

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

СОРОКІНА ОЛЬГА ГЕОРГІЇВНА

УДК: 616.98:578.825.13]-036.12-078-092.19-085.37(043.3)

**ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА
ХРОНІЧНУ ВЕБ-ІНФЕКЦІЮ ТА ОПТИМІЗАЦІЯ ТЕРАПІЇ ШЛЯХОМ
ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОЇ ІМУНОКОРЕКЦІЇ**

14.03.08 – імунологія та алергологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

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

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

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Фролов Олександр Кирилович**, ДВНЗ «Запорізький національний університет» МОН України, професор кафедри імунології та біохімії;

доктор медичних наук, професор **Бабаджан Володимир Данилович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, професор кафедри внутрішньої медицини № 2 і клінічної імунології та алергології.

Захист відбудеться « 27 » березня 2019 р. о 14.00 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 « 26 » лютого 2019 р.

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

Воронкіна І.А.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Актуальною проблемою клінічної імунології та інфектології на теперішній час є вірусні захворювання людини, що асоціюються з затяжним перебігом, довічною персистенцією, хронізацією процесу та несприятливими наслідками хвороби. Серед численних факторів, які безпосередньо впливають на імунну систему, особливої уваги заслуговують герпесвірусні інфекції, які на сьогоднішній день характеризуються широким розповсюдженням серед людської популяції (Боднар В. А., 2013; Кіш П. П. та ін., 2013).

Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ) відноситься до сімейства *Herpesviridae* та є однією з найпоширеніших інфекцій у світі. Рівень інфікованості дорослого населення становить 90–95 %, а дитячого, за даними різних авторів, - від 50 до 80 % (Крамарев С. О. та ін., 2013, Dunmire S. K. et al., 2015). Здатність ВЕБ до хронічної персистенції в організмі людини після первинного інфікування з реактивацією під дією різних імуносупресивних чинників може зумовити виникнення хронічних форм захворювання (Глей А. І., 2009, Дуда О. К. та ін., 2015). Сучасні публікації свідчать про ключову роль імунної системи в розвитку інфекції, обумовленої ВЕБ. У зв'язку з тропністю даного вірусу до лімфоїдної тканини, захворювання, викликані ВЕБ, пов'язують з імуносупресією, що призводить до транзиторного або стійкого вторинного імунодефіциту (Окапо М., 2011, Баричева Л. Ю. та ін., 2014).

В останні роки спостерігається зростання вперше діагностованих випадків хронічної ВЕБ-інфекції. Це пов'язано як з імунодепресією, яка зумовлена різноманітними несприятливими факторами, так і впровадженням нових методів лабораторної діагностики ВЕБ-інфекції (Горейко Т. В., 2011, Покровська Т. В., 2013, Дуда О. К. та ін., 2015).

Встановлено, що при ВЕБ-інфекції формуються імунні порушення, що стосуються як факторів вродженого так і адаптивного імунітету. Наявність змін у імунній системі, в свою чергу, призводить до більш важкого перебігу, збільшення частоти ускладнень (Баричева Л. Ю. та ін., 2014).

На даний час загальноприйнятих схем лікування хронічної ВЕБ-інфекції (ХВЕБ-інфекції) не існує. Не визначені критерії до застосування імунокорегуючої терапії (Крамарев С. О. та ін., 2008, Дуда О. К. та ін., 2015). Чисельні дослідження демонструють імунодепресивний потенціал ВЕБ та патогенетичні механізми, що сприяють формуванню імунної недостатності (Баричева Л. Ю. та ін., 2014). Сучасні уявлення про вплив ВЕБ на організм людини та дані про наявний ризик розвитку серйозних, нерідко фатальних захворювань, свідчать про необхідність проведення терапії та диспансерного спостереження у хворих на ХВЕБ (Дуда О. К. та ін., 2015).

Таким чином, вивчення характеру імунних порушень, дослідження факторів, що впливають на перебіг захворювання та розробка ефективних схем

терапії з урахуванням диференційованого підходу при імунокорекції у хворих на ХВЕБ-інфекцію обґрунтовує актуальність обраної теми дисертації.

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

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи (НДР) «Вивчення феномену мікоплазмено-герпесвірусної асоціації при інфекційній патології дихальних шляхів» (№ держреєстрації 0114U000243) ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» та є фрагментом НДР 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 (згідно з договором про науково-практичне співробітництво між ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» та Харківським національним університетом імені В. Н. Каразіна). Дисертантом проведено дослідження стану клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунітету, цитокинового статусу у хворих на ХВЕБ-інфекцію, вивчено поліморфізм гену інтерлейкіну-28В (ІЛ), запропоновано оптимізувати терапію шляхом диференційованої імунокорекції.

Мета і завдання дослідження. *Мета* – визначити характер імунних порушень у дорослих хворих на ХВЕБ-інфекцію та запропонувати клініко-імунологічні підходи для оптимізації терапії шляхом диференційованої імунокорекції.

Завдання:

1. Надати клініко-імунологічну та біохімічну характеристику перебігу ХВЕБ-інфекції у дорослих.
2. Вивчити стан гуморальної, клітинної та фагоцитарної ланок імунітету у хворих на ХВЕБ-інфекцію.
3. Визначити цитокиновий статус хворих на ХВЕБ-інфекцію та потенціал клітин до продукції основних цитокінів протівірусного захисту.
4. Дослідити поліморфізм гену ІЛ-28В у хворих на ХВЕБ-інфекцію та виявити його вплив на перебіг захворювання, прогнозування та ефективність терапії.
5. Визначити імунологічні показники для застосування імунокоректорів натрія оксодигідроакридинілацетату (Неовіру) та рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2\beta$ (Альфарекіну).
6. Вивчити ефективність застосування протівірусного препарату валацикловіру та імунокоректорів Неовіру та Альфарекіну в комплексній терапії хворих на ХВЕБ-інфекцію.

Об'єкт дослідження: ХВЕБ-інфекція.

Предмет дослідження: комплекс клінічних, імунологічних, вірусологічних, серологічних та генетичних параметрів у хворих на ХВЕБ-інфекцію.

Методи дослідження: загальноклінічні (обстеження пацієнтів на хронічну форму ВЕБ), імунологічні (вивчення стану фагоцитарного, гуморального та клітинного імунітету, вмісту цитокінів), імуноферментні (визначення вмісту антитіл до антигенів ВЕБ) та молекулярно-генетичні (визначення ДНК ВЕБ, дослідження поліморфізму ІЛ-28В) дослідження хворих на ХВЕБ-інфекцію, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше надана комплексна клініко-імунологічна характеристика перебігу хронічних форм ВЕБ-інфекції у поєднанні з рівнем специфічних антитіл у крові та вірусним навантаженням.

Виявлено наявність слабких прямих кореляційних залежностей між кількістю рецидивів захворювання та вмістом специфічних IgG до EBNA ($r=+0,32$) та IgG до VCA ($r=+0,31$). Встановлено помірні прямі кореляційні залежності між частотою рецидивів ВЕБ-інфекції та реплікативною активністю вірусу ($r=+0,42$).

Вивчення цитокінового статусу хворих та потенціалу клітин до продукції ІФН- α , ІФН- γ , ІЛ-2, ІЛ-12 дозволило доповнити дані щодо характеру імунних змін та участі їх в патогенезі ХВЕБ-інфекції, встановити їх диференційно-діагностичне значення для прогнозування перебігу хвороби.

Вперше досліджено вплив поліморфізму гену ІЛ-28В на перебіг захворювання та прогнозування ефективності терапії хворих на ХВЕБ-інфекції. Наявність генотипу СС у локусі rs12979860 ІЛ-28В, дозволяє оцінювати його як позитивну асоціацію з низьким рівнем вірусного навантаження, високою ефективністю противірусної терапії, порівняно з аналогічними показниками для гомозиготного генотипу ТТ. Розподіл частот поліморфізму гену ІЛ-28В продемонстрував асоціацію генотипу ТТ з високим рівнем вірусного навантаження, змінами у клітинній та фагоцитарній ланці імунітету.

Вперше визначені формули імунних порушень у хворих на ХВЕБ-інфекцію та визначені імунні показники застосування натрія оксидигідроакридинілацетату (Неовіру) та рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2\beta$ (Альфарекіну). Встановлено взаємозв'язки між ефективністю терапії, характером та ступенем імунних порушень, а також з активністю вірусної реплікації.

Запропонована система моніторингу та прогнозування ефективності терапії, визначено критерії для призначення диференційованої імунокорекції. Вперше науково обґрунтовано диференційний підхід до застосування натрія оксидигідроакридинілацетату (Неовіру) та рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2\beta$ (Альфарекіну) при корекції імунних порушень у хворих на ХВЕБ-інфекцію з урахуванням імунореактивності організму відповідно до формули імунних порушень: 1) РБТЛ на ФГА $_1$ ↓ ФЧ $_1$ ↓ РБТЛ на ІЛ-2 $_1$ ↓, 2) ІФН- α_2 ↓ ІФН- γ_2 ↓ РБТЛ на ФГА $_1$ ↓, 3) ІФН- γ інд. $_3$ ↓ ІФН- α інд. $_3$ ↓ ІЛ-2 інд. $_2$ ↓.

