

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Міністерство охорони здоров'я України

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГОРБАЛЬ НАТАЛЯ МИРОНІВНА

УДК 616.98 : 578.825] - 036.11 : 616 -018.2 - 039.54] - 078.73 -08

ДИСЕРТАЦІЯ

**«ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ
ЗАХВОРЮВАННЯМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ
РЕАКТИВОВАНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ ПЕРШОГО ТИПУ ТА
ТАКТИКА ЇХ ВЕДЕННЯ»**

14.03.08 –імунологія та алергологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



Н. М. Горбаль

Науковий керівник: Чопяк Валентина Володимирівна, доктор медичних наук,
професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Горбаль Н.М. Особливості імунної відповіді у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу та тактика їх ведення. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08– імунологія та алергологія. - Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу герпетичної інфекції першого типу на перебіг системних захворювань сполучної тканини, оптимізації її ранньої діагностики та розробці терапевтичних підходів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу з урахуванням клінічних, молекулярно-генетичних та імунологічних показників даних пацієнтів.

Верифікація реактивованої герпетичної інфекції 1 типу (ВПГ-1) у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини (СЗСТ) проводилась на основі клінічних даних, результатів молекулярно-генетичних досліджень щодо виявлення ДНК ВПГ-1 у трьох біосередовищах (крові, слині, зішкрябі з місяця ураження чи слизових) та підвищених рівнів специфічних імуноглобулінів М (IgM) та G (IgG) до вірусу простого герпесу першого типу. Розширено знання функціональної активності субпопуляцій Т-хелперів 1, 2 та 3 типів на основі оцінки рівня продукованих ними цитокінів (IFN- γ , IL-4 та IL-10), у хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу. Аналітично опрацьовані особливості клітиннозалежних та гуморальнозалежних імунологічних механізмів у хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу. Вперше розроблено математичні моделі прогнозування кількості рецидивів в групі хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, встановлено причинні фактори реактивації та чинники, що зумовлюють зростання активності СЗСТ. Проведено оцінку клінічної, вірусологічної та імунологічної ефективності, безпеки та

переносимості противірусної терапії в комплексному лікуванні хворих на СЗСТ з урахуванням кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції. Вперше вивчено особливості місцевої та системної інтерферонорефрактерності в хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції на тлі застосування противірусної терапії інозин пранобексом.

За допомогою клінічних, загальних лабораторних, біохімічних, молекулярно-генетичних, імунологічних, інструментальних методів обстежено 110 хворих, які були поділені на наступні групи: 1 група - 34 хворих на СЗСТ+ВПГ-1, яку склали 18 хворих на ревматоїдний артрит за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (РА+ ВПГ-1) та 16 хворих на системний червоний вовчак за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (СЧВ+ ВПГ-1); 2 група - 40 хворих на СЗСТ (в тому числі 22 хворих на РА та 18 хворих на СЧВ); 3 група - 36 хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію; 4 група - 20 практично здорових осіб.

З метою порівняння ефективності рекомендованих схем лікування пацієнти з СЗСТ+ВПГ-1 та з реактивованою ВПГ-1-інфекцією додатково були поділені на підгрупи залежно від частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції протягом року: 1) пацієнти з частотою рецидивів 1-2 рази на рік (легкий перебіг); 2) пацієнти з частотою рецидивів 3 і більше на рік (середньо-тяжкий перебіг та тяжкий перебіг було об'єднано в одну групу). Пацієнти з легким перебігом ВПГ-1-інфекції отримувати інозин пранобекс в дозуванні 100 мг/кг/добу протягом перших 14 днів лікування з переходом на підтримуюче дозування – 50 мг/кг/добу протягом 3-х місяців. Пацієнти з середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції протягом перших 14 днів лікування отримували ацикловір (1600 мг/добу) та інозин пранобекс (100 мг/кг/добу), з переходом на підтримуючу терапію інозин пранобексом у дозі 50 мг/кг/добу протягом до 3-х місяців. Пацієнти з СЗСТ+ВПГ-1 отримували противірусну терапію (за вище вказаною схемою) на тлі базової терапії. Пацієнти із СЗСТ з ДНК ВПГ-1(-) отримували лише базову терапію.

Клінічний стан досліджуваних пацієнтів оцінювали на основі скарг, даних об'єктивного огляду, індексів активності СЗСТ (DAS28 - для оцінки активності РА, SLEDAI - для оцінки активності СЧВ) і функціонального індексу порушення

життєдіяльності НАQ. Верифікація діагнозу ВПГ-1-інфекції базувалась на основі результатів ідентифікації ДНК вірусу з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції. За допомогою імуноферментного аналізу проводили визначення специфічних імуноглобулінів класів IgM та IgG до ВПГ-1. Фенотипування лімфоцитів та активізаційних маркетів проводили методом проточної цитометрії. Визначення IFN- α , IFN- γ , IL-4 та IL-10 проводили за допомогою твердофазного імуноферментного методу. Всі статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4. Проводили визначення середніх значень та їх стандартних похибок, оцінку вірогідності різниці за допомогою методу Манна-Уїтні та критерію Стюдента.

У результаті проведення молекулярно-генетичного дослідження в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 була виявлена в слині 38,2% хворих, зішкрябах з місць уражень чи слизових - 64,7%, крові - 11,8%; в тому числі одночасно в двох біосередовищах: слина + зішкряб з місць уражень чи слизових - у 11,8% хворих; зішкряб з місць уражень чи слизових + кров - у 8,82%; слина + зішкряб з місць уражень чи слизових + кров – в 2,94%.

Активація специфічної гуморальної ланки імунної системи була відзначена в хворих на СЗСТ+ВПГ-1, у яких рівень IgM-ВПГ-1 становив $1,83 \pm 0,18$ г/л, що було в 4,58 разів більше ніж у хворих на СЗСТ ($0,40 \pm 0,06$ г/л; $p < 0,05$). Синтез IgG-ВПГ-1 також виявився у 2,46 разів вищим у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($18,5 \pm 3,25$ г/л) порівняно з хворими на СЗСТ ($7,53 \pm 1,85$ г/л; $p < 0,05$) та не відрізнявся від аналогічного показника в хворих на ВПГ-1-інфекцію ($16,4 \pm 2,59$ г/л; $p > 0,05$).

У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно хворими на СЗСТ спостерігалися частіше периферичні нейропатії - в 2,60 разів, ураження органа зору - в 2,36 разів, збільшення лімфатичних вузлів - у 1,83 разів, нефропатію - в 1,76 разів, біль голови - в 1,53 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,49 раз, виражену загальну слабкість - в 1,34 рази. У той же час, порівняно з хворими на ВПГ-1 інфекцією частіше спостерігалися: ураження органу зору - в 4,24 рази, атиповий перебіг ВПГ-1-інфекції (набрякова

форма) - в 2,12 разів, периферичні нейропатії - в 1,86 разів, виражену загальну слабкість - в 1,54 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,43 рази.

У хворих на РА+ВІГ-1 частота високої активності запального процесу за DAS28 виявилася в 1,4 разів вищою, ніж у хворих на РА. У хворих на СЧВ+ВІГ-1 частіше виявляли високу активність та тяжкий перебіг в 1,45 разів порівняно з хворими на СЧВ. Значення функціонального індексу HAQ у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 було вищим ($1,90 \pm 0,19$) порівняно з хворими на СЗСТ ($1,44 \pm 0,13$; $p < 0,05$).

Проведено дослідження фенотипічних особливостей лімфоцитів у хворих досліджуваних груп. У хворих на СЗСТ+ВІГ-1 встановлено підвищення Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$) порівняно з здоровими особами, на відміну від хворих на СЗСТ, у яких різниця між вказаними показниками була відсутня ($p > 0,05$). Очікувано, що рівень $CD16^+56^+$ -лімфоцитів був підвищеним у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 ($12,7 \pm 1,02\%$) та хворих на ВІГ-1 ($14,8 \pm 2,11\%$), порівняно з хворими на СЗСТ ($10,1 \pm 0,79\%$; $p < 0,05$). Підвищення рівня $CD45^+19^+$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ ($16,2 \pm 1,10\%$), ймовірно, було пов'язано із формуванням аутоімунних реакцій за гуморальним типом з активним синтезом аутоантитіл, а у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 ($15,2 \pm 1,01\%$) додатковим фактором стимуляції антитілогенезу виступав ВІГ-1. Встановлено, що рівень $CD45^+56^+69^+$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 ($4,96 \pm 0,53\%$) був вищим в 1,68 разів, ніж у хворих на реактивовану ВІГ-1-інфекцію та в 1,41 разів - порівняно із хворими на СЗСТ. Особливо висока експресія $CD69^+$ антигенів на лімфоцитах відображала більш тяжкий перебіг основного захворювання з додатковим негативним впливом ВІГ-1 у хворих на СЗСТ+ВІГ-1. Рівень $CD8^+28^+$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 ($10,1 \pm 1,78\%$) та хворих на ВІГ-1 ($10,7 \pm 0,92\%$) виявився нижчим порівняно із здоровими особами ($15,3 \pm 1,22\%$; $p < 0,05$) та хворими на СЗСТ ($14,6 \pm 1,38$; $p < 0,05$). Рівень $CD8^+28^-$ - лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 ($15,7 \pm 1,72\%$) та хворих на ВІГ-1 ($13,6 \pm 1,34\%$) був вищим, ніж у здорових осіб ($9,32 \pm 1,63\%$; $p < 0,05$), причому в хворих на СЗСТ+ВІГ-1 рівень виявився вищим, ніж у хворих на СЗСТ ($11,4 \pm 1,21\%$; $p < 0,05$).

Зміни експресії вказаних рецепторів призводили до більш тяжкого перебігу СЗСТ, в першу чергу в хворих з реактивованою ВПГ-1-інфекцією. Рівень регуляторних CD4⁺25⁺-лімфоцитів виявився вищим у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 (10,2±0,84%) і у хворих на СЗСТ (9,89±0,87%) порівняно з здоровими особами (7,63±0,71%; p<0,05), що може бути компенсаторним фактором імунної відповіді на загострення вірусологічної реплікативної активності, яка несе загрозу посилення аутоагресії. Щодо лімфоцитів CD3⁺HLA⁺DR, то у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 їх рівень (13,9±0,59%) був вищим в 1,51 рази порівняно із хворими на СЗСТ та в 1,23 рази порівняно з хворими на ВПГ-1 (11,3±1,16%; p<0,05). Вказані результати свідчать про підвищену активацію Т-лімфоцитів (особливо у хворих на СЗСТ+ВПГ-1), що сприяло посиленню аутоагресії з залученням клітинної ланки імунної системи. Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ був відзначений вищий рівень CD16⁺56⁺-лімфоцитів, CD8⁺28⁻ і нижчий CD8⁺28⁺-лімфоцитів, а порівняно з хворими на ВПГ-1-інфекцію спостерігався вищий рівень CD45⁺19⁺-лімфоцитів, CD3⁺HLA⁺DR-лімфоцитів та CD45⁺56⁺69⁺-лімфоцитів.

Проведено порівняльний аналіз рівня IFN-γ, IL-4, IL-10 у сироватці крові, а IFN-α в сироватці крові та в слині. Рівень IFN-γ в сироватці крові хворих на СЗСТ+ВПГ-1 виявився вищим (5,71±0,56 пг/мл), ніж у здорових осіб (4,19±0,51 пг/мл; p<0,05) та в хворих на ВПГ-1 (2,81±0,42 пг/мл; p<0,05) і нижчим, ніж у хворих на СЗСТ (7,83±0,89 пг/мл; p<0,05). Максимальне збільшення рівня IFN-γ спостерігалось у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та хворих на СЗСТ, що сприяло подальшій втраті імунної толерантності, стимуляції В-лімфоцитів та, як наслідок, посилення продукції аутоантитіл. Зниження синтезу IFN-γ у пацієнтів на ВПГ-1 свідчило про виснаження механізмів протівірусного захисту. Найвищий рівень (4,13±0,51 пг/мл) IL-4 в сироватці крові був виявлений у хворих на ВПГ-1 інфекцію, що було в 1,93 рази більше, ніж у хворих на СЗСТ та, ймовірно, пов'язано з активацією гуморальної ланки імунної системи, в тому числі специфічного антитілогенезу. Рівень IL-10 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 (2,47±0,40 пг/мл) виявився нижчим, ніж у здорових осіб (3,79±0,52 пг/мл; p<0,05). Вказані зміни рівня IL -10

могли проявляти імуносупресивний вплив, знижуючи експресію цитокінів Т-хелперів 1 типу, відповідальних за формування клітинного протівірусного імунітету. Найвища концентрація IFN- α виявилася у хворих на ВПГ-1-інфекцію, що було вище в 1,46 разів, ніж у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та в 1,97 разів - ніж у хворих на СЗСТ. Підвищення рівня IFN- α у слині вказує на активацію протівірусного захисту. Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими на СЗСТ встановлено вищий рівень IL-4, нижчий рівень IFN- γ , а порівняно з хворими на ВПГ-1 спостерігали нижчий рівень IFN- α у слині і вищий рівень IFN- γ в сироватці крові.

Проведено математичне моделювання з використанням імунологічних показників, що дало змогу отримати низку рівнянь для визначення прогнозу перебігу захворювань. Визначено ризик реактивації ВПГ-1-інфекції для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 (чутливість 100%, специфічність 85%, загальна точність моделі 92,5 %), прогноз кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції протягом року - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та з ВПГ-1, прогноз зростання активності СЗСТ - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 (чутливість 83,33%, специфічність 100%, загальна точність моделі 90%) та з СЗСТ (чутливість 88,89 %, специфічність 90,91%, загальна точність моделі 90 %).

Клінічна ефективність комплексної терапії в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 була оцінена на основі динаміки кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції та функціонального індексу НАQ. Отже, після проведеного лікування у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 кількість рецидивів зменшилася в 1,64 рази, а показник функціонального індексу НАQ в 1,37 рази.

Вірусологічна ефективність лікування в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 була оцінена шляхом аналізу динаміки виявлення ДНК ВПГ-1 та рівнів антитіл класів IgM-ВПГ-1 та IgG-ВПГ-1. Частота виявлення ДНК ВПГ-1 зменшилась у слині в 3,25 рази, у зішкрябі з місця уражень чи слизових – у 3,67 рази та в крові у 4,0 рази.

Оцінка імунологічної ефективності ґрунтувалася на аналізі динаміки популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів, їх активізаційних маркерів, рівня цитокінів IFN- γ , IL-4 та IL-10 в сироватці крові, IFN- α (в сироватці крові та слині).

Після закінчення курсу комбінованої терапії в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 було виявлено зменшення кількості $CD16^{+}56^{+}$ -лімфоцитів у 1,48 разів та $CD3^{+}HLA^{+}DR^{+}$ -лімфоцитів у 1,38 разів ($p<0,05$). Відносна кількість $CD8^{+}CD28^{+}$ -лімфоцитів у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 збільшилася в 1,42 рази, а $CD8^{+}CD28^{-}$ та $CD56^{+}69^{+}$ лімфоцитів - зменшилась відповідно в 1,50 та 1,66 разів. Після проведеного лікування спостерігалось підвищення рівня ІЛ-10 в 1,40 разів та зниження в 1,28 разів рівня ІFN- γ в сироватці крові. Концентрація ІFN- α в сироватці крові зменшилась в 1,41 рази, а в слині - в 1,27 рази.

Для визначення інтерферонорефрактерності у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 на тлі застосування інозин пранобексу проведений порівняльний аналіз концентрації ІFN- α у сироватці крові та слині протягом усього періоду лікування. Враховуючи динаміку рівня ІFN- α , яка характеризувалась підвищенням його рівня протягом перших семи днів лікування та поступовим його зниженням і нормалізацією на 90 день лікування, було зроблено висновок, що терапія інозин пранобексом продемонструвала його інтерферонорегулюючу дію в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 і не сприяла формуванню інтерферонорефрактерності.

У хворих на СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції була оцінена переносимість противірусної терапії з урахуванням добової дози інозин пранобексу (до 4 г та більше 4 г залежно від ваги пацієнта). Переносимість інозин пранобексу в добовій дозі до 4 г було оцінено пацієнтами як «добре» - у 81,3%, лікарями у 93,8% хворих, «задовільно» пацієнтами у 18,7% хворих, лікарями - у 6,2%. При отриманні добової дози інозин пранобексу більше 4 грам оцінку «добре» поставили 75,0% пацієнтів та 87,5% - лікарів, «задовільно» - 25,0% пацієнтів та 12,5% лікарів. Незадовільного перенесення інозин пранобексу відзначено не було.

Ключові слова: системні захворювання сполучної тканини, герпесвірусна інфекція 1 типу, індекси активності, лімфоцити, інтерлейкіни, противірусна терапія, інтерферонорефрактерність

ABSTRACT

N.M. Horbal Features of the immune response in patients with systemic connective tissue diseases and reactivated herpes simplex virus type 1 infection and their management. – Qualifying academic paper as manuscript.

The dissertation for a candidate degree in medical sciences, specialty 14.03.08 - Immunology and Allergology. - Danylo Halytsky Lviv National Medical University, V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv 2021.

The dissertation is devoted to studying the influence of herpes infection type 1 on the course of systemic connective tissue diseases, optimization of its early detection and development of therapeutic approaches in patients with systemic connective tissue diseases in the presence of reactivated herpes infection type 1 taking into account clinical, molecular genetic and immunological parameters of these patients.

Verification of reactivated herpes infection type 1 (HSV-1) in patients with systemic connective tissue diseases (CTD) was performed on the basis of clinical data, the results of molecular genetic testing for the detection of HSV-1 DNA in three bioenvironments (blood, saliva, skin scrapings of the lesion or mucous membrane) and elevated levels of specific immunoglobulins M (IgM) and G (IgG) to herpes simplex virus type 1. The knowledge of the functional activity of T-helpers' subpopulations of types 1, 2 and 3 based on the assessment of the cytokines level produced by them (IFN- γ , IL-4 and IL-10) in patients with CTD in the presence of reactivated herpes infection type 1 has been broadened. Peculiarities of cell-dependent and humoral-dependent immunological mechanisms in patients with CTD in the presence of reactivated herpes infection type 1 have been analyzed. For the first time, mathematical models for predicting the number of recurrences in a group of patients with CTD in the presence of reactivated HSV-1 infection were developed, causal reactivation factors and factors causing an increase in CTD activity were established. The assessment of clinical, virological and immunological efficacy, safety and tolerability of antiviral therapy in the complex treatment of patients with CTD, taking into account the number of relapses of HSV-1 infection, was carried out. For the first time, the peculiarities of local and systemic interferon refractoriness in patients with CTD in the presence of reactivated

HSV-1 infection against the background of applying antiviral therapy with inosine pranobex were studied.

Using clinical, general laboratory, biochemical, molecular genetic, immunological, instrumental methods, 110 patients were examined, which were divided into the following groups: Group 1 - 34 patients with CTD+HSV-1, including 18 patients with rheumatoid arthritis in the presence of reactivated HSV-1 infection (RA+HSV-1) and 16 patients with systemic lupus erythematosus under conditions of reactivated HSV-1 infection (SLE+HSV-1); Group 2 - 40 patients with CTD (including 22 patients with RA and 18 patients with SLE); Group 3 - 36 patients with reactivated HSV-1 infection; Group 4 - 20 healthy people.

In order to compare the efficacy of the recommended treatment schemes, patients with CTD+HSV-1 and reactivated HSV-1 infection were further divided into subgroups depending on the recurrence rate of HSV-1 infection during the year: 1). patients with a recurrence rate of 1-2 times per year (mild course); 2). patients with a recurrence rate of 3 or more times per year (moderate and severe course). Patients with mild course of reactivated HSV-1 infection received inosine pranobex at a dose of 100 mg/kg/day for the first 14 days of treatment with switching to a maintenance dose of 50 mg/kg/day for 3 months. Patients with moderate and severe course of HSV-1 infection received acyclovir (1600 mg/day) + inosine pranobex (100 mg/kg/day) during the first 14 days of treatment, with switching to maintenance therapy with inosine pranobex at a dose of 50 mg/kg/day for up to 3 months. Patients with CTD+HSV-1 underwent antiviral therapy (according to the above scheme) and a concurrent background therapy. Patients with CTD and negative HSV-1 PCR test underwent only background therapy.

The clinical condition of the patients under examination was assessed based on the complaints, objective examination data and activity indices of CTD (DAS28 - to assess the activity of RA, SLEDAI - to assess the activity of SLE) and the HAQ functional disability index. Verification of the diagnosis of HSV-1 infection was based on the results of DNA virus identification using the method of polymerase chain reaction. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine specific immunoglobulins of the IgM and IgG classes for HSV-1. Phenotyping of peripheral

blood lymphocytes was performed on a flow cytofluorimeter. Detection of IFN- α , IFN- γ , IL-4 and IL-10 was performed using the solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. All statistical calculations were performed using RStudio v.1.1.442 and R Commander v.2.4-4 software. The mean values and their standard errors were determined, the probability of the difference was estimated based on the Mann-Whitney U test and Student's t-test.

The first stage of the work involved the determination of molecular genetic and serological markers of HSV-1 infection in patients of the studied groups. Based on the molecular genetic testing in patients with CTD+HSV-1, HSV-1 DNA was detected in the saliva of 38.2% of patients, in mucous membranes - 64.7%, blood - 11.8%; in two bioenvironments simultaneously: saliva+scraping of lesions or mucous membranes - in 11.8% patients; scraping of lesions or mucous membranes+blood - in 8.8% patients; saliva+scraping of lesions or mucous membranes+blood - in 2.9% patient.

Activation of the specific humoral immunity was observed in patients with CTD+HSV-1 the level of IgM-HSV-1 was 1.83 ± 0.18 g/l, which was 4.58 times higher than in patients with CTD (0.40 ± 0.06 g/l; $p < 0.05$). The synthesis of specific IgG-HSV-1 was also 2.85 times higher in patients with CTD + HSV-1 (18.5 ± 3.25 g/l) compared to patients with CTD (6.53 ± 2.31 g/l; $p < 0.05$) and did not differ from that in patients with reactivated HSV-1 infection (16.4 ± 2.59 g/l; $p > 0.05$).

Patients with CTD+HSV-1 compared to patients with CTD suffered more frequently from peripheral neuropathy – 2.60 times, disorders of the visual organ – 2.36 times, lymphadenopathy - 1.83 times, nephropathy – 1.76 times, headache – 1.53 times, prolonged subfebrile condition – 1.49 times, a pronounced feeling of general weakness – 1.34 times and compared to patients with HSV-1 infection, the following was observed more often, namely: disorders of the visual organ – 4.24 times, atypical course of HSV-1-infection (edematous form) – 2.12 times, peripheral neuropathy – 1.86 times, a pronounced feeling of general weakness – 1.54 times and prolonged subfebrile condition – 1.43 times.

In patients with RA+HSV-1 the frequency of high activity of the inflammatory process according to DAS28 was 1.39 times higher than in patients with RA. Patients with

SLE+HSV-1 were 1.45 times more likely to show high activity and severe course compared to patients with SLE. In patients with CTD+HSV-1 the value of the HAQ index was higher (1.90 ± 0.19) compared to patients with CTD (1.44 ± 0.13 ; $p < 0.05$).

The study of phenotypic peculiarities of lymphocytes in patients of the studied groups was carried out. Patients with CTD+HSV-1 showed an increase in T-lymphocytes and their subpopulations ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$) compared with healthy individuals, in contrast to patients with CTD, in whom there was no difference between these indicators ($p > 0.05$). Predictably, the number of $CD16^+56^+$ lymphocytes was increased in patients with CTD+HSV-1 ($12.7 \pm 1.02\%$) and patients with HSV-1 ($14.8 \pm 2.11\%$), compared to patients with CTD ($10.1 \pm 0.79\%$; $p < 0.05$). The increase in the number of $CD45^+19^-$ lymphocytes in patients with CTD ($16.2 \pm 1.10\%$) was probably associated with the formation of autoimmune reactions of the humoral type with active synthesis of autoantibodies, and in patients with CTD+HSV-1 ($15.2 \pm 1.01\%$) an additional factor stimulating antibody genesis was HSV-1. The number of $CD3^+HLA^+DR$ lymphocytes was higher in patients with CTD+HSV-1 ($13.9 \pm 0.59\%$), which was 1.51 times higher than in patients with CTD and 1.23 times higher than in patients with HSV-1 ($11.3 \pm 1.16\%$; $p < 0.05$). These results testify to the increased activation of T-lymphocytes (especially in patients with CTD+HSV-1), which contributed to the increased autoaggression with the involvement of the cellular element of the immune system. The number of $CD45^+56^+69^-$ lymphocytes was significantly reduced in patients with CTD+HSV-1, which was 1.40 times higher than in patients with CTD and 1.22 times lower than in patients with HSV-1. It was found that the number of $CD45^+56^+69^-$ lymphocytes in patients with CTD+HSV-1 ($4.96 \pm 0.53\%$) was 1.68 times higher than in patients with reactivated HSV-1 infection and 1.41 times higher compared to patients with CTD. Particularly high expression of $CD69^+$ antigens on lymphocytes reflected a more severe course of the underlying disease with additional negative effects of HSV-1 in patients with CTD+HSV-1. The number of regulatory $CD4^+25^-$ lymphocytes was higher in patients with CTD+HSV-1 ($10.2 \pm 0.84\%$) and in patients with CTD ($9.89 \pm 0.87\%$) compared with healthy individuals ($7.63 \pm 0.71\%$, $p < 0.05$), it may be a compensatory factor in the immune response to exacerbation of virological replicative

activity, which threatens to increase autoaggression. The number of CD8⁺28⁺-lymphocytes in patients with CTD+HSV-1 ($10.1 \pm 1.78\%$) and patients with HSV-1 ($10.7 \pm 0.92\%$) was lower compared with healthy individuals ($15.3 \pm 1.22\%$; $p < 0.05$) and patients with CTD (14.6 ± 1.38 ; $p < 0.05$). The numbers of CD8⁺28⁻-lymphocytes in patients with CTD+HSV-1 ($15.7 \pm 1.72\%$) and patients with HSV-1 ($13.6 \pm 1.34\%$) were higher than in healthy individuals $9.32 \pm 1.63\%$, $p < 0.05$), while in patients with CTD+HSV-1, they were higher than in patients with CTD ($11.4 \pm 1.21\%$, $p < 0.05$). Thus, in patients with CTD+HSV-1 and HSV-1 there was a smaller number of CD8⁺28⁺-lymphocytes and a larger number of CD8⁺28⁻-lymphocytes, which indicated the suppression of costimulatory signals required for activation of T-helpers, followed by the formation of adequate immune response. Changes in the expression of the specified receptors led to a more severe course of CTD, primarily in patients with reactivated HSV-1 infection. Therefore, patients with CTD+HSV-1 compared to patients with CTD had probably larger number of CD16⁺56⁺-lymphocytes, CD8⁺28⁻- and smaller number of CD8⁺28⁺-lymphocytes, and compared with patients with HSV-1 infection there was a significantly higher number of CD45⁺19⁺-lymphocytes, CD3⁺HLA⁺DR⁺-lymphocytes, CD45⁺56⁺69⁺-lymphocytes.

A comparative analysis of the level of IFN- γ , IL-4, IL-10 in blood serum, and IFN- α in serum and saliva was conducted. The level of IFN- γ in the serum of patients with CTD+HSV-1 appeared to be higher (5.71 ± 0.56 pg/ml) than in healthy individuals (4.19 ± 0.51 pg/ml; $p < 0, 05$) and in patients with HSV-1 (2.81 ± 0.42 pg/ml; $p < 0.05$) and lower than in patients with CTD (7.83 ± 0.89 pg/ml; $p < 0.05$). The maximum increase of IFN- γ level was observed in patients with CTD+HSV-1 and patients with CTD, which contributed to further loss of immune tolerance, stimulation of B-lymphocytes and, as a consequence, increased production of autoantibodies. Decreased IFN- γ synthesis in patients with HSV-1 testified to depletion of antiviral defence mechanisms. The highest level (4.13 ± 0.51 pg/ml) of IL-4 in the serum was found in patients with HSV-1 infection, which was 1.18 times higher than in patients with CTD+HSV-1 and 1.93 times higher than in patients with CTD, which is probably due to the activation of the humoral element of the immune system, including the specific antibody genesis. The

level of IL-10 in patients with CTD+HSV-1 (2.47 ± 0.40 pg/ml) appeared to be lower than in healthy individuals (3.79 ± 0.52 pg/ml; $p < 0.05$) and did not differ from that in patients with CTD (3.04 ± 0.61 pg / ml; $p > 0.05$) and patients with HSV-1 infection (2.84 ± 0.73 pg/ml; $p > 0.05$). Patients with SLE+HSV-1 had 1.73 times lower level of IL-10 than patients with RA+HSV-1. These changes in the level of IL-10 could have an immunosuppressive effect, reducing the expression of cytokines of T-helpers type 1, responsible for the formation of cellular antiviral immunity. The highest concentration of IFN- α was found in patients with rectified HSV-1 infection, which was 1.46 times higher than in patients with CTD+HSV-1 and 1.97 times higher than in patients with CTD. Reliable increase in the level of IFN- α in saliva indicates the activation of antiviral protection. Thus, patients with CTD+HSV-1 compared to patients with CTD had a significantly higher level of IL-4, lower levels of IFN- γ , against the background of a slightly increased concentration of IFN- α in saliva. Compared to patients with HSV-1, patients with CTD+HSV-1 had significantly lower levels of IFN- α in saliva and higher levels of IFN- γ in blood serum against the background of slightly reduced level of IL-4.

Mathematical modelling using immunological parameters was performed, which allowed obtaining a number of equations to predict the course of the diseases. The risk of HSV-1 infection reactivation for patients with CTD+HSV-1 (responsiveness 100%, specificity 85%, overall accuracy of the model 92.5%), prognosis of the number of HSV-1 infection recurrences during the year — for patients with CTD+HSV-1 and HSV-1, prognosis of CTD activity growth — for patients with CTD+HSV-1 (responsiveness 83.33%, specificity 100%, overall accuracy of the model 90%) and with CTD (responsiveness 88.89%, specificity 90.91%, the overall accuracy of the model 90%) was determined.

The clinical efficacy of combination therapy in patients with CTD+HSV-1 was assessed based on the dynamics of the number of HSV-1 infection relapses and the functional index HAQ. Therefore, after treatment, the number of relapses decreased by 1.64 times in patients with CTD+HSV-1, and the functional index of HAQ decreased by 1.37 times.

The virological efficacy of treatment in patients with CTD+HSV-1 was assessed by analyzing the dynamics of HSV-1 DNA detection and the levels of specific antibodies of IgM and IgG classes. The frequency of HSV-1 DNA detection decreased in saliva by 3.25 times, in scrapings of lesions or mucous membranes — by 3.67 times and in blood — by 4.0 times.

Evaluation of immunological efficacy was based on the dynamics analysis of the population, subpopulation composition of lymphocytes, their activation markers, the level of cytokines IFN- γ , IL-4 and IL-10 in serum, IFN- α (in serum and saliva).

At the end of the course of combination therapy in patients with CTD+HSV-1 there was a decrease in the number of CD16⁺56⁺-lymphocytes – by 1.48 times and CD3⁺HLA⁺DR-lymphocytes – by 1.38 times ($p<0,05$). The relative number of CD8⁺CD28⁺-lymphocytes in the group of patients with CTD+HSV-1 increased by 1.42 times, and CD8⁺CD28⁻ and CD56⁺69⁺ lymphocytes — decreased by 1.50 and 1.66 times, respectively. After treatment, there was a 1.40 times increase in IL-10 levels and a 1.28-times decrease in serum IFN- γ levels. The concentration of IFN- α in the serum decreased by 1.41 times, and in saliva — by 1.27 times.

To determine interferon refractoriness in patients with CTD+HSV-1 against the background of inosine pranobex use, a comparative analysis of serum and salivary IFN- α concentrations was performed during all treatment period. Considering the dynamics of IFN- α level, characterized by increase of it's level during the first seven days of treatment and gradual decrease and normalization on the 90th day, the conclusion was made: inosine pranobex therapy demonstrated its interferon-regulating effect in patients with CTD+HSV-1 and did not facilitate the formation of interferon refractoriness.

The tolerability of antiviral therapy in patients with CTD against the background of reactivated HSV-1-infection was evaluated based on the daily dose of inosine pranobex (up to 4 g and more than 4 g depending on the patient's weight). Thus, tolerability of inosine pranobex in a daily dose of up to 4 g was assessed by patients as "good" in 81.3%, by doctors - in 93.8%, «fair» by patients - in 18.7%, by doctors - in 6.2%. When receiving a daily dose of more than 4 grams of inosine

pranobex rated it as "good" 75.0% of patients and 87.5% of doctors, «fair»- 25.0% of patients and 12.5% of doctors. Unsatisfactory tolerability of inosine pranobex was not observed.

Key words: systemic connective tissue diseases, herpes infection type 1, clinical manifestations, interferons, interleukins, lymphocytes, antiviral and background therapy

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

Наукові праці, опубліковані у фахових виданнях України

1. Горбаль Н. М., Чопяк В. В., Синенький О. В., Гайдучок І. Г. Особливості фенотипового розподілу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у пацієнтів із інфекцією спричиненою вірусом простого герпесу та системними захворюваннями сполучної тканини. *Вісн. Харків. нац. ун-ту імені В. Н. Каразіна. Сер.: Медицина*. 2020. Вип. 40. С. 23–32. (Особистий внесок здобувача - формування груп обстеження, аналіз та систематизація матеріалу).

2. Horbal N. M. Peculiarities of immunological parameters in patients with recurrent herpes simplex virus infection. *Праці наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки* 2019. Т. 57, № 2. С. 128–132 (*Index Copernicus*).

3. Горбаль Н. М., Іщейкін К. Е., Потьомкіна Г. О., Гайдучок І. Г., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Особливості продукції IFN-α у хворих на рецидивуючу герпесвірусну інфекцію 1-го та 2-го типів. *Семейная медицина*. 2019. № 3(83). С. 37–42. (Особистий внесок здобувача - дисертантом проведено підбір, аналіз та систематизація матеріалу).

4. Горбаль Н. М., Іщейкін К. Е., Потьомкіна Г. О., Гайдучок І. Г., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Моніторинг синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію. *Пробл. екології та медицини*. 2018. Т. 22, № 5–6. С. 3–9. (Особистий внесок здобувача - здобувачу належить ідея дослідження, набір хворих, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку) (*Index Copernicus*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

5. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О., Ліщук-Якимович Х. О., Горбаль Н. М. Оцінка ефективності препарату Імодину у хворих на Епштейн-Барр вірусний реактивний артрит. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями: матеріали конф.* 2015. С. 223. (Особистий внесок здобувача - формування груп обстеження, аналіз та систематизація матеріалу).

6. Ліщук-Якимович Х. О., Потьомкіна Г. О., Ломіковська М. П., Горбаль Н. М. Клінічні та імунологічні особливості геморагічних васкулітів та тлі полісенсibilізації. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і*

боротьби з ускладненнями : матеріали конф. 2015. С. 149. (Особистий внесок здобувача - дисертантом проведено підбір, аналіз та систематизація матеріалу).

7. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О., Горбаль Н. М. Клініка, діагностика та стан імунної системи у хворих на реактивний артрит на тлі вірусної інфекції Епштейн-Барр. *Український ревматологічний журнал (матеріали конференції)*. 2015. № 3(61). С. 91. (Особистий внесок здобувача огляд сучасних літературних джерел з даної проблеми, набір хворих та узагальнення отриманих результатів).

8. Зубченко С. О., Горбаль Н. М. Особливості перебігу мікст-герпесвірусних інфекцій. *Проблеми військової охорони здоров'я : зб. наук. пр. Укр. військ.-мед. акад.* 2015. Вип. 44, № 2. С. 148. (Особистий внесок здобувача - збір матеріалу, узагальнення отриманих результатів, підготовка тексту статті).

ЗМІСТ

ЗМІСТ	19
ПЕРЕЛІК УМОВИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	22
ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ІМУНОПАТОГЕНЕЗ, ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІКИ ТА ЛІКУВАННЯ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ (аналітичний огляд літератури).....	29
1.1 Герпетична інфекція 1 типу: загальна характеристика вірусу.....	29
1.2 Робота природжених та набутих механізмів захисту імунної системи у відповідь на герпетичну інфекцію 1 типу.....	37
1.3 Системні захворювання сполучної тканини та роль герпетичної інфекції 1 типу в їх розвитку	50
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	56
2.1 Протокол дослідження: об'єкт дослідження, розподіл за групами, характеристика груп хворих	56
2.2 Оцінка стану здоров'я та активності хвороби за допомогою індексів у пацієнтів з системними захворюваннями сполучної тканин.....	60
2.3 Лабораторні методи обстеження	61
2.3.1 Виявлення вірусу простого герпесу 1 типу за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) у трьох біосередовищах	62
2.3.2 Визначення специфічних імуноглобулінів класів М та G до ВПГ-1	63
2.3.3 Кількісне визначення популяцій та субпопуляцій лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії	64
2.3.4 Кількісне визначення CD45 ⁺ CD56 ⁺ CD69 ⁻ та CD45 ⁺ CD56 ⁺ CD69 ⁻ -лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії.....	65
2.3.5 Кількісне визначення CD8 ⁺ CD28 ⁺ та CD8 ⁺ CD28 ⁻ - лімфоцитів	

за допомогою методу проточної цитометрії	65
2.3.6 Кількісне визначення активізаційних маркерів лімфоцитів (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , CD3 ⁻ HLA-DR ⁺ , CD4 ⁺ CD25 ⁺ , CD4 ⁺ CD25 ⁻) за допомогою методу проточної цитометрії	66
2.3.7 Визначення рівня інтерлейкінів (IL-4 та IL-10)	67
2.3.8 Визначення рівня інтерферонів (IFN-α, IFN-γ в сироватці крові та IFN-α в слині)	67
2.4 Статистичні методи дослідження	69
РОЗДІЛ 3. КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ.....	71
3.1 Клінічні особливості перебігу системних захворювань сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу	71
3.2 Характеристика молекулярно-генетичних показників та специфічного антитілогенезу в пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу	86
3.3 Фенотипічна характеристика лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу	94
3.4 Особливості синтезу цитокінів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 тип.....	102
Розділ 4. ПРОГНОСТИЧНІ МОДЕЛІ НА ОСНОВІ ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА СИСТЕМНІ ЗАХВОРЮВАННЯ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАВНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ ТА ІНШИХ ДОСЛІДЖУВАНИХ ГРУПАХ.....	114
Розділ 5. ОЦІНКА КЛІНІЧНОЇ, ВІРУСОЛОГІЧНОЇ, ІМУНОЛОГІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ	123

Розділ 6. ХАРАКТЕРИСТИКА МІСЦЕВОЇ ТА СИСТЕМНОЇ ІНТЕРФЕРОНОРЕФРАКТЕРНОСТІ ТА ПЕРЕНОСИМОСТІ ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ.....	149
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	154
ВИСНОВКИ.....	164
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	167
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	168
ДОДАТКИ	190

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВАШ - візуальна аналогова шкала

ВПГ 1 - вірус простого герпесу 1 типу

ЕБВ - вірус Епштейна-Барра

ЗОАЗП - загальна оцінка активності захворювання пацієнтом

ІС - імунна система

ІФА - імуноферментний аналіз

КНП ЛОР «ЛОКЛ» - комунальне некомерційне підприємство львівської обласної ради «Львівська обласна клінічна лікарня»

ЛНМУ - Львівський національний медичний університет

ПЛР - полімеразна ланцюгова реакція

РА - ревматоїдний артрит

РФ - ревматоїдний фактор

СЗСТ - системні захворювання сполучної тканини

СЗСТ+ВПГ 1 типу - хворі із системними захворюваннями сполучної тканини на тлі простої герпесвірусної інфекції 1 типу

СРП - С-реактивний протеїн

ССД - системна склеродермія

СЧВ - системний червоний вовчак

ЦМВ - цитомегаловірусна інфекція

ШОЕ - швидкість осідання еритроцитів

ACR - American College of Rheumatology

ANA - антинуклеарні антитіла

Anti-dsDNA - антитіла до двоспінальної ДНК

Anti-CCP - антитіла до циклічного цитрулінового пептиду

Anti-Sm - антитіла до ядерного антигену Сміта

CTD - systemic connective tissue diseases

DAS28 - Disease Activity Score, індекс активності ревматоїдного артриту

EULAR - European League Against Rheumatism

HAQ - Health Assessment Questionnaire, враховує функціональний індекс порушення життєдіяльності при СЗСТ

HSV-1 - herpes simplex virus type 1 infection

IFN- γ - інтерферон-гамма

IFN- α - інтерферон-альфа

IgM, IgG - імуноглобуліни класів М та G

IL4, IL10 - інтерлейкін 4 та 10

RA - rheumatoid arthritis

SLE - Systemic Lupus Erythematosus

SLEDAI - Systemic Lupus Erythematosus Disease, індекс активності системного червоного вовчаку

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Системні хвороби сполучної тканини (СЗСТ) становлять актуальну проблему сучасної медицини. Соціальне значення СЗСТ зумовлено значним розповсюдженням, тяжким пошкодженням внутрішніх органів, початком у молодому віці і ранньою інвалідизацією хворих [143, 146, 190].

Відомий вплив ряду епігенетичних та генетичних факторів на виникнення та розвиток СЗСТ [170, 173, 181]. Певна роль серед первинних факторів належить групі герпетичних інфекцій, зокрема вірусу герпесу 1 типу (ВПГ-1) [62, 184]. За даними різних авторів поширеність ВПГ-1-інфекції становить від 66,6% в загальній популяції до 97,3% у пацієнтів із СЗСТ [105]. ВПГ-1 здатний до позитивної персистенції, формуючи латентну інфекцію з можливістю до рецидивування [28, 50, 114]. Рецидивуюча ВПГ-1-інфекція є причиною низки імунопатологічних процесів, що проявляються характерними порушеннями клітинних і гуморальних ланок імунної системи, зниженням функціональної активності імункомпетентних клітин та розвитком імунних порушень чи вторинних імунodefіцитів. Більшість дослідників схильні вважати, що віруси, в тому числі ВПГ-1, найбільш ймовірно, приєднуються до хворих на СЗСТ через зниження активності імунної системи, що формується на тлі застосування базисної терапії та глюкокортикостероїдів. Поряд з цим існує думка, що віруси спричиняють негативний вплив не тільки на тлі імуносупресії, а й дають поштовх до розвитку аутоімунних реакцій [68, 184]. У таких пацієнтів зростає ризик тяжкого перебігу СЗСТ з ураженням нервової системи, зокрема органа зору, травної та видільної систем [5, 104]. Поліорганність та атиповість клінічних проявів ВПГ-1-інфекції часто ускладнює інтерпретацію її симптомокомплексу та підбір терапії, маскуючи при цьому основні клінічні прояви СЗСТ.

На сучасному етапі розвитку медицини лікування хворих на СЗСТ орієнтовано на якомога швидше зниження активності хвороби та попередження формування різних ускладнень, в тому числі імунозалежних. Поєднання

аутоімунних хвороб з ВПГ-1-інфекцією потребує розробки нових підходів щодо комплексного лікування з застосуванням противірусних препаратів.

Тому, вивчення особливостей клінічного перебігу, імунологічних механізмів розвитку СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції необхідно для прогнозування тяжкості й активності СЗСТ з метою формування сучасних ефективних терапевтично-профілактичних заходів для попередження розвитку небезпечних для життя ускладнень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом планової комплексної науково-дослідної роботи кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (ЛНМУ) на тему «Прогнозування розвитку вірус-індукованих фенотипів імунозалежних хвороб з персоніфікацією їх діагностики та лікування» (Державний реєстраційний № 0118U000110).

Мета дослідження. Оптимізація діагностики та розробка підходів до застосування противірусної та імуномодуючої терапії у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу на підставі вивчення особливостей імунологічних механізмів розвитку та оцінки клінічної, вірусологічної, імунологічної ефективності, безпеки та переносимості лікування. Для досягнення поставленої мети були поставлені **наступні завдання:**

1. Вивчити клінічні (з використанням індексів активності DAS28, SLEDAI 2K та функціонального індексу HAQ), вірусологічні (ДНК ВПГ-1, IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1), імунологічні (anti-CCP, РФ, ANA, anti-dsDNA, anti-Sm) показники в хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції порівняно з хворими на СЗСТ та пацієнтами із реактивованою ВПГ-1-інфекцією.
2. Проаналізувати особливості фенотипування лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у хворих на СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції та в групах порівняння.

3. Дослідити рівні IFN- α в сироватці крові та слині, IFN- γ , IL-4, IL-10 в сироватці крові в хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції та в групах порівняння.
4. Розробити математичні моделі на основі імунологічних показників з метою прогнозування ризиків реактивації ВПГ-1-інфекції, кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції в групі хворих на СЗСТ, а також ризиків посилення активності СЗСТ.
5. Оцінити клінічну, вірусологічну, імунологічну ефективність протівірусної терапії на тлі базової терапії у пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції.
6. Вивчити інтерферонорефрактерність та переносимість протівірусної терапії (інозин пранобекс) у пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції.

Об'єкт дослідження: системні захворювання сполучної тканини, рецидивуюча герпетична інфекція першого типу та їх поєднання.

Предмет дослідження: комплекс імунологічних, молекулярно-генетичних, серологічних, біохімічних та клінічних параметрів у пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, ефективність та переносимість протівірусної та базової терапії.

Методи дослідження: клінічні, загально-лабораторні, імунологічні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів.

