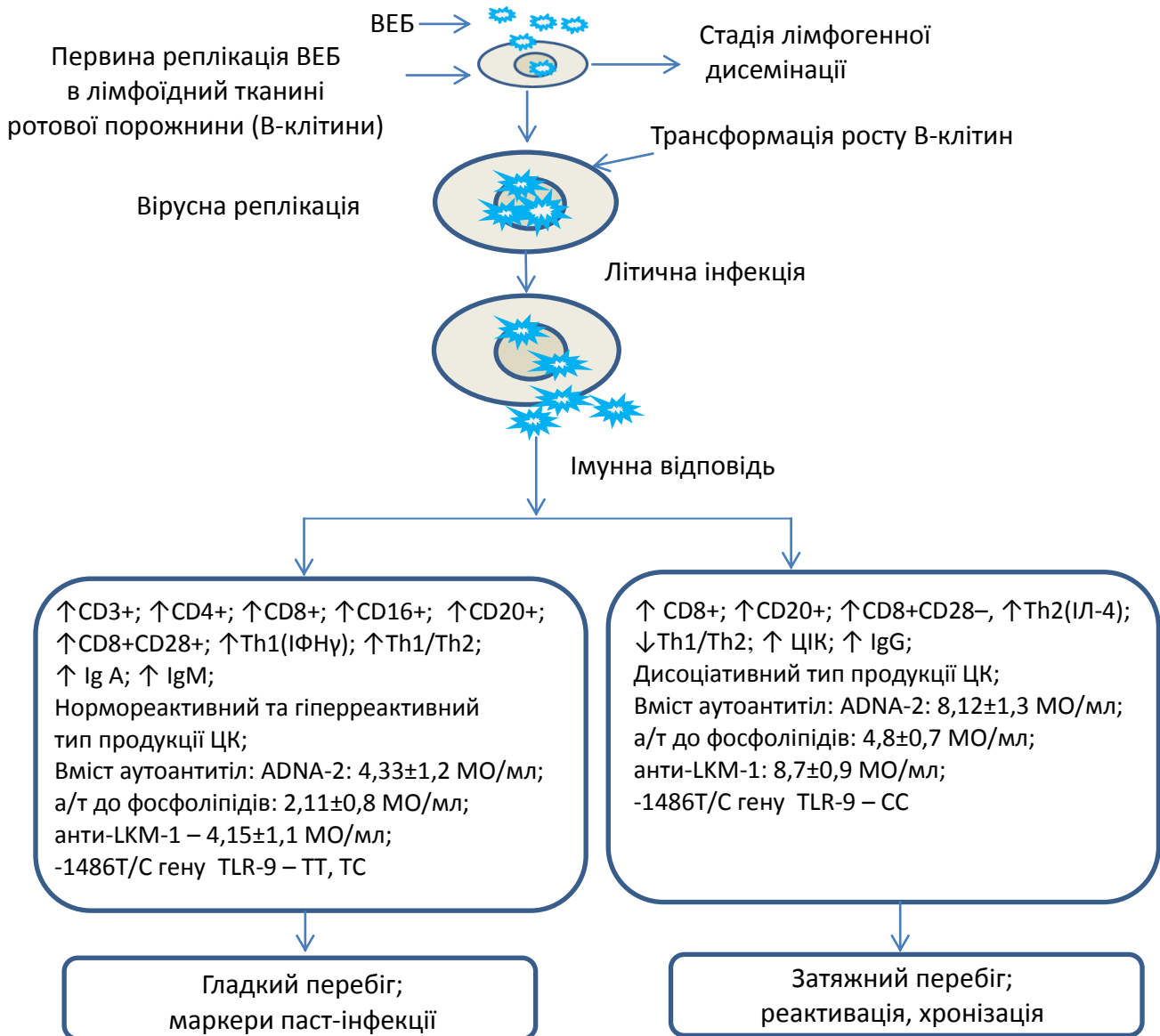


Рис. 1. Ланки імуногенезу гострої ВЕБ-інфекції.

ХВЕБ в періоді реактивації характеризується зменшенням вмісту CD3⁺-, CD4⁺-, CD16⁺- та CD25⁺-клітин; збільшенням рівнів CD8⁺-, CD8⁺CD28⁻- та CD20⁺-клітин, вірогідним підвищенням вмісту Th2; змін у співвідношенні Th1/Th2 за рахунок підвищення відносного вмісту Th2-клітин; з боку гуморальної ланки – вірогідним збільшенням вмісту IgG та ЦК; порушенням фагоцитарної активності: ФІ (%) та ФЧ ($p < 0,01$), гіпореактивним та дисоціативним типом продукції ЦК, підвищеним вмістом аутоімунних маркерів, асоціацією з поліморфізмом -1486Т/С гену TLR-9 – ТС (рис. 2).