Встановлено, що така терапія сприяє відновленню імунореактивності організму, зниженню вірусного навантаження, що позитивно впливає на

клінічний перебіг захворювання, запобігає виникненню рецидивів впродовж року.

Практичне значення одержаних результатів. З метою підвищення ефективності лікування та корекції імунних розладів у хворих на ХВЕБ-інфекцію запропоновано систему моніторингу прогностичних показників, що дозволяє планувати призначення адекватної терапії, об'єктивно оцінювати ефективність її проведення, зменшити частоту рецидивів захворювання та знизити вірогідність розвитку ускладнень (патент на корисну модель №120402).

Запропоновано імуно-діагностичний алгоритм, який дає змогу проводити індивідуалізовану імунокорекцію, прогнозувати ефективність лікування та оптимізувати терапію при первинному зверненні за медичною допомогою. Застосування імуно-діагностичного алгоритму дає можливість прогнозувати несприятливий перебіг ХВЕБ-інфекції та своєчасно призначати адекватні за строками схеми етіотропної та імунокорегуючої терапії.

Доведено ефективність диференційованого підходу при застосуванні схем терапії у комбінації валацикловіру з натрія оксодигідроакридинілацетатом (Неовіром) та валацикловіру з рекомбінантним інтерфероном- $\alpha 2\beta$ (Альфарекіном) в комплексній корекції імунних порушень у хворих з хронічними формами ВЕБ-інфекції, згідно з формулою імунних розладів, що спричиняє достовірний позитивний вплив на динаміку основних клінічних симптомів та показників імунітету.

Основні матеріали й положення дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес і наукову роботу кафедри мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології Дніпропетровської медичної академії (акт впровадження від 07.11.2018 р.), кафедри інфекційних хвороб Запорізької медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 05.11.2018 р.), кафедри пропедевтики педіатрії та медичної генетики Львівського національного університету імені Данила Галицького (акт впровадження від 01.09.2017 р.), кафедри клінічної імунології та мікробіології Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 17.04.2017 р.), кафедри загальної та клінічної імунології та алергології Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна (акт впровадження від 01.11.2018 р.), кафедри інфекційних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 11.12.2017 р.), кафедри інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 04.12.2017 р.), кафедри мікробіології, вірусології та імунології імені проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 01.12.2017 р.), кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти (акт впровадження від 05.02.2018 р.), дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 04.09.2017 р.), кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет (акт впровадження від 22.10.2018 р.), кафедри гігієни та екології №1 Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 02.01.2019 р.), впроваджено у лікувальну практику Міської поліклініки №16 м. Мінськ (Республіка Білорусь) (акт впровадження від 26.11.2018 р.), Обласна комунальна установа «Лікарня швидкої медичної допомоги» м. Чернівці (акт впровадження від 22.10.2018 р.), комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна клінічна інфекційна лікарня» (акт впровадження від 07.09.2018 р.), комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна дитяча лікарня №16» Харківської міської ради (акт впровадження від 31.08.2018 р.), комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна дитяча клінічна лікарня» (акт впровадження від 06.11.2018 р.), комунального некомерційного підприємства «Центр первинної медико-санітарної допомоги міста Ізюм» Ізюмської міської ради» (акт впровадження від 04.05.2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Матеріали, представлені у роботі, є особистим внеском здобувача у вирішенні задачі щодо визначення імунологічних порушень, генетичних маркерів та клінічних проявів у хворих на ХВЕБ-інфекцію, що дозволило вдосконалити діагностику, розробити алгоритм прогнозування перебігу та оптимізувати терапію методом диференційованої імунокорекції. Завдання дослідження сформовані дисертантом під керівництвом наукового керівника доктора медичних наук, професора М. М. Попова. Дисертантом самостійно проведено аналіз сучасних наукових літературних даних, інформаційно-патентний пошук за темою дисертації, самостійно проводилися консультації та лікування хворих, особисто проведено дослідження, статистичну обробку, узагальнення та інтерпретацію отриманих даних, сформульовано висновки та практичні рекомендації.

Персональний внесок автора у всіх опублікованих зі співавторами працях наводиться за текстом дисертації та в авторефераті у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень оприлюднено на: IX International scientific interdisciplinary congress (Kharkiv, Ukraine, May 20, 2016), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Мечниковські читання – 2016. Актуальні проблеми парентеральних інфекцій» (Харків, 12-13 травня 2016 року), міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 16 – 17 січня 2017 року), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Проблеми сьогодення в педіатрії», (Харків, 9 лютого 2017 року), науковій конференції «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 30-31 березня 2017 року), X International scientific interdisciplinary congress (Kharkiv, Ukraine, May 24-26, 2017), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Медицина ХХІ століття» (Харків, 23 листопада 2017

року), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями», присвяченої 130-річчю Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» (Харків, 18-19 травня 2017 року), Всеукраїнській науково-практичній конференції і пленумі ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних та паразитарних хвороб у сучасних умовах» (Житомир, 5-6 жовтня 2017 року), науково-практичній конференції молодих вчених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 17 листопада, 2017 року), Республіканській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Новые концепции и методы в микробиологии, вирусологии и иммунологии» (Республіка Білорусь, Мінськ, 02-03 листопада 2017 року), XVI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Питання імунології в педіатрії» (Київ, 08-09 листопада, 2018 року), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю «Медицина XXI століття» (Харків, 23 листопада 2018 року).

Публікації за темою дисертації. За матеріалами дисертації опубліковано 25 праць (8 одноосібно), з них 15 статей (10 - у наукових виданнях України, 3 – у міжнародних виданнях, 9 – включено до наукометричних баз, у тому числі 2 – у Scopus та 1 – Web of Science), 1 патент України на корисну модель; 9 тез доповідей на наукових конференціях, конгресах та пленумах.

Структура та обсяг дисертації. Робота викладена за загальноприйнятою формою на 189 сторінках машинописного тексту, включає анотацію, вступ, огляд літератури, матеріали і методи, чотири розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки та практичні рекомендації, список використаних джерел, що містить 181 посилання (кирилицею – 85, латиницею – 96), додатки. Дисертація ілюстрована 20 таблицями і 26 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Об'єкт та методи дослідження. Програма дослідження була розроблена відповідно до поставленої мети та завдань із використанням системного підходу. Виконано комплексне клініко-лабораторне обстеження 128 хворих на ХВЕБ-інфекцію (період реактивації) – 68 жінок (53,1%) та 60 чоловіків (46,9%).

Діагноз ХВЕБ було встановлено на підставі анамнезу, скарг, наявності специфічних антитіл до антигенів ВЕБ та виявлення ДНК вірусу в крові. Включення пацієнтів до програми обстеження та лікування проводилося за наступними критеріями: встановлений діагноз ХВЕБ-інфекції, наявність клінічних проявів активації ХВЕБ-інфекції; вік хворих від 18 до 45 років, добровільна згода пацієнта на участь в дослідженні. Критеріями виключення були вроджені або набуті імунодефіцити, вживання імуномодельючих, стероїдних засобів впродовж останніх 6 місяців, наявність хронічної супутньої патології.

Групу порівняння складали 30 клінічно здорових людей віком від 20 до 35 років без ознак гострої або будь-якої хронічної патології. В анамнезі життя цих пацієнтів були відсутні дані про перенесений інфекційний мононуклеоз, при дослідженні крові ДНК ВЕБ не було виявлено.

Під час дослідження дотримувалися положень Гельсінської Декларації Всесвітньої Медичної Асоціації, етичного кодексу лікаря України. 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) та Настанови з клінічних досліджень МОЗ України №42-7.0:2005 «Лікарські засоби. Належна клінічна практика» (2005).

Клінічне обстеження передбачало вивчення скарг, епідеміологічного анамнезу, анамнезу захворювання та життя, об'єктивний огляд пацієнтів, загальноклінічні та інструментальні дослідження в динаміці. Хворим проводилося обстеження з акцентом на стан периферійних лімфовузлів, органів грудної та черевної порожнини, показники діяльності серцево-судинної системи, термометрію, ультразвукове обстеження, рентгенографію, загальноприйняті (клінічний аналіз крові та сечі) та біохімічні дослідження, дослідження стану гуморальної, клітинної та фагоцитарної ланок імунітету.

Матеріалом для дослідження була кров хворих на ХВЕБ-інфекцію, отримана в період загострення. Клінічні та інструментальні дослідження проводилися у відповідних лабораторіях комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна клінічна інфекційна лікарня»; молекулярно-генетичні дослідження та вивчення активності вірусної реплікації проводились у лабораторії «Вірола» (ліцензія МОЗ України № 597055 від 30.01.2012 р.), у лабораторії «Synovo» (ліцензія МОЗ України №599651 від 26.12.2011 р.), серологічні дослідження – у лабораторії «Аналітика» (ліцензія МОЗ України № 554074 від 20.05.2010 р.).

Специфічні противірусні антитіла (IgG-VCA, IgG-EA, та IgG-EBNA) в сироватці крові визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу (тІФА) наборами виробництва «IBL» (Німеччина) і «Вектор-Бест» (РФ) згідно з інструкціями виробника.