На підставі аналізу особливостей клінічних, вірусологічних та імунологічних даних визначено комплекс показників, рівні яких дозволили прогнозувати характер несприятливого перебігу у хворих із системними захворюваннями сполучної тканини на тлі реактивованої герпетичної інфекції 1 типу.

У хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу отримано нові наукові дані щодо функціональної активності субпопуляцій Т-хелперів 1, 2 та 3 типів на основі оцінки рівня продукованих ними цитокінів (IFN- γ , IL-4 та IL-10).

Розширено наукові уявлення та аналітично опрацьовані особливості клітиннозалежних та гуморальнозалежних імунологічних механізмів у хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу.

Вперше розроблено математичні моделі прогнозування кількості і частоти рецидивів в групі хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції, встановлено причинні фактори реактивації та чинники, що зумовлюють зростання активності СЗСТ.

Удосконалено тактику ведення хворих на СЗСТ за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу з використанням комплексної протівірусної терапії на тлі базової терапії з урахуванням частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції.

Проведено оцінку клінічної, вірусологічної та імунологічної ефективності, безпеки та переносимості протівірусної терапії в комплексному лікуванні хворих на СЗСТ з урахуванням кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції.

Вперше вивчено особливості місцевої та системної інтерферонорефрактерності в хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції на тлі застосування протівірусної терапії інозин пранобексом.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною науковою роботою здобувача. На основі проведеного інформаційно-патентного пошуку та літературного огляду автором, спільно з науковим керівником, розроблено концепцію дисертаційного дослідження, визначено тему, мету, завдання та обрано методи дослідження. Автором самостійно відібрані та проконсультовані 110 хворих та сформовані їх окремі групи (34 хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (СЗСТ+ВПГ-1), 40 хворих на системні захворювання сполучної тканини (СЗСТ) та 36 хворих на реактивовану герпетичну інфекцію 1 типу (ВПГ-1)); визначено й здійснено комплексну діагностично-лікувальну програму залежно від частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції, виконано статистичну обробку отриманих результатів, написано усі розділи дисертації, підготовлено до друку наукові публікації, забезпечено впровадження результатів дисертаційної роботи в клінічну практику. Спільно з науковим керівником систематизовані та проаналізовані отримані результати, сформульовані основні

положення, висновки та розроблено практичні рекомендації.

Апробація результатів дисертації. Основні результати проведеного дослідження були презентовані на науковому симпозіумі з міжнародною участю «Різдвяні читання: харчова алергія – проблема XIX століття» (Львів, 2015), II міжнародному симпозіумі «Захворювання кісток і суглобів та вік» (Львів, 2016), міжнародній конференції «Різдвяні читання з імунології та алергології: практична та наукова генеалогія» (Львів, 2017), науково-практичній конференції «Медикаментозна алергія: мультидисциплінарний підхід» Львівського медичного форуму (Львів, 2017), міжнародній конференції «Аутоімунні, алергічні, імунодефіцитні хвороби та імунні конфлікти: сучасна діагностика та терапія» (Львів, 2018), III національному конгресі з імунології, алергології та імунореабілітації (Дніпро, 2018), на конференції «Інновації в алергології та імунології» (Львів, 2019), на науково-практичній конференції «Ревматичні хвороби: модифікація імунного статусу та запального процесу» (Київ, 2019), на III міжнародному симпозіумі «Immunotechnology in Medicine 2019» Innovation SMART LION (Львів, 2019), засіданнях кафедри клінічної імунології та алергології ЛНМУ імені Д. Галицького (2016-2020).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових робіт, з них 4 у наукових фахових виданнях, внесених до переліку МОН України, 4 – у тезах матеріалів наукових конференцій та конгресів.

Дисертація викладена на 198 сторінках друкованого тексту, з яких 144 сторінок основного тексту. До складу роботи входять: вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, власні результати дослідження, аналіз та обговорення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, який включає 203 найменувань, з них 50 кирилицею і 153 латиницею. Дисертація ілюстрована 23 таблицями, 45 рисунками.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ
СУЧАСНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ІМУНОПАТОГЕНЕЗ,
ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІКИ ТА ЛІКУВАННЯ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ
1 ТИПУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМ
СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

1.1 Герпетична інфекція 1 типу: загальна характеристика вірусу

Вперше слово «герпес» (з грецької «повзучий») в медицині було згадано ще в античності. Герпетичні висипання, так званий «herpes febrilis», були вперше описаними лікарем з Риму - Геродотом ще в 853 році до н.е. (AD100) [193]. Імператором Тіберіусом навіть було накладено заборону на поцілунки через часті випадки герпетичних висипань серед населення [126]. Що стосується генітального герпесу, то перші згадки датуються 1736 роком і описаними вони були Джоном Аструком, лікарем короля Франції. Перший переклад англійською з'явився у його трактаті про венеричні хвороби у 1754 році [71]. У 18 столітті генітальний герпес був настільки поширеним серед повій, що отримав назву «професійна хвороба жінок» [126]. Термін «герпес» з'являється в праці Річарда Бултана «Система раціональної і практичної хірургії» в 1713 році. Та проте до 1940 року герпес не вважався вірусом [126]. І так із століття у століття відбувалася передача герпесу без достатнього розуміння етіології даного захворювання. В 1912 році вченим W. Gruter було вперше виявлено вірус герпесу в рідині герпетичного міхурця у людини. Через декілька років, у 1919 р., німецьким вченим А. Löwenstein було опубліковано результати схожих досліджень. Таким чином, була нарешті доведена інфекційна природа захворювання, відомого як простий герпес (ПГ) [177]. На початку 20 століття вірус герпесу був успішно прищеплений кроликам і вирощений в умовах *in vitro* в 1925 році [148]. У 1960-х рр. Нахмія і Доудл повідомили про два антигенних типи ВПГ з різними ділянками вірусної інфекції [139].

Віруси герпесу належать до родини *Herpesviridae*. Це ДНК-вмісні складні віруси, віріон яких має середній розмір — 250–300 нм та ікосаедричний тип симетрії. ДНК герпесвірусів представлена двохнитковою лінійною молекулою, що містить у своєму складі короткий (~18 %) і довгий (~82 %) компоненти. Молекулярна маса ДНК – 80×10^6 – 160×10^6 дальтон [28].

Геном ВПГ 1 типу становить 152 тпн і 155 тпн відповідно [30]. Вірусні гени експресуються за наступними групами: ранні альфа-гени (immediate early - ІЕ, α), ранні бета-гени (early -Е, β) і пізні гамма-гени (late γ), кожен працює із певною групою промоторів, регулюючи послідовну експресію [159]. Продукти α -генів - індуктори транскрипції, продукти β -генів - вірусні ферменти, такі як тимідинкіназа і вірусна ДНК-полімераза, і продукти γ -генів - структурні вірусні білки. Велика частина ферментів, необхідних для реплікації вірусної ДНК, кодується в геномі ВПГ, що принципово для реплікації ВПГ в нейронах [54].

Вірус простого герпесу 1 типу відноситься до родини альфа-герпесвірусів і є термолабільним, згідно даних отриманих в 1932 році М. Holden [91, 97, 100]. Оптимальним рівнем рН для забезпечення термостабільності є 6,5 до 6,9 [11].

Процес проникнення герпесвірусу всередину клітини розпочинається з моменту прикріплення глікопротеїнових шипів вірусу до клітинних рецепторів з наступним злиттям суперкапсиду та клітинної мембрани. У цитоплазму клітини потрапляє нуклеокапсид, покритий тегументом, від якого нуклеокапсид в подальшому звільняється і доставляє в ядро клітини вірусну ДНК. В ядрі інфікованої клітини відбувається синтез ДНК дочірніх віріонів за участю вірусної ДНК-залежної ДНК-полімерази та іРНК за допомогою клітинної полімерази. іРНК, яка утворилася, виходить в цитоплазму клітини, де синтезуються вірусні білки, частина з яких (капсидні білки) мігрує в ядро. Незрілі капсиди всередині ядра заповнюються дочірніми молекулами ДНК, таким чином формуючи нуклеокапсиди. На внутрішній поверхні ядерної мембрани відбувається збір вірусних частинок. Нове покоління сформованих віріонів (до 105 вірусних частинок) з'являється в ядрі клітини вже через 6 годин після зараження. Дочірні віріони виходять з ядра через модифіковані мембрани ядерної оболонки клітини

шляхом брунькування і транспортуються до плазматичної мембрани клітини, в яку попередньо включаються білки суперкапсиду. Таким чином, суперкапсид утворюється з модифікованих фрагментів ядерної та цитоплазматичної мембран. В подальшому відбувається вихід дочірніх віріонів з клітини. Шляхами “виходу” дочірніх віріонів є лізис зараженої клітини або екзоцитоз. При екзоцитозі певна частина віріонів, які не завершили брунькування зв'язуються з сусідніми клітинами, обумовлюючи черговий цикл репродукції вірусів. Внаслідок такого механізму формуються багатоядерні клітини з внутрішньоядерними включеннями - симпласти, являючи собою нежиттєздатні структури. Вихід вірусних частинок з клітини проходить між 15 і 18 годинами від початку циклу репродукції. Це призводить до типової клінічної ознаки ВПГ-1-інфекції - утворення багатокамерних міхурців на шкірних покриттях, що уражені вірусом [59, 103, 115, 175, 179, 191].

Враховуючи поширеність інфекції, викликаной вірусами простого герпесу, здатність до позитивної персистенції в організмі людини, можливість реактивації під впливом зовнішніх та внутрішніх чинників (переохолодження, інсоляція, стрес, медикаментозно-індукована імуносупресія та ін.), різноманітність шляхів передачі та широкий спектр клінічної картини проста герпесвірусна інфекція займає чільне місце серед інфекцій, які визначатимуть майбутнє інфекційної патології в ХХІ столітті.

Шляхами проникнення ВПГ в організм людини є: аерозольний, контактний, орооральний, статевий та орогенітальний. Kaner R.J. довели, що вірус простого герпесу використовує рецептор до фактору росту фібробластів, який розташований на епітеліоцитах, для проникнення до клітин організму людини [110].

Первинно вірус потрапляє в епітеліоцити, звідки за допомогою нервових волокон типу С периферичних нервів ретроградним шляхом мігрує до регіонарного сенсорного ганглію, де набуває латентного стану. У випадку, потрапляння вірусу на слизову оболонку червоної облямівки губ цим сенсорним ганглієм служить гасерів вузол трійчастого нерва (Kennedy, 2015)

[114]. Та згідно з Valimaа можливе ураження і інших чутливих нервових вузлів голови і шиї, що забезпечується анастомозами між гілками краніальних нервів ВПГ-1. Вибір резервуару не є випадковим, оскільки за рахунок своєї імунопривілейованості (чутливі ганглії знаходяться за гематоенцефалічним бар'єром) вірус може довічно уникати цитотоксичної імунної відповіді з боку клітинного імунітету, яка могла б забезпечити ерадикацію вірусу з організму [29, 185].

Якщо раніше перехід вірусу із латентного стану у реактивний і навпаки розглядали виключно як ініціативу збудника, то сьогодні провідну роль у формуванні стратегії паразитування віддають імунній системі організму [5, 8, 16, 29, 191].

У формуванні противірусного захисту беруть участь практично усі ланки імунної системи. Порушення функціонування у будь-якій із них веде до зриву специфічної імунної відповіді, що призводить до виникнення рецидиву ВПГ та зазвичай є індукованим фізичним (механічна травма, термічний вплив, приєднання супутніх захворювань і т.д.), емоційним чинниками та виникненням імунодефіцитного стану загалом [145]. У свою чергу, часті рецидиви ВПГ і недостатня ефективність терапії, призводять до психологічного та фізичного дистресу, формуючи замкнуте коло [3, 33].

Противірусний захист організму здійснюється за допомогою численних клітинних і гуморальних механізмів [59, 60, 84, 106]. При цьому важлива роль відводиться Т-лімфоцитам, натуральним кілерам (NK-клітини), роботі моноцитарно-макрофагальної системи, альянсу цитокінів та іншим складовим ІС. Коли відбувається атака вірусів, на початковому етапі диригентами складної мультикомпонентної захисної реакції, що залучає безліч “учасників” є макрофаги.

Показано, що противірусна активність макрофагів [41], NK-клітин [137] і рання активація інтерферонової системи [113] є важливими медіаторами природженого захисту організму проти герпетичної інфекції.

Основною функцією макрофагів є участь у фагоцитозі та антигенпрезентації. Окрім того клітини макрофагально-фагоцитарної системи - основні продуценти фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- α), інтерлейкінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, названих прозапальних цитокінами [65, 163, 186, 196].

Однією із ключових подій в індукції клітинної протівірусної імунної відповіді є розпізнавання антигену CD4⁺ і CD8⁺ Т лімфоцитами, презентованого антиген-презентуючими клітинами (АПК) [18, 24, 53, 141, 192].

Порушення у роботі моноцитарно-макрофагальної системи при ВПГ у вигляді зниження активності цих клітин може відбуватися двома шляхами - у першому випадку на стадії реплікації ВПГ відсутня фаза раннього „включення” системи з її подальшою адекватною відповіддю на початку вірусемії; у другому – можна відмітити кількісне зниження як моноцитів, що циркулюють у крові так і тканинних макрофагів, з відсутністю повноцінної відповіді на розмноження і дисемінацію інфекції [23, 72].

До того ж макрофаги розглядаються як мікромодель резистентності або чутливості макроорганізму до герпетичної інфекції. Пермісивність макрофагів для ВПГ і активна репродукція вірусу в цих клітинах, є одним з патогенетичних механізмів, що детермінують чутливість макроорганізму до герпетичної інфекції і розвитку клінічних проявів. Непермісивність макрофагів і розвиток абортівної герпетичної інфекції не сприяє виникненню клінічних симптомів. У таких індивідуумів можливий розвиток субклінічних форм інфекції [2].

Інфіковані вірусом клітини, зазвичай, характеризуються зниженою експресією молекул МНС І класу на своїй поверхні, що забезпечує їх ефективне розпізнавання активаційним рецептором NK-клітин з наступним знищенням («missing self» hypothesis») [38, 43, 48]. На ранніх стадіях вірусної інфекції спостерігається процес вираженого посилення функціональної активності NK-клітин під впливом IFN- α , IFN- β та інших цитокінів (TNF- α , ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-12) [25]. Головним цитокіном, який стимулює NK-клітини є ІЛ-12. Він продукується макрофагами і здатен посилювати цитолітичну активність NK-клітин, індукувати

їх проліферацію, а також активувати їх функцію через посилення синтезу IFN- γ в синергізмі із IL-2 і TNF- α .

Цитокином, який володіє пригнічуючою активністю, так званим від'ємним активатором, NK-клітин є IL-10, який функціонально розглядають як антагоніст IL-12. IL-10 інгібує продукцію IFN- γ як NK-клітин, так і Т-лімфоцитами (Th1), яка є індукованою будь-якими цитокінами чи бактеріальними продуктами [81].

Дослідження виконані в останні роки свідчать про виняткову роль молекул коstimуляції CD28⁺ в розвитку специфічної імунної відповіді. Будучи найважливішим компонентом взаємодії імунокомпетентних клітин між собою, молекули CD28⁺ забезпечують активацію Т-лімфоцитів, посилюють проліферативну активність та підвищують здатність Т-лімфоцитів до синтезу цитокінів. При обстеженні новонароджених із герпесвірусною інфекцією (ЦМВ, ВПГ 1 та 2, ЕБВ) було виявлено більш виражене зниження числа клітин в сироватці крові з маркерами CD3⁺CD28⁺ при тяжкій формі ЦМВІ, що викликало пригнічення клітинної ланки імунітету та було однією з причин більш тяжкого перебігу захворювання у пацієнтів цієї групи. Аналогічні дані було отримано і при обстеженні новонароджених із вродженою герпесвірусною інфекцією 1 та 2 типів. У даної групи пацієнтів було виявлено достовірне зниження абсолютного числа лімфоцитів з маркерами коstimуляції CD3⁺CD28⁺ і збільшення кількості клітин без маркерів коstimуляції CD3⁺CD28⁻. У новонароджених із вродженою Епштейн-Барр вірусною інфекцією було відзначено незначне підвищення числа CD3⁺CD28⁺, на відміну від вище згаданих досліджуваних груп. При проведенні даного дослідження було виділено декілька чинників, які являлись статистично значущими при прогнозуванні форми цитомегаловірусної інфекції, одним з яких являлись лімфоцити CD3⁺CD28⁺. Також було виявлено достовірний взаємозв'язок між збереженням неврологічної симптоматики до кінця першого року життя у дітей, які перенесли ЦМВІ в перші три місяці життя, і рівнем активованих Т-лімфоцитів, з маркерами активації CD3⁺CD28⁺, Т лімфоцитів без маркерів

активації CD28 і CD3⁺CD28⁺, що підкреслює пріоритет саме цих клітин в патогенезі інфекційного ураження головного мозку.

Ще одним важливим клітинним протективним компонентом при ВПГ являються НК-клітини, які також володіють здатністю до формування так званих “НК-клітин пам’яті” і проявляють ознаки імунної пам’яті при вторинній відповіді [42, 151]. Активовані НК-клітин здатні секретувати IFN- γ , який активує макрофаги і Т-лімфоцити - одні з основних ефекторних клітин імунної відповіді. Головними ефекторними функціями НК-клітин є продукція цитокінів і цитотоксичність, які допомагають обмежувати і контролювати поширення вірусу в перші години і дні після інфікування.

НК-клітин і Т-ЦТЛ - головні учасники противірусних реакцій, тому багато вірусів набули механізмів “ухилення від імунної атаки”. ДНК вмісні віруси, герпесвіруси в тому числі, використовують різноманітні механізми, які дозволяють їм збільшувати період ефективної реплікації і поширення вірусних частинок [42, 172].

Первинне розпізнавання імунною системою ВПГ, відбувається завдяки роботі так званих патоген-асоційованих молекулярних структур (pathogen associated molecular patterns, PAMPs). Рецептори, які представлені як в клітинах імунної системи, так і в неімунних клітинах організму, об’єднані в сімейство паттерн-розпізнавальних рецепторів (pattern recognition receptors, PRRs). Сімейство PRR представлено різними білками, які експресуються як на клітинній мембрані, так і внутрішньоклітинно (ендосоми, цитоплазма). Після розпізнавання PAMPs рецептори PRR запускають молекулярні каскади, які призводять до активації різних ланок системи вродженого імунітету (продукція IFN I типу- IFN- α і IFN- β , продукція цитокінів, активація НК клітин) [180].

Клітинну ланку природженого противірусного захисту формують НК-клітини, моноцити і макрофаги, дендритні клітини, нейтрофіли. В останні роки отримані докази існування на цих клітинах молекулярних структур, які служать для розпізнавання різних типів мікроорганізмів, вірусів в тому числі. Ці структури отримали назву «Toll-like receptors» (TLR) [107]. Toll-like рецептори - сімейство

молекул, яке складається із 11 трансмембранних одноланцюгових білків рецепторів [22]. До їх складу входять позаклітинні, трансмембранні і внутріклітинні складові [16, 147]. Фрагменти цих рецепторів напряду взаємодіють з РAMP ВПГ, утворюючи при цьому активаційні комплекси. Проведення активаційного сигналу, індукованого цими рецепторами, відбувається за участі декількох допоміжних молекул - CD11/CD18, CD14, MD2 та інших [14]. Спільною ознакою усіх є здатність взаємодіяти із структурами вірусів - білками, глікопротеїдами, ліпопротеїдами, РНК і ДНК, формування і проведення в ядро активаційного сигналу, який веде до підвищення захисних неспецифічних механізмів організму, зокрема в запальній реакції. Це, в підсумку, веде до загибелі та елімінації патогену. Ці рецептори представлені на моноцитах, макрофагах, нейтрофілах, дендритних клітинах, НК-клітинах, і в меншій мірі, на еозинофілах, Т- і В-лімфоцитах.

Існує взаємозв'язок між Toll-like рецепторами і системою інтерферонів. П'ять типів Toll-like рецепторів беруть участь в індукції біосинтезу трьох основних класів інтерферонів [80, 149, 187]. В основі причин тяжкого перебігу і летального кінця у людини від багатьох інфекцій лежать дефекти Toll-like рецепторів, а також протеїнкінази, асоційованої з рецептором ІЛ-1 (IRAK). Так, Zhang S.Y. зі спів. описали випадок скроневого ВПГ1-енцефаліту у пацієнта із аутосомно-домінантним дефіцитом молекули TLR3 [202]. Цей PPR природженого імунітету взаємодіє із генетичним матеріалом вірусу, запускаючи внутрішньоклітинний каскад, який завершується інтерферонопродукцією альфа-, бета- і лямбда-інтерферонів (формують резистентність нейронів до вірусу ще до моменту надходження його в головний мозок). Робота TLR3 є критично важливою у контролі поширення патогену з епітелію верхніх дихальних шляхів вздовж краніальних нервів (трансневрально ольфакторна міграція вірусу). Окрім того, цей рецептор експресується дендритними клітинами і відіграє провідну роль в індукції адаптивної імунної відповіді до вірусу. У разі вродженого дефіциту TLR3 збудник безперешкодно здійснює ольфакторну міграцію в умовах запізнілої

продукції доїмунних інтерферонів, що сприяє розвитку маніфестації нейроінфекції [52].

Групою французьких вчених було проведено обстеження 51 сім'ї, в яких траплялися непоодинокі випадки ВПГ1-енцефаліту. У восьми сімей було виявлено 5 різноманітних мутацій у генах TLR3 або компонентів внутрішньоклітинного каскаду, що запускається цим паттерн-розпізнавальним рецептором [197]. А Guo Y. зі спів. було описано випадки сімей із повним дефіцитом TLR3 та як наслідок розвитку ВПГ1-енцефаліту [99].

Вченими із Бразилії було продемонстровано важливість і інших TLR-рецепторів у розвитку нейроінфекції, а саме TLR2 і TLR9. Було показано, що вищезгадані рецептори також відіграють вагомую роль у стримуванні ВПГ1 у тригемінальному ганглії протягом нейроінфекції [202]. Kurt-Jones E.A. зі спів. показали, що саме взаємодія вірусу із TLR2 є вирішальною у формуванні летального ВПГ1 –енцефаліту [117].

В експериментальних дослідженнях було встановлено, що макрофаги і фібробласти мишей, які інфіковані ВПГ-1 і не експресують TLR-2, втрачають здатність синтезувати цитокіни і адекватно відповідати на інфекцію [83, 127].

Теж стосується ВПГ-2, враховуючи подібність геному і біологічної програми ВПГ-1 і ВПГ-2. Willmann O. зі спів. описали первинний дефіцит TLR3 у пацієнтів із рецидивуючим серозним ВПГ2-менінгітом [194]. Ashkar A.A. зі спів. продемонстрували, що стимуляція TLR3 пов'язана із сильнішою відповіддю на ВПГ-2, ніж TLR4 і TLR9 [70]. Vochud P.Y. зі спів. показали, що поліморфізм TLR2 впливає на частоту і важкість генітального герпесу у людей [80].

1.2 Робота природжених та набутих механізмів захисту імунної системи у відповідь на герпесвірусну інфекцію 1 типу

Серед усіх факторів природженого захисту ключове значення у захисті від вірусів відіграє система інтерферонів (IFN). Імена англійця Аліка Айзекса та швейцарця Жана Лінденманна, які у 1956–1957 рр. працювали в Національному

інституті медичних досліджень (National Institute for Medical Research — NIMR) у Мілл-Хіллі стали визначними в історії відкриття інтерферону, оскільки саме їм належить почесна роль у відкритті феномену “інтерференції” [123, 194].

Інтерферон являє собою сімейство протеїнів, яке на підставі характеристик специфічного рецепторного апарату, розділене на три типи: IFN I типу, IFN II типу і IFN III типу. I тип інтерферонів в свою чергу підрозділяється на IFN- α , IFN- β , IFN- ω , IFN- τ , IFN- σ , IFN- κ , IFN- ε , IFNZ/lim, які є кислотостійкими (pH 2,2–2,0), що у виробництві препаратів IFN широко використовується на етапах виділення та очищення. Представником II типу являється єдиний представник - IFN- γ (кислотолабільний). Інтерферони III типу представлені наступними цитокінами: IFN- λ 1, IFN- λ 2, IFN- λ 3, IFN- λ 4 [116, 166].

Щодо клітин-продуцентів інтерферонів, то їх спектр є достатньо широким: IFN- α і IFN- ω продукуються гемопоетичними клітинами; IFN- β - фібробластами, гемопоетичними і епітеліальними клітинами; IFN- τ - трофобластом; IFN- κ і IFN- ε – кератиноцитами; IFN- γ – NK-клітинами (CD16, CD56), дендритними клітинами, Th1, CD8⁺-лімфоцитами, клітинами імунологічної пам'яті, макрофагам і В-лімфоцитами при їх взаємодії з мітогенами та/або алергенами. IFN- λ 1,2,3,4 продукуються епітеліоцитами ШКК та респіраторного тракту. Рецептори до IFN- α , IFN- β присутні на всіх клітинах, їх кількість становить 150-5000/клітині. Кількість рецепторів до IFN - γ значно більша і становить – 100 000/клітина [34].

Найбільш високу “ієрархічну” позицію в роботі імунної системи займає IFN- γ , впливаючи на процеси специфічного і неспецифічного клітинного імунітету. Тому саме його оцінку та аналіз синтезу було обрано в якості маркера специфічної Th1-імунної відповіді [129, 87].

Характер імунної відповіді на вірусну інфекцію залежить від того, які клітини займають домінуючу позицію у захисті - Th1 або Th2. Так, активовані Th1 мають здатність стимулювати функції Т-лімфоцитів і макрофагів, продукуючи, IL-2, IFN- γ , TNF- α . Це в свою чергу забезпечує розвиток клітинної імунної відповіді, яка є основною в захисті від внутрішньоклітинних мікроорганізмів, в тому числі і вірусів [142]. Th2 класу координують, в

основному, гуморальну імунну відповідь, продукуючи IL-4, IL-5, IL-10 та IL-13 та інші цитокіни [149, 173, 178].

Численними дослідженнями було встановлено, що самі по собі молекули інтерферону не впливають на внутрішньоклітинні процеси безпосередньо. Подібно до гормонів, факторів росту та інших медіаторів міжклітинної взаємодії інтерферони лише взаємодіють з певними рецепторами, розташованими на поверхні клітини. Ставши активованим, рецептор IFN- γ взаємодіє із транскрипційними регуляторними факторами STAT-1 та іншими двома типами протеїнкіназ, які фосфорилують STAT-1, що призводить до його димеризації. В новоутвореній формі він здатен транспортуватися в клітинне ядро і зв'язуватися з регуляторними послідовностями генів, залученими в клітинну відповідь на даний стимул. І як результат активації цих генів - формування клітинного захисту від вірусної інфекції, включення синтезу IL-12, дуже важливого партнера IFN- γ в боротьбі із вірусними інфекціями [66, 132, 149, 171].

До основних IFN- γ індукуючих цитокінів відносяться IL-12 і IL-18, які синтезуються моноцитами і АПК у відповідь на патогени, які опинилися у внутрішньоклітинному просторі. IL-12 активує експресію рецептора IL-18, і разом вони індукують транскрипцію гена IFN- γ . Спільна дія даних цитокінів підсилює клітинно-опосередковану імунну відповідь [67, 162].

Первинним сигналом до активації Т-лімфоцитів є зв'язування Т-клітинного рецептора (TCR) з комплексом антиген (АГ)-МНС на поверхні клітини. Процес відбувається наступним чином: зв'язування комплексу АГ-МНС і TCR призводить до фосфорилування внутрішньоклітинного домену останнього, активації внутрішньоклітинних сигнальних каскадів реакцій, пов'язаних з мітоген-активованою протеїнкіназою (МАРК) і нуклеарного фактора каппа-Б (NF κ B), які здійснюють мобілізацію транскрипційних факторів генів, відповідальних за ріст, диференціацію та ефекторні функції Т-клітин. Однією з таких функцій якраз і є продукція вищезгаданих прозапальних цитокінів: IFN- γ , TNF- α , IL-2 [176, 133].

Існує ряд хемокінів, так званих хемокінів “спеціального призначення”, які сприяють міграції НК і Т-лімфоцитів з циркулюючої крові у вогнище запалення, а ІЛ-12 стимулює продукцію ними ІFN- γ . До таких хемокінів відносяться ІFN- γ індукований протеїн 10 (IP-10), білок хемоатрактант моноцитів 1 (MCP-1), хемокінний ліганд 5 (CCL5). Крім ІЛ-12 і ІЛ-18, здатністю активувати продукцію ІFN- γ володіє і нещодавно виявлений цитокін ІЛ-24 або MDA-7 (Melanoma differentiation associated 7), що відноситься до сімейства ІЛ-10 та секретується активованими Т-лімфоцитами і моноцитами [133]. Інгібувати продукцію ІFN- γ здатні Тх2, за рахунок синтезованих ними цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ІЛ-13, а також глюкокортикоїди.

Внутрішньоклітинна передача сигналу від ІFN- γ P ініціюється шляхом зв'язування димерів ІFN- γ з субодиницею ІFN- γ P1, викликаючи димеризацію рецептора, що, в свою чергу, активує Янускіназу (JAK) -1 і JAK-2 [79]. JAK-1 взаємодіє з ІFN- γ P1 субодиницею рецептора, а JAK-2 відповідно - з ІFN- γ P2. Сигнал від активованого рецептора до ядра може передаватися за допомогою декількох сигнальних каскадів [109].

Найбільш вивченим є JAK/STAT-залежний шлях внутрішньоклітинної сигналізації. Активація JAK-кіназ призводить до фосфорилування білка «провідник сигналу і активатор транскрипції» (STAT) 1 типу, латентного цитоплазматичного транскрипційного фактора, який, димеризуючись, стає активним. Активний STAT-1 гомодимер транспортується до ядра, де активує транскрипцію ІFN- γ активованих (GAS) генів. На сьогоднішній день відомо про декілька сотень подібних генів, серед яких IRF1, IRF9, CИТА, iNOS-2, SOCS-1 і ін. Однак дія ІFN- γ не обмежується транскрипцією тільки GAS-генів. Через продукти транскрипції GAS-генів даний цитокін регулює транскрипцію факторів, індукованих ІFN I типу. Одним з них є інтерферонзалежний регуляторний фактор (IRF)-1. Продукти його транскрипції зв'язуються безпосередньо з ІFN-стимульованими елементами (ISRE), послідовністю генів, яка є мішенню сигнального шляху від ІFN- α і - β . Це свідчить про тісний взаємозв'язок систем інтерферонів I і II типу [138].

Порушення JAK/STAT сигналізації призводить до важкого імунodefіциту. В експериментах, які проводили мишах із блокуванням генів, що кодують JAK1, JAK2 і STAT1, продемонстровано вплив даних білків на розвиток імунної відповіді [182]. Була показана підвищена чутливість до вірусних і мікобактеріальних інфекцій у людей з мутаціями в генах, кодують STAT1 і IFN- γ Р [82].

Крім прозапальних, IFN- γ володіє також і рядом протизапальних ефектів: він пригнічує міграцію нейтрофілів, диференціацію Th2 і Th17 клітин, активує діяльність Т-регуляторних клітин та апоптоз клітин-ефекторів. Порушення функціонування системи IFN- γ може проявлятися різними станами: від схильності до важких і атипових інфекцій та онкогенезу до розвитку аутоімунних захворювань з ураженням різних органів і систем [125].

У пацієнтів із рецидивуючою герпетичною інфекцією відзначають зниження продукції стимульованого IFN-гамма і тенденцію до зниження IL-4 в інтерфероновому та цитокіновому статусі, що свідчить про наявність запального процесу. Надмірний синтез IFN-гамма при атиповій герпетичній інфекції може бути наслідком незначної, але постійної антигенної стимуляції.

Групою іранських вчених було проведено дослідження із визначенням рівня сироваткового IFN-гамма у пацієнтів із хронічною ВГВ інфекцією. Метою дослідження була оцінка прозапальної Th1 активності у даної групи пацієнтів у порівнянні із здоровою популяцією. В результаті було виявлено, що медіана рівня IFN- γ у пацієнтів була значно вищою, ніж у здорових суб'єктів (1,22 проти 0,84, $P = 0,001$). Значне підвищення рівня IFN- γ у пацієнтів із хронічною ВГВ інфекцією у порівнянні із групою контролю вказувало на активацію Th1 клітин. У схожому дослідженні, яке попередньо проводили вчені з Греції було продемонстровано негативну кореляцію між IFN- γ та рівнями віремії у хворих на хронічний активний гепатит В; однак, з іншого боку це може бути пояснено тим, що тривале вірусне навантаження в сироватці крові може спричинити порушення інтерферогенезу, IFN- γ в тому числі [74, 77, 92, 119]. Akpolat та його колеги повідомили про зниження IFN- γ та зростання рівня сироваткового IL4 у хворих

хронічною ВГВ інфекцією із зниженням Th1-активації у порівнянні із здоровою популяцією [61]. Такого ж змісту дослідження було проведено в'єтнамцями, якими було показано, що у пацієнтів із хронічною ВПВ інфекцією рівень IFN- γ був нижчим, ніж у контрольній групі, що пояснювало схильність пацієнтів до хронізації ВПВ інфекції [169].

Роль IFN- γ майже безсумнівна в опосередкуванні захисту від туберкульозу [121]. Ознакою туберкульозної інфекції є індукція клітинного імунітету та запалення, на чолі з IFN- γ . В експериментах на мишах було показано, що у особин, у яких сам IFN- γ , або ген IFN- γ R були функціонально неповноцінними сприйнятливість до мікобактеріальної інфекції була значно вищою. Миші із IFN- γ генетичними порушеннями демонстрували швидкий, фульмінантний ріст мікобактерій та розвиток дисемінованої форми туберкульозу [122]. Функціонально неповноцінний IFN- γ або IFN- γ R збільшує сприйнятливість навіть до низьковірулентних штамів, такого як атенуйований штаму ослабленої (вірулентної) живої туберкульозної палички (*Mycobacterium bovis*), БЦЖ. У дітей із функціонально неповноцінними IFN- γ R виявляють розвиток дисемінованої БЦЖ-інфекції [189].

Отже, віруси герпесу протягом усього життя людини чинять постійний, що посилюється з роками, пресинг на імунну систему макроорганізму, створюючи замкнене коло: з одного боку, реактивація персистуючого вірусу відбувається на тлі транзитного клітинного імунодефіциту, інтерферонодефіциту, з іншого, – герпетична інфекція супроводжується подальшим зниженням імунітету. Це призводить до поступового зношування компенсаторних механізмів організму, ініціації розвитку та прогресуванню фази декомпенсації, порушення регуляції апоптичних процесів з подальшим розвитком біологічного згасання (механізм старіння).

Основними вродженими чинниками, які становлять «першу лінію оборони» є натуральні кілерні клітини (NK-клітини) [1, 122, 189]. Зріла NK-клітина відрізняється від інших клітин імунної системи відсутністю на її поверхні молекули CD3 та наявністю специфічних молекул CD56 та CD16 (CD16⁺CD56⁺).

Глікопротеїн CD16- це низькоафінний рецептор для Fc-фрагментів антитіл субкласів IgG1 і IgG3 (FcγRIIIA), який бере участь у реакції антитілозалежної клітинної цитотоксичності [120, 101]. Молекули CD16 є експресованими на поверхні не лише NK-клітин, але й моноцитів, і частини дендритних клітин периферичної крові [1]. CD56 являється молекулою міжклітинної адгезії із сімейства імуноглобулінів. Окрім NK-клітин CD56 також є експресованими на деяких CD3⁺-клітинах.

Беручи до уваги експресію поверхневих маркерів, виділяють дві фенотипічно і функціонально різноманітні субпопуляції - CD56dimCD16bright і CD56brightCD16dim/neg. Субпопуляція CD56dimCD16bright характеризується слабкою експресією CD56, але натомість добре експресує CD16. Чисельність NK-клітин із таким фенотипом складає 90%. Інша субпопуляція навпаки добре експресує CD56, але не має молекули CD16- CD56brightCD16dim/neg (10% від загальної кількості натуральних кіллерів) [129]. Окрім фенотипічної різниці ці дві субпопуляції NK-клітин відрізняються також за своїми фізіологічними функціями.

Також відмінністю між цими двома субпопуляціями являється різниця в експресії певного набору цитокінових і хемокінових рецепторів. CD56brightCD16dim/neg являються імуnoreгуляторними і експресують CCR7 і CD62L (L-селектин, який дозволяє їм переміщатися в лімфатичні вузли), здатні до контакту з дендритними клітинами і характеризуються високим рівнем продукції цитокінів та слабкою цитотоксичністю, у порівнянні з CD56dim-клітинами. В результаті активації CD56bright-клітини набувають здатності до секреції інтерферону - гамма (IFN-γ), фактора некрозу пухлин β (TNF-β), гранулоцитарно-моноцитарного колонієстимулюючого фактора (GM-CSF) (уже через декілька хвилин після активації) [92, 151]. Вміст перфोरину у них значно менший. Володіючи потужною імуnoreгуляторною функцією CD56brightCD16dim/neg можуть контролювати макрофаги, дендритні клітини і Т-лімфоцити за рахунок продукції IFN-γ [95]. Вважається, що завдяки цьому субпопуляція CD56bright приймає активну участь у регуляції адаптивної імунної відповіді.

Чисельніша субпопуляція кіллерних клітин із фенотипом CD56dimCD16bright являється ефекторними цитотоксичними клітинами. Цитоліз, за допомогою якого NK-клітини лізують чутливі клітини-мішені, може бути реалізованим або за участі цитотоксичних гранул, або при безпосередньому контакті з рецепторами "смерті", які знаходяться на поверхні клітин-мішеней (Fas, TRAIL і ін.). Гранули CD56dim-клітин містять пороутворюючий білок перфорин, серинові протеази названі гранзимами (А и В), які володіють проапоптичними властивостями, невеликий білок гранулизин і поліпептид LL-37 [69]. На первинному етапі відбувається утворення імунного синапсу між NK-клітиною та клітиною-мішенню, при цьому гранули із цитотоксичним вмістом переміщуються до місця контакту з наступним вивільненням вмісту гранул у простір попередньоутвореного імунного синапсу. В подальшому перфорин сприяє проникненню гранзиму всередину клітини-мішені, ініціюючи її загибель [174]. Тобто CD56dimCD16bright володіють здатністю безпосередньо лізувати клітини-мішені.

Підсумовуючи можна вказати на дві основних функції NK-клітин: секреція хемокинів і цитокінів, роль яких важлива у регуляції імунної відповіді та цитолітична активність, спрямована проти клітин-мішеней [130, 131, 151, 157].

Одним з шляхів активації NK-клітин, який не залежить від експресії молекул МНС на клітині-мішені і опосередкований дією цитокінів є здатність синтезувати NK-клітинами прозапальні цитокіни, IFN- γ в тому числі, як відповідь на стимуляцію іншими цитокінами, продукованими макрофагами та дендритними клітинами - α/β IFN, IL-12, IL-2, IL-15, IL-18 [96].

Існує ряд факторів, які пригнічують професійну клітингову активність NK-клітин - IL-4, простагландин E2, TGF- β і кортизол [66].

Існують стани, при яких перфорин-гранзим-залежний механізм загибелі клітини може бути заблокований, що зумовлює стійкість клітини-мішені до дії NK-клітин. Причиною цього може бути, наприклад, експресія антиапоптотичного фактора Bcl-2 у клітинах-мішенях. Такі випадки були описаними у клітинах,

уражених вірусом Епштейна-Барр та пухлинних клітин кістково-мозкового походження [195].

Отже, основними мішенями NK-клітин є власні клітини організму з частковою або повною втратою поверхневої експресії молекул МНС I класу. Активуючими рецепторами NK-клітини взаємодіють з молекулами, які є індукованими клітинним стресом [136, 164] (дані молекули з'являються на поверхні клітин, що були інфіковані вірусом або клітин, які були злоякісно трансформовані), а також вірусними білками, експонованими на поверхні інфікованої клітини, у зв'язку з чим NK-клітини беруть участь в ранній фазі імунної відповіді на вірусну інфекцію і здатні розпізнавати найбільш ранні етапи онкогенної трансформації [108].

Якщо говорити про роль NK-клітин у розвитку аутоімунної патології то доречно буде зауважити, що втрата селф-толерантності NK- клітин та порушення балансу між активуючими та інгібуючими рецепторами можуть служити факторами ризику розвитку аутоімунних захворювань. Так, до прикладу, при надлишковій активації KIP на поверхні NK-клітин, при неадекватному функціонуванні інгібуючих рецепторів відзначається при системній склеродермії [135, 183] та у разі розвитку васкуліту при ревматоїдному артриті (РА).

При дослідженні синовіальної рідини у пацієнтів із РА та АС у великій кількості (8-16% від усіх лімфоцитів) було виявлено регуляторний субтип CD56bright CD16- [144, 145]. Механізм цього було пояснено наступним чином: враховуючи вплив інтерлейкінів, які присутні у тканинах ураженого запаленням суглобу (IL-12 та IL-15), NK-клітини секретують IFN- γ , який є потужним індуктором активації макрофагів. В подальшому, активовані макрофаги продукують ФНП- α , який в свою чергу підтримує хронічне запалення в суглобі.

Окрім того, у дослідженнях, які вивчали кількісні і функціональні характеристики NK-клітин з одного боку, та активність перебігу СЗСТ з іншого, було виявлено, що зниження кількості і функціональної активності NK-клітин корелює з періодами активності СЧВ і ССД [93, 112], що може бути ознакою імуnoreгуляторної ролі NK-клітин в патогенезі цих захворювань. Та не до кінця

зрозумілим являється це порушення функціональної активності та зниження кількості NK-клітин первинним у виникненні СЗСТ чи вторинними, так би мовити наслідком основного захворювання. Є версія, NK-клітини під час загострення патологічних процесів мають здатність концентруватися в тканинах-мішенях і як наслідок цього - зниження рівня NK-клітин в периферичній крові. Версія виглядає досить правдивою, враховуючи той факт, що у пацієнтів із герпетичною інфекцією виявляється тотальний дефіцит NK-клітин [78]. А можливим це стає за рахунок IFN-індукуючих цитокінів (RANTES, IP-10), які концентрують NK-клітини в осередку інфекції [156].

Найважливішою функцією NK-клітин при розвитку ВПГ-інфекції є лізис вірус-інфікованих клітин. NK-клітини володіють здатністю пригнічувати реплікативну активність ВПГ *in vitro* та *in vivo* [158]. Тому той факт, що пацієнти з кількісним дефіцитом NK-клітин або зниженою їх киллерною функцією [31, 32] страждають саме від важких форм ВПГ-інфекції є абсолютно логічним.

М.А.Karalian та спів. повідомили про розвиток гострого менінгоенцефаліту при вибіркового дефіциті NK. Попередньо у пацієнта цей імунodefіцит проявився туберкульозом легень [111]. Nandakumar S. зі спів. продемонстрували здатність природних кілерів виконувати функцію хелперів щодо Т-ЦТЛ при дефіциті Т-хелперів у випадку реактивованої ВПГ-1 інфекції [140]. Вченими з Італії було описано первинний ізольований імунodefіцит NK у 5 дітей, які перенесли скронеий ВПГ1-енцефаліт. У двох дітей було виявлено мутацію гену транскрипту CD16A [63]. Adler H. зі спів. продемонстрували, що за відсутності Т-лімфоцитів саме NK є відповідальними за попередження смерті при скронеовому ВПГ1-енцефаліті [58].

NK-клітини мають здатність ідентифікувати ВПГ-інфіковані клітини-мішені на ранніх стадіях інфекції, причому для ідентифікації цієї клітини та її цитотоксичного знищення достатньо є експресії раннього гену ICP0 в клітині-мішені [85]. Важливо зауважити також, що NK-клітини окрім вірус-інфікованих

клітин-мішеней володіють здатністю розпізнавати і лізувати мішені, покриті антитілами до ВПГ [86].

Одним із методів оцінки активації лімфоцитів являється скринінг експресії поверхневих маркерів клітин. CD69 рецептор – маркер ранньої активації лімфоцитів, який з'являється на поверхні антиген-активованих клітин. Експресуючись на поверхні клітин, рецептор CD69 діє як коstimулююча молекула Т-клітинної проліферації та активації. В дослідженні, метою якого було вивчення взаємозв'язку експресії поверхневих маркерів і цитотоксичної активності НК-клітин периферичної крові людини було виявлено, що відсотковий вміст клітин, що набули CD69⁺фенотипу після стимуляції клітинною лінією K562 корелював з рівнем НК-цитотоксичності. При розподілі зразків на групи з підвищеною та нормальною НК-цитотоксичністю, з'ясувалось, що експресія маркера активації CD69 після стимуляції у групі з підвищеною НК-активністю, була вищою порівняно із зразками, що мали нормальну НК-цитотоксичність. Експресія CD69 на НК клітинах, після стимуляції з'являється лише на певній їх субпопуляції, розмір цього пулу асоційований та взаємно корелює із цитотоксичною активністю НК.

Як вже згадувалось вище, не менш важливою функцією окрім цитотоксичності є синтез цитокінів- IFN- γ та TNF- α . IFN- γ , поряд з IFN I типу, перешкоджає активній реплікації ВПГ [89], спричинює сенсibilізацію клітин-мішеней до цитотоксичної дії перфорины [76], а також володіє численними імунорегуляторними ефектами.