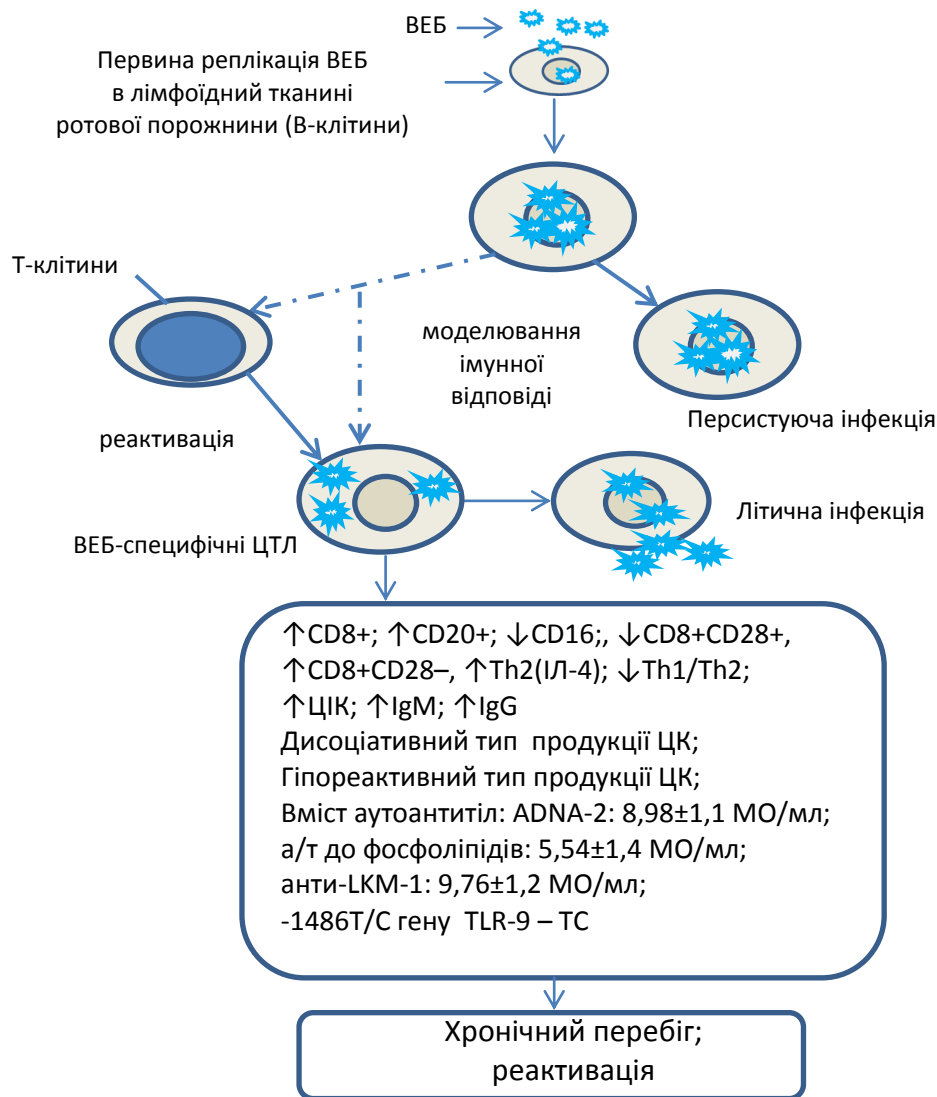


Рис. 2. Ланки імуногенезу хронічної ВЕБ-інфекції

При ХВЕБ-інфекції спостерігається формування вторинного лімфоцитарного дисбалансу, активація гуморальної ланки імунного захисту, зміна рівноваги імунорегуляторних медіаторів у бік ЦК Th2.

Дослідження кореляційних залежностей дозволило встановити між показниками ІЛ-10 та ІЛ-1 β помірний кореляційний зв'язок ($r=+0,53$; $p<0,05$) та ІЛ-10 з ФНП- α ($r=+0,45$; $p<0,05$). Помірні кореляційні залежності виявлено між рівнем ІЛ-10 та CD3 $^+$ ($r=+0,42$; $p<0,05$) та поліморфізмом гену TLR9 -1486Т/С ($r=+0,48$; $p<0,05$). Також помірний кореляційний зв'язок встановлено між протизапальним ЦК – ІЛ-4 ($r=+0,65$; $p<0,05$) з ФНП- α та ($r=+0,66$; $p<0,05$) з ІЛ-1 β . Помірну пряму залежність встановлено між рівнями ІЛ-4 та ІЛ-2 ($r=+0,42$; $p<0,05$); вмістом CD8 $^+$, ($r=+0,57$; $p<0,05$); та поліморфізмом гену TLR9 -1486Т/С ($r=+0,55$; $p<0,05$). Крім того помірну пряму кореляційну залежність встановлено між показниками ФНП- α та ІЛ-1 β ($r=+0,61$; $p<0,05$). Ці показники також мали помірний кореляційний зв'язок з TLR9 -1486Т/С ($r=+0,47$; $p<0,05$) та ($r=+0,43$; $p<0,05$) відповідно. У хворих на ІМ на тлі підвищеного вмісту CD8 $^+$

встановлено його помірну пряму залежність з ІЛ-1 β ($r=+0,55$; $p<0,05$) та вмістом CD3 $^+$ ($r=+0,53$; $p<0,05$). Слід зазначити, що між відносним вмістом CD20 $^+$, CD4 $^+$ та CD16 $^+$, встановлено зворотній кореляційний зв'язок ($r=-0,44$; $p<0,05$) та ($r=-0,42$; $p<0,05$).

Виявлено, що при ІМ спостерігалися достовірні ($p<0,05$) прямі сильні кореляційні залежності між вмістом сироваткових ІЛ-4, ФНП- α , ІЛ-1 β , ІФН- γ та такими клінічними симптомами як гепатомегалія ($r=+0,7$; $r=+0,72$; $r=+0,75$ та $r=+0,71$, $p<0,05$), помірні кореляції із спленомегалією та рівнями ІЛ-1 β та ФНП- α ($r=+0,42$ та $r=+0,42$, $p<0,05$) відповідно. При ІМ в періоді розпалу та клініко-біохімічної ремісії виявлений достовірний ($p<0,05$) прямий сильний кореляційний взаємозв'язок між вмістом ФНП- α та ІЛ-1 β та рівнем сироваткової АлАТ ($r=+0,71$ та $r=+0,7$, $p<0,05$), помірний зв'язок між вмістом ІЛ-2 та АлАТ ($r=+0,54$, $p<0,05$).

При ХВЕБ у періоді реактивації виявлені помірні кореляційні залежності між рівнями протизапальних ЦК – ІЛ-4 та ІЛ-10 ($r=+0,52$; $p<0,05$); ІЛ-4 та ІЛ-6 ($r=+0,4$; $p<0,05$); ІЛ-10 та ІЛ-6 ($r=+0,47$; $p<0,05$). У хворих даної групи на фоні підвищеного вмісту CD8 $^+$ встановлено його помірну пряму залежність з ІЛ-4 та ІЛ-10 – $r=+0,41$; $p<0,05$ та $r=+0,47$; $p<0,05$ відповідно.

Виражені залежності виявлені між вмістом CD16 $^+$ та ІЛ-10 ($r=+0,64$; $p<0,05$); CD16 $^+$ та CD3 $^+$ ($r=+0,61$; $p<0,05$). Зворотні зв'язки встановлено між відносним вмістом CD20 $^+$ та CD4 $^+$ ($r=-0,44$; $p<0,05$). Також у хворих з ХВЕБ виявлено помірні прямі залежності між TLR9 -1486T/C з ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1 ($r=+0,47$, $p<0,05$; $r=+0,45$, $p<0,05$ та $r=+0,46$; $p<0,05$ відповідно), що є підтвердженням наявності дисоціативного типу ЦК-реагування. У хворих на ХВЕБ мали місце достовірні позитивні помірні кореляційні зв'язки між вмістом ІЛ-4, ІЛ-10 та лімфаденопатією ($r=+0,47$ та $r=+0,45$, $p<0,05$), виявлені вірогідні позитивні помірні кореляційні зв'язки між рівнями ІЛ-4 та ІgM ($r=+0,54$), ІgG ($r=+0,68$), ЦК ($r=+0,43$), ($p<0,05$). Це пояснюється тим, що саме ІЛ-4 сприяє розвитку гуморальної відповіді, переключенню на синтез Іg, характерного продукту секреції В-лімфоцитів на кінцевій стадії їх диференціювання, тобто, плазматичних клітин.