Молекулярно-генетичні дослідження включали визначення реплікативної активності ВЕБ, яку оцінювали на підставі виявлення ДНК ВЕБ в крові кількісним та якісним методом ПЛР.

Для виявлення ДНК ВЕБ методом ПЛР з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією продуктів ампліфікації використовували набори реагентів «Амплісенс» (ИнтерЛабСервис, РФ). Виділення ДНК із зразків проводили за допомогою набору для виділення ДНК «RIBO-prep» (ИнтерЛабСервис, РФ), використовуючи методику преципітації ДНК. Ампліфікацію ДНК проводили з використанням набору реагентів «Амплісенс» (ИнтерЛабСервис, РФ) на ампліфікаторі ДТ-96 (ДНК-технологія, РФ).

Основні субпопуляції лімфоцитів периферичної крові (CD3⁺; CD4⁺; CD8⁺; CD16⁺; CD22⁺) визначали за допомогою проточної лазерної цитометрії на апараті FACS-Calibur (США) з використанням відповідних моноклональних антитіл.

Для дослідження вмісту Ig класів А, М, G в крові застосовували метод простої радіальної імунодифузії в гелі (за методом Манчіні).

Для дослідження цитокінів профілю (ФНП-α, ІЛ-1β, ІЛ-6, ІФН-α, ІФН-γ та ІЛ-10) в сироватці крові хворих на ХВЕБ-інфекцію використовували метод тІФА з використанням наборів реагентів ЗАТ «Вектор-Бест» (РФ) та DRG Instruments GmbH (США), користуючись інструкцією виробників.

Мононуклеарні лейкоцити з крові отримували на градієнті щільності фікол-верографіна 1,077. Вивчали спонтанну та індуковану ФГА та ІЛ-2 РБТЛ, спонтанну та індуковану ФГА здатність мононуклеарів крові *in vitro* продукувати ІЛ-2, ІЛ-12, ІФН-γ, ІФН-α. Клітини культивували в середовищі RPMI-1640 с додаванням інактивованої 5 % ембріональної сироватки (Sigma, США). Рівень цитокінів у середовищі культури визначали методом тІФА з використанням наборів реагентів ЗАТ «Вектор-Бест» (РФ).

Фагоцитарну активність лейкоцитів крові оцінювали по здатності клітин поглинати *S. aureus* (штам 209) (Е. У. Пастер и др., 1989). Визначали фагоцитарне число (ФЧ) та фагоцитарний індекс (ФІ).

Для визначення алельних варіацій гена ІЛ-28В використовували комерційну тест-систему фірми «ДНК-технологія» (РФ). Дослідження поліморфізму локусу rs 12979860 гену ІЛ-28В проводили за допомогою ампліфікації методом ПЛР шляхом визначення довжини рестрикційних фрагментів з використанням NcoI рестриктази та олігонуклеотидних праймерів. Для екстракції ДНК використовували комплект реагентів «RIBO-prep» (РФ).

Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові визначали методом селективної преципітації з ПЕГ-6000 (Фролов В. М. и др., 1991).

Ступень імунних порушень обчислювали за універсальною методикою виявлення імунних порушень (Земськов А. М., 1995, Караулов О. В., 2002). Використовувалась наступна формула:

$$\left[\frac{\text{Показник конкретного хворого}}{\text{Показник, прийнятий за норму}} - 1 \right] \times 100$$

Якщо отримана величина має знак «мінус», то у пацієнта має місце зниження показника, при отриманні показника зі знаком «плюс» – підвищення показника. Коли отриманий результат знаходиться у інтервалі від 1 до 33 %, то це відповідає першому ступеню імунних порушень, від 34 до 66 % – другому, більше 66 % – третьому.

Формулу імунних порушень обчислювали за методом Земського А. М. та Земського В. М. (1993) за допомогою коефіцієнту діагностичної цінності. З

усіх вивчених параметрів відбирають три головні, які найбільш відрізняються від норми.

Рейтинговий алгоритм відхилень імунних показників формували наступним чином: враховуючи ступень імунних порушень, досліджені показники імунного статусу розташовували у залежності від значущості відмінностей від заданих значень (Караулов А. В., 2002).

Усім хворим на ХВЕБ-інфекцію була призначена базисна протівірусна терапія валацикловіром у дозі 1000 мг 3 рази на добу протягом 10 днів (Голубовська О. А., Гудзенко О. А., Глей А. М., 2014).

Хворим, в яких проведена терапія валацикловіром виявилась неефективною, через 2 тижні було призначено терапію валацикловіром у дозі 1000 мг 3 рази на добу у комбінації з натрія оксодигідроакридинілацетатом (Неовіром) у дозі 250 мг внутрішньом'язово через день загальним курсом 5 ін'єкцій. При неефективності запропонованої терапії, хворим через 2 тижні була призначена комбінована терапія валацикловіром у дозі 1000 мг 3 рази на добу у комбінації з рекомбінантним ІФН- $\alpha 2\beta$ (Альфарекіном) у дозі 1 млн МО внутрішньом'язово через день загальним курсом 5 ін'єкцій.

Критерієм ефективності проведеної терапії була відсутність активної вірусної реплікації у крові та слині, відсутність клінічної симптоматики, нормалізація показників гуморальної, клітинної та фагоцитарної ланок імунітету. Показники імунітету вивчали до та після проведення терапії на 10 добу.

У роботах автора за темою дисертації використані методи математичної статистики для аналізу отриманих даних. Зокрема, методи оцінки, за допомогою яких з певною імовірністю зроблені висновки відповідно параметрів розподілу; для визначення розбіжності між середніми значеннями використовували параметричний t-критерій Ст'юдента. Для відхилення нульової гіпотези обирався критичний рівень значущості $p=0,05$. Результати досліджень опрацьовано методом варіаційної та кореляційної статистики за методом Пірсона з використанням програми «Statistica 6.0».

Результати дослідження та їх обговорення. Перебіг ХВЕБ-інфекції характеризувався поліморфністю та неспецифічністю клінічних проявів, які мали стійкий та тривалий характер.

Найчастіше у хворих відзначався хронічний тонзиліт – 101 хворий (78,9%) та синдром хронічної втоми – 93 хворих (72,6%). Периферична лімфаденопатія зустрічалась у 91 хворого (71,1%) та характеризувалася переважно збільшенням передньошийних і задньошийної лімфатичних вузлів. Синдром тривалого субфебрилітету реєструвався у 58 хворих (45,3%). Такі симптоми як артралгія, міалгія було зафіксовано у 49 хворих (38,3%). У 13 пацієнтів (10%) було діагностовано гепатолієнальний синдром.

У 94,8% хворих на ХВЕБ-інфекцію відзначався лімфоцитоз, у 82,5% – моноцитоз. При дослідженні біохімічних показників відзначалися підвищення СРБ у 2,8 разів, ЦП – у 2,65 разів.

IgG до VCA було виявлено у 124 хворих на ХВЕБ (96,9%), IgG EBNA виявлявся у 111 хворих (86,7%), IgG до EA були виявлені у 14 хворих (10,9%) (рис. 1).

Серед виявлених комбінацій специфічних IgG у хворих на ХВЕБ-інфекцію одночасна присутність IgG до VCA + EBNA реєструвалась у 91,4%, комбінація IgG до VCA + EBNA+ EA зустрічалась у 8,6% (рис. 2).

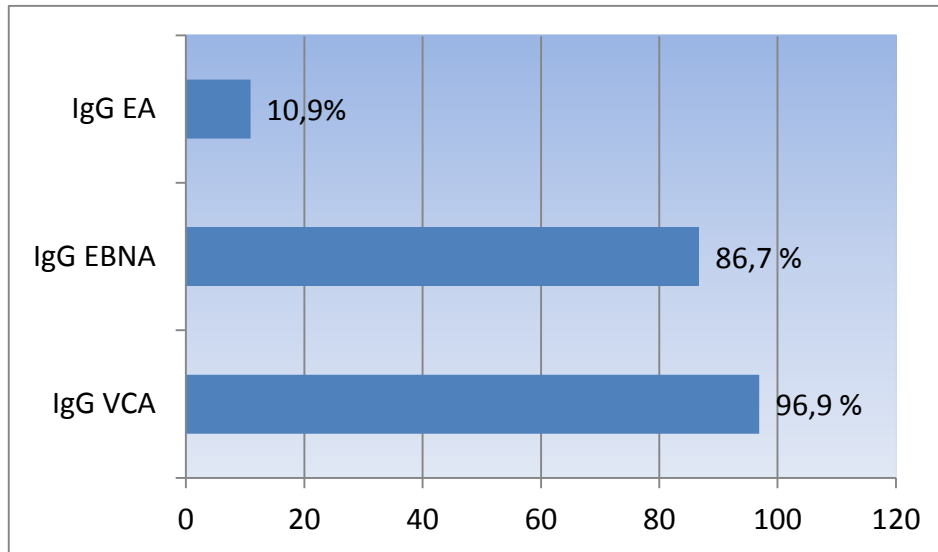


Рис. 1. Частота виявлення IgG до антигенів ВЕБ в сироватці крові хворих на ХВЕБ-інфекцію