Якщо вести мову про функціональну активність НК, то більшість авторів описують її зниження при ВПГ-інфекції, що часто рецидивує [36, 37, 55], проте деталі цих робіт різняться. А.А. Халдін проводив визначення цитотоксичної активності НК-клітин у пацієнтів із рідко- та часторецидивуючою ВПГ-інфекцією. Отже, у першій групі цитотоксична активність НК-клітин була незначно знижена - до 35-40% (норма 45-50%), а у другій групі (у пацієнтів із часторецидивуючою ВПГ інфекцією) зниження цитотоксичної активності було більш значне - до 20-25% [55]. Сухих та спів. у своєму дослідженні визначали

цитотоксичну активність NK-клітин у період ремісії та в гострий період. По-перше, приблизно у 60% хворих з маніфестних формами ВПГ було виявлено зниження цитотоксичної активності NK-клітин. А, по-друге, в середньому за 7 днів до чергового рецидиву відзначалася чітка тенденція до зниження цитотоксичності NK-клітин та її подальше підвищення в гострий період ВПГ інфекції.

Цікавими є механізми, за якими ВПГ намагається протидіяти NK-клітинам. ВПГ має здатність пригнічувати експресію лігандів NKG2D інфікованими клітинами, що в свою чергу перешкоджає їх розпізнаванню активуючими рецепторами NK-клітин [161], а деякі вірусні білки здатні взаємодіяти з інгібуючими рецепторами NK-клітин [17].

В патогенезі розвитку аутоімунних захворювань одну із ключових ролей займає інтерлейкін-4 (IL-4), який регулює функціонування імунної системи на декількох рівнях [15, 201].

Клітинами продуцентами IL-4 являються активовані Th2, базофіли, тучні клітини та у меншій мірі - цитотоксичні Т-лімфоцити, еозинофіли. А за рахунок присутності рецепторів до IL-4 на багатьох клітинах, даний цитокін володіє плейотропною біологічною дією, впливаючи на В-лімфоцити, Т-лімфоцити, NK-клітини, макрофаги, базофіли, тучні клітини, еозинофіли, нейтрофіли, фібробласти [15].

Зв'язування IL-4 з його рецептором провокує активацію сімейства тирозинкіназ, а саме JAK тирозинкіназ (JAK1 та JAK3), які опосередковують фосфорилування кількох внутрішньоклітинних білків [15, 98, 168]. JAK1 асоційований з ланцюгом IL-4R α , а JAK3 асоціюється з γ c. Серед них фактор транскрипції STAT6 відіграє головну роль у сигналізації IL-4. В дослідженнях на мишах, які були дефіцитними за STAT6 фактором виявляли фенотип, схожий на наявний при недостатній активності IL-4R α , що призводило до розладів у продукції IgE, експресії CD23 та формування відповіді за Th2 типом [15, 201].

Серед усіх плейотропних ефектів чільне місце займає роль IL-4 у розвитку аутоімунних захворювань, де цитокін може діяти як протизапальний цитокін, на відміну від алергічних захворювань.

Враховуючи, що при аутоімунних захворюваннях спостерігається надактивність Th1 та моноцитів з гіперпродукцією прозапальних цитокінів (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 та TNF- α), IL-4, який може інгібувати утворення Th1, спрямовуючи диференціювання Th0 у бік Th2 є надважливим у патогенезі цих захворювань [15, 39, 98]. IL-4 здатен інгібувати продукцію прозапальних цитокінів при одночасному індукуванні вироблення протизапальних факторів, таких як антагоніст IL-1R або розчинний рецептор TNF- α [15, 168]. У дослідженнях проведених на тваринах було виявлено, що прогресування РА було більш агресивним у особин з недостатністю IL-4 та фактора транскрипції STAT6. Було продемонстровано, що генна терапія, яка була розроблена для посилення експресії IL-4 та застосована у тварин, мала позитивний вплив на перебіг РА, сприяючи зменшенню запалення та уповільненню процесів деструкції суглобів, що ймовірно було опосередковано здатністю IL-4 інгібувати остеокласти STAT6-залежним механізмом [27, 41, 168]. Це важливий момент, оскільки остеокласти задіяні у процесах деструкції суглобів, що опосередковані TNF- α . Саме тому було висунуто припущення, що поряд із застосуванням анти-TNF α біопрепаратів моноклональних антитіл, які широко застосовуються у терапії РА, IL-4 може бути доповненням стандартної терапії.

В дослідженні проведеними німецькими вченими, які застосовували IL-4 в терапії пацієнтів із тяжкою формою псоріазу було виявлено, що після 6 тижнів лікування покращення клінічної картини було відзначено у всіх пацієнтів і у 75% пацієнтів воно становило більше ніж 68%. Було запропоновано IL-4 як потенційний засіб, що може застосовуватися у терапії псоріазу [98].

Цікавим було дослідження впливу IL-4 на перебіг та прогресування СЧВ, а саме розвитку люпус-нефриту. Згідно з результатами IL-4 сприяє відкладанню позаклітинного матриксу в клубочках і відповідно застосування антитіл проти

IL-4 або інактивація STAT6 чинить позитивний вплив на розвиток гломерулосклерозу та відтерміновує, або навіть профілактує розвиток термінальної стадії ниркової недостатності, незважаючи на високий рівень анти-dsDNA антитіл [41, 168].

Враховуючи вищесказане, молекулярні механізми, що беруть участь у сигналізації IL-4, і особливо в активації STAT6, можуть бути у майбутньому розглянуті як потенційні мішені для розробки нових методів лікування цих захворювань.

1.3 Системні захворювання сполучної тканини та роль герпесвірусної інфекції 1 типу в їх розвитку

Системні захворювання сполучної тканини (СЗСТ) разом з іншими ревматичними захворюваннями посідають третє місце в загальній структурі соматичних хвороб після хвороб органів кровотворення та шлунково-кишкового каналу, охоплюючи понад 4 млн населення [21, 40, 56].

СЗСТ об'єднують достатньо велику кількість хвороб, найбільш поширеними з яких є системний червоний вовчак (СЧВ), ревматоїдний артрит (РА), системна склеродермія (СД), анкілозуючий спондилоартрит (АС), різноманітні варіанти системних васкулітів. Практичною основою для об'єднання цих захворювань є подібність імунопатогенезу, синтез аутоантитіл, окремих клінічних проявів, особливо на ранніх стадіях захворювань та підходів до лікування. У структурі поширеності СЗСТ найбільшу питому вагу займають РА та СЧВ. Поширеність РА в Україні становить 25 096 на 100 тис. (2013 р.) дорослого населення, з яких 44,5 % - це особи працездатного віку. Поширеність СЧВ у 2013 р. становила 14,5 на дорослого 100 тис. населення, з них працездатних 68,3 % [26].

В організмі людини постійно здійснюється контроль за індивідуальним клітинно-молекулярним складом. При порушенні імунобіологічного нагляду може розвинутися стан посиленої реактивності імунної системи, при якому імунна відповідь розвивається відносно власних клітин, тканини і молекул

організму [6]. Аутоімунний характер уражень при ревматологічних захворюваннях вважається доведеним, проте окремий етіологічний фактор захворювань не встановлений [13]. Зрив толерантності до власних антигенів можливий в генетиично схильних осіб під впливом так званих тригерів, які можуть бути як езгоненного, так і ендогенного походження [45, 46, 56].

До тригерних факторів, які сприяють розвитку СЗСТ і запускають патологічні процеси відносяться збудники інфекційних захворювань (віруси, бактерії, гриби, паразити), гормональний дисбаланс, стрес, інсоляція, переохолодження, медикаменти, вакцинація тощо. Проте, з вище перерахованих тригерів провідну роль в розвитку аутоагресії, як пускових факторів, відіграють лімфотропні віруси, до яких перш за все належать герпесвіруси [57, 155, 181]. Дослідники вважають, що аутоімунні процеси при СЗСТ вірогідніше всього асоційовані з персистуючою чи латентною вірусною інфекцією, що викликає поліклональну активацію В-лімфоцитів, супресію лімфоцитарної та інтерфероніндукуючої здатності лімфоцитів, що призводить до порушення елімінації патогенів [47].

Встановлено декілька механізмів зриву імунної толерантності до власних антигенів при аутоімунних захворюваннях. Одним із найвагоміших, коли йдеться саме про участь вірусів у патогенезі аутоімунних захворювань, є гіпотеза молекулярної мімікрії, згідно з якою, епітопи антигенів господаря є структурно подібними з вірусними антигенами, відповідальними за запуск перехресної імунної відповіді [47]. Мабуть, зрив толерантності до власних тканин організму при молекулярної мімікрії обумовлений модифікацією антигенів тканин організму вірусами і бактеріями.

Важливим у розвитку аутоімунних захворювань є процес порушення презентації антигенів. Домінантну роль в селекції і презентації антигенів в кооперації імунних клітин відіграють HLA. Вірусні пептиди володіють здатністю впливати на експресію HLA I і II класів, а також на функцію ТАР протеїнів (транспортери, пов'язані з презентацією антигену) [184]. Так, ВПГ кодує цитозольний протеїн ICP 47, який, об'єднуючись з функцією ТАР1, ТАР2

комплексів, перешкоджає асоціації пептидів з HLA I класу. E3 gp 19 аденовірусу типу 2 і E1A аденовірусу типу 12 також інгібують експресію HLA I. Експресія HLA протеїнів також залежить від рівня цитокінів, таких як IFN- γ та TNF- α , продукція яких часто відзначено зниження вірусами [4, 184].

Вірусні протеїни здатні селективно пригнічувати або стимулювати апоптоз. Запрограмована клітинна смерть є фізіологічним механізмом елімінації аутореактивних лімфоцитів в процесі їх утворення. Певну роль в дисрегуляції цього процесу у пацієнтів з аутоімунною патологією відіграють віруси. Самознищення інфікованих клітин шляхом апоптозу або кілінгу їх цитотоксичними Т-лімфоцитами або натуральними кілерами - захисний механізм господаря, що перешкоджає поширенню вірусів. У початковій стадії інфікування вірусні інгібітори апоптозу сприяють більш інтенсивній репродукції збудника. У пізніх стадіях апоптоз, індукований вірусами сприяє поширенню потомства поза інфікованою клітиною. Здатність індукувати апоптоз і пригнічувати його має також протеїн 40 / tax HTLV1, впливаючи на Fas залежні сигнали. Індукувати апоптоз, експресію Fas рецепторів здатний і антиген цитомегаловірусу олігодіоксінуклеотид [12]. Герпесвіруси активують серію генів, які здійснюють селективну блокаду Fas і TNF сигнальних шляхів [12, 144]. Вірусні протеїни здатні також підвищувати продукцію антинуклеарних антитіл, періодично звільняючи нуклеосоми “вбитих” апоптозом клітин. Віруси як ймовірні тригерні фактори розвитку ревматичних хвороб: Т-лімфотропний вірус I типу, вірус гепатиту С і група герпесвірусів (вірус Епштейна-Барра, цитомегаловірус, вірус простого герпесу, вірус герпесу VI типу).

І справді, сьогодні нагромаджено вже багато доказів причетності мікроорганізмів до розвитку аутоімунних хвороб людини. Встановлено наявність хламідій, віруса Епштейна – Барр і параміксовірусів у клітинах синовіальної оболонки та хондроцитах суглобів хворих на ревматоїдний артрит [45]. Крім того, вірус герпесу 6 типу, гепатиту В та поліовіруси розглядають як можливі провокатори аутоімунного процесу при розсіяному склерозі [20]. Також існують

обґрунтовані припущення щодо етіологічної ролі Епштейна – Барр вірусної інфекції при міастенії гравіс [20].

Також, існує думка про можливу роль ВПГ в якості надважливого фактора в розвитку РА. Припущення про можливу етіопатогенетичну роль даного вірусу ґрунтуються на фактах виявлення антигена ВПГ в тканинах суглобу і клітинах крові хворих на РА [44].

Клінічна картина при СЧВ може бути схожою на клінічну картину після інфікування цитомегаловірусом. Антитіла до CMV виявляються у 20-40% хворих СЧВ, РА. Одночасна наявність антитіл до CMV + EBV спостерігається у 46,9%. Визначається залежність між високими титрами антитіл до CMV і клінічними проявами: лихоманкою, артритом, кардитом, гепатомегалією, мігруючої еритематозний висипом [47]. За даними науковців з приблизно однаковою частотою у хворих РА, СЧВ виявляються антитіла до CMV і EBV, при РА - в крові і синовіальній рідині. Аналогічні антитіла визначаються і у хворих на РеА. З чого випливає, що вирішальну роль у розвитку аутоімунного процесу відіграє генетичний фон господаря [47, 193, 201].

Поліорганність клінічних проявів герпесвірусної інфекції часто утруднює інтерпретацію їх симптомокомплексу і терапію при багатьох захворюваннях. Таким чином ВПГ можуть викликати не тільки “легкоминуче” захворювання, але і “маскуючись” провокувати активацію основного захворювання. Численні дослідження підтвердили, що у пацієнтів із СЧВ частота виявлення антитіл до вірусів герпесу є вищою, ніж у здоровій популяції [47]. Це могло бути наслідком гіперпродукції антитіл у відповідь на попередню реактивацію в організмі вірусу. Це важливо враховувати пацієнтам із ревматологічними захворюваннями, які тривало отримують ГКС і цитостатичну терапію.

Тому постає запитання: чи ВПГ являється пасивним “свідком” аутоімунних порушень при СЗСТ чи підтримує антигенну стимуляцію клітин імунного захисту організму людини? Очевидно, що більш реалістичнішим являється другий варіант. По-перше, подібність амінокислотних послідовностей в структурі вірусу і хазяїна може призвести до продукції антитіл не тільки до вірусного антигену, але

і до клітин хазяїна, провокуючи розвиток аутоімунних реакцій. По-друге, “вмонтовуючись” в геном хазяїна вірус змінює відповідь імунних клітин на “своє-чуже” і призводить до активації імунного захисту. По-третє, вірусний антиген після презентації лімфоцитам викликає утворення каскаду цитокінів, зокрема ІЛ-6 [6, 35]. Нуклеарний фактор, який контролюється ІЛ-6, залучений в транскрипторну регуляцію генів білків гострої фази і розрізняє елементи капсидної оболонки деяких вірусів як ІЛ-6 [160, 90]. Участь вірусів у гіперпродукції прозапальних цитокінів зумовлено і їх здатністю індукувати IFN- γ , який активує синтез TNF- α , який запускає процеси, результатами яких є органна патологія, характерна для хронічного запалення [47, 90, 160]. В таких процесах беруть участь цитотоксичні лімфоцити, активність яких посилюється в результаті експресії HLA-головного комплексу гістосумісності на IFN- γ і TNF- α .

Таким чином, активна реплікація персистуючого віруса в імунокомпетентних клітинах призводить до розвитку порочного кола, яке не завжди вдається перервати протизапальною терапією і призначенням імуносупресорів.

Незважаючи на те, що питання ролі ВГП 1 типу у розвитку ревматичних захворювань є обговорюваним вже протягом більше десяти років, однак воно все ж залишається відкритим до теперішнього часу. Достеменно не доведений зв'язок між герпесвірусною інфекцією та аутоімунним процесом, відсутні імунозалежні причини безпосередньої участі ВГП 1 типу у розвитку аутоагресії. Персистенція ВГП 1 типу в хворих на СЗСТ призводить до «спотворення» клінічної картини та перебігу хвороби, сприяє розвитку імунодефіцитних порушень, що затруднює вчасну діагностику та призначення адекватного лікування. Тому, необхідні подальші дослідження з використанням сучасних біотехнологій щодо пошуку імунозалежного фактору СЗСТ, вивчення ролі вірусів простого герпесу в імунопатогенезі та клінічному перебігу СЗСТ. Це в майбутньому розширить можливості ранньої верифікації патології, застосування адекватної медикаментозної терапії, в тому числі етіотропного противірусного лікування.

Висновки до розділу 1

1. Встановлено роль цитокінів у формуванні адекватного протівірусного захисту
2. Розглянуто можливі причини зриву імунної толерантності
3. Проаналізовано вплив ВПГ-1-інфекції на виникнення та розвиток системних захворювань сполучної тканини

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Протокол дослідження: об'єкт дослідження, розподіл за групами, характеристика груп хворих

Під нашим спостереженням знаходилися 110 хворих, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні КНП ЛОР Львівської обласної клінічної лікарні або на амбулаторному лікуванні в регіональному медичному центрі клінічної імунології та алергології на базі Львівського обласного клінічного діагностичного центру - клінічних базах кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького протягом 2016-2019 років.

Протокол обстеження та дослідження відповідав етичним стандартам і був схвалений комісією з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького (протокол засідання № 1 від 20.01.2015 р.). Перед включенням в дослідження усі пацієнти підписали форму інформованої згоди.

Автор висловлює подяку за сприяння в роботі та обробці матеріалу кандидатської роботи науковому керівнику, професору В.В. Чопяк та завідувачому ревматологічного відділення КНП ЛОР «ЛОКЛ» Синенькому О.В.

Верифікація герпетичної інфекції спричиненої ВПГ 1 типу включала скарги хворих, дані анамнезу захворювання та життя, клінічні, загально-лабораторні, імунологічні, серологічні (виявлення специфічних IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1), молекулярно-генетичні дослідження (виявлення ДНК ВПГ-1 в трьох біологічних середовищах – крові, зішкрябі з місця ураження чи слизових, слині методом полімеразної ланцюгової реакції).

Серед усіх досліджуваних були виділені наступні групи: 1 група - 34 хворих на СЗСТ+ВПГ-1, яку склали 18 хворих на ревматоїдний артрит за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (РА+ ВПГ-1) та 16 хворих на системний червоний вовчак за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (СЧВ+ ВПГ-1); 2 група - 40 хворих

на СЗСТ (в тому числі 22 хворих на РА та 18 хворих на СЧВ); 3 група - 36 хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію; 4 група- 20 практично здорових осіб.

Найбільш поширеними патологіями серед СЗСТ були РА та СЧВ, у зв'язку з чим нами було відібрано хворих власне з цими патологіями.

Діагнози вищевказаних патологій були верифіковані відповідно до критеріїв ACR/EULAR. Клінічний діагноз кожного із СЗСТ був встановлений на підставі скарг хворих, анамнезу захворювання та життя, даних детального об'єктивного огляду, результатів лабораторних та інструментальних методів обстежень, заключень суміжних спеціалістів (враховуючи можливість системних уражень), динаміки активності захворювання під впливом рекомендованої отримуваної терапії.

Групу хворих на СЗСТ+ВПГ-1 склали 18 хворих (52,9%) на ревматоїдний артрит за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (РА+ ВПГ-1) та 16 хворих (47,1%) на системний червоний вовчак за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (СЧВ+ ВПГ-1). Щодо групи хворих на СЗСТ розподіл був наступним: 22 хворих (55,0%) на ревматоїдний артрит та 18 хворих (45,0%) на системний червоний вовчак.

Розподіл за статтю в досліджуваних групах пацієнтів за статтю був однотипним. Серед хворих на СЗСТ+ВПГ-1 жіноча частка складала 73,5% (середній вік $33,2 \pm 4,7$), чоловіча - 26,5% (середній вік $36,8 \pm 5,3$). У хворих на СЗСТ статевий розподіл був схожим- 72,5% жінок (середній вік $37,4 \pm 3,2$) та 27,5% чоловіків (середній вік $35,8 \pm 4,3$). Група пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією була сформована із 75,0% жінок (середній вік $26,8 \pm 3,5$) та 25,0% чоловіків (середній вік $34,8 \pm 4,1$).

Для розуміння чіткої клінічної картини необхідними були збір детального анамнезу захворювання та анамнезу життя (в тому числі епідеміологічного, генетичного, імунологічного), детальний огляд пацієнта (із акцентуванням уваги на стані шкірних покривів та слизових оболонок, визначенням характеру висипу, оцінкою морфологічних елементів висипу на шкірі та слизових оболонках), загально-лабораторні методи (загальний аналіз крові, печінкові та ниркові проби, ревмопроби, рівень сечової кислоти в крові та сечі, загальний

аналіз сечі). З метою уточнення функціонального стану органів і систем, виявлення ускладнень основного захворювання чи супутньої патології, за наявності клінічних показів пацієнтам проводились інструментальні обстеження: ЕКГ, ультразвукові дослідження, рентгенологічні, ендоскопічні дослідження, магнітно-ядерний резонанс тощо.

Усі пацієнти, яких ми відбирали для участі в дослідженні були відібрані за критеріями включення та виключення. Критерії включення були наступними: вік пацієнтів від 18-75 років, пацієнти з рецидивуючою ВПГ-1-інфекцією в стадії загострення (наявність клінічних симптомів рецидивуючої герпесвірусної інфекції 1 типу з ураженням шкіри і слизових, внутрішніх органів, атипового перебігу (набряковий синдром, алергічні дерматити та ін.)) та лабораторне підтвердження реактивації ВПГ-1-інфекції із виявленням ДНК ВПГ-1 в трьох біологічних середовищах (кров, зішкряб з місця ураження чи слизових, слина), підвищенням рівня специфічних антитіл класів М та G (більше ніж в 5 разів) в сироватці крові.

Для групи пацієнтів із СЗСТ та реактивованою ВПГ 1 типу інфекцією додатковими критеріями включення були наступні: верифікований діагноз РА, СЧВ на підставі критеріїв ACR/EULAR; наявність ознак рецидивуючої герпесвірусної інфекції 1 типу; тривалість СЗСТ не більше 5-ти років; помірний або високий ступінь активності РА та СЧВ оцінений за шкалами активності (для РА - DAS28 > 3,2, для СЧВ - SLEDAI - 6-19 балів, HAQ (спільно для РА та СЧВ)). Пацієнти отримували стабільну дозу базової хворобомодифікуючої терапії та пероральної глюкокортикоїдної терапії протягом як мінімум 6 місяців до моменту включення в дослідження.

Критеріями виключення були: вік молодше 18 та старше 75 років, наявність аутоімунних захворювань, окрім зазначених вище, алергічних захворювань, злоякісних новоутворів, застосування імуноотропної терапії (імуноглобуліни, інтерферони, індуктори інтерферонів та інші препарати, що стимулюють Т і В ланки клітинного імунітету і фагоцитоз) протягом менше 30 діб до початку нашого дослідження та імунобіологічної терапії за пів року до початку включення в наше дослідження, жінки в період вагітності або лактації; застосування

протівірусних препаратів протягом останнього місяця до моменту включення в дослідження; наявність реактивованої герпетичної інфекції спричиненої ВПГ 2 типу, вірусом оперізуючого герпесу, вірусом Епштейна-Барр, цитомегаловірусом, герпесвірусом людини 6 типу.

Діагноз реактивованої ВПГ-1-інфекції був підтверджений наявністю типової клінічної картини з ураженням шкіри і слизових у вигляді герпетичних висипань на шкірі обличчя і/або слизовій оболонці порожнини рота, вуст, носа, ураження нервової системи (периферичні неврити – неврит лицьового нерва та невралгія трійчастого нерва) та атипового перебігу (набряковий синдром, алергічні дерматити та ін.), виявленням ДНК ВПГ-1 методом ПЛР хоча б в одному із досліджуваних біологічних середовищ та /або підвищеним рівнем Ig M та Ig G до ВПГ-1 в сироватці крові. Проведення лабораторних обстежень допомогло виявити реактивацію хронічної ВПГ-1-інфекції у пацієнтів із типовими або атиповими клінічними проявами інфекції.

Клінічний перебіг реактивованої ВПГ-1-інфекції було оцінено з урахуванням площі герпетичного ураження, частоти та тривалості рецидивів, наявності ускладнень та вираженості загальноклінічних ознак.

Пацієнти з СЗСТ+ВПГ-1 та пацієнти з реактивованою ВПГ-1-інфекцією, які отримували протівірусне лікування були додатково поділені на підгрупи залежно від частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції протягом року: пацієнти з частотою рецидивів 1-2 рази на рік (легкий перебіг) та пацієнти з частотою рецидивів 3 і більше на рік (середньо-тяжкий та тяжкий перебіг).

Пацієнти з легким перебігом ВПГ-1-інфекції отримували інозин пранобекс в дозуванні 100 мг/кг/добу протягом перших 14 днів лікування з переходом на підтримуюче дозування - 50 мг/кг/добу протягом 3-х місяців. Пацієнти з середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції отримували протягом перших 14 днів лікування інозин пранобекс (100 мг/кг/добу) + ацикловір (1600 мг/добу), з переходом на підтримуючу терапію інозин пранобексом у дозі 50 мг/кг/добу протягом до 3-х місяців.

Пацієнти з СЗСТ+ВІГ-1 отримували протівірусну терапію (за вище вказаною схемою) на тлі базової терапії. Препаратами вибору при РА були лефно (лефлуномід) та метотрексат, при СЧВ – плаквеніл (гідроксихлорохін) та селлсепт (мікофенолату мофетил). У групі пацієнтів із СЗСТ розподіл щодо отримуваної базової терапії був наступним: 11 хворих (32,4%) отримували метотрексат, 7 хворих (20,6%) - лефно, 9 хворих (26,5%) - плаквеніл та 7 хворих (20,6 %) – селлсепт.

Пацієнти із СЗСТ без ознак ВІГ-1-інфекції отримували лише базову терапію. У групі пацієнтів із СЗСТ розподіл щодо отримуваної базової терапії був схожим до попередньо описаної групи, а саме: 10 хворих (25,0%) отримували лефно, 12 хворих (30,0%) – метотрексат, 9 хворих (22,5%) отримували плаквеніл та 9 хворих (22,5%) – селлсепт.

2.2 Оцінка стану здоров'я та активності хвороби за допомогою індексів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини

Для оцінки активності РА ми використовували індекс DAS28 (disease activity score), який включає в себе оцінку 28 суглобів на предмет больового та набрякового синдрому (2 плечових, 2 ліктьових, 2 променево-зап'ясткових, по 2 п'ясно-фалангових 1-5 пальців кисті, 2 міжфалангових 1 пальця та по 2 проксимальних міжфалангових 2-5 пальців кисті, 2 колінних суглоби), рівень ШОЕ або СРП на момент обстеження та загальної оцінки активності захворювання пацієнтом (ЗОАЗП) за ВАШ в мм (0-100).

$$\text{DAS28 (ШОЕ)} = 0,56\sqrt{\text{КБС}} + 0,28\sqrt{\text{КНС}} + 0,70[\ln(\text{ШОЕ})] + 0,0143\text{ЗОАЗП}$$

$$\text{DAS28 (СРП)} = 0,56\sqrt{\text{КБС}} + 0,28\sqrt{\text{КНС}} + 0,36[\ln(\text{СРП}+1)] + 0,0143\text{ЗОАЗП} + 0,96$$

У своїх пацієнтів ми обрали DAS28 з урахуванням рівня СРП. Діапазон індексу – 0,49-9,07. Висока активність розцінювалася при $\text{DAS28} > 5,2$. Низька активність - при $\text{DAS28} < 3,2$. Діапазон DAS28 від 3,2 до 5,1 відповідав помірній активності.

Оцінку активності системного червоного вовчаку ми проводили з використанням шкали SLEDAI (The Systemic Lupus Erythematosus Disease). Для оцінки активності по SLEDAI ми відмічали ознаки СЧВ, які були присутніми у

пацієнта протягом попередніх 10 днів, незалежно від ступеня їх тяжкості, погіршення чи покращення стану. В цей індекс входить 24 параметра (16 клінічних та 8 лабораторних показників). Кожному показнику присвоєні бали від 1 до 8. Даний індекс включає оцінку можливих уражень центральної нервової системи (біль голови, порушення зору, психоз та ін.), м'язево-скелетних проявів (артрит, міозит), ураження нирок (з розвитком протеїнурія >0,5 г/добу, гематурії та ін.), ураженням шкіри та слизових оболонок (шкірний синдром, алопеція, фотосенсибілізація, афтозний стоматит), серозних оболонок (плеврит, перикардит), гематологічних (тромбоцитопенія, лейкопенія) та імунологічних змін (гіпокомplementемія, підвищення вмісту титрів anti-dsDNA). Серйозні прояви СЧВ, такі як: ураження нервової системи, ураження нирок, васкуліт - мали більш високу бальну оцінку, ніж інші ознаки.

Згідно з індексом SLEDAI виділяли наступні ступені активності: неактивна стадія (SLEDAI 0 балів), низька активність СЧВ (SLEDAI 0-5 балів), середній ступінь активності (SLEDAI 6-10 балів), високий ступінь активності (SLEDAI 11-19 балів) і дуже високий ступінь активності (SLEDAI >20 балів).

2.3 Лабораторні методи обстеження

Проведення усіх лабораторних досліджень відбувалося у Львівському обласному клінічному діагностичному центрі та лабораторії “Ескулаб”.

Досліджуваними матеріалами для проведення ряду усіх запланованих обстежень були венозна кров, зішкряб з місць уражень чи слизових та слина. Венозна кров була забрана натщесерце або через 8-12 год після прийому їжі з ліктьової вени у першу добу госпіталізації чи при амбулаторному зверненні за допомогою вакуумної системи забору крові, яка містила EDTA-K3.

Мазок із слизової ротоглотки пацієнтам робили натщесерце без попередньої гігієни ротової порожнини, утримуючись за годину до здачі аналізу від паління та жування гумки. Матеріал забирали спеціальними щіточками обертальними рухами кількістю до 1 мл, одразу маркуючи пробірку після забору.

Загально лабораторні дослідження проводили згідно загальновідомих стандартизованих методів.

Імунологічні дослідження виконувалися в імунологічній лабораторії ЛНМУ імені Данила Галицького (зав. лабораторією канд. мед. наук І.Й. Кріль) з використанням імуноферментного аналізатора «Sunrise» (Austria) було проведено визначення рівня цитокінів в сироватці крові та слині. Спектр досліджуваних цитокінів був наступним: IL-4, IL-10, IFN- γ в сироватці крові, INF- α в сироватці та слині, а також визначали наявність специфічних IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1.

2.3.1 Виявлення вірусу простого герпесу за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) у трьох біосередовищах

Для верифікації діагнозу, ступеня тяжкості, оцінки ефективності лікування використовували молекулярно-генетичний метод дослідження – визначення фрагментів вірусної ДНК ВПГ-1 за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) із застосуванням набору реагентів «AmpliSensHSV-typing-FER». Виявлення і типування ДНК ВПГ-1 відбувалося шляхом ампліфікації специфічного фрагмента ДНК даних мікроорганізмів методом ПЛР з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією продуктів ампліфікації. Матеріалом для проведення ПЛР служили зразки ДНК, що були отримані шляхом екстракції ДНК із слини, зішкрябів із ротоглотки і цільної крові. Дана процедура включала в себе три етапи: екстракцію (виділення) ДНК із зразків забраного клінічного матеріалу, ампліфікацію фрагмента ДНК мікроорганізму і гібридизаційно-флуоресцентну детекцію за допомогою флуоресцентного ПЛР-детектора (після завершення ПЛР).

Виділення ДНК з клінічного матеріалу проводилося в присутності внутрішнього контрольного зразка (ВКО-FL). Потім з отриманими пробами ДНК була проведеною реакція одночасної ампліфікації фрагментів ДНК ВПГ 1 типу за допомогою специфічних до кожного з них праймерів і ферменту Таq-полімерази. У складі реакційної суміші присутніми були флуоресцентномічені олігонуклеотидні зонди, які гібридизувалися з комплементарним ділянкою ампліфікуючої ДНК-мішені, в результаті чого відбувалося наростання

інтенсивності флуоресценції. За рахунок того, що до олігонуклеотидних зондів, прикріплені різні флуоресцентні мітки, це дозволяло реєструвати накопичення специфічного продукту ампліфікації кожної ДНК-мішені шляхом вимірювання інтенсивності флуоресцентного сигналу по відповідному каналу. Отримані результати інтерпретували на підставі даних про рівень флуоресцентного сигналу щодо фону по відповідних каналах для контрольних зразків і проб ДНК, отриманих шляхом екстракції з клінічних зразків.

2.3.2. Визначення специфічних імуноглобулінів класів М та G до ВПГ-1

Визначення IgM та IgG до вірусу простого герпесу першого типу проводили імуноферментним методом згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „Вектор ВПГ-IgM” та „Вектор ВПГ-IgG” („Вектор Бест”, Росія).

Досліджуваным матеріалом була сироватка крові хворих. Специфічними реагентами являлися очищені антигени ВПГ 1 типу, що були іммобілізовані на поверхні лунок планшета. На першій стадії дослідження контрольні та досліджувані зразки інкубували в лунках планшета з іммобілізованими антигенами ВПГ 1 типу. Імуноглобуліни класу IgM та IgG зв'язувались з іммобілізованими антигенами. Незв'язаний матеріал видаляли п'ятиразовим відмиванням лунок. Зв'язані антитіла IgM та IgG виявляли при інкубації з кон'югатом антитіл до IgG та IgM з пероксидазою хрому. Після другої відмивки кількість зв'язаного кон'югата визначалася кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази – перекису водню і хромогену – тетраметилбензидину. Зупинка реакції наступала із додаванням стоп-реагенту (розчину сірчаної кислоти) і подальшим визначенням оптичної щільності розчину у двохвильовому режимі: при 450 нм (основний фільтр) та 640 нм (референс-фільтр). Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційною концентрації IgM та IgG в зразках, що аналізувалися.

Для оцінки результатів аналізу обчислювався контрольний рівень оптичної щільності ОЩ_{крит} :

для виявлення Ig M - $OЩ_{крит} = OЩ_{серК} + 0,20$

для виявлення Ig G - $O\check{C}крит = O\check{C}серК- + 0,10$

де $O\check{C}серК$ - середнє арифметичне значення оптичної щільності в лунках з негативним контролем.

Для виявлення IgM - позитивним вважався результат, якщо значення $O\check{C}$ у відповідній лунці було рівно або перевищувало $O\check{C}крит$. Результат аналізу вважали від'ємний, якщо значення $O\check{C}$ у відповідній лунці було рівним або нижчим $0,8 \times O\check{C}крит$.

Для виявлення IgG - позитивним вважали результат, якщо значення $O\check{C}$ у відповідній лунці було рівно або перевищувало $O\check{C}крит$, а від'ємним, якщо значення $O\check{C}$ у відповідній лунці було нижче $O\check{C}крит$.

2.3.3 Кількісне визначення популяцій та субпопуляцій лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Дослідження виконували використовуючи набір моноклональних антитіл BD Multitest IMK Kit (Cat. No. 340503). Забір крові у хворого проводили натщесерце, з вени в пробірки VACUTAINER КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У дві пробірки TruCOUNT дозатором лабораторним вносили по 100 мкл цільної крові хворого. У першу пробірку додали 20 мкл CD3/CD8/CD45/CD4 моноклональних антитіл ("Becton Dickinson", США), у другу – 20 мкл CD3/CD16+56/CD45/CD19 моноклональних антитіл ("Becton Dickinson", США). Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 15-30 хв при кімнатній температурі, уникаючи попадання прямого сонячного проміння. У кожену пробірку додавали 450 мкл лізуючого розчину FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США). Перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) і інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення MultiSET.

2.3.4 Кількісне визначення CD45⁺CD56⁺CD69⁺- та CD45⁺CD56⁺CD69⁻- лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Забір крові у хворого проводили натщесерце з вени у пробірці для забору крові КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У пробірку вносили по 20 мкл моноклональних антитіл FastImmune CD56/CD69/CD45 та додавали по 50 мкл крові. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 15 хв при кімнатній температурі. Уникали попадання прямого сонячного проміння на зразки на протязі всього процесу проведення аналізу. Для лізування еритроцитів вносили в кожну пробірку по 450 мкл (розведеного 1:10) лізуючого розчину FACS Lysing Solution (Кат. № 349202, "Becton Dickinson", США), перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) та інкубували в темноті 30 хв. при кімнатній температурі. Осаджували лейкоцити центрифугуванням при 1000 об/хв 5 хв та видалили надосад. Осад двічі відмивали 2 мл розчином для промивання CellWASH. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur за допомогою програмного забезпечення CellQuest Pro ("Becton Dickinson", США).

2.3.5 Кількісне визначення CD8⁺CD28⁺- та CD8⁺CD28⁻- лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Забір крові у хворого проводили натщесерце з вени у пробірці для забору крові КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У пробірку вносили по 20 мкл моноклональних антитіл Simultest CD8/CD28 та додавали по 100 мкл крові. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 30 хв при кімнатній температурі. Уникали попадання прямого сонячного проміння на зразки на

протязі всього процесу проведення аналізу. Для лізування еритроцитів вносили в кожну пробірку по 2 мкл розведеного (1:10) лізуючого розчину FACS Lysing Solution (Кат. № 349202, "Becton Dickinson", США), перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) та інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Осаджували лейкоцити центрифугуванням при 1000 об/хв 5 хв та видалили надосад. Осад двічі відмивали 2 мл розчином для промивання CellWASH. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur за допомогою програмного забезпечення CellQuest Pro ("Becton Dickinson", США).

2.3.6 Кількісне визначення активізаційних маркерів лімфоцитів (CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁺) за допомогою методу проточної цитометрії

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Забір крові у хворого проводили натщесерце з вени у пробірки для забору крові КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У дві пробірки (1 - CD3/CD HLA, 2 - CD4/CD25) вносили по 20 мкл моноклональних антитіл та додавали по 100 мкл крові з КЗЕДТА. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 15-30 хв при кімнатній температурі. Уникали попадання прямого сонячного проміння на зразки на протязі всього процесу проведення аналізу. Для лізування еритроцитів вносили в кожну пробірку по 2 мкл лізуючого розчину FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США), перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) та інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Осаджували лейкоцити центрифугуванням при 1000 об/хв 5 хв та видалили надосад. Осад двічі відмивали 2 мл забуференого фізіологічного розчину з 0,1% азидом натрію або розчином для промивання CellWASH. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення MultiSET.

2.3.7 Визначення рівня інтерлейкінів (IL-4 та IL-10)

Визначення концентрації IL-4 та IL-10 в сироватці крові проводили за допомогою методу твердофазного імуоферментного аналізу згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „Інтерлейкін10-ІФА-БЕСТ” та “Інтерлейкін-4-ІФА-БЕСТ” („Вектор Бест”, Росія).

Метод базувався на тристадійному “сендвіч”-варіанті твердофазного імуоферментного аналізу з використанням специфічних антитіл до IL-4 та IL-10. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували в лунках з іммобілізованими антитілами, де відповідні маркери зв'язувалися з відповідними антитілами. На другій стадії зв'язані IL-4 та IL-10 при інкубації зв'язувалися з біотинільованими поліклональними антиілами до IL-4 та IL-10 (кон'югат №1). На третій стадії зв'язаний кон'югат №1 взаємодіяв із стрептавідином з пероксидазою хрому (кон'югат №2). Кількість зв'язаного кон'югата №2 була визначеною за кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому- перекису водню та хромогену - тетраметилбензидину. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційною концентрації IL-4 та IL-10, які містилися в зразках. Після вимірювання оптичної густини розчину в лунках на основі калібрувального графіку розраховувалася концентрація IL-4 в зразках. Для визначення концентрації IL-10, IL-4 в досліджуваних зразках будували калібрувальні криві в координатах: вісь абсцис – концентрація маркерів; вісь ординат – значення оптичної щільності відповідних зразків. Значення оптичної щільності, які відповідали концентраціям IL-4 та IL-10 в кожному стандартному розчині, відкладали на міліметровому папері. За точками, які утворилися була проведена калібрувальна крива. Потім проводили пряму до перехресту з калібрувальною кривою, від місця перетину опускали перпендикуляр на вісь абсцис. Утворене місце перетину було значенням концентрації IL-4 та IL-10.

2.3.8 Визначення рівня інтерферонів (IFN- α , IFN- γ)

Визначення рівня IFN- α в сироватці крові та слині, та ІНФ- γ в сироватці крові було основане на тристадійному “сендвіч”-варіанті твердофазного

імуноферментного аналізу з використанням моноклональних антитіл до IFN- α та IFN- γ проводили згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартних наборів реактивів „альфа-Інтерферон-ІФА-БЕСТ” та „гамма-Інтерферон-ІФА-БЕСТ” („Вектор Бест”, Росія).

Для визначення рівня інтерферонів використовували зразки крові як свіжоприготовлені, так і такі, які зберігалися протягом трьох місяців при температурі не вище 16°C. Повторні цикли відтавання/заморозки були забороненими, оскільки це могло б призвести до псевдонегативних результатів.

Безпосередньо перед проведенням самого дослідження заморожені зразки розморожували (прогріванням при температурі 18-25°C протягом 30 хвилин) і ретельно перемішували до однорідної консистенції. Якщо зразки сироватки і плазми були сильно гемолізованими, мутними, або такими, що містили осад чи суспензію еритроцитів, перед застосуванням їх центрифугували 10-15 хв при 3000 об/хв (в протилежному випадку результати могли б бути недостовірними).

Всі компоненти набору для дослідження IFN- α після розпакування витримували при температурі 18-25°C не менше 30 хв. На першій стадії дослідження контрольні та досліджувані зразки інкубували в лунках з іммобілізованими антитілами. із якими в подальшому зв'язувалися IFN- α та IFN- γ , що містилися в зразках. Матеріал, який не зв'язався видаляли шляхом п'ятиразово промивання лунок планшету. Зв'язаний IFN- α та IFN- γ взаємодіяв при інкубації з кон'югатом антитіл до IFN- α та IFN- γ людини з пероксидазою хрому. Кількість зв'язаного кон'югату визначалася кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому – перекису водню і хромогену – тетраметилбензидину. Після ТБМ в лунки вносили стоп-реагент, при цьому вміст лунок набував жовтого кольору. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна концентрації вмісту в зразках IFN- α та IFN- γ . Оптичну щільність вимірювали в лунках при довжині хвилі 450 нм. Час між зупинкою реакції та вимірюванням оптичної щільності складав 10-15 хв. Враховуючи отримані значення було побудовано калібрувальний графік залежності оптичної густини

(вісь ординат) від концентрації IFN- α , IFN- γ (вісь абсцис) в калібрувальних зразках з визначенням концентрації IFN- α та IFN- γ у досліджуваних зразках.

Визначення рівня IFN- α у слині проводили за такою ж методикою.

2.4 Статистичні методи дослідження

Отримані первинні дані ми вносили до спеціально розроблених таблиць в програмі Microsoft Excel 2011 (входить до пакету Microsoft Office). Це дало змогу згрупувати отримані дані та провести найпростіші розрахунки в цій програмі.

На першому етапі статистичної обробки отриманих даних було проведено розрахунок щодо того, чи є отримані вибіркові сукупності та який вид розподілу даних є для них характерним. Згідно проведених розрахунків було зроблено висновок, що кількість спостережень є достатньою, а відтак отримані результати можна перенести на генеральну сукупність з вірогідністю помилки менше 5% ($p < 0,05$). За допомогою розрахунку критерію Шапіро-Франсіа було засвідчено нормальний (гаусівський) характер розподілу отриманих варіаційних рядів при порівнянні одних показників, відтак, при виконанні статистичної обробки отриманих даних було використано аналіз варіаційних рядів – розрахунок середнього арифметичного значення та його середньої похибки ($M \pm m$). Оцінку вірогідності різниці отриманих результатів у порівнюваних групах проводили за допомогою критерію Стюдента (оскільки порівнювали лише дві групи з нормальним розподілом) та методом Манна-Уїтні.

Для побудови прогностичної моделі ймовірності рецидивів герпесвірусної інфекції 1 типу у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини нами застосовано метод логістичної регресії. Вказаний метод дозволяє визначати ймовірність рецидивів одночасно від значень декількох ознак, а також робити прогноз від різноманітних значень ознак, які включені у регресійну модель.

Ймовірність рецидивів герпесвірусної інфекції 1 типу (H) у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини залежно від вибраних нами факторів обчислювалась за формулою 2.1:

$$H = \frac{1}{\dots} * 100\% \quad (2.1)$$

$$\frac{1}{1+e^{-R}}$$

де $e = 2,718...$ – основа натуральних логарифмів,

R – величина, обчислена за формулою 2.2:

$$R = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots \beta_n x_n + K, \quad (2.2)$$

де K – константа,

β_i – коефіцієнти при кожному факторі,

x_i – значення факторів.

Теоретично H може приймати значення від 0% (неможлива подія) до 100% (подія відбувається завжди). Межею, яка розділяє ймовірність на високу і низьку прийнято 50%. Для встановлення чинників, які при поєднаній дії мають достовірний вплив, нами було застосовано покроковий метод логістичної регресії з поступовим включенням достовірних ознак за методом Вальда. Отримані коефіцієнти моделі аналізувалися за допомогою критерію ксі-квадрат (Chi-square). Для визначення тої частки дисперсії, яку можна пояснити за допомогою включених у регресійну модель чинників, нами аналізувався R -квадрат Наделькеркеса (R Square Nadelkerkes).

При прогнозуванні кількості рецидивів герпесвірусної інфекції за рік було застосовано метод множинної регресії.

Розрахунки проводились із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4.

Висновки до розділу 2

1. Детально розписано протокол дослідження, розподіл за групами пацієнтів та характеристика груп хворих.

2. Розширено описано усі методики для лабораторних методів дослідження, які були використані при виконанні дисертаційної роботи.

3. Застосування статистичних методів дозволить оцінити ступінь достовірності отриманих результатів.

РОЗДІЛ 3

КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ СПРИЧИНЕНОЇ ВІРУСОМ ГЕРПЕСУ 1 ТИПУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

3.1 Клінічні особливості перебігу системних захворювань сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу

В останні роки відмічається безперервний ріст кількості хворих із часторецидивуючою герпесвірусною інфекцією різноманітних форм та тяжкості перебігу. Багаторічне вивчення ВПГ-1-інфекції довело, що вона являється хворобою всього організму, а не вибіркоким поверхневим ураженням шкіри та слизових. Враховуючи подібність певних клінічних симптомів у пацієнтів із СЗСТ та реактивованою ВПГ-1-інфекцією, детальніше вивчення і оцінка клінічних, загально-лабораторних та специфічних імунологічних показників являлись важливими завданнями нашого дослідження.