В результаті аналізу стану співвідношення числа внутрішньосистемних до міжсистемних зв'язків (КЛВ/КЛМ) встановлено, що при ІМ співвідношення КЛВ/КЛМ=1,49 (>1), що свідчить про напругу імунної системи за типом гіперкомпенсації. В періоді реконвалесценції у хворих на ІМ режим функціонування системи ЦК та імунних показників визначається значним домінуванням внутрішньосистемних над міжсистемними кореляціями (КЛВ/КЛМ = 3,03), яке спливає на тлі зниження загальноструктурного числа кореляцій порівняно з гострим періодом. Така взаємодія елементів системи дає підставу вважати, що у хворих на ІМ в періоді реконвалесценції імунна система функціонує в режимі гіперкомпенсації за відсутності явищ декомпенсації. У хворих на ХВЕБ відзначається різко виражена диспропорція між внутрішньосистемними і міжсистемними зв'язками з домінуванням останніх (КЛВ/КЛМ=0,65). Таке домінування міжсистемних зв'язків на фоні загальноструктурної «депресії» кореляцій, згідно концепції А.М. Зосімова

(1993), свідчить про те, що система ЦК та імунних показників перебуває в кризовому режимі функціонування з явищами виснаження (декомпенсації) в періоді реактивації, що має тенденцію до зменшення в періоді ремісії.

Виявлені зміни свідчать про те, що в під час реактивації ХВЕБ формується патогенетична детермінанта, яка може бути доволі тривалою в часовому аспекті, що підтверджується результатами аналітичного дослідження, яке виявило в періоді ремісії підвищені рівні протизапальних ЦК і імунних показників.

З метою вивчення клінічної ефективності комбінованої схеми терапії було сформовано дві групи пацієнтів з ХВЕБ. Рецидивуючий перебіг ХВЕБ встановлювали за умов 2 рецидивів захворювання протягом 6 місяців або 3 рецидивів впродовж року. У першу групу (20 хворих) увійшли хворі у комплексному лікуванні яких використовувався алокін-альфа, у вигляді підшкірних ін'єкцій через день в дозі 1 мг алоферону (1 мл) усього 6 ін'єкцій на курс та віферон (1 000 000 МО) двічі на день з інтервалом у 12 годин протягом 10 днів у вигляді ректальних супозиторіїв та валацикловір (500 мг) у дозі 1000 мг (2 табл.) 3 рази на добу протягом 14 днів. У другу групу увійшли 20 хворих на ХВЕБ, які одержували лише базисне (протівірусне) лікування. Отримані результати свідчать, що у хворих на ХВЕБ, що отримували комбіновану терапію тривалість більшості клінічних симптомів мала більш позитивну динаміку порівняно з групою хворих, які отримували лише базисну терапію у вигляді нормалізації температури тіла, покращення самопочуття, нівелювання симптомів астеновегетативного синдрому ($p < 0,05$), однак тривалість клінічних проявів гепатоспленомегалії не мала достовірної відмінності між групами порівняння ($p > 0,05$).

Імунологічні дослідження у хворих на ХВЕБ після проведеної терапії показали позитивну динаміку даних імунограми, які характеризувалися підвищенням вмісту $CD3^+$ та $CD4^+$ ($p < 0,05$), рівня $CD8^+CD28^+$ ($p < 0,05$); підвищення Th1 ($p < 0,05$); зниженням рівня $CD8^+CD28^-$ ($p < 0,05$) та Th2-клітин ($p < 0,05$). Рівні $CD25^+$ -лімфоцитів при застосуванні комбінованої схеми відзначався тенденцією до зниження ($p > 0,05$). Позитивні зміни в результаті застосування комбінованого лікування виявлено й при порівнянні рівнів ЦК та ЦК ($p < 0,05$). Продемонстровано позитивні зміни показників ЦК (ІЛ-10, ІЛ-4, ТФР β 1), які характеризувалися достовірним зниженням у хворих, що отримували комбіновану терапію ($p < 0,05$), тоді як при застосуванні лише протівірусної терапії вони мали тенденцію до зниження ($p > 0,05$). Проведене комбіноване лікування сприяло зниженню рівнів титрів IgG до VCA та IgG NA ($p < 0,05$) та більш швидкій елімінації ДНК ВЕБ ($p < 0,05$).

Диспансерне спостереження протягом року дозволило встановити достовірно частішу реактивацію ВЕБ-інфекції у групі хворих, які приймали лише протівірусну терапію, порівняно з групою пацієнтів, що приймали комбіновану терапію ($p < 0,05$). Так, впродовж року рецидив захворювання був виявлений у 35% (7 хворих), що отримували лише базисну терапію, тоді як у хворих, які отримували комбіновану схему, рецидиви захворювання виявлені

лише у 5% (1 хворий), що свідчить про позитивний вплив комбінованої терапії на імунну систему.

Резюмуючи отримані дані, можна стверджувати, що у хворих з ХВЕБ під впливом комплексної імуномодулюючої та противірусної дії з призначенням комбінації алоферону, віферону та валацикловіру відзначається більш позитивна динаміка змін імунологічних показників порівняно з показниками хворих, які отримували лише базисну терапію, що проявляється підвищенням функціональної активності клітин імунної системи, зменшенням рівнів протизапальних ЦК, підвищенням рівнів ІФН- α та ІФН- γ ($p < 0,05$). Порівняння результатів досліджень імунного статусу та клінічної ефективності терапії у хворих на ХВЕБ дозволило визначити показники, що призводили до розвитку ремісії захворювання та елімінації вірусу. Слід зазначити, що всі пацієнти задовільно переносили комбіновану терапію, побічних ефектів протягом курсу терапії зафіксовано не було.

Представлена схема імуногенезу різних форм ВЕБ-інфекції та дослідження ефективності комбінованої терапії із застосуванням алоферону, рекомбінантного інтерферону $\alpha 2\beta$ в поєднанні з валацикловіром та їх клініко-імунологічні ефекти свідчать, що своєчасна і адекватна імунокорекція є патогенетично обґрунтованою, дозволяє розширити можливості сучасної терапії та підвищити її ефективність.

ВИСНОВКИ

У дисертації запропоновано нове вирішення та теоретичне узагальнення актуальної науково-практичної проблеми, яке полягає у визначенні та характеристиці складових ланок імуногенезу, питань діагностики, прогнозування наслідків ВЕБ-інфекції і розробка науково обґрунтованих підходів для підвищення ефективності лікування, запобігання хронічному рецидивуючому перебігу та ускладнень.