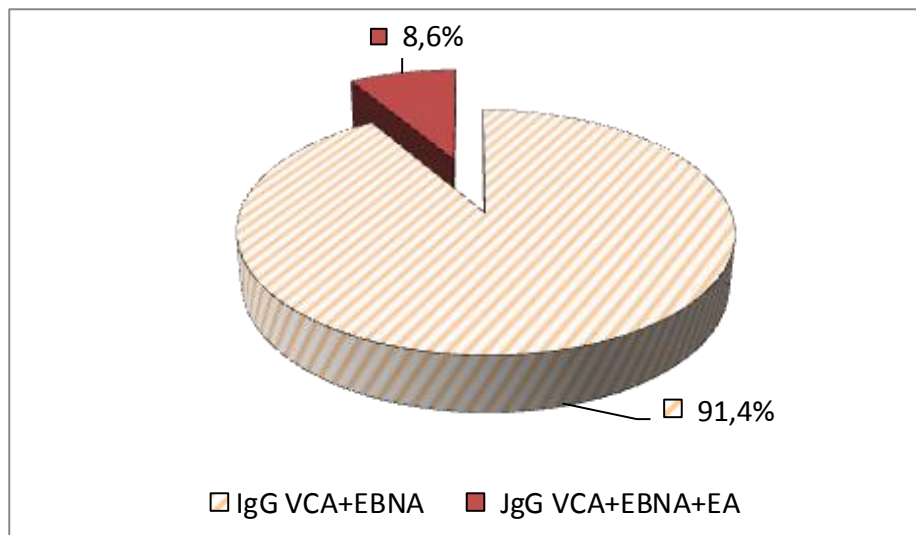


Рис. 2. Частота виявлення комбінації специфічних IgG до антигенів ВЕБ в сироватці крові у хворих на ХВЕБ-інфекцію

Виявлено наявність слабких прямих кореляційних залежностей між кількістю рецидивів захворювання та вмістом специфічних IgG до EBNA

($r=+0,32$) та IgG до VCA ($r=+0,31$). Встановлено помірні прямі кореляційні залежності між частотою рецидивів ВЕБ-інфекції та реплікативною активністю вірусу ($r=+0,42$).

Імунологічні дослідження засвідчили, що у хворих на ХВЕБ-інфекцію у період реактивації спостерігається вірогідне підвищення у 1,30 рази відносного вмісту лімфоцитів у периферичній крові, вірогідне зниження долі CD3⁺ - клітин (у 1,30 рази, $p<0,05$) та CD4⁺ - клітин (у 1,33 рази, $p<0,05$) серед лімфоцитів та тенденція до підвищення CD22⁺ - клітин та збільшення кількості активованих лімфоцитів з маркером HLA-DR⁺ ($p>0,05$) (рис.3).

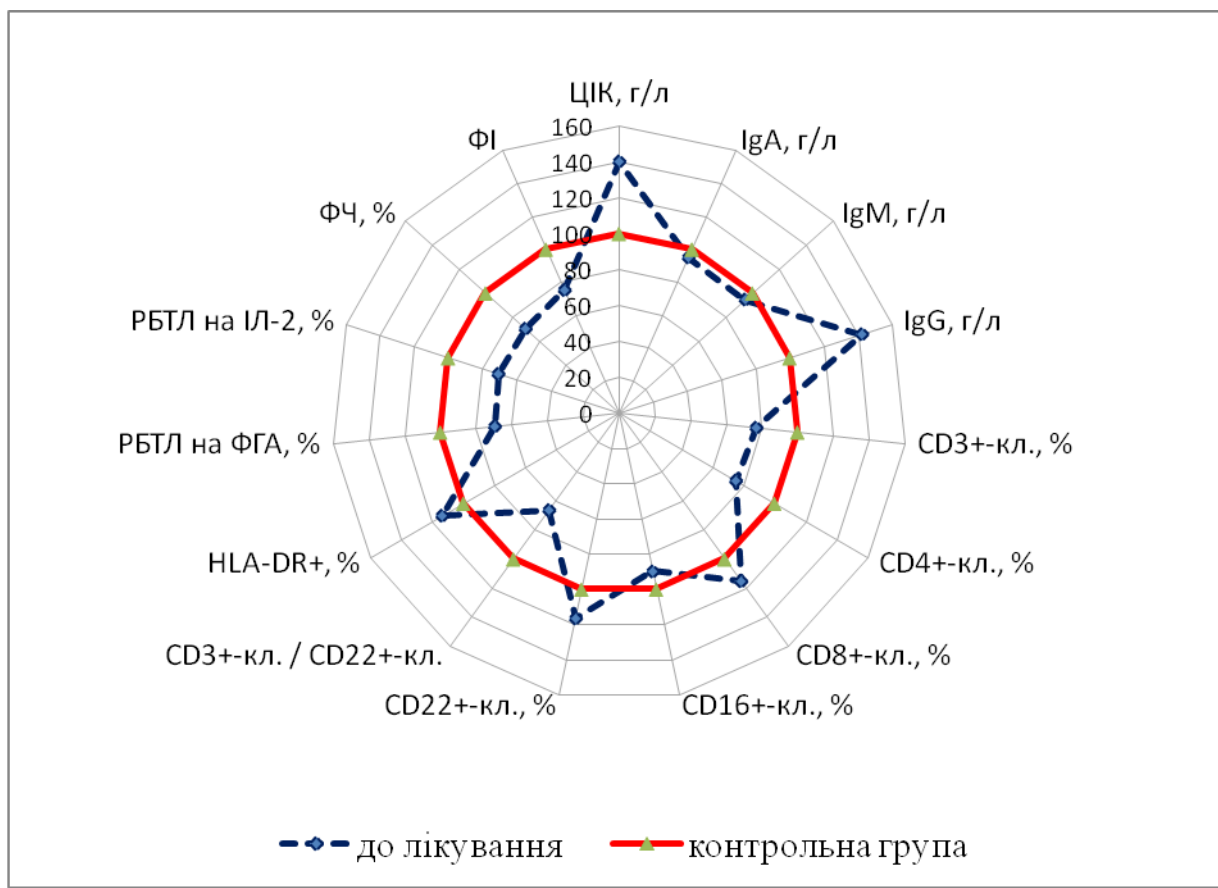


Рис. 3. Популяційний та субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові, показники гуморальної та фагоцитарної ланки імунітету у хворих на ХВЕБ-інфекцію

Проліферативна здатність лімфоцитів на стимуляцію ФГА та ІЛ-2 була пригнічена у 1,43рази та 1,41 рази відповідно, ($p<0,05$).

У гуморальній ланці імунітету спостерігалось підвищення концентрації у сироватці крові у 1,42 рази IgG та у 1,40 рази ЦИК, ($p<0,05$).

У хворих на ХВЕБ-інфекцію число клітин, що приймали участь у фагоцитозі, число мікробів поглинаючих однією клітиною були знижені у 1,42 та 1,33 рази відповідно ($p<0,05$).

Вивчення стану цитокінової мережі хворих на ХВЕБ зазначило підвищення рівня у сироватці крові як протизапальних, так і протизапальних цитокінів по відношенню до здорових осіб (рис.4).

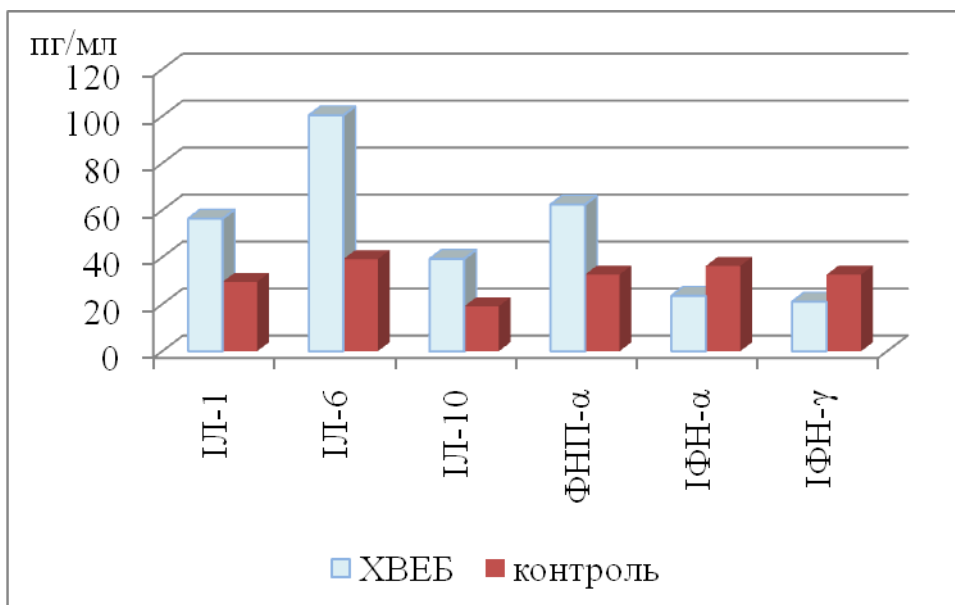


Рис. 4. Вміст цитокінів у сироватці периферичної крові хворих на ХВЕБ-інфекцію

Концентрація ІЛ-1 β підвищилась у 1,91 рази, ІЛ-6 – у 2,56 рази, ФНП- α – у 1,92 рази, ІЛ-10 – у 2,06 рази, ($p < 0,05$). Напроти, вміст ІФН- α та ІФН- γ у сироватці крові був нижчим у порівнянні з групою контролю: ІФН- α – у 1,69 рази, ІФН- γ – у 1,83 рази, ($p < 0,05$). Також рівень індукованої продукції ІФН- α , ІФН- γ , ІЛ-2, ІЛ-12 *in vitro* у хворих на ХВЕБ-інфекцію був достовірно нижчим за контрольні показники (1,33, 1,32, 1,28, 1,29 відповідно, $p < 0,05$) (рис.5).