Як бачимо на рис. 3.1, у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 кількість осіб з легким перебігом ВПГ-1-інфекції складала 16 осіб (47,1%), а середньо-тяжким та тяжким перебігом - 18 осіб (52,9%). Щодо групи пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією, то кількість пацієнтів вірогідно відрізнялася і становила відповідно 24 особи (66,7% $p<0,05$) та 12 осіб (33,3% $p<0,05$).

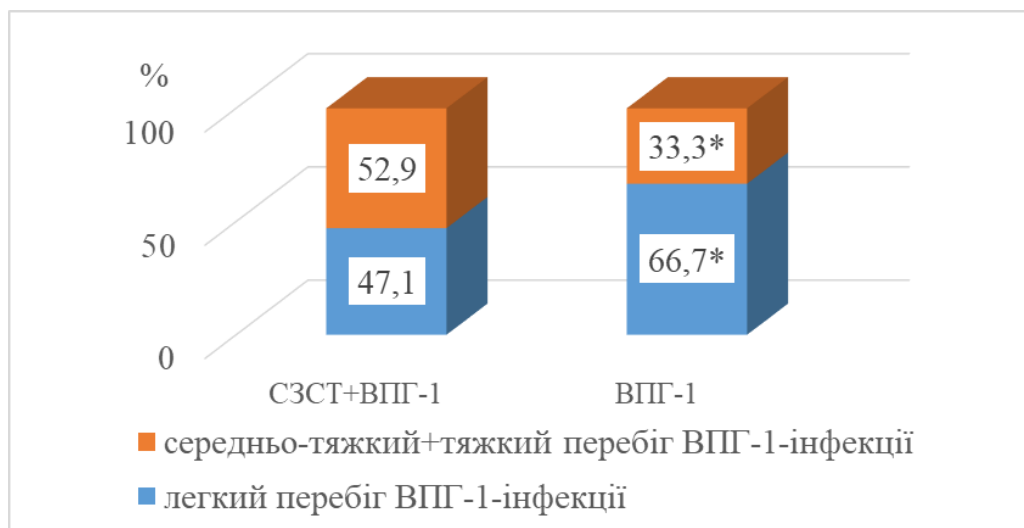
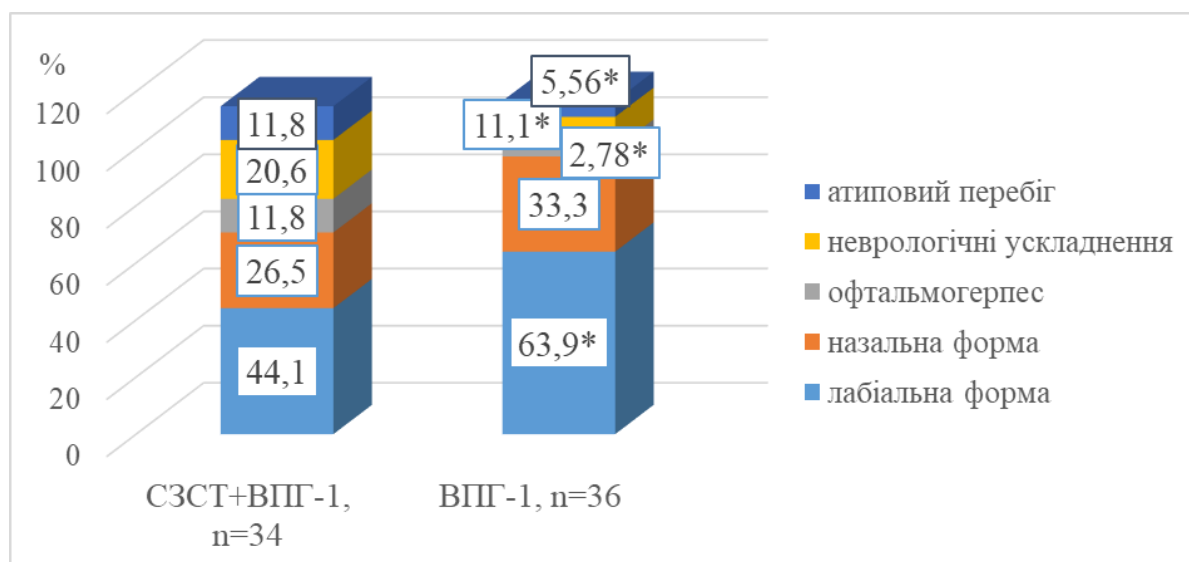


Рис. 3.1 Розподіл пацієнтів залежно від числа рецидивів ВПГ-1 інфекції на рік у групах пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та ВПГ-1-інфекцією

Розподіл пацієнтів за локалізацією патологічного процесу наведений на рис.3.2. Ураження лабіальної ділянки переважало у пацієнтів з реактивованою ВПГ-1-інфекцією (63,9%), що було вірогідно вищим ніж у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 (44,1%, $p<0,05$). Частота ураження назальної ділянки вірогідно не відрізнялася у двох порівнюваних групах і складала 26,5% у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та 33,3% у групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією.



Примітка: *- показник вірогідності поміж групами хворих ($P\leq 0,05$);

Рис.3.2 Розподіл пацієнтів за ділянками ураження ВПГ-1-інфекції у пацієнтів із СЗСТ ВПГ-1-інфекцією та лише реактивованою ВПГ-1-інфекцією

Ураження органа зору, у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією було діагностовано у 11,8% хворих на противагу групі пацієнтів із ВПГ-1-інфекцією, у якій аналогічне ураження було відміченим у 2,78% ($p<0,05$). Серед ускладнень зі сторони нервової системи виявляли ознаки периферичної нейропатії, а саме невралгії трійчастого нерва: біль голови, біль в області внутрішнього кута ока із слъозотечею та біль в області кореня носа із періодичними водянистими виділеннями з носа. У пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією дані скарги спостерігали у 20,6%, що вірогідно відрізнялося від групи пацієнтів лише із реактивованою ВПГ-1-інфекцією - 11,1% ($p<0,05$). У 4-х (11,8%) пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 виявляли атиповий перебіг, а саме набрякову форма ВПГ-1-інфекції, для якої було характерно припухання ділянок

шкіри з рихлою підшкірною жировою клітковиною (губи, периорбітальна ділянка). В таких пацієнтів типові герпетичні висипання на фоні набряклої шкіри були вираженими незначно. У пацієнтів лише з реактивованою ВПГ-1-інфекцією відсоток пацієнтів із набряковою формою ВПГ-1-інфекції складав 5,56%, що вірогідно відрізнялося від групи СЗСТ+ВПГ-1 ($p < 0,05$).

Щодо характеру герпетичних проявів, то основними з них у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції були типові везикулярні висипання на тлі незначно гіперемованої та набряклої шкіри в ділянці червоної окрайки губ, підборіддя та шкіри носа. Супутньо пацієнти також відмічали періодичне підвищення температури тіла (в межах $37,1-37,3^{\circ}\text{C}$) та швидку втомлюваність.

У пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції спостерігали везикулярні висипання на набряклому та гіперемованому тлі з ураженням кількох ділянок шкіри чи слизових, з ознаками ураження органа зору, неврологічними ускладненнями та/або атиповим перебігом інфекційного процесу.

На рис.3.3 наведений розподіл типових проявів ВПГ-1-інфекції у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією.

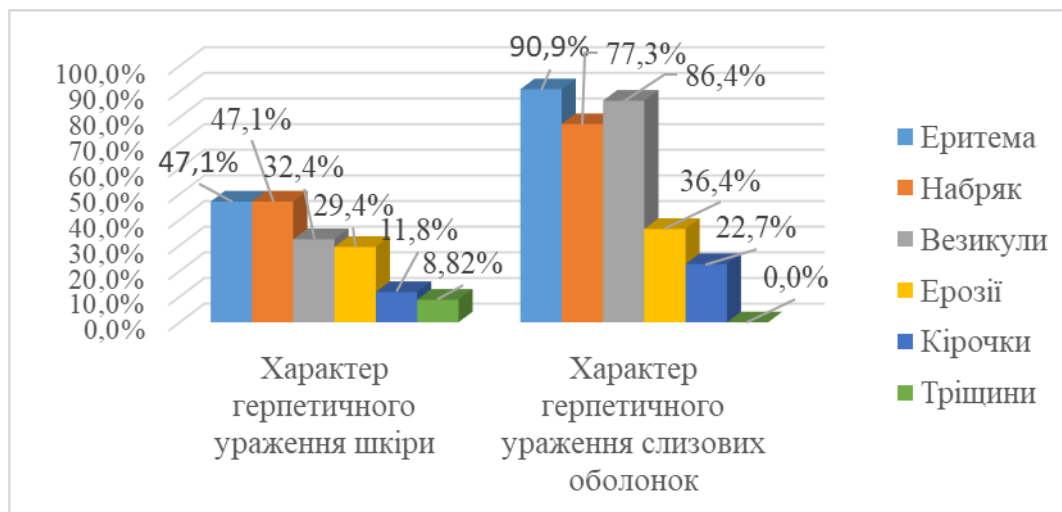


Рис. 3.3 Розподіл за характером герпетичних проявів на шкірі та слизових в групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією

Отже, у пацієнтів даної групи були виявлені специфічні висипання на шкірі (в області межі шкіри та червоної окрайки губ, шкіри носа, підборіддя,

щоки), для яких були характерні еритема (47,1%), набряк (47,1%), везикули (32,4%), ерозії (29,%), кірочки (11,8%), тріщини (8,82%). Слизові оболонки також були залучені в патологічний процес у 22 пацієнтів (64,7%), при цьому слизова ротової порожнини була уражена у 10 осіб (45,5%), носової порожнини – у 10 пацієнтів (45,5%). Щодо морфологічних елементів герпетичного ураження слизових оболонок, то розподіл був наступним: еритема – 90,9%, набряк 77,3%, везикули 86,4%, ерозії- 36,4%, кірочки - 22,7%.

Щодо групи пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією, то ураження шкіри характеризувалось наявністю наступних морфологічних елементів (рис.3.4): еритема (88,9%), набряк (83,3%), везикули (47,2%), ерозії (44,2%), кірочки (25,0%), тріщини (25,0%) (рис.3.6) (рис.3.4). У 19 хворих (52,8%) цієї групи зафіксовано специфічне герпетичне ураження слизових оболонок (носової порожнини - 7 пацієнтів (36,8%), ротової порожнини з явищами стоматиту – 10 (52,6%). Висип на слизових характеризувався: еритемою (84,2%), набряком (73,7%), везикулами (78,9%), ерозіями (31,6%), кірочками (10,5%).

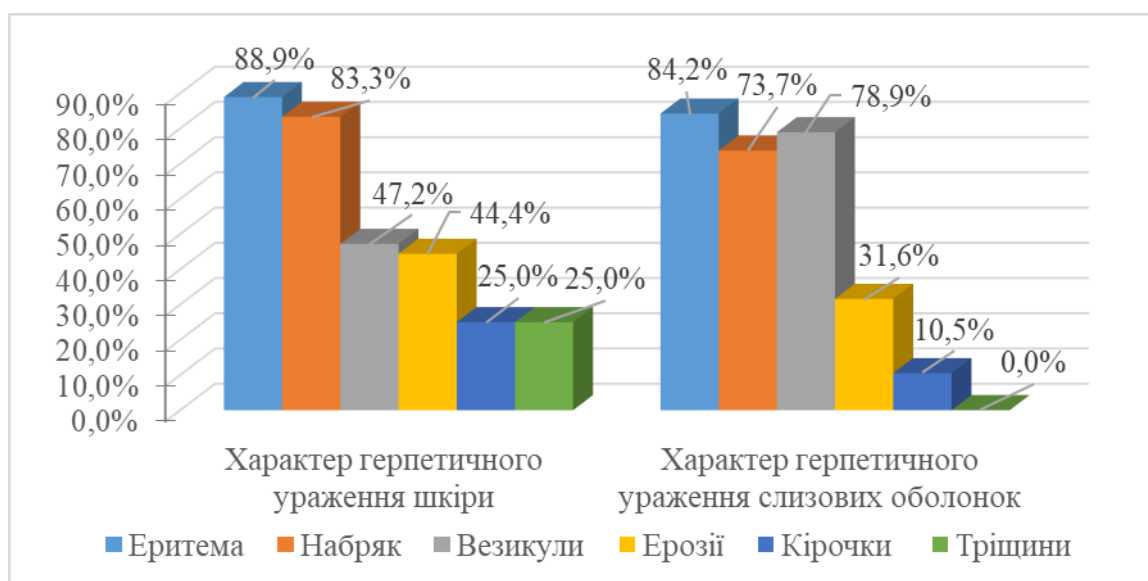


Рис. 3.4 Розподіл за характером герпетичних проявів на шкірі та слизових в групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією

Клінічна картина ревматологічних захворювань є надзвичайно різноманітною і характеризується широким спектром проявів, основні з яких наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Клінічна характеристика хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію, порівняно із
хворими лише на СЗСТ та лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію**

Патологія Скарги	СЗСТ+ВПГ, n=34;		СЗСТ, n= 40		ВПГ, n=36	
	абс	%	абс	%	абс	%
Периферична нейропатія	7	20,6	4	10,0*	4	11,1*
Ураження органа зору	4	11,8	2	5,0*	1	2,78*#
Нефропатія	6	17,6	4	10,0*	-	-
Біль в суглобах верхніх та/або нижніх кінцівок	31	91,2	35	87,5	-	-
Нябряк суглобів верхніх та/або нижніх кінцівок	27	79,4	32	80,0	-	-
Відчуття коротко- або довготривалої ранкової скутості	23	67,7	33	82,5	-	-
Посилене відчуття холоду в пальцях кистей та стоп	12	35,3	14	35,0	-	-
Підвищене відчуття сухості в очах та/або ротовій порожнині	9	26,5	11	27,5	-	-
Посилене випадіння волосся	4	11,8	4	10,0	-	-
Фотосенсибілізація	7	20,6	7	17,5	-	-
Еритематозні та/або дискоїдні висипання на шкірі обличчя, декольте, шиї, передпліччя	4	11,8	4	10,0	-	-
Задишка при ходьбі	7	20,5	9	22,5	-	-
Підвищення температури тіла в межах 37,3-37,7°	19	55,9	15	37,5*	14	38,9*
Біль голови	13	38,2	10	25,0*	12	33,3
Везикулярні висипання на шкірі та слизових	26	76,5	-	-	28	77,8
Збільшення лімфатичних вузлів	14	41,2	9	22,5*	7	19,4*
Виразене відчуття загальної слабості	32	94,1	28	70,0*	22	61,1*

Примітка: * - показник вірогідності поміж групою хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($P \leq 0,05$);

- показник вірогідності поміж групою хворих на СЗСТ ($P \leq 0,05$);

Як видно з таблиці 3.1 симптомами, які виявляли вірогідно частіше у групі пацієнтів із СЗСТ+ВППГ-1 порівняно з пацієнтами лише з СЗСТ були: периферичні нейропатія (20,6% проти 10,0%; $p<0,05$), ураження органа зору (11,8% проти 5,0%; $p<0,05$), нефропатія (верифікована на основі підвищеної екскреції білка $>0,5$ г/добу в загальному аналізі сечі та підвищеного рівня креатиніну в сироватці крові) (17,6% проти 10,0%; $p<0,05$), довготривале (як мінімум 2-3 міс) підвищення температури тіла в межах $37,3-37,7^{\circ}\text{C}$ (55,9% проти 37,5%; $p<0,05$), біль голови (38,2% проти 25,0%; $p<0,05$), виражене відчуття загальної слабості (94,1% проти 70,0%; $p<0,05$) та збільшення лімфатичних вузлів 41,2% проти 22,5%; $p<0,05$). Частота появу болевого синдрому із сторони верхніх та/або нижніх кінцівок та ранкової скутості серед пацієнтів із СЗСТ+ВППГ-1-інфекцією була вищою у даній групі порівняно із пацієнтами із СЗСТ, проте без ознак вірогідності (91,2% проти 87,5% відповідно).

Згідно даних наведених в таблиці, в пацієнтів лише із СЗСТ найбільш поширеним скаргами були: біль в суглобах верхніх та/або нижніх кінцівок (87,5%), відчуття коротко- або довготривалої ранкової скутості (82,5%), нябряк суглобів верхніх та/або нижніх кінцівок (80,0%) та відчуття загальної слабості та швидкої втомлюваності (70,0%), що зумовлено переважанням пацієнтів із ревматоїдним артритом серед досліджуваних. Такі скарги як посилене відчуття холоду в пальцях кистей та стоп (35,0%), посилене випадіння волосся (10,0%), фотосенсибілізація (17,5%), задишка при ходьбі (22,5%), підвищення температури тіла в межах $37,3-37,7^{\circ}\text{C}$ (37,5%), еритематозні та/або дискоїдні висипання на шкірі обличчя, декольте, шії, передпліччя (10,0%) та біль голови (25,0%) були характерними здебільшого для пацієнтів із системним червоним вовчаком.

У пацієнтів із реактивованою ВППГ-1-інфекцією основними скаргами були наявність везикульозних висипань на шкірі та слизових оболонках (77,8%), відчуття посиленої загальної слабості та втомлюваності (61,1%), довготривале підвищення температури тіла до $37,7^{\circ}\text{C}$ (38,9%), періодичний біль голови (33,3%), відчуття збільшених та болючих підщелепних та/або передньошийних та/або задньошийних лімфатичних вузлів (19,4%).

Враховуючи приналежність РА до СЗСТ, порівняльний аналіз екстраартикулярних проявів є вкрай важливим моментом, окрім типових скарг зі сторони суглобів.

Окремо був проведений порівняльний аналіз системних та екстраартикулярних проявів РА у групах пацієнтів із РА+ВПГ-1 та пацієнтів лише з РА (рис. 3.5-3.6)

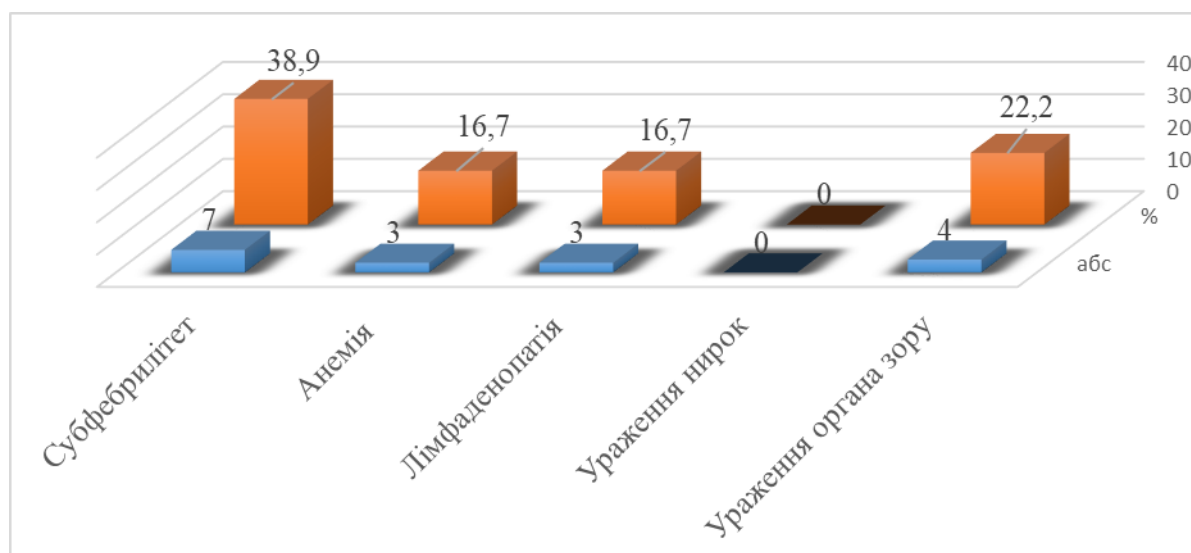


Рис.3.5 Розподіл екстраартикулярних проявів у хворих на РА+ВПГ-1

Наведені дані на рисунку 3.5 демонструють, що у пацієнтів із РА у поєднанні із реактивованою ВПГ-1-інфекцією були відзначені: наявність підвищеної температури тіла в межах 37,3-37,7° С у (37,9%) пацієнтів, анемія хронічного перебігу у 3 (16,7%) пацієнтів, наявність лімфаденопатії була відмічена у 3 (16,7%) пацієнтів та наявність сухого кератокон'юнктивіту у 4 (22,2%). Ураження нирок у даної групи пацієнтів відзначено не було.

Щодо пацієнтів з РА без ознак вірусної інфекції, то розподіл екстраартикулярних проявів був наступним (рис.3.6): підвищення температури тіла в межах 37,3-37,7° С спостерігалось у 5 (22,7%) хворих, анемія хронічного перебігу у 5 (27,7%) пацієнтів, лімфаденопатія була відзначена у одного (4,55%) пацієнта, ураження органа зору у вигляді сухого кератокон'юнктивіту було у двох (9,09%) пацієнтів та ураженням нирок у одного (4,55%) пацієнта.

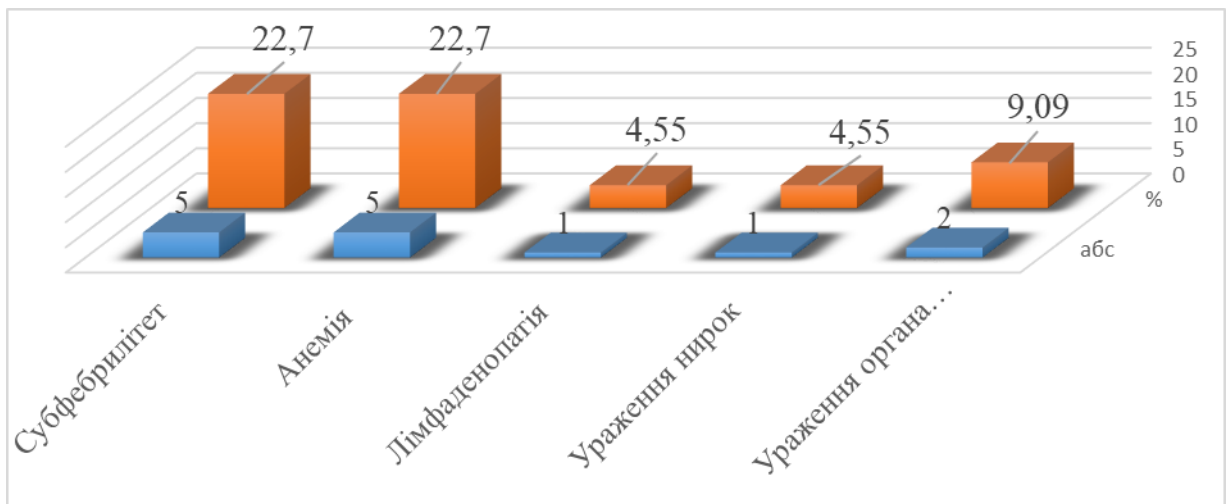


Рис. 3.6 Розподіл екстраартикулярних проявів у хворих лише на РА (n=22)

Проведено порівняльну характеристику скарг хворих із акцентування уваги на найбільш поширених серед пацієнтів із СЧВ+ВІГ-1-інфекції порівняно з пацієнтами лише з СЧВ (рис.3.7-3.8).

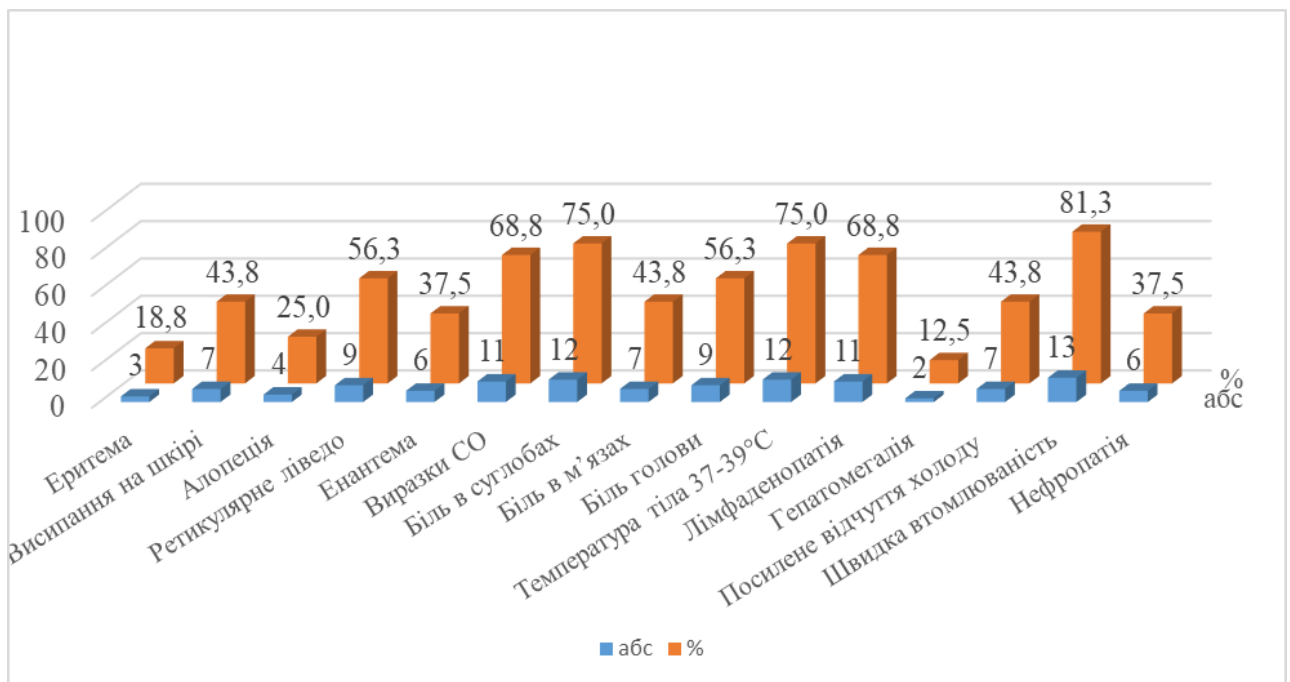


Рис. 3.7 Розподіл пацієнтів за скаргами у групі пацієнтів із СЧВ+ВІГ-1 (n=16)

Як бачимо з рисунків 3.7-3.8, у пацієнтів із СЧВ+ВІГ-1 порівняно із пацієнтами лише на СЧВ частіше відзначали наявність виразкувань на слизовій оболонці (зміни торкалися головним чином порожнини рота і носа, були болісними і супроводжувалися печінням) у $68,8 \pm 3,25\%$ проти $22,2 \pm 2,75$ ($p < 0,05$),

енантеми (еритематозні ділянки з геморагічними вкрапленнями й ерозіями слизової оболонки) у $37,5 \pm 2,96\%$ проти $22,2 \pm 2,12\%$ ($p < 0,05$), болю голови у $56,3 \pm 3,02\%$ проти $27,8 \pm 2,23$ ($p < 0,05$), тривалого підвищення температури тіла в межах $37-39^\circ\text{C}$ $75,0 \pm 3,13\%$ проти $55,6\%$ ($p < 0,05$), лімфаденопатії (яка характеризувалася відчуттям збільшених та болючих в основному підщелепних, передньо- та задньошийних лімфатичних вузлів) у $68,8 \pm 3,52\%$ проти $44,4 \pm 2,68\%$ ($p < 0,05$) та нефропатії – $37,5 \pm 2,56$ проти $16,7 \pm 2,14$ ($p < 0,05$). Суглобовий синдром характеризувався частими мігруючими артралгіями та артритами здебільшого зі сторони дрібних суглобів кистей, променево-зап'ясткових та колінних суглобів, проте частота його появи вірогідно не відрізнялася у пацієнтів із СЧВ на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції та пацієнтів лише з СЧВ ($75,0 \pm 3,57\%$ та $83,3 \pm 3,13\%$ відповідно). Біль в м'язах верхніх та нижніх кінцівок, якому також були притаманні відчуття м'язевої слабості та підвищеної чутливості в м'язах при пальпації, також зустрічався практично з однаковою частотою як у пацієнтів із СЧВ на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції $43,8 \pm 2,56\%$, так і в пацієнтів із СЧВ $38,9 \pm 2,14\%$.

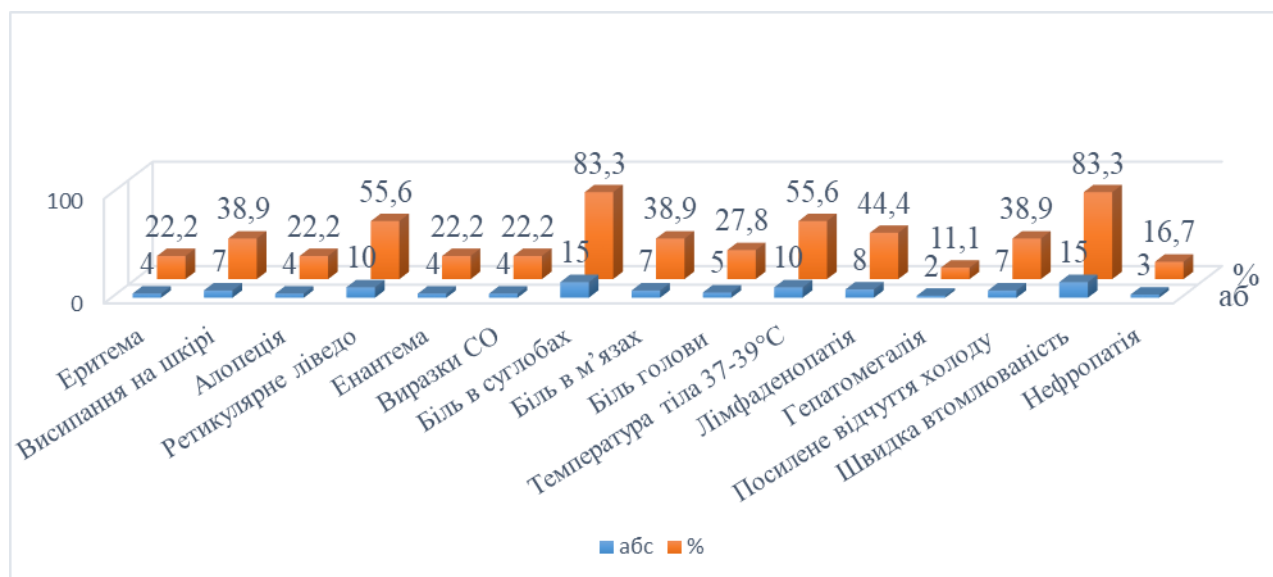


Рис. 3.8 Розподіл пацієнтів за скаргами у групі пацієнтів із СЧВ (n=18)

У таблиці 3.2 наведено порівняльний аналіз лабораторних та діагностичних характеристик хворих на РА за умов реактивованою ВПГ-1-інфекцією та хворих лише на РА.

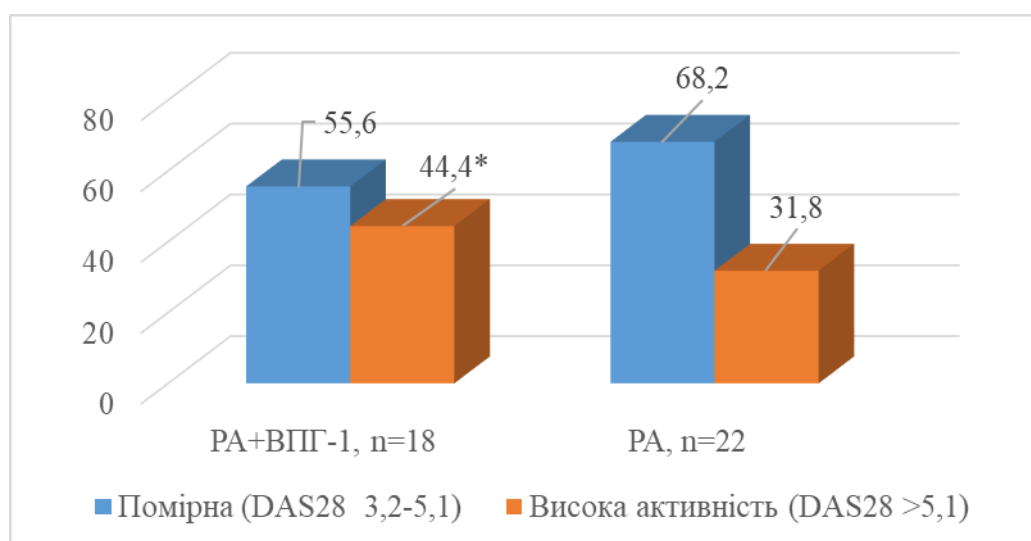
Таблиця 3.2

Діагностичні характеристики хворих на РА+ВППГ-1 та в хворих лише на РА

Показник	РА+ВППГ 1 типу (n=18)		РА (n=22)	
	абс	%	абс	%
ШОЕ, мм/год	33,4±2,47	-	29,3±3,23	-
СРП, мг/л	29,7±3,62	-	26,5 ±2,34	-
Рентгенологічна стадія:				
I стадія	10	55,6	12	54,6
II стадія	8	44,4	10	45,4

Згідно даних таблиці 3.2 показники лабораторної активності ШОЕ та СРП були дещо вищими у хворих з РА на тлі ВППГ-1-інфекції у порівнянні із хворими лише на РА, проте без ознак вірогідності і становили: ШОЕ у групі хворих РА+ВППГ 1 типу - 33,4±2,47 мм/год, а у хворих лише з РА - 29,3±3,23 мм/год ($p>0,05$); СРП у групі хворих з РА+ВППГ 1 типу - 29,7±3,62 та у хворих лише на РА - 26,5 ±2,34 ($p>0,05$).

Оцінка клініко-лабораторної активності РА була проведена за допомогою індексу DAS28. Як свідчать дані рисунку 3.9 активність запального процесу в хворих на РА за індексом DAS28 була наступною: помірна активність (DAS28 від 3,2 до 5,1) - у 15 (68,2%) пацієнтів, висока активність (DAS28>5,2) - у 7 (31,8%) пацієнтів, а у хворих на РА+ВППГ-1: помірна активність - у 10 (55,6%) пацієнтів, висока активність - у 8 (44,4%) пацієнтів що було вірогідно вище ніж, у пацієнтів лише з РА.



Примітка: *- показник вірогідності між групами хворих ($P\leq 0,05$);

Рис.3.9 Розподіл за клініко-лабораторною активністю РА (за DAS28) у пацієнтів із РА+ВППГ-1 та лише РА

Оцінка рентгенологічної стадії (за Штейнброкером) продемонструвала наступний розподіл пацієнтів із РА+ВІПГ-1: I рентгенологічна стадія була виявлена у 10 (55,6 %) хворих, II рентгенологічна стадія у 8 (44,4%) хворих, III стадії як і в порівнюваній групі хворих не було виявлено.

У групі пацієнтів лише з РА інфекцією розподіл за рентгенологічною стадією вірогідно не відрізнявся і був наступним: I рентгенологічна стадія процесу була виявлена у 12 (54,6%) хворих, II стадія- у 10 (45,4%) хворих, III рентгенологічної стадія виявлено не було.

Для лабораторної верифікації РА важливим є визначення ревматоїдного фактору (РФ) - аутоантитіл класу IgM до антигенних компонентів Fc-фрагменту IgG та антитіл до циклічного цитрулінового пептиду (anti-CCP) - групи аутоантитіл, які розпізнають антигенні детермінанти філаггріна та інших білків, що містять атипову амінокислоту цитрулін і відносяться переважно до класу IgG. Оскільки у пацієнтів, які мають одночасно високі рівні anti-CCP і ревматоїдного фактора відзначається більш виражене пошкодження суглобового хряща, нами були відібрані пацієнти здебільшого із серопозитивним РА.

На рисунку 3.10 наведено дані розподілу хворих за наявністю ревматоїдного фактора та антитіл до циклічного цитрулінового пептиду у пацієнтів із РА+ВІПГ-1 та пацієнтів лише з РА.

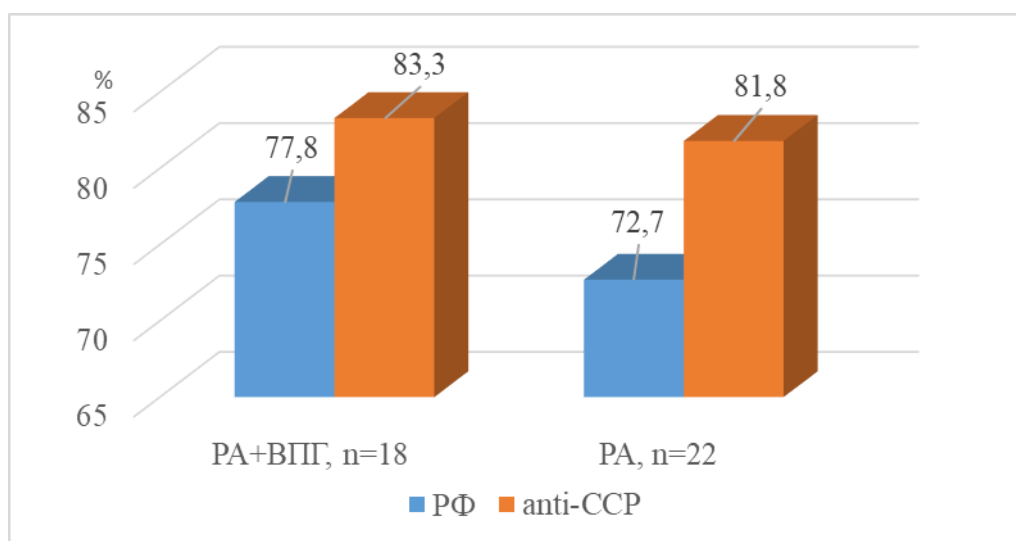


Рис. 3.10 Розподіл за наявністю РФ та anti-CCP у пацієнтів із РА+ВІПГ-1 та пацієнтів лише з РА

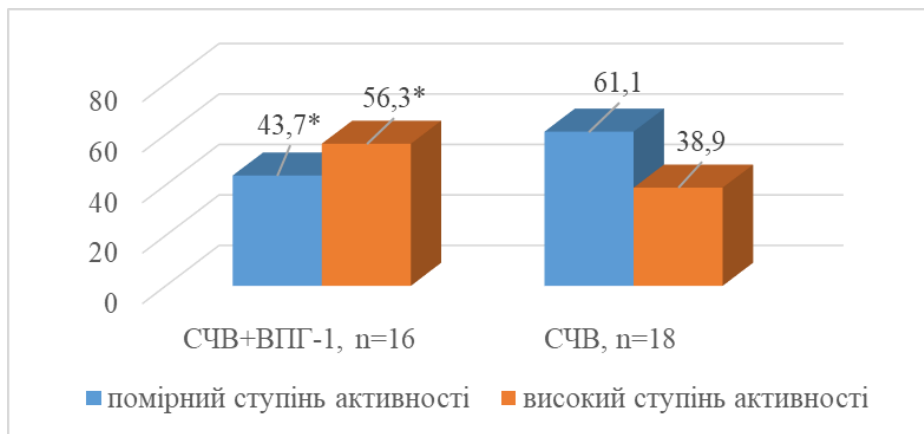
Як видно на рис. 3.10 у групі пацієнтів із РА+ВІІГ-1 кількість пацієнтів із серопозитивним варіантом РА за РФ, та anti-CCP була преваліюючою і складала: за РФ - 14 (77,8%) хворих та за anti-CCP – 15 (83,3 %) хворих. В пацієнтів лише з РА розподіл був схожим: 16 (72,7%) хворих були серопозитивними за ревматоїдним фактором та 18 (81,8%) хворих за антитілами до циклічного цитрулінового пептиду. Кількість пацієнтів серопозитивних за anti-CCP та за РФ вірогідно не відрізнялася у порівнюваних групах.

Окремо було проведено аналіз клініко-лабораторних особливостей у хворих на СЧВ+ВІІГ-1-інфекції та хворих лише на СЧВ.

Лабораторна діагностика включала визначення в сироватці крові патогномонічних для СЧВ показників – антинуклеарних антитіл (ANA), антитіл до двоспиральної ДНК (anti-dsDNA) та антитіл до ядерного антигену Сміта (anti-Sm). Серед пацієнтів із СЧВ без ознак герпетичної інфекції серопозитивними за ANA були 17 (94,4%) пацієнтів, за anti-dsDNA - 12 (66,7%) пацієнтів та за anti-Sm - 4 (22,2%) пацієнтів. У групі хворих із СЧВ та ознаками реактивованої ВІІГ 1 типу інфекції ANA виявляли у 14 (87,5%) хворих, anti-dsDNA у 10 (62,5%) хворих і за anti-Sm 3 (18,8%) хворих. Статистична різниця щодо детекції патогномонічних для СЧВ лабораторних маркерів між пацієнтами досліджуваних підгруп виявлена не була.

Проведено порівняльну характеристику клініко-лабораторної активності СЧВ за допомогою модифікованого індексу SLEDAI-2К у пацієнтів із СЧВ+ВІІГ-1 та лише з СЧВ (рис.3.11).

Аналіз даних рис. 3.11 свідчить, що у хворих на СЧВ помірний ступінь активності (6-10 балів) виявляли у 11 (61,1%) хворих, високий (11-19 балів) - 7 (38,9%) хворих, а у хворих на СЧВ+ВІІГ-1 розподіл був наступним: помірний ступінь активності - у 7 (43,7%), а високий - у 9 (56,3%) хворих. Таким чином, у хворих на СЧВ+ВІІГ-1 частіше виявляли високу активність та тяжкий перебіг в 1,45 разів порівняно з хворими на СЧВ.



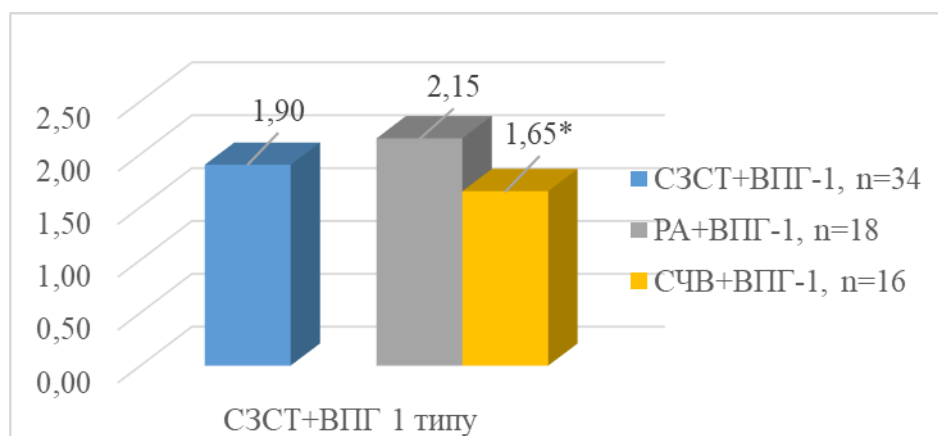
Примітка: *- показник вірогідності поміж групами хворих ($P \leq 0,05$);

Рис.3.11 Розподіл пацієнтів за ступенем активності СЧВ (за SLEDAI-2K) у групі пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 та лише СЧВ

Проведено порівняльну характеристику функціонального стану хворих за допомогою індексу HAQ у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією та пацієнтів із лише СЗСТ (рис.3.12-3.13).

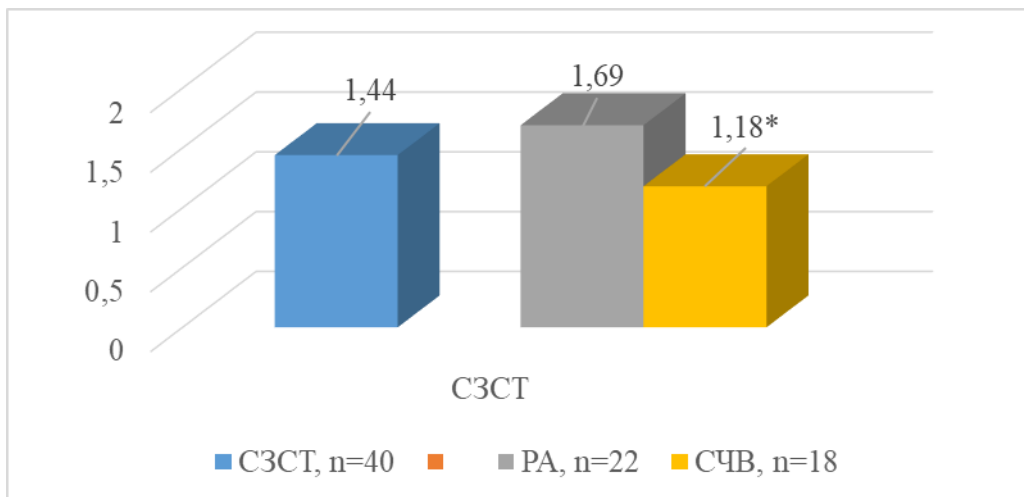
Як свідчать дані рисунків 3.12-3.13 на початку нашого дослідження у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 значення функціонального індексу HAQ становило $1,90 \pm 0,19$, що вірогідно відрізнялося від пацієнтів із СЗСТ $1,44 \pm 0,13$ ($p < 0,05$). У хворих на СЧВ+ВПГ-1 значення індексу HAQ також виявилося вірогідно вищим ($1,65 \pm 0,15$) порівняно із хворими на СЧВ ($1,18 \pm 0,12$; $p < 0,05$). У хворих на РА+ВПГ-1 порівняно з хворими на РА вірогідної різниці значення індексу HAQ не виявлено.