1. Проведене генотипування ДНК ВЕБ у пацієнтів з різними формами ВЕБ-інфекції дозволило встановити циркуляцію двох генотипів (тип А та тип В) ВЕБ з вірогідно переважним поширенням генотипу ВЕБ-1 (63,5% проти 10%) як серед хворих на ІМ, так при хронічних формах ВЕБ-інфекції (43,5% проти 4,5%) у Харківському регіоні. Перебіг інфекційного процесу при інфікуванні ВЕБ-1 та ВЕБ-2 не відрізняється вірогідністю як між показниками імунного статусу, продукції ЦК та наслідками ВЕБ-інфекції ($p > 0,05$).

2. У хворих на ІМ виявлено порушення у клітинній та гуморальній ланці імунітету. Гладкий перебіг ІМ з переходом у паст-інфекцію характеризується вірогідним підвищенням в периферичній крові вмісту $CD3^+$; $CD4^+$; $CD8^+$; $CD16^+$; $CD20^+$; $CD8^+CD28^+$ -клітин; відносного вмісту $Th1(ИФ\gamma^+)$; співвідношення $Th1/Th2$ за рахунок підвищення частки $Th1$ -клітин. З боку гуморальної ланки імунітету: підвищенням IgA та IgM ($p < 0,01$); незначним зменшенням ΦI (%) та $\Phi Ч$ ($p < 0,05$). Формування хронічних форм характеризується вірогідним підвищенням вмісту $CD8^+$; $CD20^+$ та $CD8^+CD28^-$ -клітин ($p < 0,05$); підвищенням вмісту $Th2(ИЛ-4^+)$, ($p < 0,01$); порушенням балансу

Th1/Th2 ($p < 0,01$) та $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ -клітин за рахунок підвищення частки Th2 клітин та $CD8^+CD28^-$ -клітин. Зміни з боку гуморальної ланки характеризуються підвищенням вмісту IgG та ЦІК ($p < 0,01$); з боку фагоцитарної ланки – зменшенням ФІ (%) та ФЧ ($p < 0,01$) на фоні довготривалої реплікативної активності ВЕБ.

3. При ХВЕБ-інфекції встановлено зменшення в периферичній крові вмісту Т-лімфоцитів ($CD3^+$; $CD4^+$); зменшення рівня бласттрансформації лімфоцитів під впливом ФГА та ІЛ-2 ($p < 0,05$); підвищення вмісту $CD8^+CD28^-$ ($p < 0,01$), $CD20^+$ ($p < 0,01$) та Th2-клітин ($p < 0,01$); порушення співвідношення Th1/Th2 за рахунок Th2 клітин. З боку гуморальної ланки відзначається вірогідне збільшення вмісту IgG та ЦІК ($p < 0,01$); порушення фагоцитарної активності: ФІ (%) та ФЧ ($p < 0,05$).

4. На підставі проведеного комплексного дослідження рівнів прозапальних та протизапальних ЦК у пацієнтів з ВЕБ-інфекцією, отримано нові дані щодо характеру патогенетичних змін та встановлено їх диференційно-діагностичне значення для визначення перебігу та наслідків хвороби. Встановлено чотири типи ЦК-відповіді: нормореактивний, дисоціативний, гіпореактивний і гіперреактивний.

5. У хворих на ІМ при нормореактивному та гіперреактивному типі реагування встановлено гладкий перебіг з переходом у паст-інфекцію, тоді як при дисоціативному типі реагування спостерігається перехід в хронічну форму ВЕБ-інфекції. У хворих з ХВЕБ-інфекцією встановлено два типи реагування: дисоціативний та гіпореактивний, які можуть бути використані як прогностичні критерії перебігу хвороби та частоти рецидивування.

6. У хворих на ХВЕБ на підставі визначення рівнів антитіл до нативної ДНК, фосфоліпідних антитіл до клітинних мембран та антитіл до мікросом печінки та нирок встановлено достовірне підвищення їх концентрації у 1,7; 1,5 та 1,6 рази ($p < 0,05$) у періоді реактивації, що є предиктором можливих ускладнень хвороби. У хворих на ІМ виявлена тенденція до підвищення аутоімунних маркерів порівняно з показниками групи контролю ($p > 0,05$). Зазначені показники можуть використовуватися для прогнозування перебігу хвороби та її наслідків.

7. Аналіз поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 дозволив встановити, що у хворих на ІМ дослідження частоти зустрічаємості виявило домінування генотипів СС та ТТ, порівняно з гетерозиготним генотипом ТС. Розподіл частот зустрічаємості поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 для різних генотипів продемонстрував асоціацію для генотипу СС з маніфестними формами ВЕБ-інфекції та відсутність такої для генотипів ТТ та ТС. При виявленні гомозиготної алелі СС -1486Т/С гену TLR-9 достовірність дисоціативного типу імунного реагування є прогнозованою, що асоційовано із затяжним перебігом хвороби та реконвалесценції та розвитком можливих ускладнень, на відміну від генотипів ТС та ТТ, для яких є типовим гладкий перебіг ІМ. При ХВЕБ дослідження виявило домінування генотипу ТС порівняно з гомозиготним генотипами ТТ та СС. Розподіл частот поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 продемонстрував асоціацію для генотипу ТС з ХВЕБ та відсутність такої для

генотипів ТТ та СС. Частота виявлення генотипу ТС складала 71,4% при дисоціативному типі та 75% при гіпореактивному типі реагування.

8. Дослідження характеру кореляційних зв'язків та структур у розпалі ІМ дозволило виявити напруженість імунної системи за типом гіперкомпенсації (КЛВ/КЛМ=1,49). В періоді реконвалесценції режим функціонування системи ЦК та імунних показників визначається значним домінуванням внутрішньосистемних кореляцій над міжсистемними, що свідчить про функціонування імунної системи в режимі гіперкомпенсації за відсутності явищ декомпенсації (КЛВ/КЛМ=3,03). У хворих на ХВЕБ відзначається різко виражена диспропорція між внутрішньосистемними і міжсистемними зв'язками з домінуванням останніх (КЛВ/КЛМ=0,65), що свідчить про перебування імунної системи в кризовому режимі функціонування з явищами виснаження в періоді реактивації інфекції.