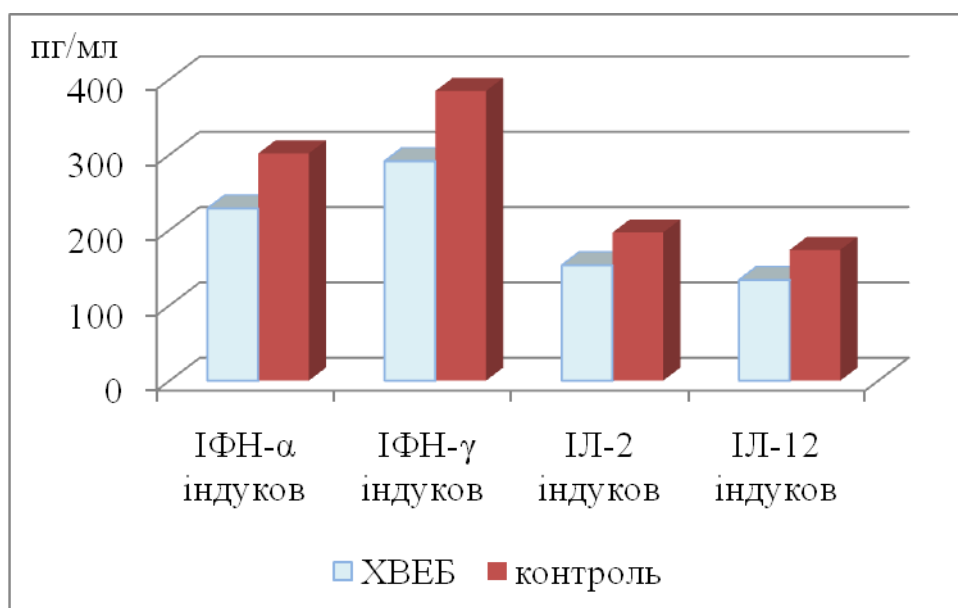


Рис. 5. Рівень індукованої продукції цитокінів мононуклеарами крові *in vitro* у хворих на ХВЕБ-інфекцію

Отримані дані свідчать про розбалансованість цитокинової мережі у хворих на ХВЕБ-інфекцію і знижений потенціал клітин у продукції основних гуморальних факторів протівірусного захисту.

Після проведення курсу протівірусної терапії валацикловіром у 52 хворих (40,6 %) (1-ша група) спостерігалася позитивна динаміка у вигляді зменшення клінічних проявів захворювання, нормалізації клініко-лабораторних та біохімічних параметрів, відсутності ДНК ВЕБ у крові, позитивних змінах у показниках імунограми.

В імунограмах хворих спостерігалось підвищення вмісту $CD3^+$ - клітин та $CD4^+$ - клітин у периферійній крові, бласттрансформованої здатності лімфоцитів на стимуляцію ФГА та ІЛ-2 до рівня здорових осіб, ріст фагоцитарної активності лейкоцитів крові (ФЧ, ФІ) та зниження концентрації ЦК у периферичній крові. Мононуклеари крові відновлювали декілька знижений потенціал до продукції ІЛ-2, ІЛ-12, ІФН- γ , ІФН- α .

Ретроспективний аналіз імунограм пацієнтів 1-ої групи дозволив вивести формулу імунних розладів: *РБТЛ на ФГА₁⁻ ↓ ФЧ₁⁻ ↓ РБТЛ на ІЛ-2₁⁻ ↓*.

Рейтинговий алгоритм відхилень імунних показників мав вид: *РБТЛ на ФГА₁⁻ ↓ ФЧ₁⁻ ↓ РБТЛ на ІЛ-2₁⁻ ↓ CD4⁺-кл.₁⁻ ↓*.

У 76 хворих (59,4 %) проведена протівірусна монотерапія валацикловіром виявилась неефективною. У цих пацієнтів зберігалися скарги, присутні до початку лікування, не відбувалося позитивної динаміки в нормалізації лабораторно-біохімічних показників, відновлення імунного стану. У хворих зберігалася реплікація ВЕБ у крові.

Враховуючи відсутність або частковий ефект від монотерапії валацикловіром, через 2 тижні групі пацієнтів (76 хворим) було призначено курс валацикловіру (1000 мг 3 рази на добу протягом 10 днів) у комбінації з індуктором ІФН – натрію оксодигідроакридинілацетатом (Неовір) 250 мг внутрішньом'язово через день загальним курсом 5 ін'єкцій.

Після проведеної терапії у 47 пацієнтів (61,8 %) з 76 хворих (2-га група) спостерігалась позитивна динаміка, яка характеризувалась нівелюванням клінічних проявів захворювання, нормалізацією клініко-лабораторних показників, відсутністю ДНК ВЕБ у крові.

У імунному статусі хворих спостерігалась тенденція до підвищення $CD3^+$ - клітин та $CD4^+$ - клітин ($p > 0,05$), вірогідне підвищення бласттрансформуючої відповіді лімфоцитів на стимуляцію ФГА та ІЛ-2, підвищення фагоцитарної здатності клітин (ФЧ, ФІ), достовірне зниження у сироватці крові ЦК ($p < 0,05$).

У сироватці крові хворих підвищувався рівень ІФН- α та ІФН- γ до значень осіб контрольної групи та відновлювався потенціал клітин продукувати ІФН- α , ІФН- γ , ІЛ-2, ІЛ-12 до меж значень здорових осіб.

Ретроспективний аналіз імунограм пацієнтів 2-ої групи, дозволив вивести формулу імунних розладів: *ІФН- α_2 ⁻ ↓ ІФН- γ_2 ⁻ ↓ РБТЛ на ФГА₁⁻ ↓*.

Рейтинговий алгоритм відхилень імунних показників мав вид: $I\Phi H-\alpha_2 \downarrow I\Phi H-\gamma_2 \downarrow РБТЛ \text{ на } \Phi ГА_1 \downarrow ІЛ-2 \text{ інд.}_1 \downarrow \Phi Ч_1 \downarrow$.

У 29 пацієнтів (38,2 %) з 76 хворих (3-тя група) не спостерігалось вираженого клінічного ефекту. Цим пацієнтам (3-тя група) була призначена терапія у вигляді комбінації валацикловіру (1000 мг 3 рази на добу протягом 10 днів) та рекомбінантного ІФН- $\alpha 2\beta$ (Альфарекін) 1 млн МО внутрішньом'язово через день загальним курсом 5 ін'єкцій.

У 26 пацієнтів (89,7 %) 3-ої групи хворих відзначався позитивний клінічний ефект та нормалізація імунних показників. У периферійній крові вірогідно підвищувалась частка $CD3^+$ - клітин та $CD4^+$ - клітин ($p < 0,05$), зростав до значень показників здорових осіб рівень відповіді лімфоцитів у РБТ на ФГА та ІЛ-2, зростала фагоцитарна здатність лейкоцитів крові, знижувалась концентрація ЦК у сироватці крові ($p < 0,05$). В сироватці крові зростав рівень ІФН- α та ІФН- γ , відновлювався потенціал мононуклеарів до продукції ІЛ-2, ІЛ-12, ІФН- α та ІФН- γ ($p < 0,05$).

Ретроспективний аналіз імунограм пацієнтів 3-ої групи дозволив вивести наступну формулу імунних розладів: $I\Phi H-\gamma \text{ інд.}_3 \downarrow I\Phi H-\alpha \text{ інд.}_3 \downarrow ІЛ-2 \text{ інд.}_2 \downarrow$.

Рейтинговий алгоритм відхилень імунних показників мав вид: $I\Phi H-\gamma \text{ інд.}_3 \downarrow I\Phi H-\alpha \text{ інд.}_3 \downarrow ІЛ-2 \text{ інд.}_2 \downarrow ІЛ-12 \text{ інд.}_2 \downarrow I\Phi H-\alpha_2 \downarrow I\Phi H-\gamma_3 \downarrow \Phi Ч_2 \downarrow$.

У хворих на ХВЕБ-інфекцію було виявлено існування зв'язку між характером та ступенями імунних розладів та рівнем вірусного навантаження. У хворих 1-ої групи, що відповіли на монотерапію валацикловіром, рівень вірусного навантаження складав $1,7 \pm 1,2 \times 10^2$ копій ДНК ВЕБ/ 10^5 клітин; у хворих 2-ої групи – $6,8 \pm 1,2 \times 10^2$ копій ДНК ВЕБ/ 10^5 клітин, у хворих 3-ої групи – $2,8 \pm 1,1 \times 10^3$ копій ДНК ВЕБ/ 10^5 клітин.