Слід відмітити, що у пацієнтів із РА значення індексу HAQ було вірогідно вищим порівняно з пацієнтами з СЧВ.



Примітка: *- показник вірогідності поміж групою хворих на РА+ВПГ-1 ($P \leq 0,05$);

Рис.3.12 Розподіл за оцінкою індексу HAQ у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1



Примітка: *- показник вірогідності поміж групою хворих на РА ($P \leq 0,05$);

Рис.3.13 Розподіл за оцінкою індексу НАQ у групі пацієнтів із СЗСТ

СЧВ являється захворюванням з періодами високої і низької активності, що може бути пов'язано із циклічним перебігом латентної вірусної інфекції, котра періодично переключається на літичний цикл. Пацієнти із СЧВ менше здатні контролювати віремію, так як ВПГ інфіковані $CD8^+$ -лімфоцити секретують менше ефektorних молекул ($IFN \gamma$, $TNF\alpha$, $IL-2$).

Імунні порушення в ланках противірусного захисту визначають особливості перебігу, прогноз, якість та тривалість життя пацієнта. Таким чином герпесвірусні інфекції можуть викликати не тільки легкоминучі захворювання, але і маскуючись провокувати активацію основного захворювання.

Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно хворими на СЗСТ спостерігалися частіше периферичні нейропатії - в 2,60 разів, ураження органа зору - в 2,36 разів, збільшення лімфатичних вузлів - у 1,83 разів, нефропатію - в 1,76 разів, біль голови - в 1,53 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,49 раз, виражену загальну слабкість - в 1,34 рази. У той же час, порівняно з хворими на ВПГ-1 інфекцією частіше спостерігалися: ураження органу зору - в 4,24 рази, атиповий перебіг ВПГ-1-інфекції (набрякова форма) - в 2,12 разів, периферичні нейропатії - в 1,86 разів, виражену загальну слабкість - в 1,54 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,43 рази.

У хворих на РА+ВІГ-1 порівняно з хворими на РА частіше спостерігалися наступні екстраартикулярні прояви: лімфаденопатія – в 3,67 рази ($p<0,05$), ураження органу зору – в 2,44 рази ($p<0,05$) та субфебрилітет в 1,71 раз ($p<0,05$).

У хворих на СЧВ+ВІГ-1 порівняно з хворими на СЧВ частіше були відзначені: нефропатія – в 2,25 разів, біль голови – в 2,03 рази ($p<0,05$), лімфаденопатія в 1,55 разів ($p<0,05$), гарячка – в 1,35 разів ($p<0,05$), а також симптоми зі сторони слизових оболонок - енантема в 1,69 разів ($p<0,05$) та виразкування слизової оболонки ротової та носової порожнин в 3,10 разів ($p<0,05$).

Кількість хворих серопозитивних за anti-CCP та за РФ не відрізнялася у хворих на РА+ВІГ-1 та хворих на РА.

Статистична різниця щодо детекції патогномонічних для СЧВ аутоантитіл (ANA, anti-dsDNA, anti-Sm) між хворими на СЧВ+ВІГ-1 та хворими на СЧВ також не була виявлена.

Проведена оцінка активності запального процесу в хворих досліджуваних груп. Активність запального процесу в хворих на РА оцінена за індексом DAS28 була наступною: помірна активність (DAS28 до 3,2 до 5,1) - у 68,2% пацієнтів, висока активність (DAS28 $>$ 5,2) - у 31,8% пацієнтів, а у хворих РА+ВІГ-1: помірна активність - у 55,6% пацієнтів, висока активність - у 44,4% пацієнтів.

У хворих на СЧВ проведена оцінка активності та тяжкості перебігу СЧВ згідно міжнародного індексу SLEDAI: у хворих на СЧВ помірний ступінь активності (6-10 балів) – у 61,1% хворих ($p<0,05$), високий (11-19 балів) - 38,9% хворих, а у хворих на СЧВ+ВІГ-1: помірний ступінь активності - у 43,7%, а високий – у 56,3% хворих.

Таким чином, перебіг СЗСТ на тлі реактивованої ВІГ-1-інфекції характеризувався вищою частотою рецидивів герпесвірусної інфекції, частішим виникненням скарг зі сторони кістково-суглобової та нервової систем, нефропатії, гіпертермічного синдрому та синдрому хронічної втоми. Високий ступінь активності основного захворювання був характерний для СЧВ на тлі ВІГ-1-інфекції. Отже, різноманіття клінічної картини СЗСТ в поєднанні з реактивованою ВІГ-1-інфекцією акцентує увагу на важливості виявлення даної

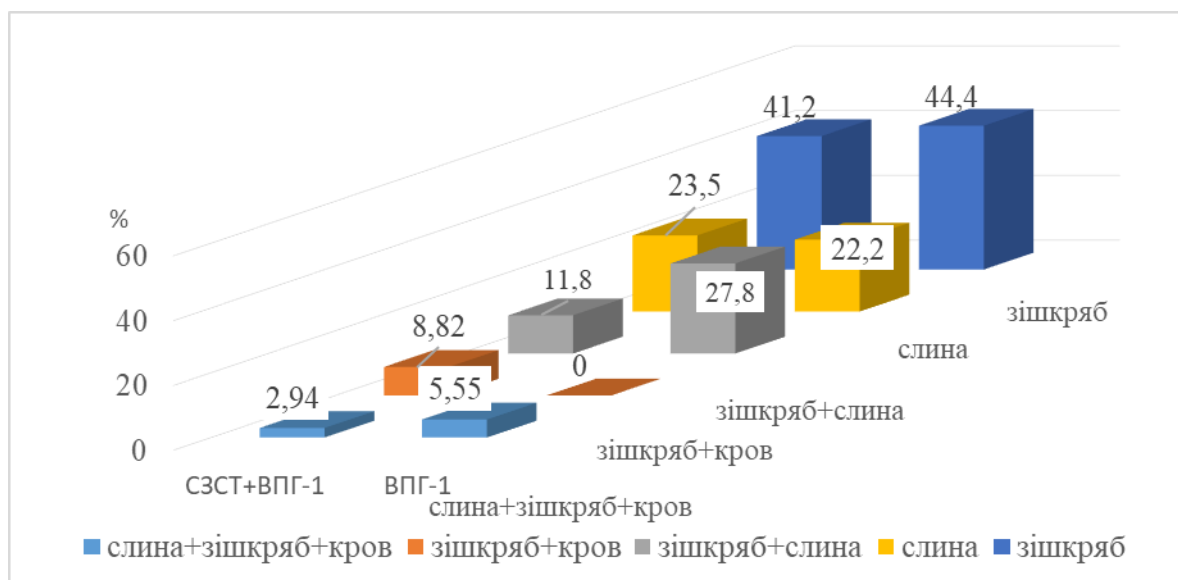
інфекції та при потребі додавання відповідної протівірусної терапії до стандартної імуносупресивної.

3.2. Характеристика молекулярно-генетичних показників та специфічного антитілогенезу в пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу

Вираженість клінічних проявів герпесвірусної інфекції може залежати від кількості збудника та стадії його реплікативної активності. Верифікації вірусу простого герпесу 1 типу за допомогою молекулярно-генетичного методу на основі полімеразно-ланцюгової реакції дозволяє це зробити з високою специфічністю та значною чутливістю.

Метою було оцінити частоту виявлення специфічної ДНК ВПГ-1-інфекції у крові, слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції та порівняти із групами хворих лише на СЗСТ та хворими лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію.

Розглянемо розподіл виявлення ДНК ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими лише на СЗСТ (рис.3.14).



Примітка: *- показник вірогідності поміж групами хворих ($P \leq 0,05$);

Рис. 3.14 Відсотковий вміст виявлення ДНК ВПГ-1 в різних біосередовищах у групах хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та хворих лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію

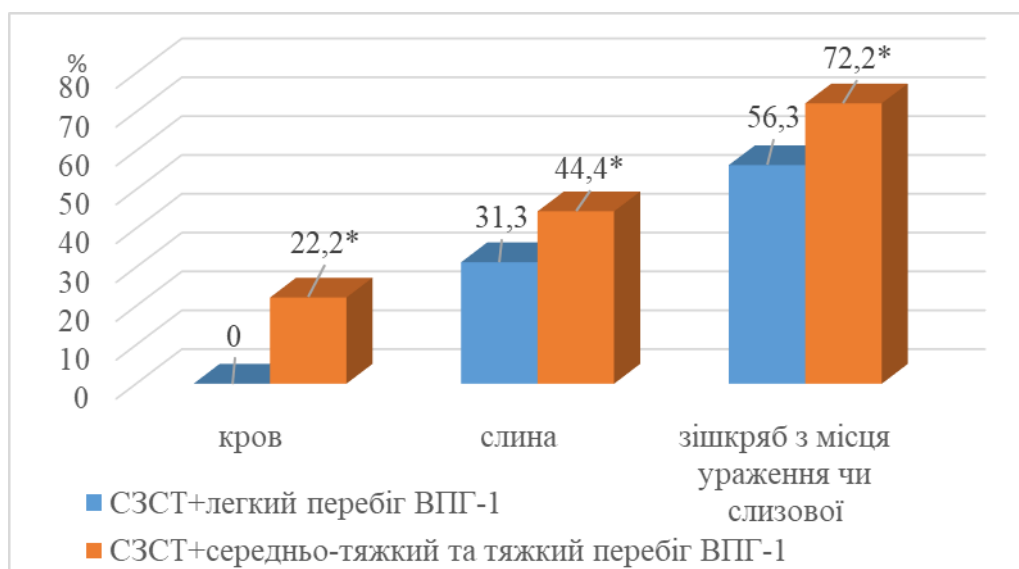
Як видно на рисунку 3.14 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 одночасно у крові, слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової в одного (2,94%) хворого, одночасно у слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової - в 4 (11,8%), одночасно в крові та зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 3 (8,82%), лише в зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 14 (41,2%) та лише в слині - у 8 хворих (23,5%).

Таким чином, ДНК ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 сумарно була виявлена у слині в 13 (38,2%) хворих, зішкрябі з місця ураження чи слизової – у 22 (64,7%) хворих і в крові – в 4 (11,8%) хворих.

Що ж до пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією, то ДНК ВПГ-1 одночасно у крові, слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової в двох (5,56%) хворих, одночасно в слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової в 10 (27,8%) хворих, лише в зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 16 (44,4%) та лише в слині - у 8 хворих (22,2%).

Таким чином, у пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією ДНК-ВПГ-1 була виявлена сумарно у слині в 18 (50,0%) хворих, зішкрябі з місця ураження чи слизової – у 26 (72,2%) хворих і в крові – в 2 (5,56%) хворих.

Нами було проведено аналіз виявлення ДНК ВПГ-1 у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції залежно від ступеня її тяжкості (рис.3.15).

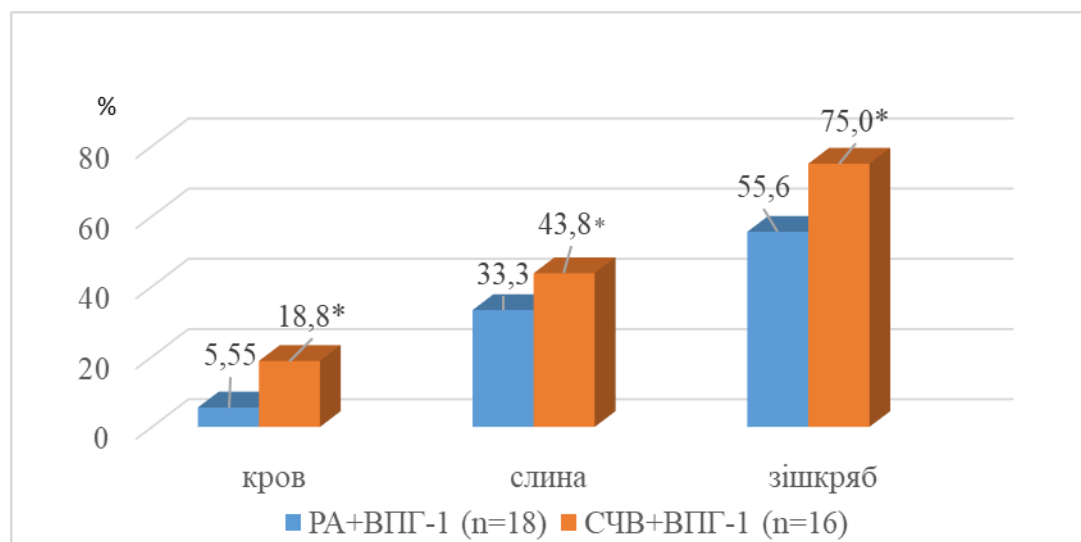


Примітка: *- показник вірогідності поміж групами хворих ($P \leq 0,05$);

Рис. 3.15 Відсотковий вміст виявлення ДНК ВПГ-1 в різних біосередовищах у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 залежно від ступеня її тяжкості

Як видно з рисунку в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з частотою рецидивів ВПГ-1-інфекції 1-3 рази на рік ДНК ВПГ-1 виявляли в слині в 5 (31,3%) хворих та зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 9 (56,3%) хворих, у крові ДНК ВПГ-1 виявлено не було. Натомість у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з частотою рецидивів ВПГ-1-інфекції 4 і більше разів на рік ДНК ВПГ-1 виявляли в слині в 8 (44,4%) хворих, зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 13 (72,2%) хворих та в крові - в 4 (22,2%) хворих, що вірогідно відрізнялося від пацієнтів із меншою кількістю рецидивів на рік ВПГ-1-інфекції ($p < 0,05$).

Окремо було проаналізовано особливості виявлення ДНК ВПГ-1 в різних біологічних середовищах у хворих із РА та СЧВ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (рис.3.16).



Примітка: *- показник вірогідності поміж групами хворих ($P \leq 0,05$);

Рис. 3.16 Відсотковий вміст виявлення ДНК ВПГ-1 в різних біосередовищах у групах хворих на РА+ВПГ-1 та хворих на СЧВ+ВПГ-1

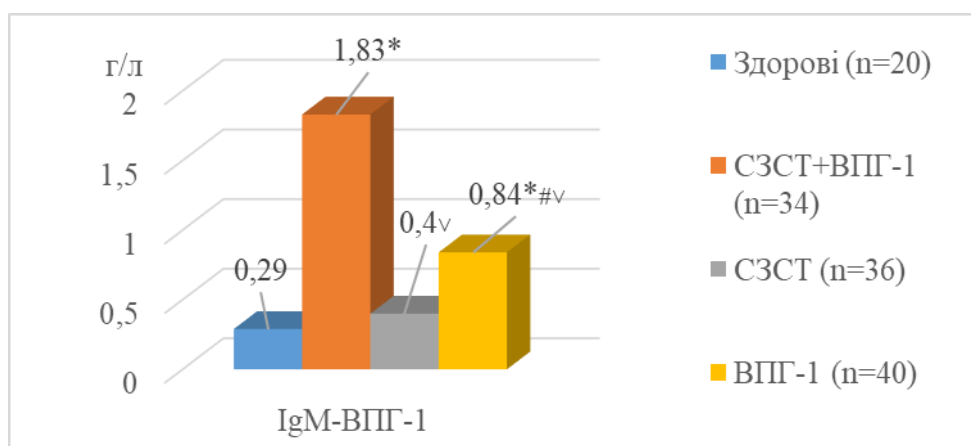
У хворих на СЧВ+ВПГ-1 ДНК-ВПГ-1 була виявлена одночасно у крові, слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової в одного (6,25%) хворого, одночасно у слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової - в 3 (18,8%), одночасно в крові та зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 2 (12,5%), лише в зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 6 (37,5%) та лише в слині - у 3 хворих (18,8%). Отже, у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 ДНК-ВПГ-1 була виявлена

сумарно у слині в 7 (43,8%) хворих, зішкрябі з місця ураження чи слизової – у 12 (75,0%) хворих і в крові – в 3 (18,8%) хворих.

Щодо пацієнтів із РА+ВПГ-1, ДНК-ВПГ-1 була виявлена одночасно у слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової - в 1 (5,56%) хворого, одночасно в крові та зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 1 (5,56%), лише в зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 8 (44,4%) та лише в слині - у 5 хворих (14,7%). Сумарно ДНК-ВПГ-1 була виявлена в пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 у слині в 6 (33,3%) хворих, зішкрябі з місця ураження чи слизової – у 10 (55,6%) хворих і в крові – в 1 (2,94%) хворого. Таким чином, у хворих на СЧВ+ВПГ-1 порівняно з хворими на РА+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 частіше виявлялась у крові (в 3,39 разів), у зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 1,35 разів) та в слині (в 1,31 рази), а також одночасно в кількох середовищах (у 3,0 рази).

Оцінка роботи гуморальної ланки імунної системи, відображена у синтезі специфічних протиінфекційних антитіл є важливим моментом, особливо в групі пацієнтів, які тривало отримують імуносупресивну терапію.

Розглянемо більш детально синтез специфічних IgM-ВПГ-1 та IgG-ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1, хворих лише на СЗСТ, хворих лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію та здорових осіб (рис.3.17-3.18).

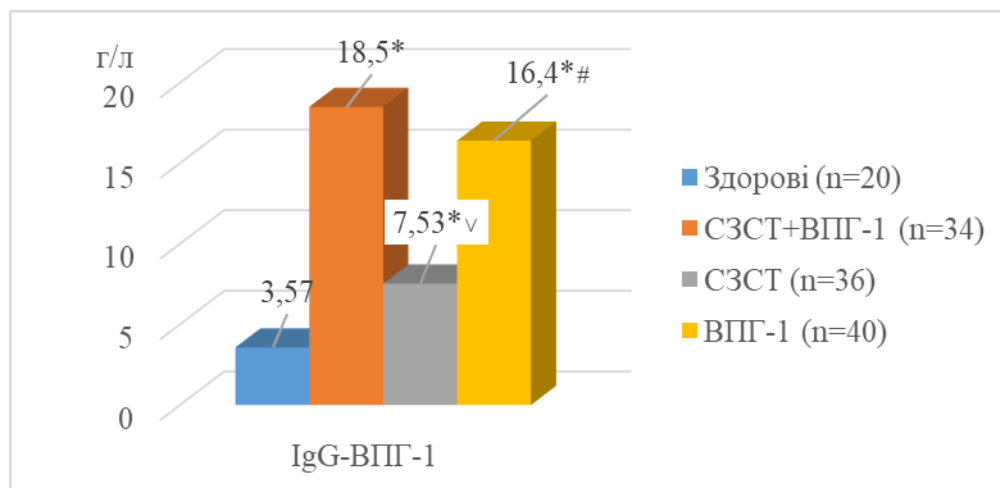


Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p < 0,01$); ^v - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+ВПГ-1 ($p < 0,01$); # - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ ($p < 0,01$);

Рис.3.17 Рівні IgM-ВПГ-1 у хворих із СЗСТ+ВПГ-1 та інших груп досліджуваних

Результати проведеного дослідження свідчать, що у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 продукція антитіл IgM-ВПГ-1 була виражено посиленою і становила

1,83±0,18 г/л, що відрізняло її від решти досліджуваних груп та було в 4,58 разів вище, ніж у хворих на СЗСТ (0,40±0,06 г/л; $p<0,05$), у 2,18 разів, ніж у хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію (0,84±0,09 г/л; $p<0,05$) та у 6,31 разів, ніж у здорових осіб (0,29±0,05 г/л, $p<0,05$). Пацієнти з реактивованою ВПГ-1-інфекцією продемонстрували активацію гуморальної ланки, що було відображено у збільшенні рівня IgM-ВПГ-1 (0,84±0,09 г/л) у порівнянні із здоровими особами (0,29±0,05 г/л; $p<0,05$) та хворими лише на СЗСТ (0,40±0,06 г/л; $p<0,05$).



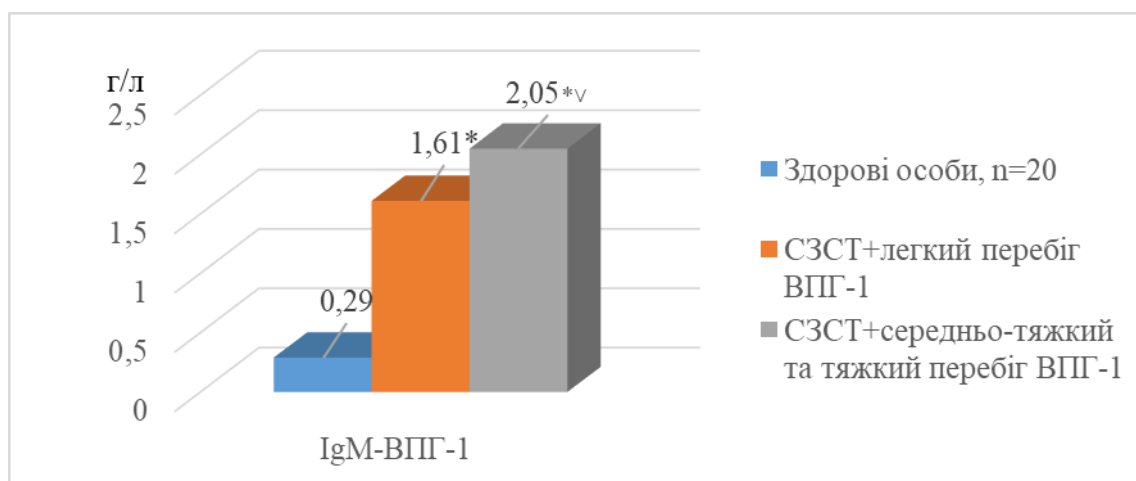
Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p<0,01$); v - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+ВПГ-1 ($p<0,01$); # - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ ($p<0,01$);

Рис.3.18 Рівні IgG-ВПГ-1 у хворих із СЗСТ+ВПГ-1 та інших груп досліджуваних

Як видно з рис.3.18 виражене посилення синтезу антитіл IgG-ВПГ-1 було відзначено у кожній із досліджуваних груп і становило: у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 - 18,5±3,25 г/л, у хворих лише на СЗСТ - 7,53±1,85 г/л та у хворих лише з реактивованою ВПГ-1-інфекцією - 16,4±2,59, що було вірогідно вище, ніж у здорових осіб - 3,57±0,75 г/л ($p<0,05$). У хворих на СЗСТ рівень IgG-ВПГ-1 був вірогідно нижчим, ніж у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 (18,5±3,25 г/л та 7,53±1,85 г/л, $p<0,05$) та хворих лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію (відповідно 7,53±1,85 г/л та 16,4±2,59, $p<0,05$).

Нами був проведений аналіз специфічного антитілогенезу у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 в залежності від ступеня тяжкості перебігу ВПГ-1-інфекції.

На рис.3.19 наведено порівняльну характеристику синтезу IgM-ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+легким перебігом ВПГ-1 та хворих на СЗСТ+середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції.

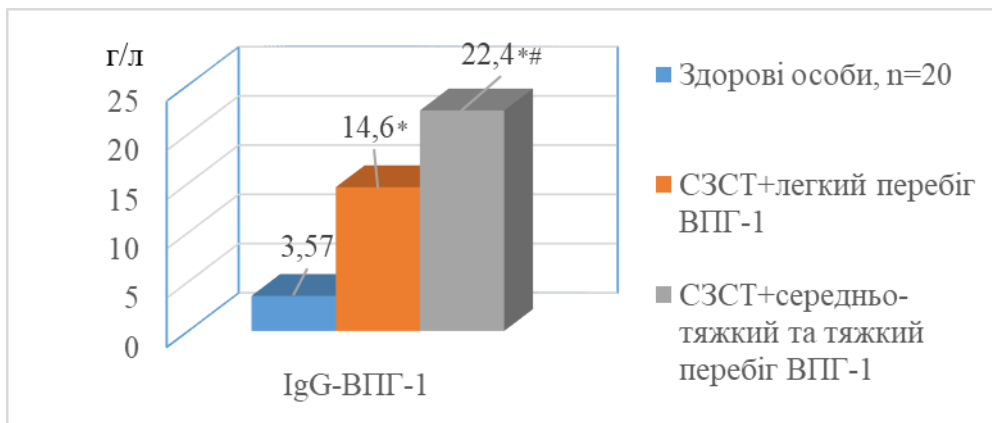


Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p < 0,01$); ∇ - вірогідна різниця порівняно з пацієнтами із СЗСТ+легким перебігом ВПГ-1 ($p < 0,01$);

Рис.3.19 Рівні ВПГ-IgM у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з різною частотою рецидивів

Аналізуючи дані рисунку 3.19 бачимо, що синтез IgM-ВПГ-1 був посиленим як у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1 інфекції ($1,61 \pm 0,12$ г/л), так і з середньо-тяжким+тяжким ($2,05 \pm 0,17$ г/л), що було вірогідно вищим, ніж у здорових осіб ($0,29 \pm 0,05$ г/л; $p < 0,05$). Слід відмітити, що рівень IgM-ВПГ-1 був у 1,27 разів вищим у пацієнтів із середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1 інфекції порівняно із хворими із легким перебігом.

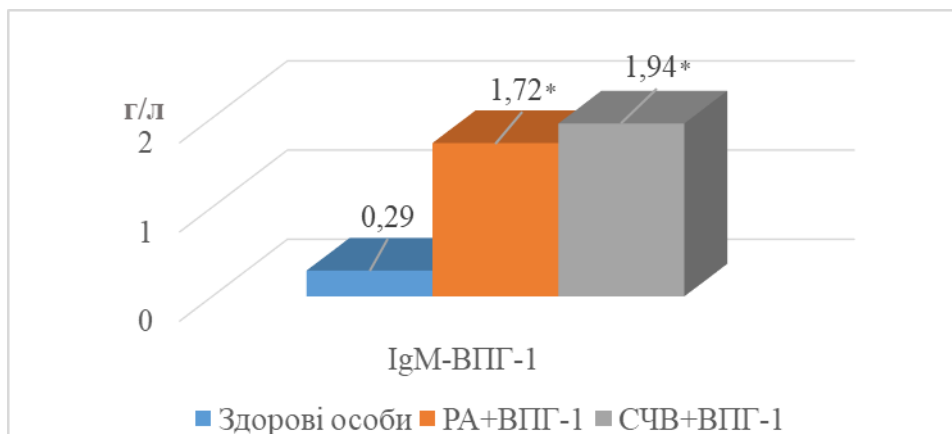
Беручи до уваги дані рис.3.20, у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1 інфекції рівень IgG-ВПГ-1 був у 4,09 разів вищим ніж у здорових осіб ($14,6 \pm 2,12$ та $3,57 \pm 0,75$ г/л, $p < 0,05$), а у пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції рівень специфічних IgG-ВПГ-1 був у 6,28 разів вищим ніж у здорових осіб ($22,4 \pm 3,15$ та $3,57 \pm 0,75$ г/л; $p < 0,05$). При цьому рівень IgG-ВПГ-1 був вірогідно вищим у пацієнтів із середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1 інфекції порівняно з хворими на СЗСТ та легким перебігом інфекції ($p < 0,05$).



Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»; # - статистична різниця з 1 підгрупою ВПГ 1 типу;

Рис.3.20 Рівні специфічних ІгГ у хворих з різними ступенями тяжкості активованої ВПГ 1 типу інфекції у порівнянні із практично здоровими особами

Особливості специфічного антитілогенезу ІгМ-ВПГ-1 та ІгГ-ВПГ-1 у групах пацієнтів із РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1 наведені на рис. 3.21-3.22.



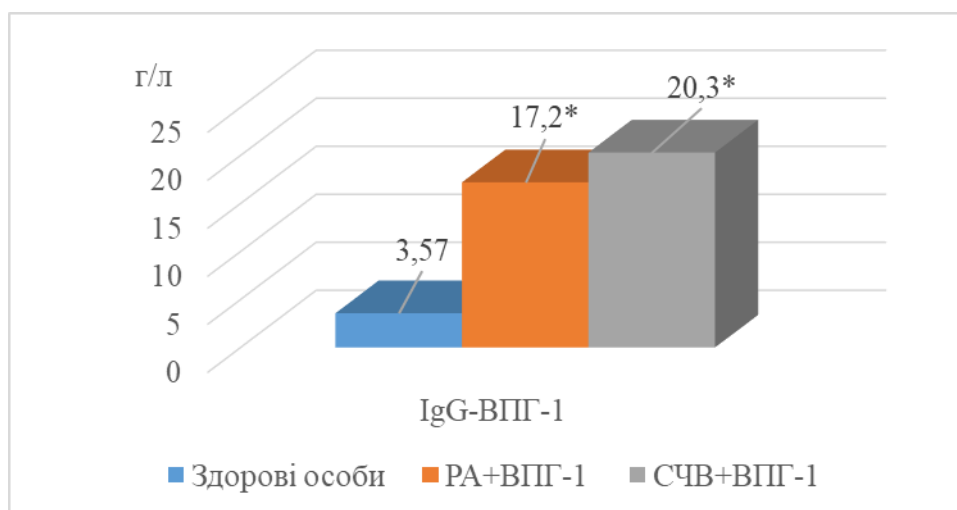
Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p < 0,01$);

Рис.3.21 Рівні специфічних ІгМ-ВПГ-1 у хворих на РА+ВПГ-1 та хворих на СЧВ+ВПГ-1

Як видно з рис. 3.21 рівень ІгМ-ВПГ-1 як у хворих на РА+ВПГ-1 ($1,72 \pm 0,16$ г/л), так і у хворих на СЧВ+ВПГ-1 ($1,94 \pm 0,20$ г/л) був вірогідно вищим, ніж у здорових осіб ($0,29 \pm 0,05$ г/л; $p < 0,05$) та не відрізнявся між собою.

Синтез специфічного ІгГ у пацієнтів із досліджуваними аутоімунними захворюваннями також вірогідно не відрізнявся між собою і при РА+ВПГ-1

складав $17,2 \pm 2,86$ г/л та при СЧВ+ВПП-1 - $20,3 \pm 3,11$ г/л, проте був вищим ніж у здорових осіб ($3,57 \pm 0,75$; $p < 0,05$).



Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»;

Рис.3.22 Рівні специфічних IgG -ВПП-1 у хворих на РА+ВПП-1 та хворих на СЧВ+ВПП-1

Таким чином, ДНК ВПП-1 у хворих на СЗСТ+ВПП-1 та у хворих на реактивовану ВПП-1-інфекцію частіше виявляли в зішкрябах з місць уражень чи слизових- у 64,7% та 72,2% відповідно.

У хворих на СЧВ+ВПП-1 порівняно з хворими на РА+ВПП-1 частіше ДНК ВПП-1 виявляли у крові (в 3,38 разів), у зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 1,35 разів) та в слині (в 1,32 рази).

Активація специфічної гуморальної ланки імунної системи спостерігалася у всіх групах досліджуваних хворих, на що вказував посилений синтез специфічних IgM та IgG, більш активний у групі хворих із СЗСТ+ВПП-1. Так, у хворих на СЗСТ+ВПП-1 рівень IgM-ВПП-1 становив $1,83 \pm 0,18$ г/л, що було в 4,58 разів вище, ніж у хворих на СЗСТ ($0,40 \pm 0,06$ г/л; $p < 0,05$). Синтез специфічного IgG-ВПП-1 також виявився у 2,46 разів вищим у хворих на СЗСТ+ВПП-1 ($18,5 \pm 3,25$ г/л) порівняно з хворими на СЗСТ ($7,53 \pm 1,85$ г/л; $p < 0,05$) та не відрізнявся від аналогічного показника в хворих на реактивовану ВПП-1-інфекцію ($16,4 \pm 2,59$ г/л; $p > 0,05$).

3.3 Фенотипічна характеристика лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу

Відомо, що фактори клітинної ланки імунітету сприяють лізису інфікованих клітин та подальшому вивільненню внутрішньоклітинних часток ВПГ-1-інфекції для подальшої нейтралізації їх антитілами. Тому порушення у роботі клітинного імунітету, може бути причиною часторецидивуючої герпесвірусної інфекції з розвитком атипових форм. Метою цього підрозділу роботи була оцінка стану лімфоцитарної ланки шляхом проведення фенотипування лімфоцитів та визначення активності активізаційних маркерів у хворих СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції порівняно з іншими групами досліджуваних.

Порівняльна характеристика розподілу популяцій, субпопуляцій лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у хворих СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією порівняно з хворими лише на СЗСТ, хворими лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію та практично здоровими особами наведена у Таблиці 3.3.

Як зазначено у таблиці 3.3, збільшення кількості Т-лімфоцитів порівняно з здоровими особами ($68,3 \pm 1,56\%$) було відзначено у всіх досліджуваних групах: у пацієнтів із СЗСТ рівень Т –лімфоцитів становив $71,2 \pm 4,25\%$, при реактивованій ВПГ-1-інфекції - $72,8 \pm 1,61\%$ ($p < 0,05$) та у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією - $73,5 \pm 2,07$ ($p < 0,05$). Кількість цитотоксичних Т-лімфоцитів складала $28,4 \pm 1,02\%$ у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією та $29,9 \pm 1,78\%$ у пацієнтів з реактивованою ВПГ-1-інфекцією, що було вище в порівнянні із здоровими особами у цих двох групах досліджуваних. При СЗСТ відзначалася тенденція до зростання кількісного складу Т-лімфоцитів - $71,2 \pm 3,25\%$ порівняно із здоровими особами, проте без ознак вірогідності.

Субпопуляція Т-хелперів характеризувалась збільшенням їх кількості в усіх групах пацієнтів, проте в порівнянні із практично здоровими особами ($42,5 \pm 0,81\%$) ця різниця була вірогідно лише у групі осіб із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією ($45,1 \pm 1,01\%$; $p < 0,05$), на відміну від пацієнтів із лише СЗСТ – ($44,4 \pm 1,98\%$; $p > 0,05$) та пацієнтів із ВПГ-1-інфекцією ($42,9 \pm 1,48\%$; $p > 0,05$).

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів лімфоцитів
у хворих досліджуваних груп**

Показники	Здорові особи, n=20	СЗСТ+ВПГ-1, n=34	СЗСТ, n=40	ВПГ-1, n=36
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	68,3±1,56	73,5±2,07*	71,2 ±3,25	72,8±1,61*
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	42,5±0,81	45,1±1,01*	44,4±1,98	42,9±1,48
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	25,8±0,8	28,4±1,02*	26,8±1,05	29,9±1,78*
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	9,67±0,98	12,7±1,02*	10,1±0,79	14,8±2,11* ^
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	12,3±1,03	15,2±1,01*	16,2±1,10*	12,1±1,18# ^
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	2,16±0,43	4,96±0,53*	3,51±0,51	2,95±0,65
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	14,3±1,36	9,69±0,09*	13,6±1,26 #	11,8±1,51*
CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	15,3±1,22	10,1±1,78*	14,6±1,38#	10,7±0,92* ^
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	9,32±1,63	15,7±1,72*	11,4±1,21 #	13,6±1,34* ^
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	7,63±0,71	10,2±0,84*	9,89±0,87*	8,56±1,02
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	25,2±1,50	30,6±2,71*	28,3±1,53*	27,6±1,96#
CD3 ⁺ HLA ⁺ DR lymphocytes	8,58±0,71	13,9±0,53*	9,4±2,83#	11,3±1,16*
CD3 HLA ⁺ DR lymphocytes	20,3±1,05	22,5±0,92	21,2±0,93	19,6±0,91

Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими (p<0,05); # - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+ВПГ-1 (p<0,05); ^ - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ (p<0,05);

Кількість натуральних кілерних клітин була вищою в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією ($12,7 \pm 1,02\%$) та пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією ($14,8 \pm 2,11\%$) порівняно із здоровими особами ($9,67 \pm 0,98\%$, $p < 0,05$) та незначно підвищеною у групі пацієнтів із СЗСТ ($10,1 \pm 0,79\%$), порівняно з здоровими особами ($9,67 \pm 0,98\%$). У пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією кількість натуральних кіллерних клітин була вищою, ніж у пацієнтів лише із СЗСТ ($p < 0,05$) та не відрізнялася від хворих лише із реактивованою ВПГ-1-інфекцією.

Число В-лімфоцитів порівняно із здоровими особами ($12,3 \pm 1,03\%$) було вірогідно підвищеним у групі пацієнтів із СЗСТ - $16,2 \pm 1,10\%$ ($p < 0,05$) та у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією - $15,2 \pm 1,01\%$ ($p < 0,05$). Варто відзначити, що у пацієнтів із ВПГ-1-інфекцією кількість В-лімфоцитів практично не відрізнялася від здорових осіб - $12,1 \pm 1,18\%$ та $12,3 \pm 1,03\%$ відповідно, проте була вірогідно нижчою ніж у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-інфекцією та пацієнтів лише із СЗСТ ($p < 0,05$).

Кількість клітин $CD45^+CD56^+CD69^+$ з експресованими ранніми активізаційними антигенами була вищою в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($4,96 \pm 0,53\%$) порівняно з хворими лише на СЗСТ ($3,51 \pm 0,51\%$; $p < 0,05$) та порівняно з хворими лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію ($2,95 \pm 0,65\%$; $p < 0,05$).

Результати наших досліджень показали, що відносна кількість Т-лімфоцитів з фенотипом $CD8^+CD28^+$ виявилась нижчою порівняно з здоровими особами ($15,3 \pm 1,22\%$) у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($10,1 \pm 1,78\%$, $p > 0,05$) та у хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію ($10,7 \pm 0,92\%$ $p < 0,05$). Відносне число $CD8^+CD28^-$ Т-лімфоцитів було в 1,46 рази вищим у пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією ($13,6 \pm 1,34\%$; $p < 0,05$) та у 1,68 рази вищим у хворих на СЗСТ на тлі ВПГ 1 типу ($15,7 \pm 1,72\%$; $p < 0,05$) порівняно із здоровими особами ($9,32 \pm 1,63\%$). У пацієнтів лише із СЗСТ відносна кількість $CD8^+CD28^-$ лімфоцитів була нижчою, ніж у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією - $11,4 \pm 1,21\%$ та $15,7 \pm 1,72\%$ відповідно ($p < 0,05$) та була відмічена тенденція до зниження порівняно з пацієнтами лише з реактивованою ВПГ-1-інфекцією ($13,6 \pm 1,34\%$; $p > 0,05$).

Кількість лімфоцитів CD3⁺HLA⁺DR виявилася вищою у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 (13,9±0,53%), що було більшим в 1,51 рази порівняно із хворими на СЗСТ (9,4±2,83%) та в 1,23 рази більшим, ніж у хворих на ВПГ-1 (11,3±1,16%; p<0,05).

Проведено аналіз популяційного та субпопуляційного складу лімфоцитів з активізаційними маркерами у хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію в залежності від числа рецидивів на рік ВПГ-1-інфекції (таблиця 3.4).

Таблиця 3.4

Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію в залежності від тяжкості перебігу ВПГ-1-інфекції

Показники	Здорові (n=20)	СЗСТ+легкий перебіг ВПГ- 1-інфекції (n=16)	СЗСТ+середньо- тяжкий та тяжкий перебіг ВПГ-1- інфекції (n=18)
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	68,3±1,56	71,6±2,48	75,4±3,11*
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	42,5±0,81	45,5±1,95	44,7 ±2,02
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	25,8±0,8	26,1±1,07	30,7±1,4*○
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	9,67±0,98	14,1±1,27*	11,3±0,48*○
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	12,3±1,03	15,9±1,42*	14,5±1,28
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	2,16±0,43	4,80±1,25*	5,12±0,76*
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	14,3±1,36	9,99±0,79*	9,39±1,18*
CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	15,3±1,22	10,3±1,48*	9,8±1,41*
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	9,32±1,63	15,2±1,83*	16,2±1,37*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	7,63±0,71	10,6±1,1*	9,80±0,61
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	25,2±1,50	30,8 ±2,12*	30,3±2,01*
CD3 ⁺ HLA ⁺ DR lymphocytes	8,58±0,7	13,1±0,96*	14,7±0,68*
CD3 ⁻ HLA ⁺ DR lymphocytes	20,3±1,05	22,1±1,11	22,9±1,64

Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими (p<0,05); ○ - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+легкий ВПГ-1-інфекції (p<0,05);

Як бачимо в таблиці 3.4, у пацієнтів із СЗСТ+середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції рівень Т-лімфоцитів був підвищеним і складав $75,4 \pm 3,11\%$, що відрізнялося від здорових осіб ($68,3 \pm 1,56\%$, $p < 0,05$). Щодо пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції, то зростання кількості Т-лімфоцитів до $71,6 \pm 2,48\%$ не володіло ознаками вірогідності по відношенню до здорових осіб та пацієнтів порівнюваної групи СЗСТ+ВПГ-1.

У пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебіг ВПГ-1-інфекції спостерігалось виражене підвищення Т-цитотоксичних лімфоцитів $30,7 \pm 1,4\%$, що було вищим від здорових осіб ($25,8 \pm 0,8\%$, $p < 0,05$) та від порівнюваної групи хворих ($26,1 \pm 1,07\%$, $p < 0,05$). Зміни кількісного складу хелперної субпопуляції Т-лімфоцитів не були відзначеними як у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом, так із середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції. Кількість натуральних кілерів у хворих на СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції становила $14,1 \pm 1,27\%$ ($p < 0,05$), що було вище порівняно із здоровими особами, а з групою хворих із середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції мали тенденцію до збільшення - $11,3 \pm 0,48\%$ ($p > 0,05$). Більш вираженим зростання В-лімфоцитів було у пацієнтів з легким перебіг ВПГ-1-інфекції і складало $15,9 \pm 1,42\%$, що було вище, ніж у здорових осіб ($12,3 \pm 1,03\%$; $p < 0,05$), у порівнянні із хворими із середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції ($14,5 \pm 1,28\%$) різниця не була вірогідною ($p > 0,05$).

Як видно з поданих даних Таблиці 3.4 відносна кількість Т-лімфоцитів з фенотипом $CD8^+CD28^+$ характеризувалася зменшенням у пацієнтів обох порівнюваних груп порівняно із здоровими особами ($15,3 \pm 1,22\%$, $p < 0,05$). Ми відзначали надмірну активацію кілерних клітин із фенотипом $CD45^+56^+69^+$ у пацієнтів із СЗСТ на тлі герпесвірусної інфекції, незважаючи на ступінь тяжкості її перебігу.

Окремо було проаналізовано особливості розподілу популяцій, субпопуляцій лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у хворих на РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1 (табл.3.5).

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на РА+ВІГ-1 та СЧВ+ВІГ-1**

Показники	Здорові особи (n=20)	РА+ВІГ 1 типу (n=18)	СЧВ+ВІГ 1 типу (n=16)
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	68,3±1,56	70,7±2,21	76,2±3,23*
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	42,5±0,81	46,8±1,06*	43,4±1,42
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	25,8±0,80	23,9±1,09	32,8±1,06*#
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	9,67±0,98	12,6±1,05*	12,8±1,15*
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	12,3±1,03	13,6±1,34	16,8±1,45*
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	2,16±0,43	4,68±0,54*	5,24±0,79*
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	14,3±1,36	9,86±1,24	9,52±1,13*
CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	15,3±1,22	12,1±1,01*	8,12±1,06*#
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	9,32±1,63	13,1±0,92*	18,2±1,58*#
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	7,63±0,71	10,6±1,24*	9,80±0,75*
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	25,2±1,50	28,1±1,35	33,1±1,45*#
CD3 ⁺ HLA ⁺ DR lymphocytes	8,58±0,7	12,9±0,87*	14,9±1,18*
CD3 ⁻ HLA ⁺ DR lymphocytes	20,3±1,05	22,3±1,23	22,7±1,14

Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими (p<0,05); # - вірогідна різниця порівняно з групою РА+ВІГ-1 (p<0,05);

Як видно з поданих даних таблиці 3.5, кількість Т-лімфоцитів ($CD3^+CD45^+$) виявилася підвищеною у обох групах - РА+ВПГ-1 ($70,7 \pm 2,21\%$) та СЧВ+ВПГ 1 типу ($76,2 \pm 3,23\%$), проте порівнюючи зі здоровими особами ($68,3 \pm 1,56\%$), це підвищення було вірогідним лише у пацієнтів із СЧВ+ВПГ 1 типу ($p < 0,05$). У групі пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 відносне число $CD3^+CD4^+$ -лімфоцитів ($43,4 \pm 1,42\%$) вірогідно не відрізнялось від здорових осіб, а $CD3^+CD8^+$ -лімфоцитів ($32,8 \pm 1,06\%$) виявилось вищим не тільки, ніж у здорових осіб ($25,8 \pm 0,80$, $p < 0,05$), але й у групі хворих на РА+ВПГ-1 ($23,9 \pm 1,09\%$ відповідно, $p < 0,05$). У хворих на РА+ВПГ-1 рівень $CD3^+CD4^+$ -лімфоцитів складав $46,8 \pm 1,06\%$ і був вищим, ніж у здорових осіб ($42,5 \pm 0,81\%$; $p < 0,05$) та не відрізнявся від хворих на СЧВ+ВПГ-1 ($43,4 \pm 1,42\%$; $p > 0,05$). Рівень $CD16^+56^+$ -лімфоцитів був вірогідно вищим і у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 ($12,8 \pm 1,15\%$), і у групі пацієнтів із РА+ВПГ 1 типу ($12,6 \pm 1,05\%$), ніж у здорових осіб ($9,67 \pm 0,98\%$, $p < 0,05$). Відносне число $CD19^+CD45^+$ -лімфоцитів у пацієнтів із РА+ВПГ-1-інфекції характеризувалося тенденцією до їх зростання ($13,6 \pm 1,34\%$), на відміну від пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1, у яких число $CD19^+CD45^+$ виявилось вірогідно більшим, ніж у здорових осіб ($16,8 \pm 1,45\%$, $p < 0,05$).