9. Доведено ефективність препарату алокін-альфа, який містить алоферон 1 мг та віферон, що містить рекомбінантний інтерферон- $\alpha 2\beta$ в комплексній корекції імунних порушень у хворих на ВЕБ-інфекцію, що сприяє достовірній позитивній динаміці основних клінічних симптомів. Включення алокіну-альфа та віферону до комплексної терапії при ХВЕБ-інфекції має виражений вплив на імунні показники ($p < 0,05$) та цитокіновий профіль ($p < 0,05$) порівняно з базисною терапією, зниження рівнів титрів IgG до VCA та IgG NA ($p < 0,05$) та сприяє більш швидкій елімінації ДНК ВЕБ ($p < 0,05$), зменшенню частоти рецидивів захворювання протягом року ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендовано систему моніторингу перебігу та наслідків ВЕБ-інфекції на підставі визначення рівнів ЦК з метою визначення характеру та типу реагування. У хворих на ІМ виявлення достовірних підвищень ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-2, ІФН- γ , ІФН- α , ІЛ-12 ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1 вказує на нормореактивний тип ЦК-реагування, що характеризує гладкий перебіг хвороби без ускладнень. Гіперреактивний тип реагування у хворих на ІМ діагностується на підставі достовірно високих рівнів досліджуваних ЦК порівняно з показниками пацієнтів з нормореактивним типом (в середньому в 1,5-2 рази) і даними контрольної групи (в середньому у 8-10 разів) ($p < 0,01$). Виявлення достовірно підвищених рівнів прозапальних ЦК (ІЛ-1 β , ФНП- α та ІЛ-6) на фоні низьких рівнів ІЛ-2, ІФН- γ , ІФН- α і протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1 дозволяють діагностувати дисоціативний тип відповіді (патент на корисну модель №120402).

2. У хворих на ХВЕБ при виявленні дисоціативного типу реагування визначається низька продукція прозапальних ЦК (ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-12) та ІФН α , ІФН γ та ІЛ-2, тоді як рівні протизапальних ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1 виявляються достовірно підвищеними відповідно до активності процесу. Рівні протизапальних ЦК – ІЛ-4, ІЛ-10 та ТФР β 1 вірогідно перевищують контрольні показники в 5,7 рази та в 6 разів ($p < 0,01$). Гіпореактивний тип продукції ЦК характеризується низькими концентраціями досліджуваних рівнів ЦК, які не

перевищують контрольних значень і вірогідно не відрізняються ($p > 0,05$), та характеризується затяжним перебігом хвороби (патент на корисну модель №121021).

3. З метою прогнозування ризиків можливих ускладнень при ВЕБ-інфекції рекомендовано спосіб, що полягає у визначенні рівнів специфічних антитіл до фосфоліпідів (IgM і IgG), антитіл до нативної ДНК IgG (ADNA 2) і антитіл IgG до мікосом печінки і нирок (anti-LKM-1) (патент на корисну модель №123507).

4. На підставі визначення поліморфізму -1486Т/С гену TLR-9 при виявленні гомозиготної алелі СС -1486Т/С визначають високий ризик дисоціативного типу імунного реагування, який асоційований із затяжним перебігом хвороби та реконвалесценції, розвитком ускладнень. При визначенні генотипів ТС та ТТ можливе прогнозування гладкого перебігу ІМ. При виявленні гомозиготної алелі ТТ -1486Т/С визначають високий ризик гіпореактивного типу імунного реагування у хворих на ХВЕБ, який асоційований з високою частотою реактивації протягом року.

5. Для корекції імунних порушень у хворих на ВЕБ-інфекцію обґрунтована доцільність застосування у складі комплексної терапії препаратів алокін-альфа, що містить алоферон 1 мг у вигляді підшкірних ін'єкцій через день в дозі 1 мг алоферону (1 мл), 6 ін'єкцій на курс та віферон (1 000 000 МО) двічі на день з інтервалом у 12 годин протягом 10 днів у вигляді ректальних супозиторіїв та валацикловір (500 мг) у дозі 1000 мг (2 табл.) 3 рази на добу протягом 14 днів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Герпесвирусные инфекции (клиника, диагностика и терапия) : учебное пособие для врачей, интернов, ординаторов, студентов / [В. П. Малый, А. К. Полукчи, А. А. Швайченко, П. В. Нартов, О. В. Волобуева, Т. И. Лядова]; под. ред. В. П. Малого. Харьков: Прапор, 2008. 208 с.
2. Герпесвирусная инфекция : учебное пособие для врачей, интернов, ординаторов, студентов / [В. П. Малый, А. К. Полукчи, А. А. Швайченко, П. В. Нартов, О. В. Волобуева, Т. И. Лядова]; под. ред. В. П. Малого. Москва: Эксмо, 2009. 304 с.
3. Малый В. П., Лядова Т. И., Волобуева О. В. Современные направления медикаментозного лечения герпесвирусных инфекций // Международный медицинский журнал. 2009. Том 15, № 4. С. 76–80. *(Дисертантом зібрано та проаналізовано літературні джерела, підготовлено матеріал до друку).*
4. Лядова Т. И. Исследование профиля специфических аутоантител при различных формах ВЭБ-инфекции // Science Rise. 2016. № 8(4). С. 36–42.
5. Лядова Т. И. Изучение типов иммунного ответа при хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекции // Вісник проблем біології і медицини. 2016. Вип. 4, Т.1 (133). С. 162–167.

6. Лядова Т. И. Динамика аутоимунных маркеров у пациентов с различными формами ВЭБ-инфекции // The Unity of Science. 2016. August. P. 96–99.
7. Liadova T. Clinical features of the course of chronic Epstein-Barr viral infection depending on the type of immune reaction of organism // Eureka: Health Sciences. 2016. Vol. 5 (5). P. 44–50.
8. Research of level specific autoantibodies in different form of EBV-infection / T. Liadova, A. Kozlov, O. Volobueva, O. Gololobova // Family practice. 2017. Issue 6 (2). P. 1521–1531. *(Дисертантом проведено клінічне спостереження, статистичний аналіз, узагальнено результати).*
9. Cytokine production peculiarities in different forms of Epstein-Barr virus infection / M. Popov, T. Liadova, O. Volobuyeva, N. Shepileva, A. Kozlov, O. Sorokina // Georgian Medical News. 2017. № 2 (263). P. 55–59. *(Дисертантом проведено дослідження рівнів цитокінів, статистичний аналіз, сформульовано висновки).*
10. Типы иммунного ответа при различных формах Эпштейна-Барр вирусной инфекции / Т. И. Лядова, О. В. Волобуева, Н. В. Шепилева, О. В. Гололобова // Международный медицинский журнал. 2017. №1. Т. 23. С. 70–76. *(Здобувачем проведена статистична обробка даних, сформульовано висновки, підготовлено матеріал до друку).*
11. The cytokine profile of chronic Epstein-Barr virus infection / M. Popov, T. Liadova, A. Kozlov, O. Sorokina // Journal of Medicine and Philosophy. 2017. Issue 6 (2). Vol. (42). P.1375–1383. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів).*
12. Liadova T., Volobuyeva O., Shepileva N. Clinical and immunological characteristics of acute infectious mononucleosis // International Health. 2017. №1 (32). P.1456–1465. *(Дисертантом проведено клінічне спостереження, статистичний аналіз, сформульовано висновки).*
13. Modern directions of herpesvirus infections pharmacotherapy / T. I. Lyadova, O. V. Volobueva., O. M. Savvo, K. S. Sanina., S. G. Malanchuk // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия Медицина. 2013. № 26. С. 17–22. *(Дисертантом вивчено дані сучасної світової літератури, проаналізовано та проведено узагальнення отриманих даних).*
14. Shustval M. F., Lyadova T. I., Volobueva O. V. Clinical course of myocarditis in infectious mononucleosis in adult // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия Медицина. 2014. № 27. С. 38–44. *(Дисертантом проведено клінічне спостереження, статистичний аналіз, сформульовано висновки).*
15. Шустваль Н. Ф., Лядова Т. И., Волобуева О. В. Кардиальные осложнения при инфекционном мононуклеозе у взрослых пациентов // Международный медицинский журнал. 2014. Т. 20, № 2. С. 90–96. *(Здобувачем проведена статистична обробка даних, сформульовано висновки, підготовлено матеріал до друку).*