Не було виявлено кореляційних залежностей між рівнем специфічних антитіл до антигенів ВЕБ та характером та ступенем імунних порушень. Також не було встановлено кореляційних залежностей між рівнем специфічних антитіл та рівнем вірусного навантаження.

При аналізі одонуклеотидних замін у регуляторній області rs12979860 гену ІЛ-28В були отримані статистично значущі докази не випадкового поєднання алельних пар СС, СТ та ТТ у хворих на ХВЕБ-інфекцію.

У хворих 1-ої групи частота верифікації генотипу СС була значно вищою, порівняно з іншими генотипами ІЛ-28В, та складала 94,2% (49 хворих), тоді як серед хворих 2-ої групи частота виявлення даної алелі складала 44,7% (21 хворий); у хворий 3-ої групи даний генотип ІЛ-28В виявлявся лише у 3,5% (1 хворого). Стосовно розподілу генотипу СТ ІЛ-28В отримані наступні дані: серед пацієнтів 1-ої групи генотип СТ зустрічався у 5,8% (3 хворих), тоді як у пацієнтів 2-ої та 3-ої груп цей генотип зустрічався у 48,9% (23 хворих) та 44,8% (13 хворих) відповідно, що вказувало на його частішу верифікацію серед хворих 2-ої та 3-ої групи. Частота верифікації генотипу ТТ превалювала серед пацієнтів 3-ої групи – 51,7% (15 хворих), тоді як для пацієнтів 2-ої групи вона складала лише 6,4% (3 хворих), а серед хворих 1-ої групи – генотип ТТ ІЛ-28В

не реєструвався. Таким чином, при дослідженні хворих з різним характером та ступенем імунних розладів визначалась асоціація з генотипами ІЛ-28В.

За результатами отриманих даних щодо характеру та ступеню імунних порушень, реплікативної активності ВЕБ, асоціації з певними генотипами ІЛ-28В, ефективністю проведеної терапії, аналізу кореляційних залежностей було запропоновано проведення диференційованої імунокоригуючої терапії у хворих на ХВЕБ-інфекцію.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та запропоновано нове вирішення актуального науково-практичного завдання клінічної імунології, яке полягає в удосконаленні діагностики та розробці науково обґрунтованих підходів спрямованих на підвищення ефективності лікування методом диференційованої імунокорекції, запобіганні хронічному рецидивуючому перебігу та ускладнень хронічної ВЕБ-інфекції.

1. Клінічний перебіг ХВЕБ-інфекції характеризується поліморфністю симптоматики та неспецифічним характером клінічних проявів. Серед найчастіших проявів відзначаються хронічний тонзиліт (79 %), синдром хронічної втоми (79 %), периферична лімфаденопатія (72 %) та синдром тривалого субфебрилітету (45 %). При дослідженні біохімічних показників відзначаються підвищення СРБ у 2,8 разів, ЦП – у 2,65 разів; у клінічному аналізі крові виявляється підвищення відносного вмісту лімфоцитів у 1,30 рази та моноцитів у 2,26 рази. У 91,4 % хворих виявляються антитіла до IgG VCA та EBNA, комбінація IgG VCA, EBNA та EA зустрічається у 8,6 % хворих. Виявлено наявність слабких прямих кореляційних залежностей між кількістю рецидивів захворювання та вмістом специфічних IgG до EBNA ($r=+0,32$) та IgG до VCA ($r=+0,31$). Встановлено помірні прямі кореляційні залежності між частотою рецидивів ВЕБ-інфекції та реплікативною активністю вірусу ($r=+0,42$).

2. ХВЕБ-інфекція перебігає на тлі зменшення відсотка CD3⁺- та CD4⁺-клітин у периферичній крові (у 1,30 та 1,33 рази відповідно), зниження відповіді клітин на стимуляцію ФГА і ІЛ-2 в РБТЛ (у 1,43 та 1,41 рази відповідно), порушення балансу між Т- та В-лімфоцитами, зниження фагоцитарної активності лейкоцитів крові (ФЧ – у 1,42 рази, ФІ – у 1,33 рази), підвищення рівня ЦІК (у 1,40 рази).

3. У цитокиновій мережі спостерігається підвищення концентрації у периферичній крові як прозапальних (ІЛ-1 β – 1,91 рази, ІЛ-6 – 2,56 рази, ФНП- α – 1,92 рази) так і протизапальних цитокинів (ІЛ-10 – 2,06 рази), вірогідне зниження рівня ІФН- α та ІФН- γ (у 1,69 та 1,83 рази), пригнічення потенціалу мононуклеарів крові продукувати ІФН- α , ІФН- γ , ІЛ-2 та ІЛ-12 у 1,33, 1,32, 1,28, 1,29 рази відповідно ($p<0,05$).

4. Встановлено, що імунні порушення асоціюються із поліморфізмом ІЛ-28В. У хворих на ХВЕБ-інфекцію СС генотип у локусі rs 12979860 ІЛ-28В

асоційований з більш легким перебігом захворювання, імунними порушеннями першого ступеня, поодинокими рецидивами та високою ефективністю базисної противірусної терапії. Генотип СТ у локусі rs 12979860 ІЛ-28В асоційований з більш частими рецидивами захворювання, імунними порушеннями першого та другого ступенів на фоні монотерапії валацикловіром. Генотип ТТ у локусі rs12979860 ІЛ-28В був асоційований з тяжким перебігом ХВЕБ-інфекції, імунними порушеннями другого та третього ступенів та відсутністю ефекту від монотерапії валацикловіром.

5. За динамікою клініко-імунологічних показників доведена ефективність застосування валацикловіру у хворих на ХВЕБ-інфекцію, у яких збережений високий потенціал до продукції ІФН- α , ІФН- γ , ІЛ-2, ІЛ-12, а формула імунних розладів має вид: $RBTЛ \text{ на } \Phi GA_1 \downarrow \Phi Ч_1 \downarrow RBTЛ \text{ на } ІЛ-2_1 \downarrow$. Хворим, формула імунних розладів яких має вид: $ІФН-\alpha_2 \downarrow ІФН-\gamma_2 \downarrow RBTЛ \text{ на } \Phi GA_1 \downarrow$, для досягнення позитивного ефекту доцільно призначення наряду з валацикловіром індуктора ІФН – натрію оксодигідроакридинілацетату (Неовір). Хворим на ХВЕБ-інфекцію з імунними розладами: $ІФН-\gamma \text{ інд.}_3 \downarrow ІФН-\alpha \text{ інд.}_3 \downarrow ІЛ-2 \text{ інд.}_2 \downarrow$ та низьким (<60%) потенціалом до продукції ІФН- α , ІФН- γ , ІЛ-2, ІЛ-12 доведена ефективність комбінованої терапії валацикловіром та рекомбінантним ІФН- $\alpha 2\beta$ (Альфарекін).

6. Застосування диференційованих схем комбінованої терапії в залежності від показників імунного статусу призводить до зникнення клінічних проявів захворювання, сприяє відновленню імунореактивності організму, пригнічує реплікативну активність та запобігає розвитку рецидивів захворювання протягом року.

7. Ефективність диференційованої терапії пов'язана з характером, ступенем імунних порушень та з рівнем вірусного навантаження. У хворих з рівнем вірусного навантаження $1,7 \pm 1,2 \times 10^2$ копій ДНК ВЕБ/ 10^5 клітин позитивний клінічний ефект спостерігався від застосування монотерапії валацикловіром; у хворих з рівнем вірусного навантаження $6,8 \pm 1,2 \times 10^2$ копій ДНК ВЕБ/ 10^5 клітин позитивний клінічний ефект спостерігався від застосування валацикловіру у комбінації з Неовіром; з навантаженням – $2,8 \pm 1,1 \times 10^3$ копій ДНК ВЕБ/ 10^5 клітин – позитивний клінічний ефект спостерігався від комбінації валацикловіру та Альфарекіну.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Хворі на хронічні форми ВЕБ-інфекції потребують диспансерного обліку та спостереження терапевта, лікаря інфекціоніста та імунолога.

2. При хронічному перебігу ВЕБ-інфекції рекомендовано двічі на рік (восени та навесні), проходити імунологічне обстеження з метою виявлення реактивованих форм захворювання. У разі виявлення порушень рекомендувати заходи, спрямовані на відновлення нормального імунного статусу.

3. До призначення лікування хворим на ХВЕБ-інфекцію рекомендовано проведення комплексного імунологічного обстеження із визначенням характеру та ступеню імунних порушень.

4. З метою прогнозування перебігу та ефективності терапії у хворих на ХВЕБ-інфекцію слід враховувати несприятливі прогностичні чинники, проводити визначення генотипу ІЛ-28В та досліджувати рівень реплікації вірусу.