Число клітин із фенотипом $CD8^+28^+$ було нижчим у пацієнтів із РА та СЧВ на тлі ВПГ-1-інфекції порівняно зі здоровими особами ($15,3 \pm 1,22\%$; $p < 0,05$), причому у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1-інфекцією рівень $CD8^+28^+$ лімфоцитів був нижчим, ніж у пацієнтів із РА на тлі ВПГ-1-інфекції - $8,12 \pm 1,06\%$ та $12,1 \pm 1,01\%$ відповідно ($p < 0,05$). Щодо відносної кількості лімфоцитів із фенотипом $CD45^+56^+69^+$, то у пацієнтів із РА+ВПГ-1 їх кількість становила $4,68 \pm 0,54\%$, а у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 - $5,24 \pm 0,79\%$, що свідчило про вірогідне зростання кількості даного пулу клітин, порівнюючи із здоровими особами- $2,16 \pm 0,43$ ($p < 0,05$).

Порівняно із здоровими особами ($7,63 \pm 0,71\%$) відносне число регуляторних лімфоцитів ($CD4^+CD25^+$) було вищим у обох групах досліджуваних- СЧВ+ВПГ-1 значення становило $10,6 \pm 1,21\%$ та РА+ВПГ-1 - $11,8 \pm 1,43\%$ ($p < 0,05$).

Рівень лімфоцитів в стадії пізньої активації ($CD3^+HLA^+DR$) був вищим в 1,5 рази у хворих на РА+ВПГ-1 порівняно із здоровими особами і становив $12,9 \pm 0,87\%$ проти $8,58 \pm 0,71\%$ відповідно ($p < 0,05$). У пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 рівень $CD3^+HLA^+DR$ - лімфоцитів був в 1,74 рази вищим ніж у здорових осіб ($14,9 \pm 1,18\%$ та $8,58 \pm 0,71\%$ відповідно, $p < 0,05$).

Таким чином, порівняно із здоровими особами в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 спостерігалось збільшення кількості Т-лімфоцитів, в тому числі Т-хелперів та Т-цитотоксичних лімфоцитів, а також кілерної популяції та В-лімфоцитів. Підвищення рівня В-лімфоцитів у хворих на СЗСТ ймовірно, було пов'язано із формуванням аутоімунних реакцій за гуморальним типом з активним синтезом аутоантитіл, а у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 додатковим фактором стимуляції антитілогенезу виступав вірус простого герпесу 1 типу. Рівень $CD45^+56^+69^+$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 був вищим ніж у всіх порівнюваних групах. Особливо висока експресія $CD69^+$ антигенів на лімфоцитах відображала більш тяжкий перебіг основного захворювання з додатковим негативним впливом ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1. Незалежно від ступеня тяжкості перебігу герпесвірусної інфекції в пацієнтів із СЗСТ на тлі ВПГ-1-інфекції та пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією було відзначено нижчий рівень $CD8^+28^+$ -лімфоцитів та вищий - $CD8^+28^-$ лімфоцитів, що свідчило про пригнічення костимулюючих сигналів, необхідних для активації Т-хелперів з наступним формуванням адекватної імунної відповіді. Рівень регуляторних супресивних лімфоцитів ($CD4^+CD25^+$) був вищим у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1, ніж у здорових осіб та пацієнтів із ознаками реактивованої ВПГ-1-інфекції, що могло бути компенсаторним фактором імунної відповіді на загострення вірусологічної реплікативної активності, яка несе загрозу посилення аутоагресії. Щодо лімфоцитів $CD3^+HLA^+DR$, то було виявлено підвищення їх рівня у хворих на СЗСТ+ВПГ-1, порівняно із хворими на СЗСТ та з хворими на ВПГ-1, що свідчило про підвищену активацію Т-лімфоцитів (особливо у хворих на СЗСТ+ВПГ-1), що сприяло посиленню аутоагресії з залученням клітинної ланки імунної системи.

Щодо пацієнтів із окремими аутоіммунними захворюваннями в поєднанні із активованою ВПГ-1-інфекцією, то вираженіші зміни клінічної ланки були виявлені у групі хворих із СЧВ+ВПГ-1 типу за рахунок вірогідного підвищення рівня Т-лімфоцитів, в тому числі Т-цитотоксичних лімфоцитів. Те саме стосувалося і гуморальної ланки, активація якої у вищезгаданій групі була вираженішою, ніж у пацієнтів із РА+ВПГ 1 типу. Кількість лімфоцитів в стадії пізньої активації ($CD3^{+}HLA^{+}DR$) була вірогідно вищою у групах хворих на РА+ВПГ-1 та хворих на СЧВ+ВПГ-1 порівняно з здоровими особами.

3.4 Особливості синтезу цитокінів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу

Ключевим факторам природженого протівірусного захисту являється система інтерферонів: $IFN-\gamma$, який володіє здатністю впливати на роботу специфічного і неспецифічного клітинного імунітету та $IFN-\alpha$, який володіє як прямими протівірусними, так і імуномодулюючими властивостями. Тому метою даного підрозділу було проаналізувати особливості інтерферогенезу у хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію та порівняти із групами хворих лише на СЗСТ, хворими лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію та практично здоровими особами.

Найперше розглянемо особливості інтерферогенезу $IFN-\alpha$ на системному і місцевому рівнях у хворих із СЗСТ+ВПГ-1 та порівняємо з іншими групами досліджуваних (табл.3.6).

Як бачимо з таблиці 3.6, у групі хворих на СЗСТ-ВПГ-1 було відзначено, що синтез $IFN-\alpha$ в слині був активнішим у порівнянні із групою здорових осіб - $16,2 \pm 1,61$ пг/мл проти $12,1 \pm 1,19$ пг/мл ($p < 0,05$), але менш активним, ніж у групі хворих з ВПГ-1-інфекцією $23,6 \pm 2,34$ пг/мл ($p < 0,05$). Синтез $IFN-\alpha$ в слині був посиленим у групі хворих на ВПГ-1-інфекцію порівняно з здоровими особами та дорівнював $23,6 \pm 2,34$ пг/мл і $12,1 \pm 1,19$ пг/мл відповідно ($p < 0,05$).

Особливості синтезу IFN- α на системному та місцевому рівнях у групах досліджуваних хворих

Групи \ Показник	IFN- α в слині (пг/мл)	IFN- α в сироватці (пг/мл)
Здорові особи (n=20)	12,1 \pm 1,19	3,02 \pm 0,61
СЗСТ+ВПП-1 (n=34)	16,2 \pm 1,61 *	5,02 \pm 0,59*
СЗСТ (n=40)	11,8 \pm 1,48#	3,67 \pm 0,73
ВПП-1 (n=36)	23,6 \pm 2,34*# ^	4,83 \pm 0,65*

Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p < 0,05$); # - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+ВПП-1 ($p < 0,05$); ^ - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ ($p < 0,05$);

Рівень IFN- α в слині у пацієнтів із СЗСТ вірогідно не відрізнявся від такого порівняно із здоровими особами (11,8 \pm 1,48 пг/мл та 12,1 \pm 1,19 пг/мл, $p > 0,05$) та був нижчим ніж у пацієнтів із ВПП-1-інфекцією (23,6 \pm 2,34 пг/мл, $p < 0,05$).

Щодо оцінки інтерфероногенезу IFN- α на системному рівні (табл.3.6), порівняно зі здоровими особами (3,02 \pm 0,61 пг/мл) рівень IFN- α у хворих на ВПП-1-інфекцію був посиленим і становив 4,83 \pm 0,65 пг/мл ($p < 0,05$), у хворих на СЗСТ - 3,67 \pm 0,73 пг/мл ($p > 0,05$), у разі поєднання СЗСТ+ВПП-1 - 5,02 \pm 0,59 пг/мл ($p < 0,05$). Варто буде зазначити, що максимально виражений синтез IFN- α був відмічений в групі хворих на СЗСТ+ВПП-1-інфекцією і його рівень мав тенденцію до підвищення порівняно з хворими на СЗСТ - 5,02 \pm 0,59 пг/мл проти 3,67 \pm 0,73 пг/мл.

Проведено порівняльну характеристику синтезу IFN- α в слині та крові у хворих на СЗСТ+ВПП-1 залежно від ступеня тяжкості перебігу ВПП-1-інфекції (табл.3.7).

Беручи до уваги дані табл.3.7 бачимо, що у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПП-1-інфекції синтез IFN- α в слині був посиленим незначно - 13,8 \pm 1,12 пг/мл і вірогідно не відрізнявся від здорових осіб - 12,1 \pm 1,19 пг/мл ($p > 0,05$).

Особливості синтезу IFN- α на системному та місцевому рівнях у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 залежно від тяжкості перебігу ВПГ-1-інфекції

Групи \ Показник	IFN- α в слині (пг/мл)	IFN- α в сироватці (пг/мл)
Здорові особи (n=20)	12,1 \pm 1,19	3,02 \pm 0,61
СЗСТ+легкий перебіг ВПГ-1-інфекції (n=16)	13,8 \pm 1,12	4,70 \pm 0,55 *
СЗСТ+середньо-тяжкий та тяжкий перебіг ВПГ-1-інфекції (n=18)	18,7 \pm 1,87 * \wedge	5,25 \pm 0,91 *

Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p < 0,05$); \wedge -- вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+легкий перебіг ВПГ-1-інфекції

У пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції продукція IFN- α в слині зростала вираженіше і становила 18,7 \pm 1,87 пг/мл, що відрізнялося як від здорових осіб, так і від пацієнтів із легким перебігом ($p < 0,05$).

Щодо синтезу IFN- α на системному рівні, то синтез даного інтерферону у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції був вищим ніж у здорових осіб (4,70 \pm 0,55 та 3,02 \pm 0,61 відповідно, $p < 0,05$), проте нижчим ніж у осіб із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції (5,25 \pm 0,91 пг/мл), хоча і без ознак вірогідності.

Окремо було проаналізовано особливості продукції IFN- α на місцевому та системному рівнях у хворих із РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1 (табл.3.8).

Як видно із даних таблиці 3.8 максимально вираженим синтез IFN- α на місцевому рівні був у хворих із СЧВ+ВПГ-1 - 16,6 \pm 1,59 пг/мл, що було вище, ніж у здорових осіб - 12,1 \pm 1,19 пг/мл ($p < 0,05$), проте не відрізнялося від пацієнтів із РА+ВПГ-1 (15,8 \pm 1,36 пг/мл). У пацієнтів із РА+ВПГ-1 синтез IFN- α у слині також був виражено активнішим, порівняно зі здоровими особами (15,8 \pm 1,36 проти 12,1 \pm 1,19 пг/мл відповідно; $p < 0,05$).

Особливості синтезу IFN- α на системному та місцевому рівнях у хворих на РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1

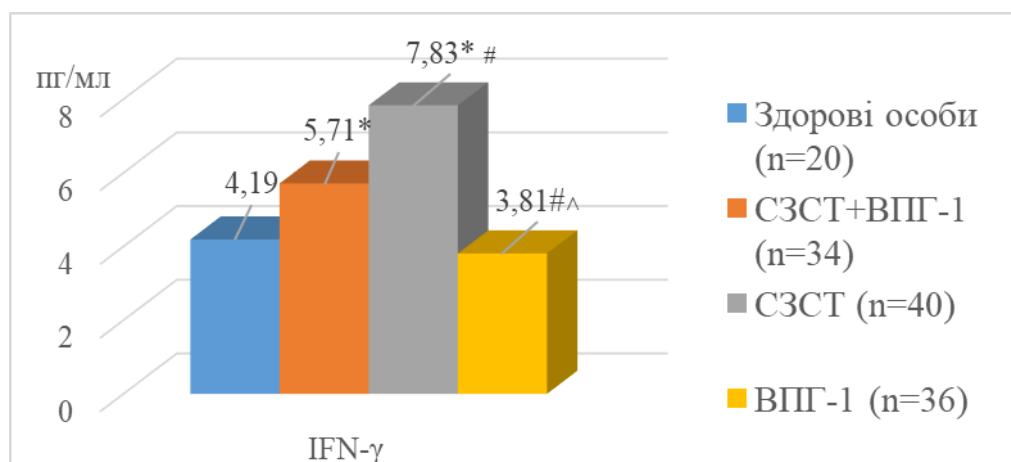
Групи \ Показник	IFN- α в слині (пг/мл)	IFN- α в сироватці (пг/мл)
Здорові особи (n=20)	12,1 \pm 1,19	3,02 \pm 0,61
РА+ВПГ-1 (n=18)	15,8 \pm 1,36*	5,08 \pm 0,8*
СЧВ+ВПГ-1 (n=16)	16,6 \pm 1,59*	4,96 \pm 0,71*

Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p<0,05$);

Синтез IFN- α у крові у хворих з системними захворюваннями сполучної тканини також був підвищений. Рівень IFN- α становив 5,08 \pm 0,8 пг/мл у пацієнтів із РА+ВПГ-1 та 4,96 \pm 0,71 пг/мл у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1, що було вищим, ніж у здорових осіб - 3,02 \pm 0,61 пг/мл ($p<0,05$).

Нами був проведений порівняльний аналіз рівня IFN- γ в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з групами хворих лише на СЗСТ, хворими лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію та практично здоровими особами (рис.3.23).

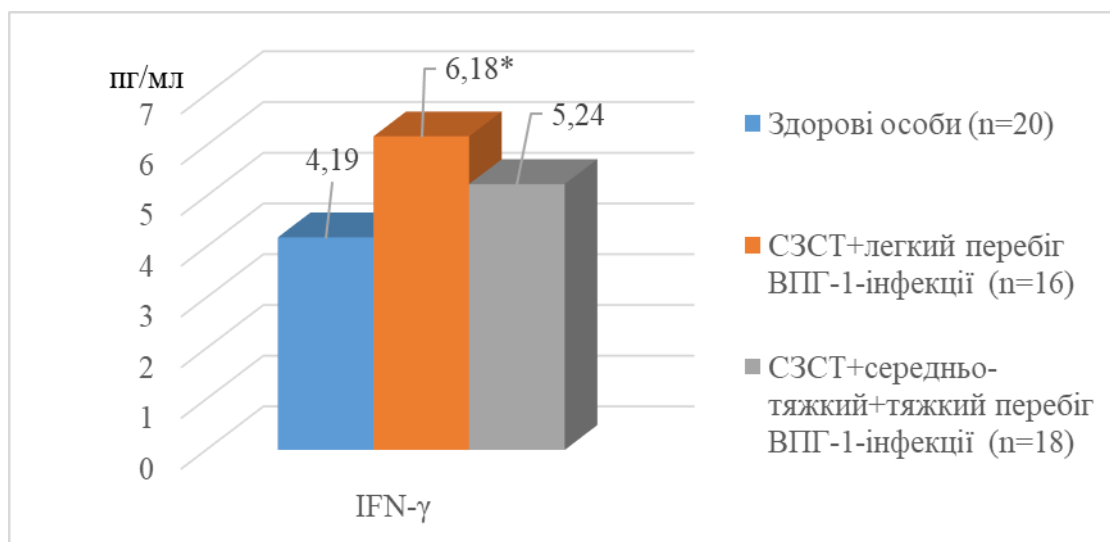
Як свідчать дані рисунку 3.23, рівень IFN- γ в сироватці крові хворих на СЗСТ+ВПГ-1 виявився вищим (5,71 \pm 0,56 пг/мл), ніж у здорових осіб (4,19 \pm 0,51 пг/мл; $p<0,05$) та в хворих на ВПГ-1 (3,81 \pm 0,62 пг/мл; $p<0,05$) і нижчим, ніж у хворих на СЗСТ (7,83 \pm 0,89 пг/мл; $p<0,05$).



Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p<0,05$); # - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+ВПГ-1 ($p<0,05$); ^ - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ ($p<0,05$);

Рис.3.23 Рівень IFN- γ в хворих на СЗСТ+ВПП-1 порівняно з іншими групами досліджуваних

На рис. 3.24 наведено особливості синтезу IFN- γ у хворих з СЗСТ+ВПП-1 залежно від ступеня тяжкості перебігу інфекції в порівнянні з здоровими особами.

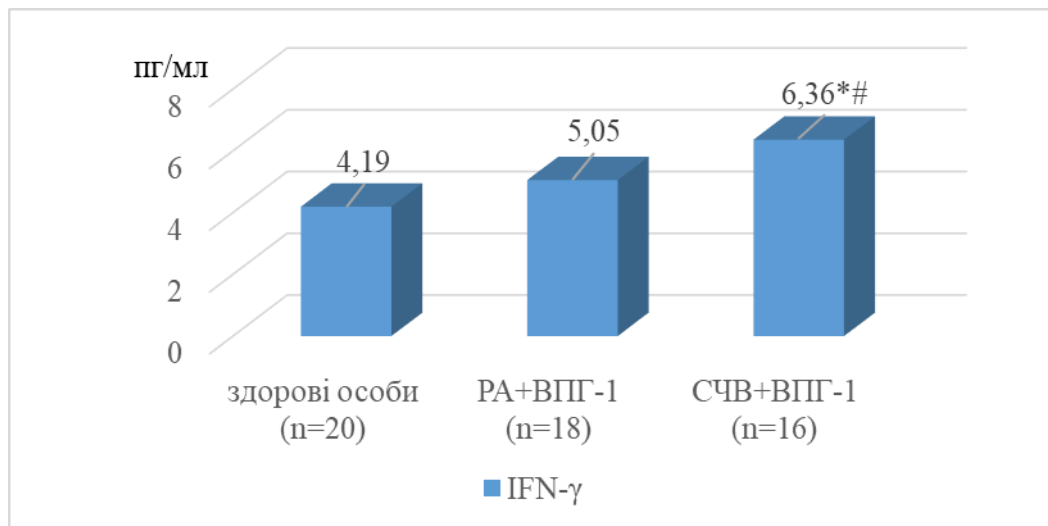


Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»;

Рис.3.24 Рівень IFN- γ в хворих з СЗСТ+ВПП-1 інфекцією залежно від ступеня тяжкості перебігу ВПП-1-інфекції

Як бачимо на рис.3.24 рівень IFN- γ був вищим у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПП-1-інфекції ($6,18 \pm 0,63$ пг/мл), порівняно з здоровими особами ($4,19 \pm 0,51$ пг/мл; $p < 0,05$). У пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПП-1 рівень IFN- γ становив $5,24 \pm 0,55$ пг/мл та вірогідно не відрізнявся від здорових осіб та від пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПП-1.

За рахунок свого впливу на диференціювання Т- та В-лімфоцитів, IFN- γ посилює синтез основних прозапальних цитокінів - TNF- α , IL-4 та ін., а також стимулює синтез антитіл В-лімфоцитами, у зв'язку з чим IFN- γ здатен посилювати аутоімунні реакції. Розглянемо особливості синтезу IFN- γ у пацієнтів із різними захворюваннями сполучної тканини порівняно із здоровими особами (рис.3.25).



Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»; #- статистична різниця з групою РА+ВПГ 1 типу

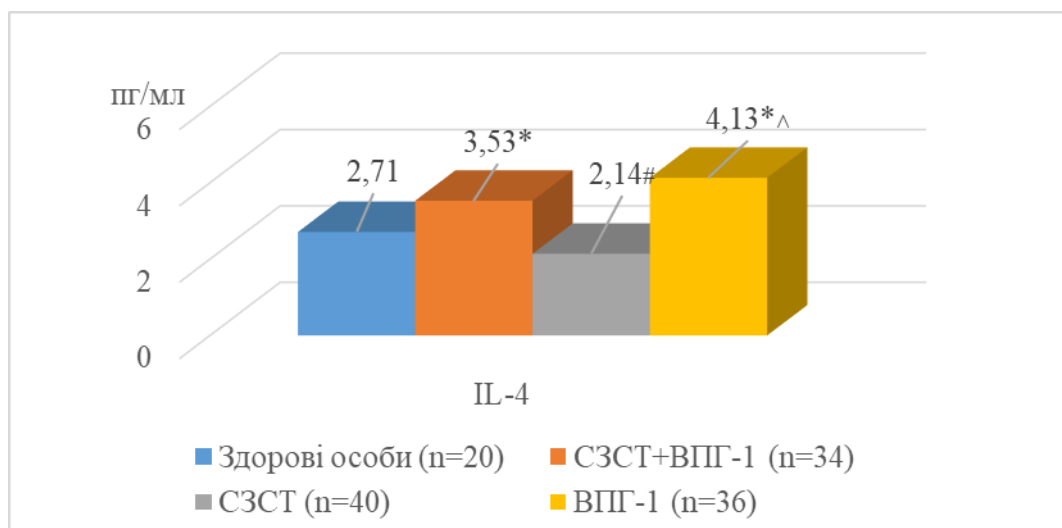
Рис.3.25 Рівень IFN-γ у хворих на РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1

Як бачимо на рис.3.25 у хворих на РА+ВПГ-1 рівень IFN-γ становив $5,05 \pm 0,49$ пг/мл і не відрізнявся від здорових осіб $4,19 \pm 0,51$ пг/мл ($p > 0,05$). Натомість у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 рівень IFN-γ складав $6,36 \pm 0,41$ пг/мл, що було вищим ніж у здорових осіб - $4,19 \pm 0,51$ пг/мл ($p < 0,05$), а також від хворих на РА+ВПГ-1 - $5,05 \pm 0,49$ пг/мл ($p < 0,05$).

Баланс прозапальних та протизапальних цитокінів є важливим моментом у підтриманні гомеостазу імунної системи, дисбаланс у роботі якої може призвести до розвитку як аутоімунної патології, так і відіграти вирішальну роль у перебігу хронічних персистуючих інфекцій, в тому числі інфекції викликані вірусом простого герпесу 1 типу. Мета даного підрозділу – оцінити особливості синтезу IL-10 та IL-4 цитокінів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію порівняно із групами хворих лише на СЗСТ, хворими лише на реактивовану ВПГ-1-інфекцію та практично здоровими особами.

В патогенезі розвитку аутоімунних захворювань та формуванні противірусного захисту одну із ключових ролей займає IL-4, який регулює функціонування імунної системи на декількох рівнях. Розглянемо особливості коливань рівня цього інтерлейкіну за умов активованої ВПГ-1-інфекції в пацієнтів

із СЗСТ, у хворих лише на СЗСТ, хворих лише з реактивованою ВПГ-1-інфекцією та практично здорових осіб (рис.3.26).

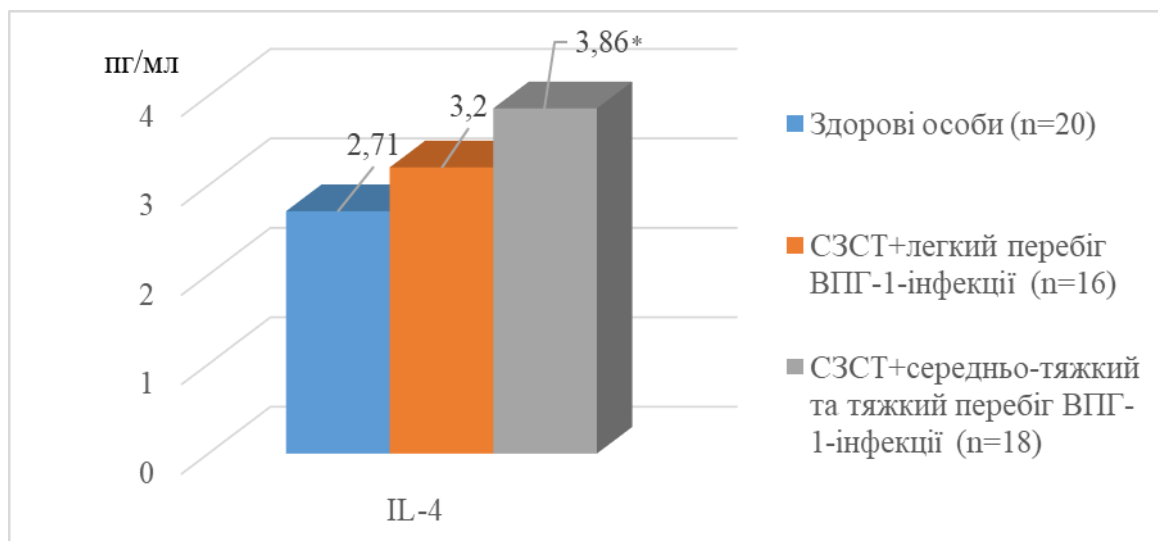


Примітка: * - вірогідна різниця порівняно з здоровими ($p<0,05$); # - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ+ВПГ-1 ($p<0,05$); ^ - вірогідна різниця порівняно з групою СЗСТ ($p<0,05$);

Рис.3.26 Рівень ІЛ-4 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з іншими групами хворих

Як видно з рисунку 3.26, у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 рівень ІЛ-4 ($3,53 \pm 0,34$ пг/мл) був вищим, ніж у хворих на СЗСТ ($2,14 \pm 0,39$ пг/мл; $p<0,05$) та здорових осіб ($2,71 \pm 0,23$ пг/мл; $p<0,05$). Якщо звернути увагу на групу хворих із реактивованою ВПГ-1-інфекцією, то варто відмітити, що продукція даного інтерлейкіну була максимально вираженою саме в цій групі хворих - $4,13 \pm 0,51$ пг/мл, що відрізняло її як від групи здорових осіб - $2,71 \pm 0,23$ пг/мл ($p<0,05$), так і від групи хворих з СЗСТ - $2,14 \pm 0,39$ пг/мл ($p<0,05$). Рання фаза активації інтерлейкіну-4 в даній групі обумовлена посиленням цитокінопродукуючої функції макрофагів, моноцитів і Т-хелперів в гострий герпес-асоційований процес.

Проаналізовано особливості синтезу ІЛ-4 у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 залежно від ступеня тяжкості перебігу інфекції (рис.3.27).

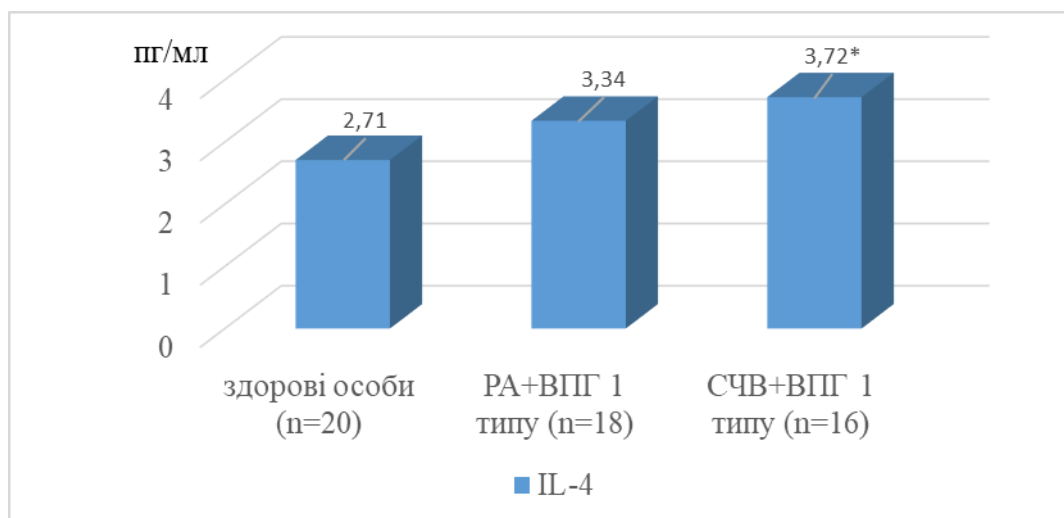


Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»;

Рис.3.27 Рівень IL-4 в хворих з СЗСТ+ВПГ-1 залежно від ступеня тяжкості перебігу інфекції

Доведено, що рівень IL-4 був підвищений у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 інфекції, порівняно з здоровими особами ($2,71 \pm 0,23$ пг/мл), та проте вірогідним це підвищення було лише у пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1 інфекції $-3,86 \pm 0,36$ пг/мл ($p < 0,05$).

Окремо продемонстровано рівень IL-4 у хворих на РА+ВПГ-1 та хворих на СЧВ+ВПГ-1 (рис.3.28).



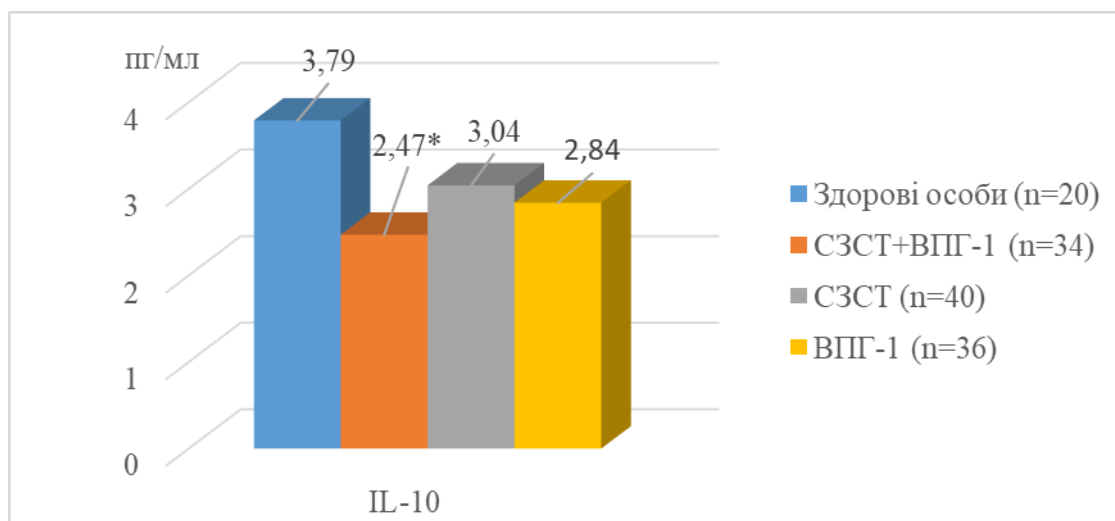
Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»;

Рис.3.28 Рівень IL-4 у хворих на різні нозологічні форми системних захворювань сполучної тканини на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції

Як бачимо на рисунку 3.28 у пацієнтів із РА+ВПГ-1-інфекцією було відмічено тенденцію до посилення синтезу ІЛ-4 – $3,34 \pm 0,57$ пг/мл у порівнянні із здоровими особами - $2,71 \pm 0,23$ пг/мл. У пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 рівень ІЛ-4 складав $3,72 \pm 0,44$ пг/мл і був вищим ніж у здорових осіб ($2,71 \pm 0,23$ пг/мл; $p < 0,05$), проте не відрізнявся від хворих на РА+ВПГ-1.

Як відомо стан цитокінового профілю у пацієнтів із РА та СЧВ характеризується надлишковою продукцією ІЛ-1, ІЛ-6, TNF- α та синергічним інгібуванням ІЛ-4 та ІЛ-10. Та очевидно, що реактивована герпесвірусна інфекція 1 типу, яка зумовлює посилення цитокінпродукуючої функції макрофагів, моноцитів та Т-хелперів, з своєї сторони активує продукцію ІЛ-4. Отримані значення ІЛ-4 у пацієнтів із поєднанням аутоімунної та вірусної патологій є результатом різнонаправленості впливу на синтез ІЛ-4 базових імунологічних механізмів при кожній з патологій.

Важлива роль у регуляції імунної відповіді належить ІЛ-10. Розглянемо зміни в продукції даного цитокіну в хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію, у хворих лише на СЗСТ, хворих лише з реактивованою ВПГ-1-інфекцією та практично здорових осіб (рис. 3.29).



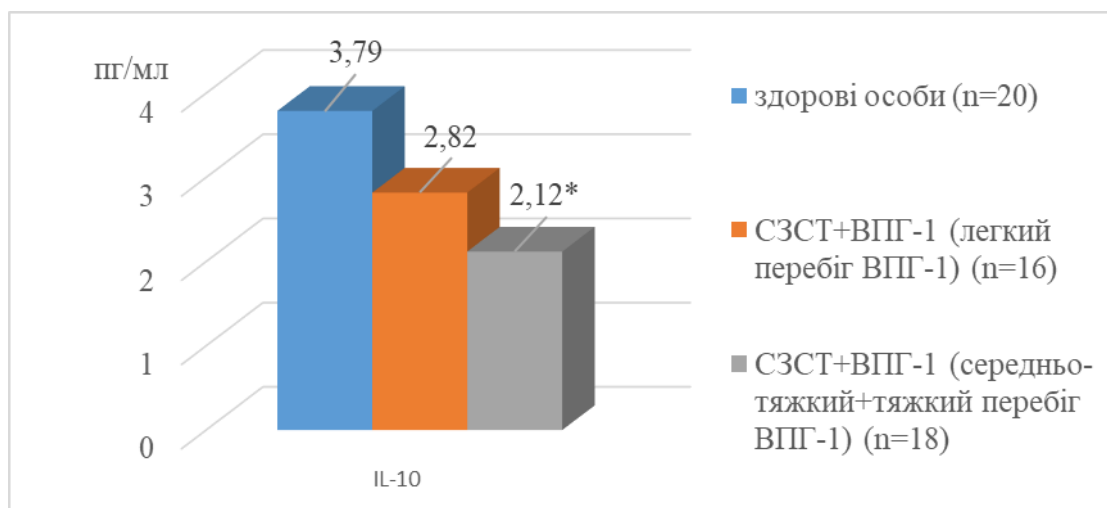
Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»;

Рис.3.29 Рівень ІЛ-10 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з іншими групами хворих

Як свідчать дані рисунку 3.29, синтез ІЛ-10 у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 був знижений і становив $2,47 \pm 0,4$ пг/мл, що відрізняло цей показник від здорових осіб, у яких рівень даного інтерлейкіну становив $3,79 \pm 0,52$ пг/мл ($p < 0,05$). У хворих з реактивованою ВПГ-1-інфекцією рівень ІЛ-10 був також нижчим, порівнюючи із здоровими особами, і дорівнював $2,84 \pm 0,73$ пг/мл та $3,79 \pm 0,52$ пг/мл відповідно, проте різниця не була вірогідною. Якщо говорити про пацієнтів із СЗСТ, то у даної групи хворих була відмічена тенденція до зниження продукції ІЛ-10 у порівнянні із здоровими особами ($3,04 \pm 0,61$ пг/мл та $3,79 \pm 0,52$ пг/мл).

Нами було проведено порівняльний аналіз синтезу ІЛ-10 у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекції залежно від ступеня тяжкості її перебігу (рис.3.30).

Згідно з результатами наведеними на рисунку 3.30 рівень ІЛ-10, порівняно з здоровими особами був нижчим у хворих на СЗСТ з середньо-тяжким+тяжким перебігом ($2,12 \pm 0,45$ проти $3,79 \pm 0,52$ пг/мл, $p < 0,05$), та вірогідно не відрізнявся від хворих на СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції ($3,79 \pm 0,52$ пг/мл проти $2,82 \pm 0,84$ пг/мл, $p > 0,05$).

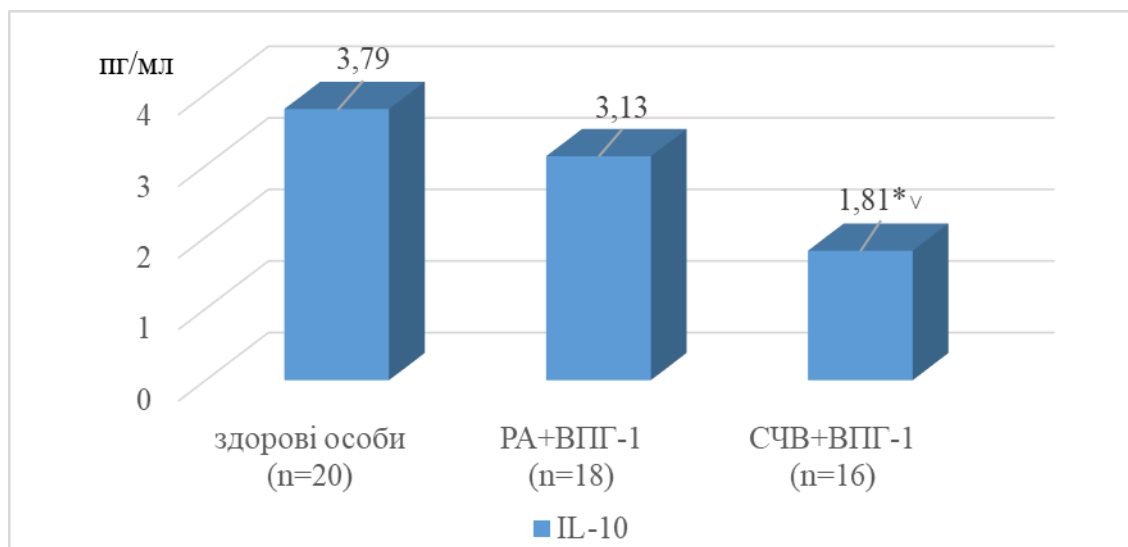


Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»;

Рис.3.30 Рівень ІЛ-10 у хворих з СЗСТ+ВПГ-1 в залежності від ступеня тяжкості перебігу ВПГ-1-інфекції

Головною функцією ІЛ-10 є купірування запалення шляхом пригнічення синтезу прозапальних цитокінів Т-хелперами 1 типу, в тому числі і IFN- γ . Тому аналіз синтезу ІЛ-10 є важливим при хронічному запаленні, яке є характерним

для аутоімунних захворювань. Нами було проаналізовано особливості продукції ІЛ-10 при кожній досліджуваній аутоімунній патології зокрема (рис.3.31).



Примітка: *- статистична різниця з групою «здорові особи»; √- статистична різниця з групою РА+ВПГ-1

Рис.3.31 Рівень ІЛ-10 у хворих на РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1

Отже, рівень ІЛ-10 у хворих на СЧВ+ВПГ-1 ($1,81 \pm 0,41$ пг/мл) був нижчим не тільки, ніж у здорових осіб ($3,79 \pm 0,52$ пг/мл; $p < 0,05$), а й ніж у пацієнтів з РА+ВПГ-1 ($3,13 \pm 0,49$ пг/мл; $p < 0,05$). У хворих на РА+ВПГ-1 відзначали тенденцію до зниження рівня ІЛ-10 порівняно із здоровими особами- $3,13 \pm 0,49$ і $3,79 \pm 0,52$ пг/мл відповідно ($p > 0,05$).

Таким чином, у хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції виявлено підвищений рівень ІFN- γ в 1,87 разів порівняно з здоровими особами та в 2,06 разів порівняно з хворими на реактивовану ВПГ-1-інфекцію; рівень ІЛ-4 був в 1,93 рази нижчим ніж у хворих з ВПГ-1-інфекцією; рівень ІFN- α у слині був 2,0 рази нижчим, ніж у хворих на ВПГ-1-інфекцію та в 1,37 разів нижчим, ніж у хворих на СЗСТ.

Висновки до розділу 3.

1. Встановлено, що у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 частіше виявлялася в зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 64,7%), ніж у слині (38,2%) та крові (11,8%); порівняно із хворими на РА+ВПГ-1 у хворих на

СЧВ+ВПГ-1 частіше ДНК ВПГ-1 виявляли в крові (в 3,38 разів), у зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 1,35 разів) та в слині (в 1,32 рази); у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ рівень IgM ВПГ-1 був підвищений у 4,58 рази, а IgG ВПГ-1 - у 2,46 рази.

2. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно хворими на СЗСТ спостерігали частіше периферичні нейропатії - в 2,60 рази, ураження органа зору - в 2,36 разів, збільшення лімфатичних вузлів - у 1,83 разів, нефропатію - в 1,76 разів, біль голови - в 1,53 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,49 раз, виражену загальну слабкість - в 1,34 рази. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими на ВПГ-1 інфекцію частіше спостерігали: ураження органу зору - в 4,24, атиповий перебіг ВПГ-1-інфекції (набрякова форма) - в 2,12 разів, периферичні нейропатії - в 1,86 разів, виражену загальну слабкість - в 1,54 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,43 рази. Функціональний індекс НАQ у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 був у 1,32 рази вищим, ніж у хворих на СЗСТ, в основному серед хворих на СЧВ+ВПГ-1.

3. Досліджено, що у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ була підвищена кількість CD16⁺56⁺ - лімфоцитів (в 1,26 разів), CD8⁺28⁻ - лімфоцитів (в 1,38 разів) та знижена кількість CD8⁺28⁺ - лімфоцитів (в 1,45 разів); порівняно з хворими на реактивовану ВПГ-1-інфекцію - більша кількість CD19⁺45⁺ - лімфоцитів (в 1,27 разів), CD3⁺HLA⁺DR - лімфоцитів (в 1,23 рази) та CD45⁺56⁺69⁺ - лімфоцитів (в 1,68 разів). У хворих з СЧВ+ВПГ-1 порівняно із хворими на РА+ВПГ-1 була відзначена більша кількість CD3⁺CD4⁺ - лімфоцитів (в 1,21 рази), CD19⁺45⁺ - лімфоцитів (в 1,24 рази) та CD8⁺CD28⁺ - лімфоцитів (в 1,30 разів).

4. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ встановлено: вищий рівень IL-4 (в 1,65 разів), нижчий рівень IFN-γ (в 1,37 разів), а порівняно з пацієнтами з реактивованою ВПГ-1-інфекцією спостерігали вищий рівень IFN-γ (в 1,50 разів), нижчий IFN-α у слині (в 1,46 разів).

Основні наукові результати розділу 3 опубліковані в праці автора: [9].

РОЗДІЛ 4

ПРОГНОСТИЧНІ МОДЕЛІ НА ОСНОВІ ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА СИСТЕМНІ ЗАХВОРЮВАННЯ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАВНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ ТА ІНШИХ ДОСЛІДЖУВАНИХ ГРУПАХ

У ході встановлення чинників, що мають доведений вплив на ризик реактивації герпесвірусної інфекції 1 типу у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини, нами за методом логістичної регресії було виокремлено 4 чинники, які відображені у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Результати коефіцієнтів регресії щодо ймовірності активації ВПГ-інфекції

№ з\п	Фактори	Умовні позначення	Коефіцієнти регресії
1	IL-10	V1	-219.168
2	CD8 ⁺ 28 ⁺	V2	-181.357
3	CD8 ⁺ 28 ⁻	V3	6.862
4	CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺	V4	425.14
5	Константа		1205.936

Таким чином, лінійне рівняння (2.2) для визначення R матиме наступний вигляд:

$$R = 1205,94 - 219,17 \cdot V1 - 181,36 \cdot V2 + 6,86 \cdot V3 + 425,14 \cdot V4 \quad (4.1)$$

Достовірність обчисленої моделі (p) становить менше 0,001. R-квадрат Наделькеркеса (R SquareNadelkerkes) складає 0,855, тобто 85,5% дисперсії щодо ймовірності активації ВПГ-1-інфекції можна пояснити за допомогою включених у регресійну модель чинників, а інші 14,5 % залежать від чинників, які не включались у регресійний аналіз.

Перевірка можливості моделі прогнозувати ризик активації ВПГ-1-інфекції у наявній базі дозволяє констатувати, що ймовірність діагностування реактивації ВПГ-1-інфекції у пацієнтів, у яких виявлено ВПГ-1-інфекцію, тобто чутливість, становить 100%. Ймовірність не мати діагностованого ризику реактивації ВПГ-1-

інфекції у пацієнтів, що дійсно не мали ВПГ-1-інфекції, тобто специфічність, становить 85 %. Таким чином, загальна точність моделі становить 92,5 %.

Для кращого розуміння функціонування запропонованої моделі наведемо приклад №1 - пацієнт К., №75 з бази даних. Пацієнт має наступні показники: ІЛ-10 – 2,87 пг/мл; CD8⁺28⁺ – 8,75 %; CD8⁺28⁻ – 18,02%; CD45⁺56⁺69⁺ – 4,59 %. Підставивши ці показники у рівняння 2.1 та 4.1 рівняння регресії для даного пацієнта будуть мати вигляд:

$$R = 1205,94 - 219,17 \cdot 2,87 - 181,36 \cdot 8,75 + 6,86 \cdot 18,02 + 425,14 \cdot 4,59 = 1065,10$$

$$H = \frac{1}{1 + e^{-1065,10}} * 100\% = 99,9\% \quad (4.2)$$

Тобто, за нашими розрахунками даний пацієнт має 99,9% ризик реактивації ВПГ-1-інфекції. Подальше спостереження за даним пацієнтом підтвердило наш прогноз – в подальшому у нього було діагностовано реактивацію ВПГ-1-інфекції.

Приклад №2. Пацієнт М., №43 із бази даних. Пацієнт має наступні показники ІЛ-10 – 2,43 пг/мл; CD8⁺28⁺ – 10,24 %; CD8⁺28⁻ – 12,4%; CD45⁺56⁺69⁺ – 2,3%. Тоді рівняння регресії для даного пацієнта будуть мати вигляд:

$$R = 1205,94 - 219,17 \cdot 2,43 - 181,36 \cdot 10,24 + 6,86 \cdot 12,4 + 425,14 \cdot 2,3 = -120,83$$

$$H = \frac{1}{1 + e^{120,83}} * 100\% = 0,01\% \quad (4.3)$$

Тобто, за результатами обрахунку даний пацієнт немає ризику активації ВПГ-1-інфекції, що й підтвердилось подальшим спостереженням.

У ході виконання нами пошуку чинників, що мають доведений вплив на посилення активності СЗСТ у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією, було відокремлено 3 чинники, які відображені у таблиці 4.2.