16. Liadova T. Frequensy of verification of genotypes of Epstein-Barr virus in patients with different forms of infection // British medical bulletin. 2017. Issue (1), Vol. 124. P. 862–869.
17. Дослідження динаміки показників імунної відповіді у хворих на ВЕБ-інфекцію / Т. І. Лядова, О. В. Волобуєва, О. В. Загороднева, А. П. Гаміловська // Український журнал біології, медицини та спорту. 2017. № 5(7). С. 92–100. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*
18. Лядова Т. Вивчення генотипів вірусу Епштейна-Барр у пацієнтів з різними формами інфекції // Вісник проблем біології і медицини. 2017. Вип. 4. Т. 2(140). С. 9–14.
19. Лядова Т. Дослідження поширеності поліморфізму гену TLR-9 типу у хворих на інфекційний мононуклеоз, викликаний вірусом Епштейна-Барр // Science Rise. 2017. № 10 (18). С. 24–28.
20. Popov M., Liadova T. Polymorphism prevalence of TLR-9 gene in patients with infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus [Electronic resource] // Анналі Мечниковського інституту. 2017. №3. С. 18–22. http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/. *(Дисертантом проведено клінічне дослідження, статистичну обробку, сформульовано висновки).*
21. Lyadova T. Types of immune response for various Epstein-Barr forms of viral infection // Вестник Харьковського національного університета ім. В. Н. Каразіна. Серія Медицина. 2017. № 34. С. 11–18.
22. Лядова Т. И. Генотипы вируса Эпштейна-Барр у пациентов с различными формами ВЭБ-инфекции // Проблеми безперервної медичної науки та освіти. 2017. № 27(3). С. 60–65.
23. Лядова Т. І. Поширеність поліморфізму гену TLR 9 типу у хворих з хронічними формами ВЕБ-інфекції // Інфекційні хвороби. 2018. №1. С. 33–39.
24. Nartov P., Lyadova T. Diagnostic importance of lactoferrin in the cerebrospinal fluid in patients with viral meningitis // Abstract book «Science and education in Australia, America and Eurasia: fundamental and applied science» 1st International conference (Melbourne, June 25). Melbourne, 2014. P. 599–602. *(Дисертантом проведено аналіз результатів досліджень, подано роботу до видання).*
25. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. Вплив поліморфізму гена інтерлейкіна-28 на перебіг хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції // Світ біології та медицини. 2017. № 3(61). С. 68–72. *(Дисертантом проведено клінічне дослідження, статистичну обробку, узагальнення даних, сформульовано висновки).*
26. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. Дослідження цитокінового профілю у хворих хронічною Епштейна-Барр вірусною інфекцією з різними генотипами інтерлейкіну-28 // Експериментальна та клінічна медицина. 2017. Вип.3. С. 39–44. *(Здобувачем проведено клінічне дослідження, статистичну обробку, сформульовано висновки).*

27. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. Вплив поліморфізму гена інтерлейкіну-28 на ефективність противірусної терапії у пацієнтів з хронічною Епштейна-Барр вірусною інфекцією // Проблеми екології та медицини. 2017. Т. 21, № 1-2. С. 26–29. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, підготовлено до друку).*
28. Сорокіна О. Г. Ефективність противірусної терапії у пацієнтів з різними генотипами інтерлейкіну-28 при хронічних формах Епштейна-Барр вірусної інфекції/ О. Г. Сорокіна, М. М. Попов, Т. І. Лядова // Актуальні проблеми сучасної медицини. 2017. Т. 17, Вип. 4(60). С. 227–232. *(Здобувачем проведено дослідження, сформульовано висновки та узагальнення даних).*
29. Спосіб визначення можливих наслідків гострої вірусної інфекції Епштейна-Барр : пат. №120402 Україна. u 2017 05512 ; заявл. 06.06.17 ; опубл. 25.10.17, Бюл. 20. 4 с. / М. М. Попов, Т. І. Лядова *(Дисертантом розроблено спосіб оцінки тяжкості хвороби, підготовлено його до видання).*
30. Спосіб визначення можливого перебігу хронічної Епштейна-Барр інфекції : пат. №121021 Україна. u 2017 05527 ; заявл. 06.06.17 ; опубл. 27.11.17, Бюл. 22. 4 с. / М. М. Попов, Т. І. Лядова, О. Г. Сорокіна *(Дисертантом розроблено спосіб оцінки перебігу хвороби, підготовлено до видання).*
31. Спосіб диференційної діагностики тяжкості міокардиту при інфекційному мононуклеозі : пат. №123507 Україна. u 2017 10085 ; заявл. 18.10.17 ; опубл. 26.02.18, Бюл. 4. 5 с. / Т. І. Лядова, О. В. Волобуєва *(Дисертантом розроблено спосіб оцінки тяжкості міокардиту, підготовлено до видання).*
32. Диагностика и лечение миокардита у больных инфекционным мононуклеозом / Н. Ф. Шустваль, Т. И. Лядова, О. В. Волобуева, К. И. Ещенко // Актуальні проблеми клініки, профілактики ВІЛ-інфекції і захворювань з парентеральним шляхом передачі: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (Харків, 20-21 жовтня 2011 року). Харків, 2011. С. 124–126. *(Дисертантом проведено дослідження, статистичну обробку результатів, сформульовано висновки).*
33. Шустваль М. Ф., Лядова Т. І., Волобуєва О. В. Діагностика і лікування кардіальних ускладнень при інфекційному мононуклеозі у дорослих // Фармакотерапія і профілактика інфекційних та паразитарних хвороб : матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції інфекціоністів (Тернопіль, жовтень 2014 року). ТДМУ Укрмедкнига, 2014. С. 219–221. *(Дисертантом проведено дослідження, узагальнення даних, статистичну обробку результатів).*
34. Лядова Т. І., Волобуєва О. В., Юрченко І. С. Динаміка змін клітинної та гуморальної ланок імунітету у дорослих хворих на інфекційний мононуклеоз // Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, присвяченій 170-й річниці з дня народження І. І. Мечникова. (Харків, 14-15 травня 2015 р.). Харків, 2015. С. 70. *(Здобувачем проведено оцінку вмісту імунних показників, статистичну обробку, підготовлено матеріал до друку).*