5. Запровадити диференційований підхід до імунокорекції хворих на ХВЕБ-інфекцію. При наявності імунних розладів, які відповідають формулі *РБТЛ на ФГА₁↓ ФЧ₁↓ РБТЛ на ІЛ-2₁↓*, *СС генотип ІЛ-28* призначати монотерапію валацикловіром. У хворих, формула імунних розладів яких має вигляд *ІФН-α₂↓ ІФН-γ₂↓ РБТЛ на ФГА₁↓*, *СТ генотип ІЛ-28* для досягнення клініко-лабораторного ефекту та нормалізації імунних розладів використовувати комбіновану схему з додаванням до валацикловіру індуктору ІФН (Неовіру). Хворим, з формулою імунних розладів *ІФН-γ інд.₃↓ ІФН-α інд.₃↓ ІЛ-2 інд.₂↓*, *ТТ генотип ІЛ-28* з метою імунокорекції застосовувати комбінацію валацикловіру та рекомбінантного ІФН-α2β (Альфарекін).

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сорокіна О. Г. Характеристика показників гуморального імунітету у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцією. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2018. № 2-3 (79-80). С. 57–60.

2. Sorokina O. G. Influence of gene polymorphism on the course of Epstein-Barr virus infection [Електронний ресурс]. *Annals of Mechnikov Institute*. 2017. № 2. С. 47–52. Режим доступу: http://www.imiamn.org.ua/journal/2_2017/zmist2_2017.html.

3. Сорокіна О. Г. Дослідження стану клітинного імунітету у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2018. № 3. С. 65–70.

4. Сорокіна О. Г. Особливості імунних порушень у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію та оптимізація терапії шляхом диференційованої імунокорекції. *Медицина сьогодні і завтра*. 2018. № 2 (79). С. 10–17.

5. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. / Вплив поліморфізму гена інтерлейкіна-28 на перебіг хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції. *Світ медицини та біології*. 2017. № 3 (61). С. 68–72. (Дисертантом вивчено дані сучасної світової літератури, проведено спостереження та лікування хворих на ХВЕБ-інфекцію, відбір пацієнтів для обстеження, проведено дослідження генетичного поліморфізму ІЛ-28В у хворих на ХВЕБ-інфекцію та проаналізовано його вплив на перебіг захворювання, написана стаття та підготовлена до друку).

6. Cytokine production peculiarities in different forms of Epstein-Barr virus infection / Popov M., Lyadova T., Volobuyeva O., Shepileva N., Kozlov A., Sorokina O. *Georgian medical news*. 2017. № 2 (263). С. 55–59. (Дисертантом проведено відбір хворих на ВЕБ-інфекцію для проведення дослідження рівнів цитокінів, проведено аналіз отриманих результатів, написання частини статті).

7. Clinical and immunological criteria for adverse course of infectious mononucleosis in children / Kolesnik Ya., Zharkova T., Rzhetskaya O., Kvaratskheliya T., Sorokina O. *Georgian medical news*. 2018. № 5 (278). С. 132–138. (Дисертантом вивчено дані сучасної світової літератури, проведено оцінку результатів імунологічних досліджень хворих, виконана статистична обробка даних, сформульовано висновки, підготовлено матеріал до друку).

8. Cytokine profile in chronic Epstein-Barr virus infection / Popov N., Liadova T., Kozlov A., Sorokina O. *The journal of Medicine and Philosophy: Oxford University press*. 2017. № 6 (2). С. 1375–1382. (Дисертантом проведено оцінку результатів дослідження, сформульовано висновки, підготовлено матеріал до друку).

9. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. Вивчення поширеності різних алелів інтерлейкіну-28 у пацієнтів з хронічними формами Епштейна-Барр вірусної інфекції. *Вісник проблем біології та медицини*. 2017. № 4 (140). С. 20–25. (Дисертантом проведено дослідження поліморфізму ІЛ-28, вивчення поширеності різних генотипів ІЛ-28 серед хворих на ХВЕБ-інфекцію, аналіз та узагальнення отриманих даних, статистичну обробку результатів, написання статті).

10. Features of cytokine status in patient with chronic EBV-infections / Sorokina O. G., Kolesnyk I. V., Malanchuk S. G., Kozlov O. P, Hololobova O. V. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2018. № 36. С. 41–46. (Дисертантом проведено дослідження цитокінового статусу хворих на ХВЕБ-інфекцію, аналіз та узагальнення даних, сформульовано висновки, написана стаття).

11. 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 досліджено генетичний поліморфізм ІЛ-28 у хворих на ХВЕБ-інфекцію, проведено лікування хворих, проаналізовано вплив поліморфізму ІЛ-28 на ефективність противірусної терапії, проведено статистичну обробку результатів, написання статті).

12. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. Дослідження цитокінового профілю у хворих на хронічну вірусну інфекцію Епштейна-Барр з різними генотипами інтерлейкіну-28. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2017. № 3 (76). С. 15–20. (Дисертантом проведено дослідження цитокінового

профілю у хворих на ХВЕБ-інфекцію, аналіз отриманих результатів, написання статті).

13. Сорокіна О. Г., Попов М. М., Лядова Т. І. Ефективність противірусної терапії у пацієнтів з різними генотипами інтерлейкіну-28 при хронічних формах Епштейна-Барр вірусної інфекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип. 4 (60), част. 2. С. 227–231. *(Дисертантом проведено лікування хворих на ХВЕБ-інфекцію, проведено дослідження поліморфізму ІЛ-28, вивчено фактори, які вплинули на ефективність терапії, проведено аналіз отриманих даних, написання статті).*

14. Сорокіна О. Г. Особливості гуморальної імунної відповіді у хворих хронічною Епштейна-Барр вірусною інфекцією. *Медичний форум*. 2017. № 12 (12). С. 90–92.

15. Попов М. М., Лядова Т. І., Сорокіна О. Г. Особенности продукции цитокинов при различных формах Эпштейна-Барр вирусной инфекции. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2017. Вип. 1. С. 69–73. Режим доступу: <https://periodicals.karazin.ua/apmm/article/view/10535> *(Дисертантом проведено дослідження цитокинового статусу хворих на ХВЕБ-інфекцію, аналіз та узагальнення даних, статистичну обробку, сформульовано висновки).*

16. Спосіб визначення можливого перебігу хронічної Епштейна-Барр інфекції : пат. №121021 Україна. u 2017 05527 / М. М. Попов, Т. І. Лядова, О. Г. Сорокіна ; заявл. 06.06.17 ; опубл. 27.11.17, Бюл. 22. 4 с. *(Дисертанту належить ідея створення алгоритму дослідження хворих на ХВЕБ-інфекцію з метою прогнозування перебігу хвороби, проведено аналіз імунологічних показників, сформульовано формулу корисної моделі).*

17. Sorokina O. G. Types of immune reaction at patients with chronic Epstein-Barr infection. *Медицина ХХІ століття : матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю, 23 листопада 2017 р. Харків, 2017. С. 126–127.*

18. Сорокіна О. Г. Вплив поліморфізму генів на перебіг Епштейна-Барр вірусної інфекції. Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями : тези науково-практичної конф., 18-19 травня 2017р.. Харків, 2017. С. 124–125.

19. Сорокіна О. Г., Лядова Т. І. Возрастные особенности клинических проявлений и иммунологических изменений при инфекционном мононуклеозе, вызванном вирусом Эпштейна-Барр. *Проблеми сьогодення в педіатрії : матеріали ІІ науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю, 9 лютого 2017 р. Харків, 2017. С.63. (Дисертантом проведено клінічне та імунологічне дослідження хворих, проведено аналіз та узагальнення даних, сформульовано висновки).*

20. Sorokina O. G., Liadova T. I., Kolesnik Y. V. Analysis of the effect of gene polymorphism on the course of Epstein-Barr virus infection. X International

scientific interdisciplinary congress, May 24-26, 2017. Kharkiv, 2017. P. 226–227. *(Дисертантом проведено дослідження хворих, аналіз та узагальнення даних, сформульовано висновки).*

21. Динаміка рівнів аутоімунних маркерів у дорослих хворих на EBV-інфекцію / Лядова Т. І., Волобуєва О. В., Гололобова О. В., Сорокіна О. Г. Мечниковські читання-2016. Актуальні проблеми парентеральних інфекцій : тези допов. науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 12-13 травня 2016 р. Харків, 2016. С. 108–110. *(Дисертантом вивчено дані сучасної світової літератури, проведено клініко-лабораторне дослідження хворих, аналіз та узагальнення даних, сформульовано висновки).*

22. Sorokina O. G., Zinchenko Y. Y. Therapeutic use of immunomodulatory drugs in the treatment of patients with Epstein-Barr virus infection. IX International scientific interdisciplinary congress, May 20, Kharkiv National Medical University. Kharkiv, 2016. P. 366–367. *(Дисертантом проведено лікування хворих на ХВЕБ-інфекцію, клініко-лабораторне обстеження хворих, проаналізовано результати обстеження та лікування, сформульовано висновки).*

23. Сорокіна О. Г., Лядова Т. І. Особенности гуморального иммунитета при хронической персистирующей инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр. Медицина третьего тысячелетия : тези допов. наук. конф., 16-17 січня 2017 р. Харків, 2017. С. 326–327. *(Дисертантом проведено дослідження показників гуморального імунітету хворих на ХВЕБ-інфекцію, аналіз та узагальнення даних, сформульовано висновки).*

24. Особливості структурно-функціонального стану лімфоцитів крові хворих з несприятливим перебігом інфекційного мононуклеозу, зумовленого вірусом Епштейна-Барр / Колесник Я. В., Жаркова Т. С., Харун І. О., Сорокіна О. Г. Епідеміологічні та клінічні ускладнення інфекційних і паразитарних хвороб у сучасних умовах : матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції і пленума ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів», 5-6 жовтня 2017 р. Житомир, 2017. С. 39–44. *(Дисертантом проведено клініко-лабораторне дослідження хворих, аналіз та узагальнення даних, сформульовано висновки).*

25. Sorokina O. G. Features of cell immunity in patients with chronic Epstein-Barr virus infection. Медицина XXI століття : тези допов. Всеукраїнської щорічної науково-практичної конференції молодих вчених, 23 листопада 2018 р. Харків, 2018. – С. 139.