Результати коефіцієнтів регресії щодо посилення активності СЗСТ у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією

№ з\п	Фактори	Умовні позначення	Коефіцієнти регресії
1	CD8 ⁺ 28 ⁻	V1	1.3236
2	IFN-γ	V2	1.7803
3	IFN-α (слина)	V3	0.7062
4	Константа		-41.2502

Таким чином, лінійне рівняння для визначення R у даному випадку матиме наступний вигляд:

$$R = 1,32*V1 + 1,78*V2 + 0,71*V3 - 41,25 \quad (4.4)$$

Достовірність обчисленої моделі (p) становить 0,002. R-квадрат Наделькеркеса (R SquareNadelkerkes) складає 0,711, тобто 71,1% дисперсії щодо ймовірності посилення активності СЗСТ у групі пацієнтів СЗСТ та ВПГ можна пояснити за допомогою включених у регресійну модель чинників, а інші 28,9 % залежать від чинників, які не включались у регресійний аналіз.

Перевірка можливості моделі прогнозувати посилення активності СЗСТ у пацієнтів із наявним високим ступенем активності СЗСТ у даній групі пацієнтів, тобто чутливість, становила 83,33%. Можливість даної моделі прогнозувати у пацієнтів нижчий ступінь активності СЗСТ у пацієнтів із низьким ступенем, тобто специфічність, становила 100%. Таким чином, загальна точність моделі становила 90%.

Для кращого розуміння функціонування запропонованої моделі наведемо приклад №3 - пацієнт А., №86 із бази даних. У даного пацієнта наявні наступні лабораторні показники: CD8⁺28⁻ – 18,2 %; IFN-γ – 5,46 пг/мл; IFN-α (слина) – 17,6 пг/мл. Тоді рівняння 4.4 буде мати вигляд:

$$R = 1,32*18,2 + 1,78*5,46 + 0,71*17,6 - 41,25 = 4,99$$

$$H = \frac{1}{1+e^{-4,99}} * 100\% = 99,3\% \quad (4.5)$$

Тобто, за нашими розрахунками даний пацієнт має 99,3 % ризик посилення активності СЗСТ, що підтвердилось подальшим спостереженням.

У ході виконання нами пошуку чинників, що мають доведений вплив на посилення активності СЗСТ у групі пацієнтів із СЗСТ без ВПГ-1-інфекції, було відокремлено 4 чинники, які відображені у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

Результати коефіцієнтів регресії щодо посилення активності СЗСТ у групі пацієнтів із СЗСТ без ВПГ 1 типу

№ з\п	Фактори	Умовні позначення	Коефіцієнти регресії
1	IFN- α (слина)	V1	5.1679
2	CD8 ⁺ 28 ⁻	V2	1.0049
3	CD19 ⁺ CD45 ⁺	V3	2.3532
4	CD4 ⁺ CD25 ⁺	V4	0.6659
5	Константа		-121.4634

Таким чином, лінійне рівняння для визначення R у даному випадку матиме наступний вигляд:

$$R = 5,17 * V1 + 1,00 * V2 + 2,35 * V3 + 0,67 * V4 - 121,46 \quad (4.6)$$

Достовірність обчисленої моделі (p) становить 0,001. R-квадрат Наделькеркеса (R SquareNadelkerkes) складає 0,833, тобто 83,3% дисперсії щодо ймовірності посилення активності СЗСТ у групі пацієнтів СЗСТ без ВПГ-1-інфекції можна пояснити за допомогою включених у регресійну модель чинників, а інші 16,7 % залежать від чинників, які не включались у регресійний аналіз.

Перевірка можливості моделі прогнозувати наявність вищого ступеня СЗСТ у пацієнтів із наявним нижчим ступенем активності СЗСТ у даній групі пацієнтів, тобто чутливість, становила 88,89%. Можливість даної моделі прогнозувати у пацієнтів нижчий ступінь активності СЗСТ у пацієнтів із низьким ступенем, тобто

специфічність, становила 90,91 %. Таким чином, загальна точність моделі становила 90 %.

Для кращого розуміння функціонування запропонованої моделі наведемо приклад №4. Пацієнт А., №39 із бази даних. У даного пацієнта наявні наступні лабораторні показники: IFN- α (слина) – 11,5 пг/мл; CD8⁺28⁻ – 12,5 %; CD19⁺CD45⁺ – 15,4 %; CD4⁺CD25⁺ – 9,76 %.

Тоді рівняння будуть мати вигляд:

$$R = 5,17 \cdot 11,5 + 1,00 \cdot 12,5 + 2,35 \cdot 15,4 + 0,67 \cdot 9,76 - 121,46 = -6,73$$

$$H = \frac{1}{1 + e^{6,73}} * 100\% = 0,1\% \quad (4.7)$$

Тобто, за нашими розрахунками даний пацієнт має 0,1 % ризик зростання активності СЗСТ. Подальше спостереження підтвердило наш прогноз – у даного пацієнта була низька активність СЗСТ.

Нами було розроблено математичні моделі за методом множинної регресії щодо прогнозування кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією та окремо у групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією, використовуючи лабораторні показники на момент лікування.

У ході аналізу чинників, що мають найбільший вплив на кількість рецидивів ВПГ-1-інфекції протягом року у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією, було виокремлено за методом множинної регресії 6 факторів, що відображено в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Значення коефіцієнтів множинної регресії для прогнозування кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції на рік у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1

№ з\п	Фактори	Умовні позначення	Коефіцієнти регресії
1	IFN- α (слина)	V1	0.530
2	IFN- γ	V2	2.491
3	IL-10	V3	-0.022
4	CD3 ⁺ HLA ⁺	V4	-0.963
5	CD4 ⁺ CD25 ⁺	V5	1.436
6	CD8 ⁺ 28 ⁻	V6	0.811
7	Константа		-29.478

Таким чином рівняння множинної регресії для прогнозування кількості загострень у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1 буде мати вигляд:

$$N = 0.53*V1 + 2.49*V2 - 0.02*V3 - 0.96*V4 + 1.44*V5 + 0.81*V6 - 29.48 \quad (4.8)$$

де N – кількість рецидивів герпесвірусної інфекції за рік.

Достовірність отриманої моделі (p) становить 0,008. Коефіцієнт R-квадрат складає 0,696, це означає, що 69,6 % загальної дисперсії показника кількості загострень можна пояснити за рахунок включених до рівняння чинників, решту 30,4 % дисперсії пояснюється чинниками, що відсутні у рівнянні. З-поміж аналізованих факторів, 4 (IFN α (слина), IFN- γ , CD4⁺CD25⁺, CD8⁺28⁻) провокують збільшення кількості рецидивів (рис.4.1), та 2 чинники (IL-10, CD3-HLA⁺) знижують кількість рецидивів герпесвірусної інфекції.

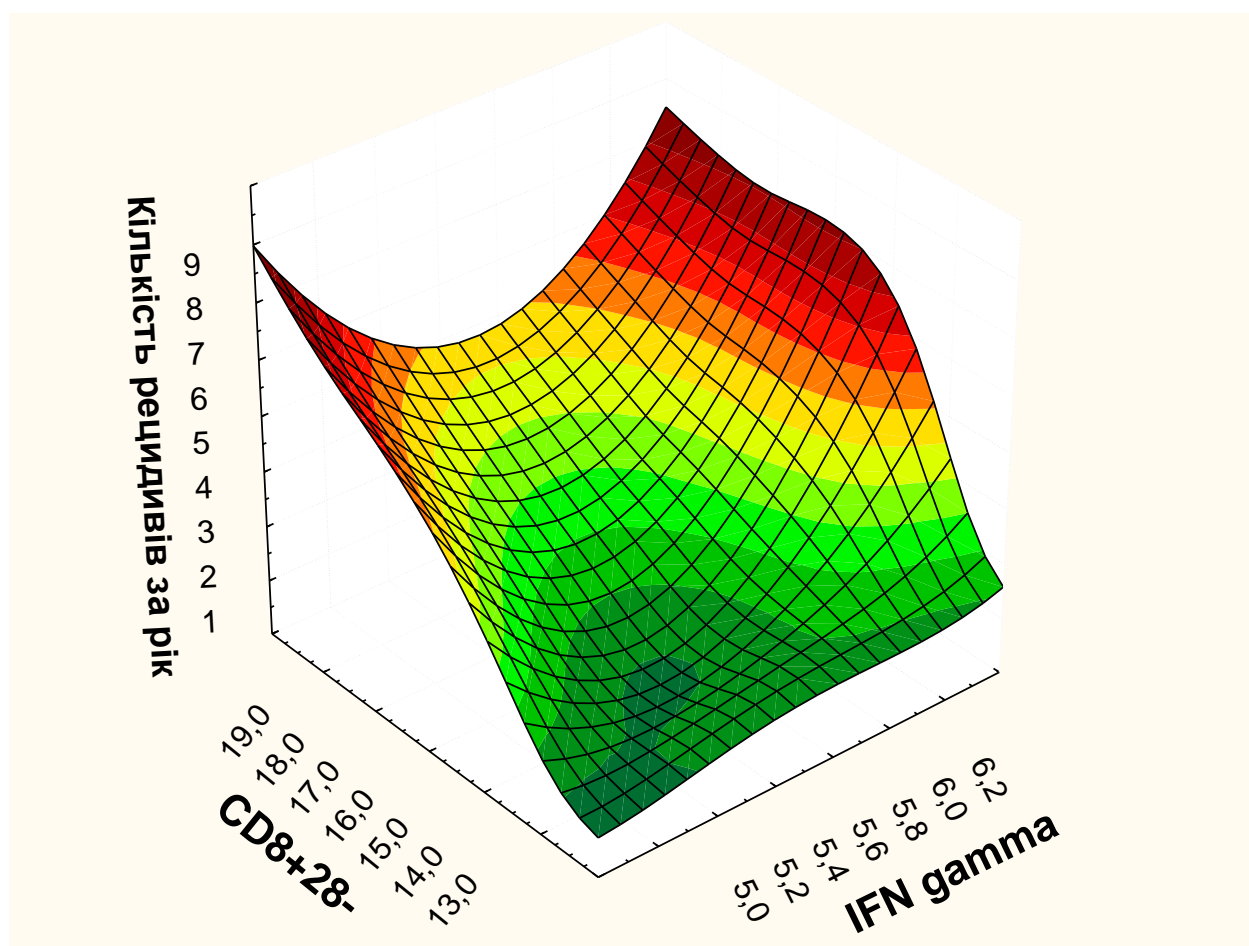


Рис.4.1 Взаємозв'язок поміж кількістю рецидивів герпесвірусної інфекції на рік у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1 з показниками CD8+28⁻ та IFN- γ .

Для розуміння функціонування отриманої моделі наведемо приклад. Пацієнт М., № 92 із бази даних, має наступні показники: IFN- α (слина) – 15,9 пг/мл; IFN- γ – 6,09 пг/мл; IL-10 – 2,49 пг/мл; CD3-HLA⁺ – 17,4 %; CD4⁺CD25⁺ – 11,3 %; CD8⁺28⁻ – 17,5 %. Підставивши ці показники у рівняння (4.8), можна розрахувати прогнозовану кількість рецидивів у даного пацієнта:

$$N = 0,53 \cdot 15,9 + 2,49 \cdot 6,09 - 0,02 \cdot 2,49 - 0,96 \cdot 17,4 + 1,44 \cdot 11,3 + 0,81 \cdot 17,5 - 29,48 = 7,8 \approx 8$$

Тобто, у даного пацієнта очікувана кількість рецидивів ВПГ-1-інфекції становить 8 за рік, а подальше спостереження підтвердило цей прогноз.

У ході аналізу чинників, що мають найбільший вплив на кількість рецидивів ВПГ-1-інфекції протягом року у групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією, було виокремлено за методом множинної регресії 4 фактори, що відображено в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Значення коефіцієнтів множинної регресії для прогнозування кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції на рік у групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією

№ з\п	Фактори	Умовні позначення	Коефіцієнти регресії
1	IFN α (слина)	V1	1.685
2	IL-4	V2	0.853
3	CD8 ⁺ 28 ⁻	V3	0.097
4	CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻	V4	-0.744
5	Константа		-34.380

Таким чином рівняння множинної регресії для прогнозування кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції на рік у групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією буде мати вигляд:

$$N = 1,69 \cdot V1 + 0,85 \cdot V2 + 0,10 \cdot V3 - 0,74 \cdot V4 - 34,38 \quad (4.9)$$

де N – кількість рецидивів герпесвірусної інфекції за рік.

Достовірність отриманої моделі (p) становить менше 0,001. Коефіцієнт R -квадрат складає 0,883, це означає, що 88,3% загальної дисперсії показника кількості загострень можна пояснити за рахунок включених до рівняння чинників, решту 11,7% дисперсії пояснюється чинниками, що відсутні у рівнянні.

Таким чином, в даній групі пацієнтів 3 чинники є провокуючими, а 1 ($CD45^{+}56^{+}69^{-}$) – запобігаючим (рис.4.2).

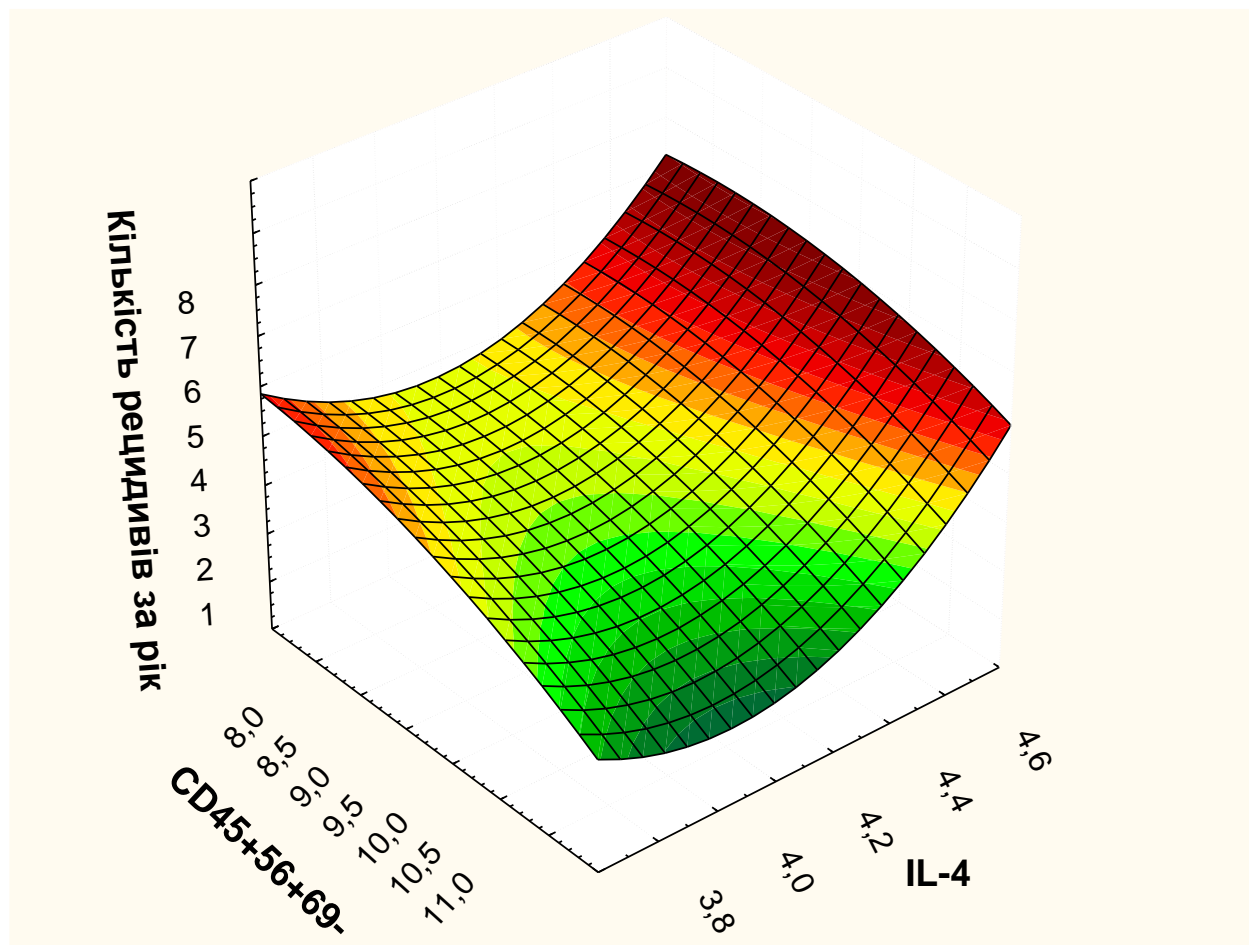


Рис.4.2 Взаємозв'язок поміж кількістю рецидивів герпесвірусної інфекції на рік у групі пацієнтів із реактивованою ВПГ-1-інфекцією з показниками $CD45^{+}56^{+}69^{-}$ та IL-4.

Для розуміння функціонування отриманої моделі наведемо приклад. Пацієнт О., № 13 із бази даних має наступні показники: IFN- α (слина) – 22,3 пг/мл; IL-4 – 3,99 пг/мл; $CD8^{+}28^{-}$ – 13,5%; $CD45^{+}56^{+}69^{-}$ – 8,45%. Підставивши ці

показники у рівняння (4.9), можна розрахувати прогнозовану кількість рецидивів у даного пацієнта:

$$N = 1,69 \cdot 22,3 + 0,85 \cdot 3,99 + 0,10 \cdot 13,5 - 0,74 \cdot 8,45 - 34,38 = 1,8 \approx 2.$$

Тобто, у даного пацієнта очікувана кількість рецидивів герпесвірусної інфекції становить 2 за рік, а подальше спостереження підтвердило цей прогноз.

Отримана інформація дозволила пацієнтам із СЗСТ завчасно прогнозувати рецидиви ВПГ-1-інфекції, виокремити окремі групи пацієнтів із СЗСТ та високим ризиком рецидиву ВПГ-1-інфекції з можливими подальшими рекомендаціями щодо профілактичного отримання протівірусної терапії та визначити прогноз перебігу СЗСТ, що пов'язаний з частотою рецидивів ВПГ-1-інфекції.

Висновок до розділу 4

Використовуючи результати імунологічних досліджень запропоновано математичні моделі за методом логістичної регресії для прогнозування ризику реактивації ВПГ-1-інфекції у хворих на СЗСТ (чутливість 100%, специфічність 85%, загальна точність моделі 92,5%), ризику зростання активності СЗСТ у хворих з реактивованою ВПГ-1-інфекцією (чутливість 83,33%, специфічність 100%, загальна точність моделі 90%) та за методом множинної регресії для прогнозування кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції на рік у хворих на СЗСТ.

Основні наукові результати розділу 4 опубліковані в праці автора: [102].

РОЗДІЛ 5

ОЦІНКА КЛІНІЧНОЇ, ВІРУСОЛОГІЧНОЇ, ІМУНОЛОГІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ

Метою застосування протівірусної терапії у пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції є покращення клінічного стану хворих із регресією симптомів, характерних як для рецидивуючої ВПГ-1-інфекції, так і симптомів, які є характерними для СЗСТ, зменшення кількості та тяжкості перебігу рецидивів ВПГ-1 інфекції; позитивна динаміка зі сторони лабораторних показників – вірусологічних та імунологічних.

Клінічну ефективність протівірусної терапії оцінювали за динамікою числа рецидивів ВПГ-1-інфекції після лікування у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та у пацієнтів із рецидивуючою ВПГ-1-інфекцією залежно від тяжкості її перебігу.

Таблиця 5.1

Динаміка числа рецидивів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з урахуванням ступеня тяжкості її перебігу до та після лікування

Ступінь важкості перебігу	Групи обстежуваних	Період участі в дослідженні	Сумарна кількість рецидивів за рік	Кількість рецидивів на 1 хворого
Легкий перебіг ВПГ-1 інфекції	СЗСТ+ВПГ-1, n=16	До лікування	26	1,6
		Після лікування	15	0,9
Середньо- тяжкий+тяжкий перебіг ВПГ-1 інфекції	СЗСТ+ВПГ-1, n=18	До лікування	109	6,1
		Після лікування	71	3,9

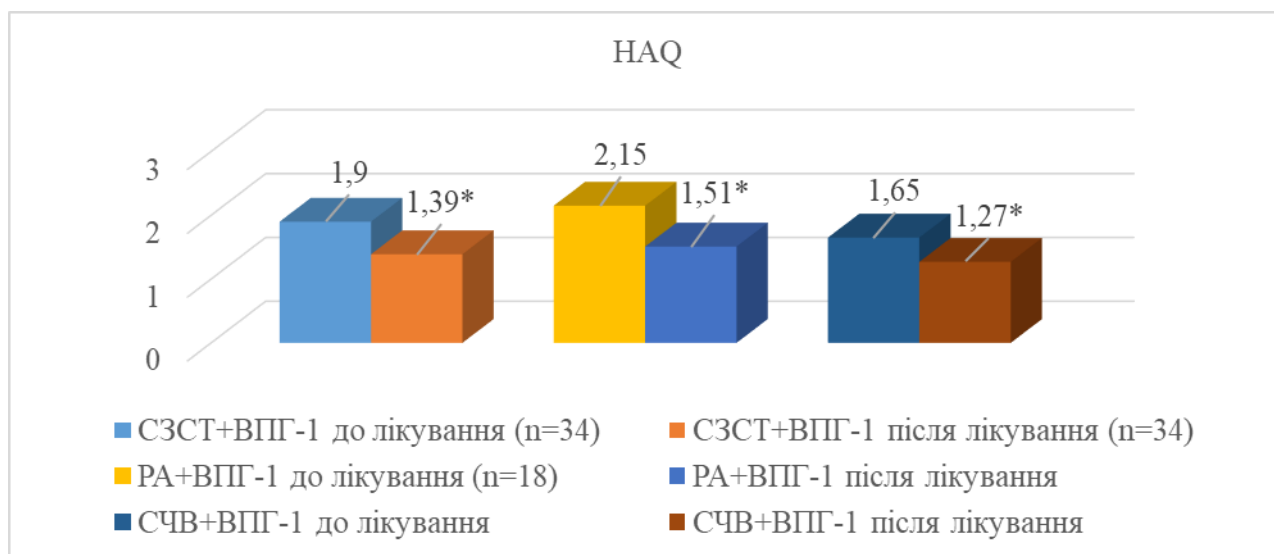
Як видно з Таблиці 5.1 на основі анамнестичних даних у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції до лікування число рецидивів протягом року становило 26 випадків, що відповідало 1,6 рецидивів на 1

хворого, а після проведеного противірусного лікування (інозин пранобекс на тлі базової терапії) зменшилося і становило 0,9 рецидивів на 1 хворого. До лікування у пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції число рецидивів протягом року становило 109 випадків, що відповідало 6,2 рецидивів на 1 хворого, після проведеного лікування (інозин пранобекс та ацикловір на тлі базової терапії) виражено зменшилось і дорівнювало – 3,9 рецидиви на 1 хворого.

Одним із методів оцінки клінічної ефективності була оцінка функціональної здатності хворих з допомогою Стенфордського опитувальника стану здоров'я HAQ, який враховує функціональний індекс порушення життєдіяльності. Порушення життєдіяльності вимірюється шляхом оцінки поведінки хворого при виконанні ним певних дій у звичних ситуаціях при певних умовах і являється важливим показником, що сприяє розумінню взаємозв'язків між пошкодженням, процесом захворювання і його результатом. У зв'язку з цим саме оцінка порушень життєдіяльності придатна для потенційного вимірювання результатів захворювань, які мають хронічний перебіг. Під соціальними обмеженнями розуміють певні лімітування, які виникають в результаті порушення життєдіяльності, обмеження у виконанні тієї соціальної ролі, яка вважається нормальною для даного індивідуума відповідно до його віку, статусу, соціальних та культурних характеристик. Безумовно, вищезгадані наслідки хвороб є взаємопов'язаними: пошкодження обумовлює порушення життєдіяльності, яке, в свою чергу, призводить до соціальних обмежень і до зміни якості життя пацієнтів.

Враховуючи основні скарги пацієнтів із аутоімунною патологією, чаторецидивуючий перебіг та практично позиттєву необхідність у терапії, ступінь зміни соціальних обмежень пацієнта вважається одним з вирішальних чинників для визначення дієвості лікарських маніпуляцій і оцінки ефективності терапії. Ось чому відновленню соціальної ролі хворого мусить передувати зменшення порушень його життєдіяльності, яке зазвичай вимагає початкового втручання, спрямованого на ліквідацію наявних пошкоджень.

На рисунку 5.1 наведена динаміка індексу НАQ у пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1, в тому числі пацієнтів із окремими аутоімунними патологіями – РА+ВПП-1 та СЧВ+ВПП-1 до та після лікування.



Примітка: * - статистична різниця поміж хворими в кожній з груп до і після лікування

Рис. 5.1 Клінічна оцінка ефективності лікування досліджуваних пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1, РА+ВПП-1 та СЧВ+ВПП-1 за індексом НАQ

Як бачимо на рис. 5.1, у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1-інфекцією за умов 12-тижневого застосування противірусної терапії на тлі базової терапії індекс НАQ знизився з $1,90 \pm 0,19$ до $1,39 \pm 0,14$ ($p < 0,05$). У пацієнтів із окремими нозологічними одиницями аутоімунної патології застосування противірусної та імуносупресивної терапії призвело до зниження індексу НАQ у кожній з досліджуваних груп - у пацієнтів із РА+ВПП-1 з $2,15 \pm 0,19$ до $1,51 \pm 0,13$ ($p < 0,05$) та у пацієнтів із СЧВ+ВПП-1 з $1,65 \pm 0,15$ до $1,27 \pm 0,11$ ($p < 0,05$).

Для кожної з окремих аутоімунних патологій було додатково оцінено клінічну ефективність враховуючи динаміку специфічних індексів активності: DAS28 для РА та SLEDAI-2K для СЧВ.

У пацієнтів із РА+ВПП-1 висока активність (за DAS28) була відмічена в 44,4% пацієнтів, помірна – 55,6% пацієнтів до початку застосування інозин пранобексу на тлі базової терапії. Після закінчення противірусного лікування

у пацієнтів із РА+ВПГ-1 було виявлено низьку активність у 72,2% пацієнтів, помірну – 27,8% пацієнтів. Високу активність РА після закінчення лікування не відмічали.

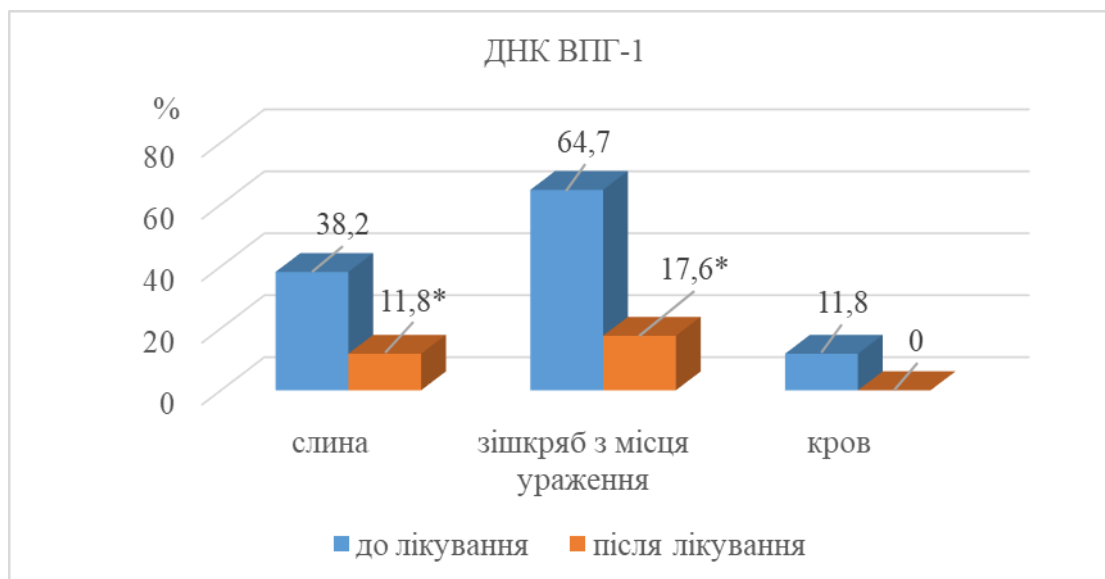
До початку отримання протівірусної терапії високий індекс активності (згідно SLEDAI-2K) в пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 був виявлений у 56,3% пацієнтів та помірний - 43,7%, натомість після тримісячного отримання терапії розподіл за ступенями активності пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 був наступним: 37,5% пацієнтів із помірною активністю СЧВ та 62,5% - з низькою активністю. Високої активності СЧВ серед пацієнтів даної групи хворих відзначено не було.

Таким чином, клінічна ефективність протівірусної терапії у пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції була оцінена враховуючи динаміку кількості рецидивів та функціонального індексу HAQ, а також додатково індексами активності DAS28 та SLEDAI 2K. Отже, після проведеного лікування у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1 інфекції на тлі застосування інозин пранобексу та базової терапії число рецидивів зменшилося в 1,8 рази. Застосування інозин пранобексу, ацикловіру та базової терапії у пацієнтів із СЗСТ та середньотяжким+тяжким перебігом інфекції призвело до зменшення числа рецидивів в 1,6 рази. Було відмічено зниження функціонального індексу HAQ у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекції під впливом протівірусної та імуносупресивної терапії в 1,37 разів, в тому числі у групі пацієнтів із РА+ВПГ 1 типу в 1,42 рази та СЧВ+ВПГ 1 типу в 1,30 разів. Після закінчення отримання протівірусної терапії переважали пацієнти із низькою активністю як РА так і СЧВ (згідно індексу DAS28 та SLEDAI2K відповідно).

Вірусологічну ефективність терапії в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 було оцінено шляхом аналізу динаміки виявлення ДНК ВПГ-1 та рівнів специфічних антитіл класів IgM та IgG.

Розглянемо динаміку виявлення ДНК ВПГ-1 у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 інфекції до і після застосування протівірусної на тлі базової імуносупресивної терапії (рис.5.2).

Таким чином, до лікування ДНК ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 сумарно була виявлена у слині в 13 (38,2%) хворих, зішкрябі з місця ураження чи слизової – у 22 (64,7%) хворих і в крові – в 4 (11,8%) хворих.



Примітка: *- статистична різниця поміж хворими в кожній з груп до і після лікування

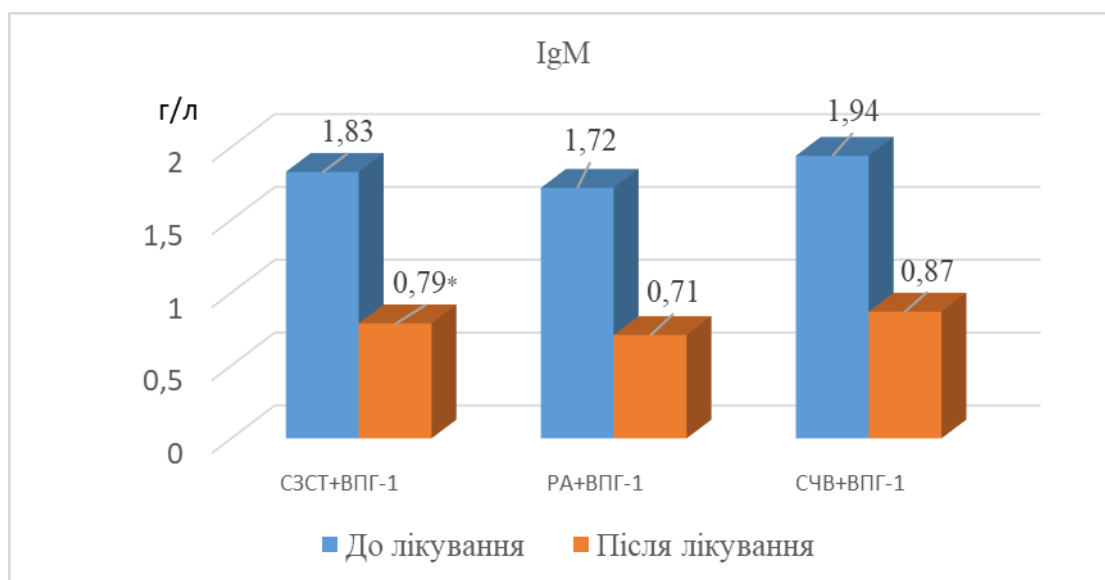
Рис. 5.2 Відсотковий вміст ДНК-ВПГ 1 типу в крові, слині та зішкрябі з місця ураження чи слизової у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 до і після лікування

Як бачимо на рисунку 5.2 у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 тримісячне застосування базової та протівірусної терапії призвело до позитивної динаміки, враховуючи відсоток пацієнтів із виявленою ДНК ВПГ-1 типу після закінчення лікування, а саме: у слині ДНК ВПГ-1 виявляли в 4 (11,8%) хворих, у зішкрябі з місця ураження чи слизової – в 6 (17,6%) хворих, у крові ДНК-ВПГ-1 виявлено не було. Отже, частота виявлення ДНК ВПГ-1 зменшилась у слині - в 3,25 рази, у зішкрябі з місця уражень чи слизових - у 3,67 рази та в крові - у 4,0 рази.

Щодо пацієнтів із РА+ВПГ-1, то після закінчення отримання комплексної терапії у пацієнтів із РА+ВПГ-1 ДНК-ВПГ-1 у слині виявляли у двох (11,1%) пацієнтів, у зішкрябі з місця ураження чи слизової також у двох (11,1%), у крові виявлено не було. У пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 також було відмічено виражену

позитивну динаміку - після закінчення терапії ДНК-ВПГ-1 у слині виявляли у двох (12,5%) пацієнтів, у зішкрібі з місця ураження чи слизової у 4 (25,0%), у крові виявлено не було.

Нами було досліджено вплив рекомендованої протівірусної та базової терапії на продукцію специфічних IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1 у сироватці хворих на СЗСТ+ВПГ-1 до та після лікування (рис.5.3-5.4).

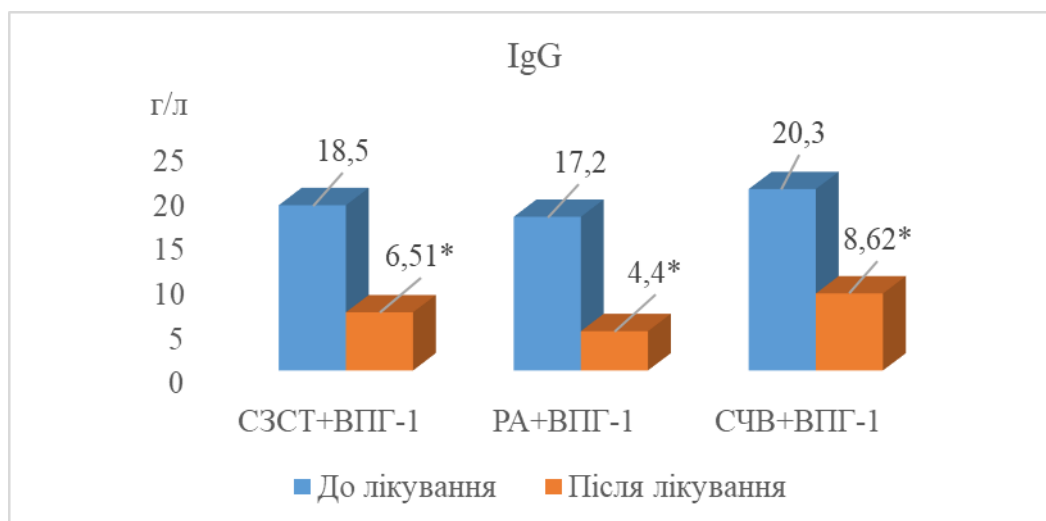


Примітка: *- статистична різниця показників «після лікування» з групою «здорові особи»; ^ - статистична різниця поміж хворими в кожній з підгруп до і після лікування

Рис.5.3 Динаміка рівня специфічного IgM у хворих з СЗСТ+ВПГ-1, в т.ч. у хворих на РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1 до і після лікування

Дані рисунку 5.3 демонструють зниження рівня специфічного IgM у групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 на тлі застосування комбінованої імуносупресивної та протівірусної терапії з $1,83 \pm 0,18$ г/л до $0,79 \pm 0,05$ г/л ($p < 0,05$). У пацієнтів із РА+ВПГ-1 рівень IgM ВПГ-1 також знизився з $1,72 \pm 0,16$ г/л до $0,71$ г/л ($p < 0,05$) і у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 – з $1,94 \pm 0,20$ г/л до $0,87 \pm 0,08$ ($p < 0,05$). Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 спостерігалось зниження синтезу специфічних IgM в 2,32 рази, в тому числі у хворих на РА+ВПГ-1 – у 2,42 рази, у хворих на СЧВ+ВПГ-1 – 2,23 рази.

Зміни продукції специфічного IgG до і після лікування у сироватці хворих на СЗСТ+ВІГ-1, в т.ч. у хворих на РА+ВІГ-1 та СЧВ+ВІГ-1 представлені на рис. 5.4.



Примітка: *- статистична різниця поміж хворими в кожній з підгруп до і після лікування

Рис.5.4 Динаміка рівня специфічного IgG у хворих з СЗСТ+ВІГ-1, в т.ч. у хворих на РА+ВІГ-1 та СЧВ+ВІГ-1 до і після лікування

Як бачимо з рисунку 5.4 у групі пацієнтів із СЗСТ+ВІГ-1 за умов отримання імуносупресивної та базової терапії ми спостерігали зниження рівня специфічного IgG-ВІГ-1 з $18,5 \pm 3,25$ г/л до $6,51 \pm 1,03$ г/л ($p < 0,05$). Рівень IgG також знижувався на тлі застосування протівірусної терапії у пацієнтів із РА+ВІГ-1 - з $17,2 \pm 2,86$ г/л до $4,40 \pm 0,06$ г/л ($p < 0,05$). В пацієнтів із СЧВ+ВІГ-1 рівень IgG ВІГ-1 знизився з $20,3 \pm 3,11$ до $8,62 \pm 1,06$ ($p < 0,05$). Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 було відмічено зниження рівня IgG ВІГ-1 в 2,85 разів, в тому числі у хворих на РА+ВІГ-1 – у 3,91 рази, у хворих на СЧВ+ВІГ-1 – 2,35 разів.

Таким чином, комбіноване застосування протівірусного лікування та тлі базової терапії призвело до зниження реплікації ВІГ-1 в слині, крові та зішкрябі з місць уражень чи слизових у хворих на СЗСТ+ВІГ-1, що свідчило про ефективність застосування інозин пранобексу та ацикловіру в якості протівірусних препаратів для лікування реактивованої ВІГ-1-інфекції. Окрім цього, у вказаних хворих спостерігалось зниження синтезу специфічного IgM-ВІГ-1 в 2,32 рази та зниження рівня специфічного Ig-ВІГ-1 в 2,85 разів.

Оцінка імунологічної ефективності ґрунтувалася на аналізі динаміки популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів, їх активізаційних маркерів, рівня цитокінів IFN- γ , IL-4 та IL-10 в сироватці крові, IFN- α (в сироватці крові та слині).

Отже, як свідчать результати обстежень наведених в табл. 5.2, після тримісячного курсу терапії у пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1 було відмічено зниження та нормалізацію кількості Т-лімфоцитів - з $73,5 \pm 2,07\%$ до $66,1 \pm 3,02\%$ ($p < 0,05$). Динаміка кількості CD3⁺CD8⁺- лімфоцитів була вираженою і полягала у зниженні їх кількості з $28,4 \pm 1,02\%$ до $23,6 \pm 1,20\%$ ($p < 0,05$).

Таблиця 5.2

Порівняльний аналіз показників популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у хворих на СЗСТ+ВПП-1 на тлі застосування комбінованої терапії

Показники	Здорові особи	СЗСТ+ВПП-1 до лікування	СЗСТ+ВПП-1 після лікування
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	$68,3 \pm 1,56$	$73,5 \pm 2,07$	$66,1 \pm 3,02^*$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	$42,5 \pm 0,81$	$45,1 \pm 1,01$	$42,5 \pm 3,23$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	$25,8 \pm 0,8$	$28,4 \pm 1,02$	$23,6 \pm 1,20^*$
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	$9,67 \pm 0,98$	$12,7 \pm 1,02$	$8,61 \pm 1,03^*$
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	$12,3 \pm 1,03$	$15,2 \pm 1,01$	$14,3 \pm 1,83$
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	$2,16 \pm 0,43$	$4,96 \pm 0,53$	$2,98 \pm 0,76^*$
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	$14,3 \pm 1,36$	$9,69 \pm 0,09$	$12,6 \pm 2,12$
CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	$15,3 \pm 1,22$	$10,1 \pm 1,78$	$14,3 \pm 1,11^*$
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	$9,32 \pm 1,63$	$15,7 \pm 1,72$	$10,5 \pm 1,10^*$
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	$7,63 \pm 0,71$	$10,2 \pm 0,84$	$8,53 \pm 1,41$
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	$25,2 \pm 1,50$	$30,6 \pm 2,71$	$29,2 \pm 2,56$
CD3 ⁺ HLA ⁺ lymphocytes	$8,58 \pm 0,71$	$13,9 \pm 0,53$	$10,1 \pm 0,81^*$
CD3 ⁻ HLA ⁺ lymphocytes	$20,3 \pm 1,05$	$22,5 \pm 0,92$	$21,1 \pm 1,03$

Примітка: *- показник вірогідності поміж хворими в кожній з груп до і після лікування ($P \leq 0,05$);

Варто звернути увагу на зміну кількості CD16⁺56⁺- лімфоцитів, оскільки тримісячне застосування протівірусної та імуносупресивної терапії призвело до зменшення кількості натуральних кілерних клітин в 1,48 разів - з 12,7±1,02% до 8,61±1,03% (p<0,05), що, ймовірно, свідчило про зменшення вірусного навантаження, яке було причиною активації натуральних кілерних клітин. Вірогідних змін зі сторони числа CD19⁺CD45⁺- лімфоцитів після закінчення курсу рекомендованої терапії відзначено не було.

Число кілерних клітин з активованою часткою (CD45⁺CD56⁺CD69⁺) характеризувалося зменшенням їх кількості на ґрунті застосування протівірусної терапії – з 4,96±0,53% до 2,98±0,76% (p<0,05).

Відносне число CD8⁺CD28⁺-лімфоцитів підвищилось (з 10,1±1,78% до 14,3±1,11%), а CD8⁺CD28⁻-лімфоцитів - знизилось (з 15,7±1,72% до 10,5±1,10%), що відображало посилення костимулюючих сигналів, які необхідні в роботі Т-хелперів, а саме в їх активації та відповідно наступним формуванням адекватної імунної відповіді.

Кількість CD3⁺HLA-DR⁺-лімфоцитів у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 під впливом отримуваної терапії вірогідно знизилась в 1,38 разів - з 13,9±0,53% до 10,1±0,81%, що свідчило про стабілізацію в роботі Т-лімфоцитів.

Проаналізовано динаміку показників лімфограми та активізаційних маркерів у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1 інфекції за умов застосування протівірусної та базової терапії (інозин пранобекс) (табл.5.3).

Таблиця 5.3

Порівняльний аналіз показників популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у хворих на СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції за умов застосування комбінованої терапії до і після лікування

Показники	Здорові особи	до лікування	після лікування
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	68,3±1,56	71,6±2,48	65,5±2,05 ^v
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	42,5±0,81	45,5±1,95	43,4±2,32

CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	25,8±0,8	26,1±1,07	22,1±2,45
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	9,67±0,98	14,1±1,27	9,08±1,52 √
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	12,3±1,03	15,9±1,42	15,1±1,37
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	2,16±0,43	4,80±1,29	3,39±0,85
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	14,3±1,36	9,99±0,79	11,8±2,01
CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	15,3±1,22	10,3±1,48	14,6±1,32√
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	9,32±1,63	15,2±1,83	10,2±1,11√
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	7,63±0,71	10,6±1,1	9,21±1,23
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	25,2±1,50	30,8±2,12	29,7±1,86
CD3 ⁺ HLA ⁺ lymphocytes	8,58±0,7	13,1±0,96	8,86±0,74√
CD3 ⁻ HLA ⁺ lymphocytes	20,3±1,05	22,1±1,11	20,3±1,03√

Примітка: √ - показник вірогідності поміж хворими в кожній з груп до і після лікування (P≤0,05);

Як свідчать дані таблиці 5.3, на фоні отримання протягом трьох місяців базової терапії та інозин пранобексу спостерігалось зниження числа Т-лімфоцитів з 71,6±2,48 до 65,5±2,05% (p<0,05). Кількість Т-цитотоксичних лімфоцитів характеризувалася тенденцією до зниження, без вірогідної різниці між вхідними та вихідними показниками. Схожа ситуація була відміченою і з хелперною субпопуляцією Т-лімфоцитів, враховуючи зниження їх рівня із 45,5±1,95 до 43,4±2,32 (p>0,05).

Застосування інозин пранобексу результувало зниженням числа НК-клітин з 14,1±1,27 до 9,08±1,52 % (p<0,05), що в кінцевому результаті не відрізняло дану групу обстежуваних від здорових осіб (9,67±0,98, p<0,05). Рівень В-лімфоцитів практично не змінився у кількості на ґрунті отриманого лікування і після закінчення тримісячного курсу терапії становив 15,1±1,37% (p>0,05).

Клітини із фенотипом CD45⁺56⁺69⁺ характеризувалися тенденцією до зниження на фоні отримання протівірусної терапії.