35. Лядова Т. І., Волобуєва О. В. Динаміка імунологічних показників у дорослих хворих на інфекційний мононуклеоз // Інфекційні хвороби: поступи і проблеми в діагностиці, терапії та профілактиці : матеріали ІХ з'їзду інфекціоністів України (Тернопіль, 7-9 жовтня 2015 р.). Тернопіль, 2015. С. 173–174. *(Дисертантом проведено дослідження, статистичну обробку результатів, сформульовано висновки).*
36. Лядова Т. І., Волобуєва О. В. Динаміка імунних порушень у дорослих хворих на інфекційний мононуклеоз // Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти : матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (Суми, 15-16 червня 2016 р.). Суми, 2016. С. 41–43. *(Здобувачем проведено оцінку вмісту імунних показників, статистичну обробку).*
37. Дослідження динаміки рівнів аутоімунних маркерів у дорослих хворих на EBV-інфекцію / Т. І. Лядова, О. В. Волобуєва, Н. В. Касьян, А. П. Гаміловська // Здобутки та перспективи боротьби з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація) : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів (Харків, 18-19 травня 2017 р.). Харків, 2017. С. 78–79. *(Дисертантом проаналізовано вмісту показників, проведено статистичну обробку).*
38. Лядова Т. І., Волобуєва О. В. Изучение генотипов вируса Эпштейна-Барр при различных формах заболевания // Здобутки та перспективи боротьби з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація) : матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів (Харків, 18-19 травня 2017 р.). Харків, 2017. С. 80. *(Дисертантом проведено аналіз частоти генотипів, статистичну обробку результатів, підготовлено до друку).*
39. Лядова Т. Поширеність поліморфізму гену TLR-9 типу у хворих на інфекційний мононуклеоз // Фундаментальные и прикладные исследования в современной науке : матеріали праць V наукової конференції. Харків, 2017. С. 24.

АНОТАЦІЯ

Лядова Т. І. Характеристика імуно-генетичних порушень у патогенезі, клінічних проявах та наслідках ВЕБ-інфекції та їх корекція. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія. – ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», Харків, 2018.

Дисертація присвячена вивченню характеру, ступеню та особливостей імунних порушень у хворих з гострими та хронічними формами ВЕБ-інфекції та ефективності їх корекції.

Вперше у хворих на інфекційний мононуклеоз (ІМ) та хронічні форми ВЕБ-інфекції (ХВЕБ) проведено комплексні дослідження імунних та аутоімунних розладів, які характеризуються порушеннями з боку клітинної та

гуморальної ланок, продукції цитокінів (ЦК), підвищенням рівнів аутоімунних маркерів. Генотипування ДНК ВЕБ дозволило встановити переважне домінування та поширення генотипу ВЕБ-1 при різних формах ВЕБ-інфекції у Харківському регіоні. У хворих на ВЕБ-інфекцію виявлено порушення у системі клітинної та гуморальної ланок імунітету та різноспрямованість імунної відповіді при гострому та хронічному перебігу захворювання. На підставі проведеного комплексного дослідження прозапальних, протизапальних ЦК у пацієнтів з ВЕБ-інфекцією, отримано нові дані щодо характеру патогенетичних змін та встановлено їх диференційно-діагностичне значення для визначення перебігу та наслідків хвороби. Виявлено різноспрямовані зміни синтезу досліджуваних ЦК, що дозволило встановити чотири типи відповіді: нормореактивний, дисоціативний, гіпореактивний і гіперреактивний.

Аналіз поліморфізму -1486 Т/С гену TLR-9 дозволив виявити асоціацію генотипу СС з ІМ, та генотипу ТС з ХВЕБ. Виявлені особливості у продукції імунних показників, ЦК, аутоімунних маркерів, поліморфізму -1486 Т/С гену TLR-9 дозволили доповнити концепцію імуногенезу ВЕБ-інфекції.

Науково обґрунтовано і доведено ефективність алоферону (алокін-альфа), та рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2\beta$ (віферон) в корекції імунних порушень у хворих на ВЕБ-інфекцію, що сприяє достовірній позитивній динаміці основних клінічних симптомів, показників цитокінового профілю, імунограми. Отримані позитивні клініко-імунологічні дані свідчать про доцільність запропонованої схеми в комплексній терапії хронічних форм ВЕБ-інфекції.

Ключові слова: вірус Епштейна-Барр, інфекційний мононуклеоз, хронічна ВЕБ-інфекція, клініка, імунологічні показники, цитокіни, аутоантитіла, TLR-9, імунокорекція.

АННОТАЦИЯ

Лядова Т.И. Характеристика иммуно-генетических нарушений в патогенезе, клинических проявлениях и исходах ВЭБ-инфекции и их коррекция. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук (доктора философии) по специальности 14.03.08 – иммунология и аллергология. – Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины», Харьков, 2018.

Диссертация посвящена изучению характера, степени и особенностей иммунных нарушений у больных с острыми и хроническими формами ВЭБ-инфекции и эффективности их коррекции.

Впервые у больных инфекционным мононуклеозом (ИМ) и хроническими формами ВЭБ-инфекции (ХВЭБ) проведено комплексное исследование иммунных и аутоиммунных расстройств, характеризующихся нарушениями со стороны клеточного и гуморального звеньев, продукции цитокинов (ЦК), повышением уровней аутоиммунных маркеров. Генотипирование ДНК ВЭБ позволило установить преимущественное доминирование и распространение генотипа ВЭБ-1 при различных формах ВЭБ-инфекции в Харьковском регионе.