АНОТАЦІЯ

Сорокіна О. Г. Характеристика імунних порушень у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію та оптимізація терапії шляхом диференційованої імюнокорекції. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія. – Державна установа

«Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», Харків, 2019.

Дисертація присвячена вивченню характеру та ступеню імунних порушень у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію (ХВЕБ) та розробці підходів до ефективної диференційованої імунокорекції.

Вперше надана комплексна клініко-імунологічна характеристика перебігу ХВЕБ-інфекції у поєднанні з рівнем специфічних антитіл та вірусним навантаженням. Проведене комплексне дослідження рівня цитокінів у крові та потенціалу клітин до продукції ІЛ-2, ІЛ-12, ІФН- α та ІФН- γ , дозволило встановити їх диференційно-діагностичне значення для прогнозування перебігу хвороби.

Вперше досліджено поліморфізм гену ІЛ-28В та виявлена асоціація його алелей з перебігом захворювання та ефективністю терапії хворих на ХВЕБ-інфекцію.

У хворих на ХВЕБ-інфекцію вперше визначені формули імунних порушень, встановлено взаємозв'язки між ефективністю терапії, характером та ступенем імунних порушень, а також рівнем вірусного навантаження.

Запропоновано систему моніторингу та прогнозування ефективності терапії, визначено критерії для призначення диференційованої імунокорекції з застосуванням комбінацій валацикловіру з натрію оксодигідроакридинілацетатом (Неовір) та валацикловіру з рекомбінантним ІФН- α 2 β (Альфарекін), що сприяє позитивній динаміці клініко-лабораторних показників, відновленню імунореактивності організму, пригнічує реплікативну активність, запобігає розвитку рецидивів захворювання протягом року.

Ключові слова: вірус Епштейна-Барр, хронічна ВЕБ-інфекція, клініко-лабораторні данні, імунологічні показники, цитокіни, інтерлейкіни, ІЛ-28В, імунокорекція.

АННОТАЦІЯ

Сорокина О. Г. Характеристика иммунных нарушений у больных хронической ВЕБ-инфекцией и оптимизация терапии путем дифференцированной иммунокоррекции. – На правах рукописи.

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

Диссертация посвящена изучению характера и степени иммунных нарушений у больных хронической ВЭБ-инфекцией (ХВЕБ) и разработке подходов к эффективной дифференцированной иммунокоррекции.

Впервые предоставлена комплексная клинико-иммунологическая характеристика ХВЕБ-инфекции в сочетании с уровнем специфических антител и вирусной нагрузкой. Проведенное комплексное и сравнительное исследование уровня цитокинов в крови и потенциала клеток к продукции

ИЛ-2, ИЛ-12, ИФН- α и ИФН- γ , позволило установить их дифференциально-диагностическое значение для прогнозирования течения болезни.

Впервые исследован полиморфизм гена ИЛ-28В и выявлена ассоциация его аллелей с течением заболевания и эффективностью терапии больных хроническими формами ХВЭБ-инфекции.

У больных ХВЭБ-инфекцию впервые определены формулы иммунных нарушений, установлены взаимосвязи между эффективностью терапии, характером и степенью иммунных нарушений, а также уровнем вирусной нагрузки.

Предложена система мониторинга и прогнозирования эффективности терапии, определены критерии для назначения дифференцированной иммунокоррекции с применением комбинаций валацикловира с натрия оксодигидроакридинаацетатом (Неовир) и валацикловира с рекомбинантным ИФН- $\alpha 2\beta$ (Альфарекин), что способствует положительной динамике клинико-лабораторных показателей, восстановлению иммунореактивности организма, снижению вирусной нагрузки и предотвращает возникновение рецидивов в течение года.

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барр, хроническая ВЭБ-инфекция, клинико-лабораторные данные, иммунологические показатели, цитокины, интерлейкины, ИЛ-28В, иммунокоррекция.

SUMMARY

Sorokina O. G. Characteristics of immune disorders in patients with chronic EBV-infection and optimization of therapy by differentiated immunocorrection. - Manuscript.

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

The thesis is devoted to the investigation of nature and grade of the immune disorders in patients with chronic EBV-infection and development of the effective differentiated immunocorrection therapy.

The comprehensive clinical and immunological characteristic of the chronic forms of EBV-infection in combination with the level of specific antibodies and viral load is presented for the first time.

There has been detected the presence of low direct correlation dependencies between the number of relapses of disease and the content of specific IgG to EBNA and IgG to the VCA. There has been also established moderate direct correlations between the recurrence-rate of EBV infections and replicative viral activity.

It has been established that chronic EBV infection appears in case of decrease of the percentage of CD3+ and CD4+ -cells in peripheral blood, decreased cell response to stimulation of PHA and IL-2 in RBTL, inadequate balance between T-

and B-lymphocytes, decrease of the phagocytic activity of white blood cells and increased level of the circulated immune complex.

In the cytokine space, there is an increase of concentration in the peripheral blood so as proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, a decrease of the levels of IFN- α and IFN- γ , inhibition of the potential of blood mononuclear production of IFN- α , IFN- γ , IL-2 and IL-12.

The comparative analyze of the cytokines blood level and cell potential for the production of IL-2, IL-12, IFN- α and IFN- γ allowed to establish their differential diagnostic meaning for predicting the course of disease.

Also, for the first time, there was investigated gene polymorphism of IL-28B and was found the association of its alleles with the course of disease and effectiveness of therapy in patients with chronic EBV-infection. The presence of CC genotype in the rs12979860 locus of IL-28B makes it possible to evaluate it, as a positive association with a low level of viral load, high efficacy of antiviral therapy, compared with similar indicators for homozygous TT genotype. The frequency distribution of the polymorphism of the IL-28B gene demonstrates associations of the TT genotype with a high level of viral load, changes in the cellular and phagocytic immunity.

For the first time, formulas of immune disorders in patients with chronic EBV infection have been determined and immune indicators of the use of sodium oxodihydroacridinylacetate (Neovir) and recombinant interferon- $\alpha 2\beta$ (Alpharekin) have been determined. The relationship between the effectiveness of therapy and the nature and degree of immune disorders, as well as the activity of viral replication, has been established.

The system for monitoring and predicting the effectiveness of therapy is proposed, criteria for the appointment of differentiated immunocorrection using combinations of valaciclovir with sodium oxodihydroacridinylacetate (Neovir) and valacyclovir with recombinant interferon- $\alpha 2\beta$ (Alpharekin) are defined. The efficacy of differentiated therapy is associated with the nature, grade of immune disturbances and level of viral load.

It is scientifically substantiated and proved that the use of a differentiated approach in the correction of immune disorders of patients with chronic EBV infection, taking into account the immunoreactivity of the organism in accordance with the formula of immune disorders, contributes to positive dynamics of clinical and laboratory data, recovery of immunoreactivity, suppresses the replicative activity and prevents the occurrence of relapses during the year.

Key words: Epstein-Barr virus, chronic EBV infection, clinical and labor data, immunological parameters, cytokines, IL-28B, immunocorrection.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕБ	–	вірус Епштейна-Барр
ДНК	–	дезоксирибонуклеїнова кислота
ІЛ	–	інтерлейкіни
ІЛ-2 інд.		інтерлейкін -2 індукований
ІЛ-12 інд.		інтерлейкін -12 індукований
ІФА	–	імуноферментний аналіз
ІФН	–	інтерферон
ІФН- α інд.	–	інтерферон- α індукований
ІФН- γ інд.	–	інтерферон- γ індукований
НДР		науково-дослідна робота
ПЛР	–	полімеразна ланцюгова реакція
РБТЛ	–	реакція бласттрансформації лімфоцитів
СРБ	–	С-реактивний білок
тІФА		твердофазний імуноферментний аналіз
ФГА	–	фітогемаглютинін
ФНП- α	–	фактор некрозу пухлин альфа
ФІ	–	фагоцитарний індекс
ФЧ	–	фагоцитарне число
ХВЕБ-інфекція	–	хронічна Епштейна-Барр вірусна інфекція
ЦІК		циркулюючі імунні комплекси
ЦП	–	церулоплазмін
CD-клітини	–	клітини, що містять поверхневу молекулу CD (Cluster Disignation)
EA-IgG	–	early antigens – immunoglobulin G
EBNA- IgG	–	Epstein-Barr nuclear antigens– immunoglobulin G
Ig A, M, G	–	імуноглобуліни класу A, M, G
VCA-Ig G	–	viral capsid antigens – immunoglobulin M