У больных ВЭБ-инфекцией выявлены нарушения в системе клеточного и гуморального звеньев иммунитета и разнонаправленность иммунного ответа при остром и хроническом течении заболевания. На основании проведенного комплексного исследования провоспалительных, противовоспалительных ЦК у пациентов с ВЭБ-инфекцией, получены новые данные о характере патогенетических изменений и установлено их дифференциально-диагностическое значение для определения течения и исходов заболевания. Выявлено разнонаправленные изменения синтеза исследуемых ЦК, что позволило установить четыре типа ответа: нормореактивный, диссоциативный, гипореактивный и гиперреактивных.

Анализ полиморфизма -1486Т/С гена TLR-9 позволил выявить ассоциации генотипа СС с ИМ, а генотипа ТС с ХВЭБ. Выявленные особенности в продукции иммунных показателей, ЦК, аутоиммунных маркеров, полиморфизма -1486Т/С гена TLR-9 позволили дополнить концепцию иммуногенеза ВЭБ-инфекции.

Научно обоснована и доказана эффективность аллоферона (аллокин-альфа) и рекомбинантного интерферона- $\alpha 2\beta$ (виферона) в коррекции иммунных нарушений у больных ВЭБ-инфекцией, что способствует достоверной положительной динамике основных клинических симптомов, показателей цитокинового профиля, иммунограммы. Полученные положительные клинико-иммунологические данные свидетельствуют о целесообразности предлагаемой схемы в комплексной терапии хронических форм ВЭБ-инфекции.

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барр, инфекционный мононуклеоз, хроническая ВЭБ-инфекция, клиника, иммунологические показатели, цитокины, аутоантитела, TLR-9, иммунокоррекция.

SUMMARY

Lyadova T.I. Role of immune, autoimmune and genetic disorders in pathogenesis, clinical manifestations and consequences of EBV-infection and methods of its correction. – Qualifying scientific work as a manuscript.

The dissertation for the scientific degree of doctor of medical science by specialty 14.03.08 – immunology and allergology – SE «I.I. Mechnikov Institute of microbiology and immunology of the Ukrainian», Kharkiv, 2018.

The dissertation is devoted to the study of the nature, degree and features of immune disorders in patients with acute and chronic forms of EBV infection and the effectiveness of their correction.

Comprehensive studies of immune and autoimmune disorders characterized by impaired cellular and humoral links, production of cytokines, and an increase in the levels of autoimmune markers were conducted for the first time in patients with infectious mononucleosis (IM) and chronic forms of EBV infection (CEBV). Genotyping of EBV DNA was carried out, which allowed to determine the predominant dominance and distribution of the WEB-1 genotype both among patients with IM and chronic forms of EBV infection in the Kharkov region.

The scientific data on changes in the system of cellular and humoral immunity and immune responses in the acute and chronic course of the disease are supplemented. A comprehensive study of cytokines in patients with EBV infection has been performed.

Based on the study of proinflammatory, anti-inflammatory cytokines in patients with EBV-infection, new data on the nature of pathogenetic changes were obtained and their differential diagnostic value for determining the course and consequences of the disease was established. Multidirectional changes in the synthesis of the cytokines studied have been identified, which have made it possible to establish four types of response: normoreactive, dissociative, hyporeactive, and hyperreactive. A system for monitoring the course and consequences of EBV infection is recommended based on the definition of cytokines levels in order to determine the nature and type of response. In patients with IM, when a normoreactive and hyperreactive type of response is identified, it is possible to diagnose a favorable course of the disease. The detection of a dissociative type indicates a prolonged course of the disease with possible chronization.

Analysis of the polymorphism -1486 T/C of the TLR-9 gene made it possible to find out that in patients with infectious mononucleosis, in the study of the frequency of occurrence of individual genotypes, the dominance of CC and TT genotypes was detected in comparison with the heterozygous TC genotype. The TLR-9 polymorphism -1486 T/C frequency distribution for different genotypes has shown the specificity of changes in the CC genotype in patients with IM and the absence of such for the genotypes of TT and TC. In the case of HEBV, the frequency of occurrence of individual genotypes revealed the dominance of the TC genotype, compared with homozygous genotypes of TT and CC. The study of frequency distribution of the -1486 T/C polymorphism of the TLR-9 gene demonstrated the specificity of changes in the TC genotype in patients with HEBV and the absence of such for the genotypes of TT and CC.

Scientifically substantiated and proved the effectiveness of the allokin alpha preparation containing aloferone 1 mg and viferon containing recombinant interferon- $\alpha 2\beta$ in the complex correction of immune disorders in patients with EBV infection, which contributes to a credible positive dynamics of the main clinical symptoms, cytokine profile, immunograms. The inclusion of allokin alpha in complex therapy in chronic forms of the EBV infection has a pronounced effect on the cytokine profile ($p < 0,05$), immune parameters ($p < 0,05$) compared with base therapy.

Key words: Epstein-Barr virus, infectious mononucleosis, chronic EBV-infection, clinic, immunological parameters, cytokines, autoantibodies, TLR-9, immunocorrection.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАт	–	аланінамінотрансфераза
анти-НСV сум	–	сумарні антитіла до гепатиту С
АсАт	–	аспартатамінотрансфераза
ВА	–	валацикловір
ВЕБ	–	вірус Епштейна-Барр
ВГЛ - 6	–	вірус герпесу людини 6-го типу
ВПГ	–	вірус простого герпесу
ДНК	–	дезоксирибонуклеїнова кислота
ІЛ	–	інтерлейкіни
ІМ	–	інфекційний мононуклеоз
ІФА	–	імуноферментний аналіз
ІФН	–	інтерферон
ПЛР	–	полімеразна ланцюгова реакція
РБТЛ	–	реакція бласттрансформації лімфоцитів
СК	–	сироватка крові
ТФРβ1	–	трансформуючий фактор росту бета
ФНП-α	–	фактор некрозу пухлин альфа
ХВЕБ	–	хронічна Епштейна-Барр вірусна інфекція
ЦК	–	цитокіни
ЦМВ	–	цитомегаловірус
CD	–	клітина, що містить на молекулу CD (Cluster Disignation)
ЕА-IgG	–	early antigens – immunoglobulin G
ЕВNA- IgG	–	Epstein-Barr nuclear antigens– immunoglobulin G
Ig M, G	–	імуноглобуліни класу М, G
HBsAg	–	поверхневий антиген вірусу гепатиту В
TLR	–	Toll-like receptors
Th	–	T-helper
SNP	–	Single nucleotide polymorphism
VCA-IgM	–	viral capsid antigens – immunoglobulin M