Кількість CD8⁺CD28⁺-лімфоцитів у хворих, які отримували інозин пранобекс вірогідно збільшилася після лікування ($14,6 \pm 1,32\%$), що може вказувати на переключення зміненого протівірусного захисту на більш фізіологічний з посиленням цитотоксичної активності Т-лімфоцитів. Число CD8⁺CD28⁻лімфоцитів у вказаних хворих після лікування вірогідно зменшувалося з $15,2 \pm 1,84$ до $10,2 \pm 1,11\%$.

Число активованих Т-лімфоцитів у пацієтів із СЗСТ+ВПГ-1 характеризувалося зниженням їх кількості за умов застосування інозин пранобексу з $13,1 \pm 0,96$ до $8,86 \pm 0,76\%$, що наблизило до рівня активованих Т-лімфоцитів у здорових осіб. Тенденція до зниження була відмічена зі сторони регуляторних Т-лімфоцитів, проте їх рівень залишався все ж вищим ніж у здорових осіб.

Нами проведено порівняльний аналіз динаміки показників лімфограми у пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції до і після отримання базової та протівірусної (інозин пранобекс та ацикловір) терапії (табл.5.4).

Таблиця 5.4

Порівняльний аналіз показників популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у хворих на СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1 інфекції за умов застосування комбінованої терапії до і після лікування

Показники	Здорові особи	до лікування	після лікування
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	$68,3 \pm 1,56$	$75,4 \pm 3,11$	$66,7 \pm 2,63 \vee$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	$42,5 \pm 0,81$	$44,7 \pm 2,02$	$41,6 \pm 2,52$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	$25,8 \pm 0,8$	$30,7 \pm 1,4$	$25,1 \pm 2,07 \vee$
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	$9,67 \pm 0,98$	$11,3 \pm 0,48$	$8,14 \pm 1,17 \vee$
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	$12,3 \pm 1,03$	$14,5 \pm 1,28$	$13,5 \pm 1,59$
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	$2,16 \pm 0,43$	$5,12 \pm 0,76$	$2,57 \pm 0,92$
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	$14,3 \pm 1,36$	$9,39 \pm 1,18$	$13,4 \pm 2,25$

Продовження таблиці 5.4

CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	15,3±1,22	9,8±1,41	14,0±1,5 ^v
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	9,32±1,63	16,2±1,37	10,8±1,04 ^v
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	7,63±0,71	9,4±0,61	7,85±0,43 ^v
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	25,2±1,50	30,3±2,01	28,7±2,67
CD3 ⁺ HLA ⁺ lymphocytes	8,58±0,7	14,7±0,68	11,3±1,04 ^v
CD3 ⁻ HLA ⁺ lymphocytes	20,3±1,05	22,9±1,64	21,9±2,07

Примітка: ^v- показник вірогідності поміж хворими до і після лікування (P≤0,05)

Як бачимо в таблиці 5.4, у пацієнтів даної групи після закінчення лікування було відмічено зниження рівня Т-лімфоцитів з 75,4±3,11% до 66,7±2,63 % (p<0,05) і наблизило їх рівень до відповідного показника у здорових осіб. Т-цитотоксична субпопуляція на фоні отримання лікування відзначилася вірогідним зниженням показників в 1,22 рази, а Т-хелперна – тенденцією до зниження у порівнянні із показниками на початку дослідження.

На фоні застосування інозин пранобексу, ацикловіру та імуносупресивної терапії у пацієнтів даної підгрупи спостерігалася зниження рівня натуральних кілерних клітин з 11,3±0,48 до 8,14±1,17% (p<0,05) та В-лімфоцитів (p>0,05). Кількість активованих Т-лімфоцитів характеризувалася зниженням в 1,30 разів (p<0,05), а також регуляторних лімфоцитів – зниженням їх кількості з 9,4±0,61% до 7,85±0,43% (p<0,05).

Застосування комбінованої терапії мало позитивний вплив, що відобразилося у збільшенні відносної кількості CD8⁺CD28⁺-лімфоцитів після лікування з 9,8±1,41 до 14,0±1,5% (p<0,05), що в кінцевому результаті вірогідно не відрізнялося від здорових осіб (15,3±1,22%). Динаміка рівня CD45⁺CD56⁺CD69⁺-лімфоцитів у пацієнтів даної групи за умов застосування комбінованої терапії мала тенденцію до зниження, а CD45⁺56⁺69⁻- клітин зворотньо-до підвищення.

Розглянемо особливості змін популяційного та субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих з окремими СЗСТ на тлі ВПГ 1 типу інфекції за умов комплексного лікування (табл. 5.5).

**Порівняльний аналіз показників популяційного,
субпопуляційного складу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у
хворих із різними нозологічними одиницями СЗСТ на тлі ВПГ 1 типу
інфекції за умов**

Показники	Здорові (n=20)	РА+ВПГ-1 до лікування (n=18)	РА+ВПГ-1 після лікування	СЧВ+ВПГ-1 до лікування (n=16)	СЧВ+ВПГ-1 після лікування
CD3 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	68,3±1,56	70,7±2,21	65,2±1,55 [∇]	76,2±3,23	67,0±2,13 [∇]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Lymphocytes	42,5±0,81	46,8±1,06	42,6±1,28 [∇]	43,4±1,42	42,3±1,36
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Lymphocytes	25,8±0,8	23,9±1,09	22,6±1,51	32,8±1,06	24,7±1,27 [∇]
CD16 ⁺ 56 ⁺ Lymphocytes	9,67±0,98	12,6±1,05	8,43±1,24 [∇]	12,8±1,15	8,78±1,33 [∇]
CD19 ⁺ CD45 ⁺ Lymphocytes	12,3±1,03	13,6±1,34	12,6±1,10	16,8±1,45	15,9±1,16 ^{#*}
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁺ Lymphocytes	2,16±0,43	4,68±0,54	2,54±0,63 [∇]	5,24±0,79	3,42±1,03
CD45 ⁺ 56 ⁺ 69 ⁻ Lymphocytes	14,3±1,36	9,86±1,24	13,6±1,35 [∇]	9,52±1,13	11,5±1,28
CD8 ⁺ CD28 ⁺ Lymphocytes	15,3±1,22	12,1±1,01	15,6±1,29 [∇]	8,12±1,06	12,9±1,14 [∇]
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Lymphocytes	9,32±1,63	13,1±0,92	9,12±1,42 [∇]	18,2±1,58	11,9±1,22 [∇]
CD4 ⁺ CD25 ⁺ lymphocytes	7,63±0,71	10,6±1,24	8,39±1,11	9,80±0,75	8,67±1,28
CD4 ⁺ CD25 ⁻ lymphocytes	25,2±1,50	28,1±1,35	27,2±1,32	33,1±1,45	31,1±1,29
CD3 ⁺ HLA ⁺ DR lymphocytes	8,58±0,7	12,9±0,87	9,11±1,36 [∇]	14,9±1,18	11,1±1,02 [∇]
CD3 ⁻ HLA ⁺ DR lymphocytes	20,3±1,05	22,3±1,23	21,7±1,17	22,7±1,14	20,5±1,31

Примітка: [∇] - показник вірогідності поміж хворими в кожній з груп до і після лікування (p≤0,05);

[#] - показник вірогідності поміж групою хворих на РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1 (p≤0,05);

^{*} - показник вірогідності поміж групами РА+ВПГ-1 чи СЧВ+ВПГ-1 після лікування порівняно із здоровими особами (p≤0,05)

Аналіз даних табл. 5.5 свідчить, що тримісячне отримання імуносупресивної терапії у комбінації з інозин пранобексом та ацикловіром сприяло зменшенню числа Т-лімфоцитів як у групі хворих з РА+ВІГ 1 типу - з $70,7 \pm 2,21$ до $65,2 \pm 1,55\%$ ($p < 0,05$), так і групі хворих з СЧВ+ВІГ 1 типу - з $76,2 \pm 3,23$ до $67,0 \pm 2,13\%$ ($p < 0,05$), при чому варто відмітити, що вихідні показники в обох групах вірогідно не відрізнялися один від одного.

Цитотоксична субпопуляція Т-лімфоцитів характеризувалася зниженням у пацієнтів із РА+ВІГ-1 - з $23,9 \pm 1,09$ до $22,6 \pm 1,51\%$ ($p > 0,05$) та у пацієнтів із СЧВ+ВІГ-1 - $32,8 \pm 1,06$ до $24,7 \pm 1,27\%$ ($p < 0,05$) та практичною нормалізацією вихідних показників, порівнюючи із здоровими особами ($25,8 \pm 0,8\%$). Вірогідних змін у динаміці хелперної субпопуляції у пацієнтів із СЧВ на тлі реактивованої ВІГ 1 типу інфекції не спостерігалася. Проте варто зауважити, що рівень Т-хелперів у пацієнтів з РА+ВІГ-1 знизився та нормалізувався ($46,8 \pm 1,06\%$ та $42,6 \pm 1,28\%$; $p < 0,05$). Кількість натуральних кілерних клітин під впливом імуносупресивної та противірусної терапії вірогідно знизилася у групах пацієнтів із РА та СЧВ в поєднанні із ВІГ-1-інфекцією із $12,6 \pm 1,05$ до $8,43 \pm 1,24\%$ та із $12,8 \pm 1,15$ до $8,78 \pm 1,33$ відповідно ($p < 0,05$). Спостерігалася тенденція до зниження відносного числа В-лімфоцитів після лікування у пацієнтів обох досліджуваних підгруп, проте у групі пацієнтів СЧВ за умов реактивованої ВІГ-1-інфекції їх кількість ($15,9 \pm 1,16\%$) все ж була вірогідно вищою ніж у пацієнтів із РА+ВІГ 1 типу ($12,6 \pm 1,10\%$, $p < 0,05$) та у здорових осіб ($12,3 \pm 1,03\%$, $p < 0,05$).

У пацієнтів із РА+ВІГ-1 рівень активованих Т-лімфоцитів після лікування знизився з $12,9 \pm 0,87\%$ до $9,11 \pm 1,36\%$ ($p < 0,05$) та вірогідно не відрізнявся від аналогічного показника у здорових осіб. У пацієнтів із СЧВ+ВІГ-1 було відзначено зниження рівня активованих Т-лімфоцитів з $14,9 \pm 1,18\%$ до $11,1 \pm 1,02\%$ ($p < 0,05$), проте все ж залишався вірогідно підвищеним порівняно із здоровими особами. Зі сторони регуляторних Т-лімфоцитів була відмічена тенденція до зниження їх кількості у пацієнтів із

РА+ВПГ-1 - з $10,6 \pm 1,24\%$ до $8,39 \pm 1,11\%$ ($p > 0,05$) та СЧВ+ВПГ-1 - з $9,80 \pm 0,75\%$ до $8,67 \pm 1,28\%$ ($p > 0,05$).

Число лімфоцитів із фенотипом $CD8^+CD28^+$ на тлі застосування інозин пранобексу, ацикловіру та базової терапії результувало вірогідним зростанням їх кількості у групі пацієнтів із РА+ВПГ-1 – з $12,1 \pm 1,01\%$ до $15,6 \pm 1,29\%$ ($p < 0,05$) та пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 – з $8,12 \pm 1,06\%$ до $12,9 \pm 1,14$ ($p < 0,05$), що наблизило вихідні результати до рівня здорових осіб. У пацієнтів із РА+ВПГ-1 було відзначено вірогідне зниження лімфоцитів із фенотипом $CD45^+/56^+/69^+$ з $4,68 \pm 0,54\%$ до $2,54 \pm 0,63\%$, на відміну від пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1, у яких динаміка рівня аналогічного показника не була вірогідною.

Після закінчення тримісячного курсу комбінованої (протівірусної та імуносупресивної) терапії у групі пацієнтів із СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції було виявлено зниження кількості Т-лімфоцитів (включно із зниженням цитотоксичної субпопуляції лімфоцитів), НК-клітин (в тому числі і клітин із фенотипом $CD56^+CD69^+$), що свідчило про сприяння терапії інозин пранобексом та ацикловіром у вірогідному зменшенні вірусного навантаження. Кількість $CD8^+CD28^+$ -лімфоцитів у результаті проведеної протівірусної та базової терапії в групі пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією після лікування вірогідно збільшилася. Натомість число $CD8^+CD28^-$ -лімфоцитів після закінчення лікування знизилось, що могло вказувати на позитивний вплив лікування щодо формування фізіологічної імунної відповіді.

У пацієнтів із окремими СЗСТ поєднаними із ВПГ-1-інфекцією отримувана терапія результувала вірогідним зниженням субпопуляції цитотоксичних Т-лімфоцитів у хворих на СЧВ+ВПГ-1. Число Т-хелперів після тримісячного отримання комбінованої терапії мало тенденцію до зниження у пацієнтів з СЧВ+ВПГ-1, проте у групі пацієнтів із РА+ВПГ-1 показник хелперного пулу клітин знизився вірогідно. Була відмічена позитивна динаміка зі сторони НК-клітин, яка відобразилася у вірогідному зниженні їх кількості у обох групах досліджуваних, що свідчило про зменшенню вірусного навантаження під впливом застосування протівірусної

терапії. Зі сторони лімфоцитів із фенотипом $CD3^{+}HLA^{+}DR$ також було відмічено вірогідне їх зниження у групі пацієнтів із РА+ВПГ-1 та у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1, проте у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 рівень $CD3^{+}HLA^{+}DR$ лімфоцитів все ж залишався вірогідно підвищеним порівняно із здоровими особами. Вірогідне збільшення пулу клітин із фенотипом $CD8^{+}28^{+}$ відмітили у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 та РА+ВПГ-1, що було ознакою формування більш фізіологічної противірусної імунної відповіді, за рахунок зменшення вірусного навантаження.

Розглянемо зміни продукції IFN- α у слині та сироватці крові у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 під впливом рекомендованої терапії (табл.5.6).

Таблиця 5.6

Особливості синтезу IFN- α на системному та місцевому рівнях у хворих з СЗСТ- ВПГ-1-інфекцією до і після лікування

Групи \ Показник	Період дослідження	IFN- α в слині (пг/мл)	IFN- α в сироватці (пг/мл)
Здорові особи (n=20)	-	12,1 \pm 1,19	3,02 \pm 0,61
СЗСТ+ВПГ 1 типу (n=34)	До лікування	16,2 \pm 1,61	5,02 \pm 0,59
	Після лікування	12,7 \pm 0,78 *	3,55 \pm 0,43 *

Примітка: * - статистична різниця поміж хворими в кожній з підгруп до і після лікування

Найперше розглянемо динаміку місцевого інтерферогенезу IFN- α . Отже, як свідчать дані Таблиці 5.6 у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1, які застосовували комплексне імуносупресивне та противірусне, було відзначене зниження синтезу даного інтерферону в 1,28 раз, в результаті чого рівень IFN- α в слині після лікування вірогідно не відрізнявся від здорових осіб - 12,7 \pm 0,78 пг/мл та 12,1 \pm 1,19 пг/мл відповідно ($p > 0,05$). Щодо рівня IFN- α в сироватці крові хворих на СЗСТ+ВПГ-1, то застосування комплексної базової та противірусної терапії відобразилося вірогідним зниженням рівня даного інтерферону з 5,02 \pm 0,59 до 3,55 \pm 0,43 пг/мл ($p < 0,05$), та практичній його

нормалізації, зважаючи на рівень IFN- α у здорових осіб $3,02 \pm 0,61$ пг/мл. Нормалізація рівня IFN- α свідчила про стабілізацію противірусного захисту за рахунок зменшення негавного впливу ВПГ-1 на основі застосування противірусної терапії.

Нами було розглянуто особливості синтезу IFN- α у слині та сироватці крові в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 під впливом рекомендованого лікування в залежності від ступеня тяжкості перебігу ВПГ-1-інфекції (табл.5.7).

Таблиця 5.7

Особливості синтезу IFN- α на місцевому та системному рівнях у хворих з СЗСТ+ВПГ-1 в залежності від ступеня тяжкості перебігу інфекції до і після лікування

Показник Групи	Період дослідження	IFN- α в слині (пг/мл)	IFN- α в сироватці (пг/мл)
Здорові особи (n=20)	-	$12,1 \pm 1,19$	$3,02 \pm 0,61$
СЗСТ + легкий перебіг ВПГ-1 (n=16)	До лікування	$13,8 \pm 1,12$	$4,70 \pm 0,56$
	Після лікування	$11,9 \pm 1,03$	$3,25 \pm 0,83$
СЗСТ+ середньотяжкий+тяжкий перебіг ВПГ-1 (n=18)	До лікування	$18,7 \pm 1,87$	$5,25 \pm 0,91$
	Після лікування	$13,4 \pm 1,63$ *	$3,85 \pm 0,76$

Примітка: * - статистична різниця поміж хворими в кожній з підгруп до і після лікування

Як свідчать дані таблиці 5.7, у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції, які отримували базову терапію у поєднанні з інозин пранобексом ми відмітили тенденцію до зниження рівня IFN- α в слині з $13,8 \pm 1,12$ пг/мл до $11,9 \pm 1,03$ пг/мл та практично його нормалізацію, порівнюючи із здоровими особами $12,1 \pm 1,19$ пг/мл. Щодо групи пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1, то застосування базової терапії в поєднанні із ацикловіром та інозин пранобексом відобразилося у зниженні рівня даного інтерферону у слині – з $18,7 \pm 1,87$ до $13,4 \pm 1,63$ пг/мл ($p < 0,05$).

Якщо вести мову про синтез IFN- α на системному рівні, то застосування інозину пранобексу в комплексі з базовою терапією у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції призвело до нормалізації рівня даного інтерферону у сироватці крові - з $4,70 \pm 0,56$ пг/мл до $3,25 \pm 0,83$ пг/мл, що вірогідно не відрізняло даного показника від здорових осіб - $3,02 \pm 0,61$ пг/мл. Пацієнти із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1 під впливом тримісячного отримання рекомендованої терапії продемонстрували тенденцію до зниження рівня IFN- α у сироватці крові (з $5,25 \pm 0,91$ до $3,85 \pm 0,76$ пг/мл, $p > 0,05$).

Динаміку синтезу IFN- α на місцевому та системному рівнях у хворих з окремими СЗСТ на тлі ВПГ-1-інфекції за умов комплексного лікування наведено в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8

**Динаміка IFN- α на місцевому та системному рівнях у хворих на
РА+ВПГ-1 та СЧВ+ВПГ-1 до і після лікування**

Показник Групи	Період дослідження	IFN- α в слині (пг/мл)	IFN- α в сироватці (пг/мл)
Здорові особи (n=20)	-	$12,1 \pm 1,19$	$3,02 \pm 0,61$
РА+ВПГ 1 типу (n=18)	До лікування	$15,8 \pm 1,36$	$5,08 \pm 0,8$
	Після лікування	$12,9 \pm 1,29$	$3,28 \pm 0,38$
СЧВ+ВПГ 1 типу (n=16)	До лікування	$16,6 \pm 1,59$	$4,96 \pm 0,71$
	Після лікування	$12,4 \pm 1,02$ *	$3,22 \pm 0,45$ *

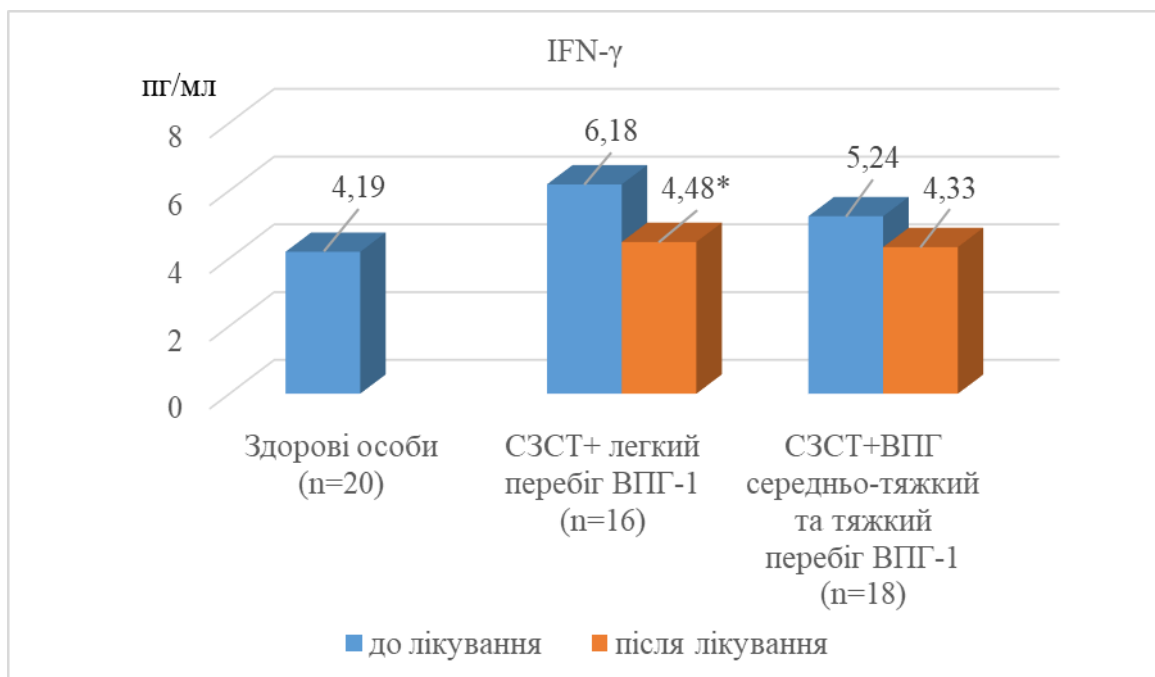
Примітка: ^ - статистична різниця поміж хворими в кожній з груп до і після лікування

Згідно з даними вказаними в табл. 5.8, отримання комплексної терапії мало позитивний вплив на динаміку IFN- α як на системному, так і на місцевому рівнях при кожній із досліджуваних аутоімунних патологій. Так у пацієнтів із РА+ВПГ-1 рівень IFN- α у слині знизився із $15,8 \pm 1,36$ пг/мл до $12,9 \pm 1,29$ пг/мл ($p > 0,05$). Схожа ситуація прослідковувалася і з СЧВ+ВПГ-1, враховуючи нормалізацію рівня IFN- α (з $16,6 \pm 1,59$ пг/мл до $12,4 \pm 1,02$ пг/мл, $p < 0,05$), що практично не відрізняло його від рівня у здорових осіб ($12,1 \pm 1,19$ пг/мл).

Позитивна динаміка під впливом терапії відслідковувалася і у продукції IFN- α на системному рівні у пацієнтів з РА та СЧВ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції. Ситуація на системному рівні була схожою як і на місцевому, оскільки у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 зниження рівня IFN- α в сироватці крові було вірогідним – з $4,96 \pm 0,71$ пг/мл до $3,22 \pm 0,45$ пг/мл ($p < 0,05$), а у групі РА+ВПГ 1 типу була відмічена тенденція до зниження рівня IFN- α з $5,08 \pm 0,8$ пг/мл до $3,28 \pm 0,38$ пг/мл.

Аналіз рівня IFN- γ в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 за умов застосування комбінованої протівірусної та базової терапії продемонстрував зниження і нормалізацію рівня цього прозапального цитокіну в даній групі з $5,71 \pm 0,56$ до $4,41 \pm 0,31$ пг/мл ($p < 0,05$).

Розглянемо особливості коливання рівня IFN- γ в сироватці хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з урахуванням ступеня тяжкості ВПГ-1-інфекції на тлі застосування рекомендованої терапії (рис.5.9).



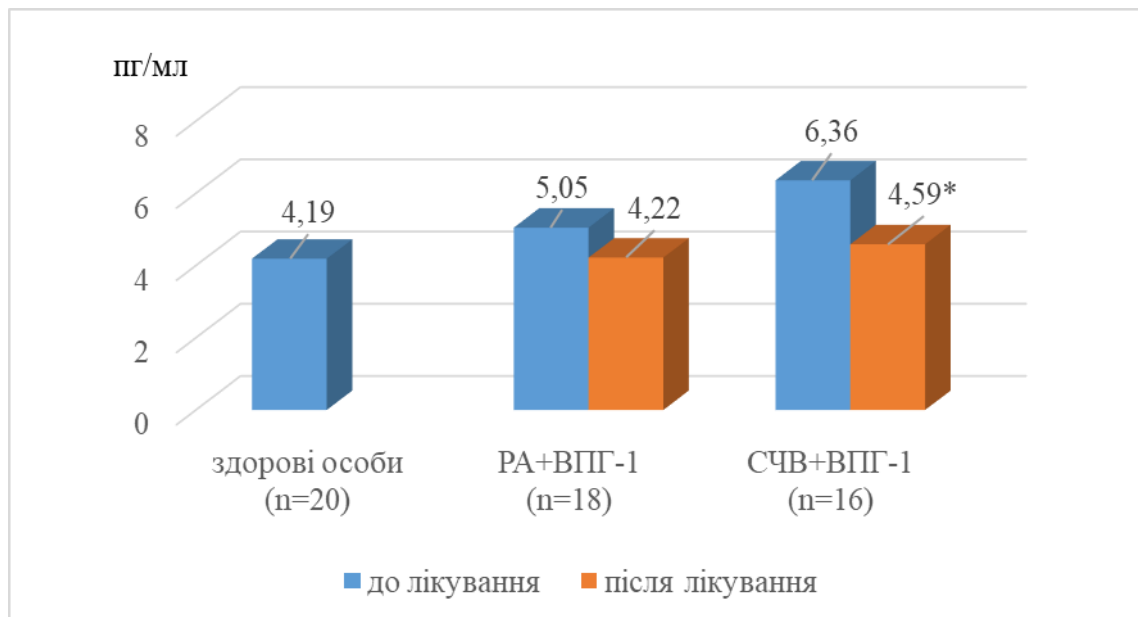
Примітка: *- статистична різниця показників «до лікування» та «після лікування»

Рис.5.9 Динаміка IFN- γ у хворих з СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції в залежності від тяжкості її перебігу

Як бачимо на рис.3.45, у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції спостерігалось зниження рівня IFN- γ з $6,18 \pm 0,63$ до $4,48 \pm 0,47$ пг/мл

($p < 0,05$) і у пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким+тяжким перебігом динаміка рівня IFN- γ була схожою, що відобразилося у зниженні рівня цього показника з $5,24 \pm 0,55$ до $4,33 \pm 0,39$ пг/мл ($p > 0,05$), та вірогідно не відрізнялося від здорових осіб ($4,79 \pm 0,65$, $p > 0,05$).

Розглянемо особливості змін синтезу IFN- γ у хворих з окремими СЗСТ на тлі ВПГ 1 типу інфекції за умов комплексного лікування (рис.5.10).



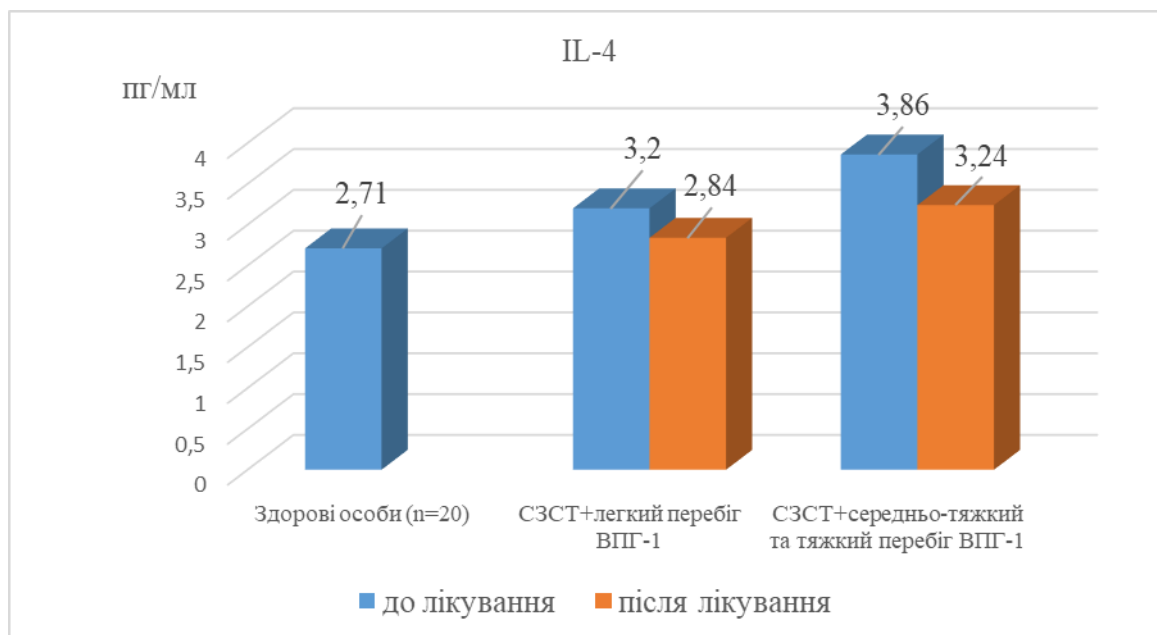
Примітка: *- статистична різниця показників «до лікування» та «після лікування»

Рис.5.10 Динаміка рівня IFN- γ у хворих на різні нозологічні форми СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції після лікування

Як бачимо на рисунку 5.10, комплексне імуносупресивне та противірусне лікування мало позитивний вплив на синтез IFN- γ шляхом нормалізації його рівня у пацієнтів із різними одиницями аутоімунної патології. Аналіз синтезу IFN- γ у сироватці крові продемонстрував вірогідне зниження у пацієнтів із СЧВ+ВПГ-1 – з $6,36 \pm 0,41$ до $4,59 \pm 0,36$ пг/мл ($p < 0,05$) та тенденцію до зниження у пацієнтів із РА+ВПГ-1- з $5,05 \pm 0,49$ до $4,22 \pm 0,31$ пг/мл ($p > 0,05$).

Розглянемо особливості синтезу ІЛ-4 у крові в хворих на СЗСТ+ВПГ-інфекцію до і після отримання рекомендованої терапії в залежності від ступеня тяжкості перебігу ВПГ 1 типу інфекції (рис.5.11).

У хворих із СЗСТ+ВПГ-1 застосування комбінованої базової та противірусної терапії результувало тенденцією до зниження рівня ІЛ-4 з $3,53 \pm 0,34$ пг/мл до $3,05 \pm 0,5$ пг/мл, що вірогідно не відрізнялося від здорових осіб - $2,71 \pm 0,43$ пг/мл.

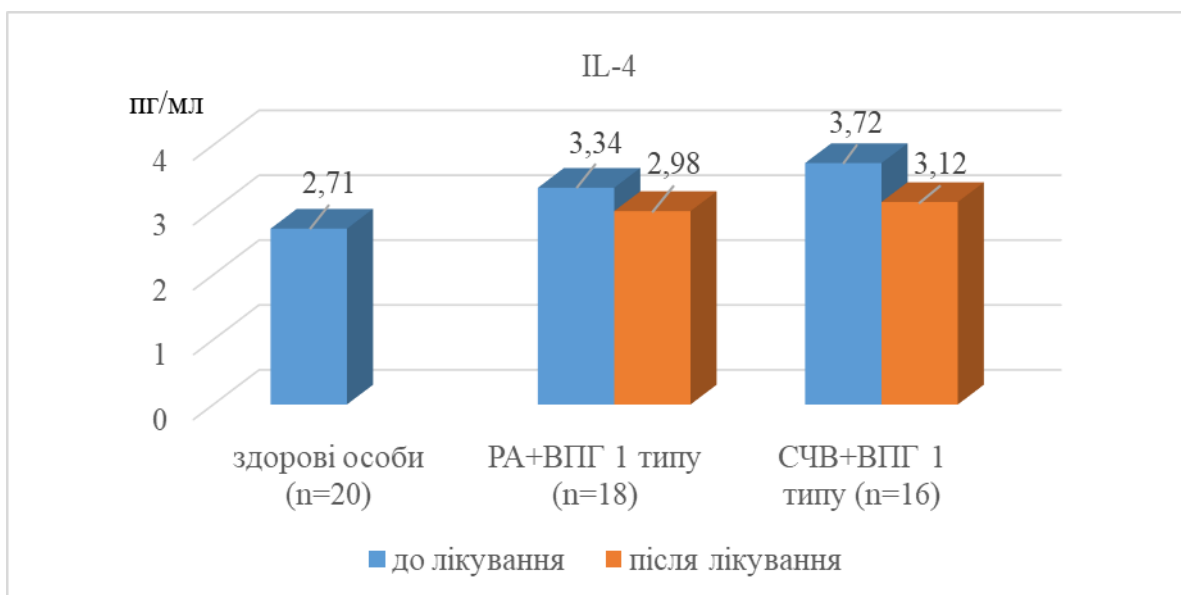


Примітка: * - статистична різниця показників «після лікування» з групою «здорові особи»; ^ - статистична різниця поміж хворими в кожній з підгруп до і після лікування

Рис.5.11 Динаміка ІЛ-4 у хворих з СЗСТ+ВПГ-1 інфекції в залежності від тяжкості її перебігу

Як бачимо з рисунку 5.11, у пацієнтів із СЗСТ на тлі застосування інозину пранобексу та базової терапії було відмічено тенденцію до зниження рівня ІЛ-4 з $3,20 \pm 0,42$ пг/мл до $2,84 \pm 0,57$ пг/мл. При застосуванні ацикловіру, інозин пранобексу та базової терапії у пацієнтів із СЗСТ середньо-тяжким+тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції ситуація була схожою і зниження рівня ІЛ-4 з $3,86 \pm 0,36$ до $3,26 \pm 0,85$ виявилося невірогідним.

Особливості синтезу ІЛ-4 у хворих з окремими нозологічними одиницями СЗСТ на тлі ВПГ 1 типу інфекції за умов комплексного лікування зображено на рис.5.12.



Примітка: *- статистична різниця показників «після лікування» з групою «здорові особи»

Рис.5.12 Динаміка рівня ІЛ-4 у хворих на різні нозологічні форми системних захворювань сполучної тканини на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції після лікування

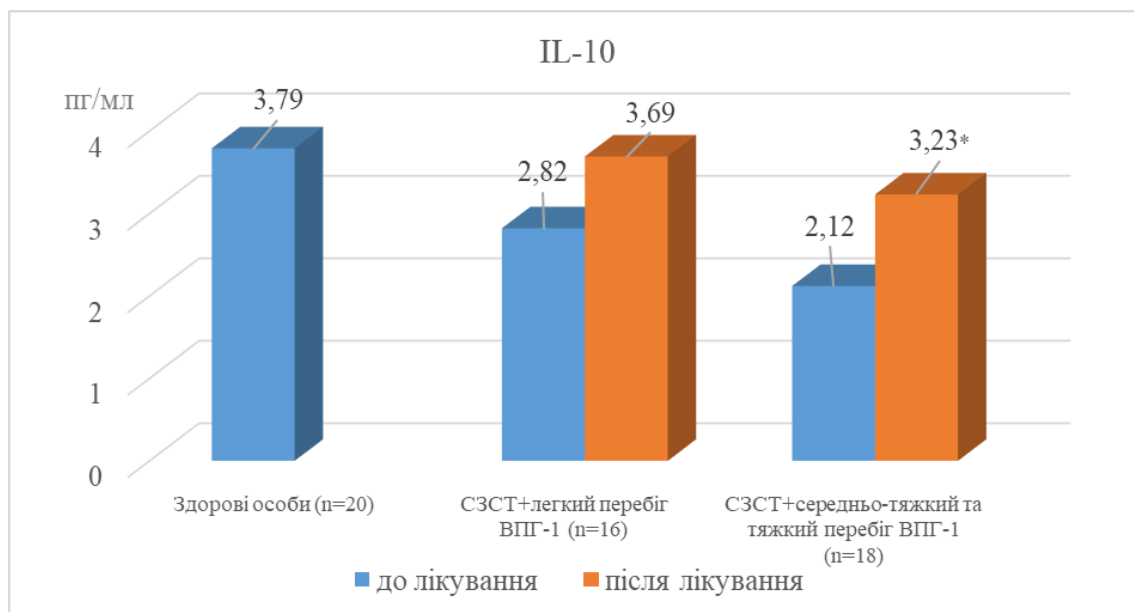
Як свідчать дані рисунку 5.12, динаміка продукції ІЛ-4 у підгрупах пацієнтів із СЧВ та РА на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції була позитивною, що було відображено в нормалізації рівня ІЛ-4 у цих двох підгрупах хворих - при СЧВ з $3,72 \pm 0,68$ до $3,12 \pm 0,51$ пг/мл ($p > 0,05$) та при РА – з $3,34 \pm 0,57$ до $2,98 \pm 0,46$ пг/мл ($p > 0,05$), що вірогідно не відрізнялося від здорових осіб.

Розглянемо особливості продукції ІЛ-10 у крові в хворих на СЗСТ+ВПГ-інфекцію до і після отримання рекомендованої терапії в залежності від ступеня тяжкості перебігу ВПГ-1-інфекції.

У хворих на СЗСТ та реактивованою ВПГ 1 типу інфекцією після тримісячного отримання базової та противірусної терапії було відмічено

підвищення та нормалізацію синтезу IL-10 з $2,47 \pm 0,40$ пг/мл до $3,46 \pm 0,25$ пг/мл ($p < 0,05$).

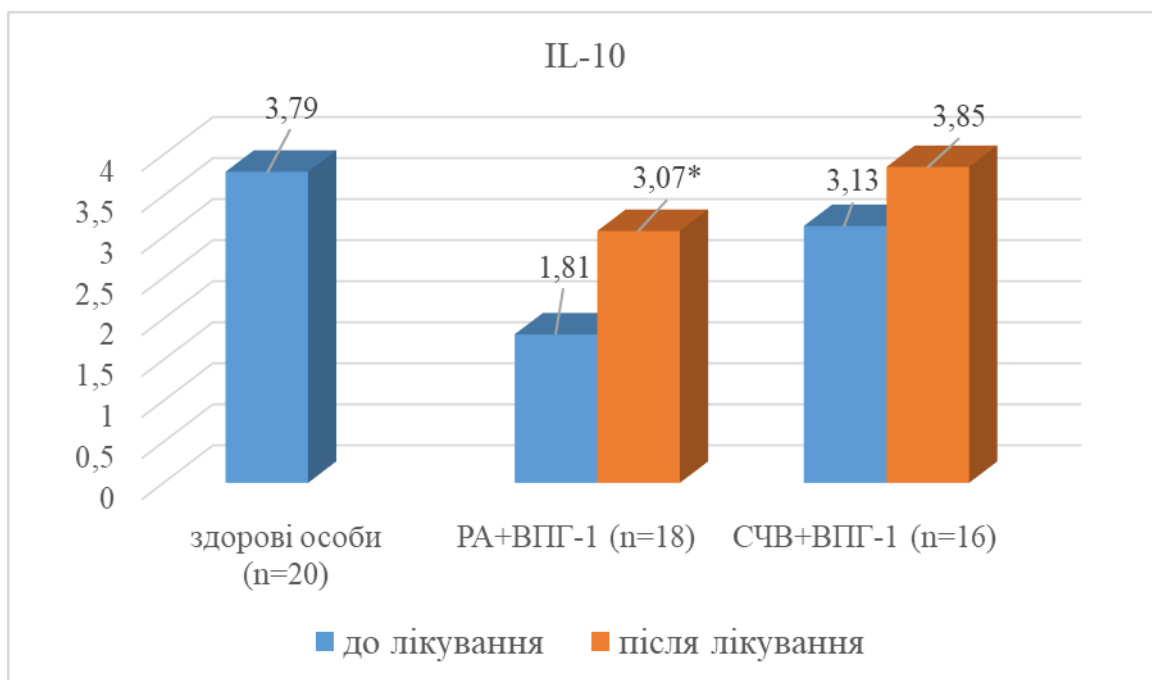
Проаналізуємо динаміку рівня IL-10 крові у хворих з СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції в залежності від ступеня тяжкості перебігу ВПГ 1 типу інфекції до і після отримання рекомендованої терапії (рис.5.13).



Примітка: * - статистична різниця поміж хворими в кожній з підгруп до і після лікування
 Рис.5.13 Динаміка IL-10 у хворих з СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції в залежності від тяжкості перебігу

Як можемо відмітити на рисунку 5.13 застосування противірусної терапії (інозин пранобекс) у поєднанні із базовою терапією призвело до посилення синтезу протизапального цитокіну - IL-10 у пацієнтів 1 групи ВПГ+СЗСТ – з $2,82 \pm 0,84$ пг/мл до $3,69 \pm 1,33$ пг/мл ($p > 0,05$), та практично не відрізнялося від здорових осіб ($3,79 \pm 0,52$ пг/мл). У пацієнтів із СЗСТ+середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції після застосування інозин пранобексу + ацикловіру та базової терапії ми відмітили посилення продукції інтерлейкіну-10 (з $2,12 \pm 0,45$ пг/мл до $3,23 \pm 0,31$ пг/мл; $p < 0,05$).

Характеристика синтезу ІЛ-10 у хворих з окремими нозологічними одиницями СЗСТ в поєднанні з реактивованою ВПГ 1 типу інфекцією за умов комплексної базової та противірусної терапії зведена на рис.5.14.



Примітка: *- статистична різниця поміж хворими в кожній з груп до і після лікування

Рис.5.14 Динаміка рівня ІЛ-10 у хворих на різні нозологічні форми системних захворювань сполучної тканини на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції після лікування

Дані наведені на рис.5.14 демонструють, що у пацієнтів із РА на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції отримання рекомендованої противірусної та базової терапії результувало зростанням рівня ІЛ-10 з $1,81 \pm 0,41$ пг/мл до $3,07 \pm 0,4$ ($p < 0,05$), та все ж вихідний рівень ІЛ-10 у даній підгрупі не відрізнявся від у здорових осіб ($3,79 \pm 0,52$ пг/мл, $p < 0,05$).

У пацієнтів із СЧВ на тлі отриманої терапії була відмічена тенденція до зростання ІЛ-10 з $3,13 \pm 0,49$ до $3,85 \pm 0,76$, що наблизило вихідний показник даного інтерлейкіну до рівня здорових осіб ($3,79 \pm 0,52$ пг/мл).

Таким чином, тримісячне отримання базової та противірусної терапії, яка включала інозин пранобекс та ацикловір, у пацієнтів із СЗСТ на тлі реактивованої простої герпесвірусної інфекції призвело до нормалізації рівня

IFN- α як в слині – в 1,41 рази, так і на системному рівні – в 1,28 раз, при цьому у пацієнтів із СЗСТ та середньо-тяжким та тяжким перебігом ВПГ-1-інфекції динаміка була вираженішою, ніж у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції.

Якщо говорити про динаміку IFN- α при кожній з окремих аутоімунних патологій, то вірогідною вона була у пацієнтів із СЧВ в поєднанні з ВПГ-1-інфекцією. За умов застосування комбінованої терапії у пацієнтів із СЗСТ поєднаними з ВПГ-1-інфекцією було відмічено зниження рівня IFN- γ в 1,29 разів, в тому числі у пацієнтів із СЗСТ та легким перебігом ВПГ-1-інфекції в 1,38 разів.

У пацієнтів із СЧВ за умов реактивованої ВПГ-1 інфекції рівень IFN- γ знизився в 1,39 разів. У хворих з СЗСТ на тлі ВПГ 1 типу інфекції після застосування інозин пранобексу та імуносупресантів була відмічена тенденція до зниження рівня IL-4.

Після тримісячного застосування протівірусної та базової терапії в хворих на СЗСТ та реактивовану ВПГ-1-інфекцію синтез IL-10 зменшився в 1,40 разів та нормалізувався.

Висновок до розділу 5

У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 доведена клінічна ефективність протівірусного лікування на тлі базової терапії, що характеризувалась зниженням функціонального індексу HAQ в 1,37 рази та зменшенням кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції у 1,64 рази; вірусологічна ефективність, що характеризувалась зниженням частоти виявлення ДНК ВПГ-1 в слині в 3,25 рази, у зішкрябах з місця ураження чи слизової – у 3,67 рази та крові - у 4,0 рази на тлі зниженого синтезу специфічних імуноглобулінів класу IgM та IgG; імунологічна ефективність, що характеризувалась зниженням кількості CD16⁺56⁺ - лімфоцитів - в 1,48 разів, CD3⁺HLA⁺DR-лімфоцитів - в 1,38 разів, CD56⁺69⁺ лімфоцитів - в 1,66 разів та підвищення відносної кількості

CD8⁺CD28⁺- лімфоцитів - в 1,42 рази; зниженням рівня IFN- α в крові - в 1,41 рази, в слині в 1,27 раз, IFN- γ - в 1,29 разів та підвищення IL-10 - в 1,40 разів.

Основні наукові результати розділу 5 опубліковані в праці автора: [8].

РОЗДІЛ 6

ХАРАКТЕРИСТИКА МІСЦЕВОЇ ТА СИСТЕМНОЇ ІНТЕРФЕРОНОРЕФРАКТЕРНОСТІ ТА ПЕРЕНОСИМОСТІ ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИСТЕМНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ РЕАКТИВОВАНОЇ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ 1 ТИПУ

Від швидкості «включення» синтезу інтерферону (зокрема IFN- α) в процес противірусного захисту залежить перебіг захворювання. Застосування стимуляторів інтерферону може призвести до виснаження власної інтерферонопродукуючої здатності клітин. Відтермінована чи знижена продукція ендogenous інтерферону може призвести в подальшому до хронізації захворювання чи більш тяжкого його перебігу з ризиком розвитку летальних випадків.

Для визначення інтерферонорефрактерності проведений порівняльний аналіз рівня IFN- α у крові і слині до лікування протягом перших семи днів лікування, на 45-52 день лікування та 90 день від початку лікування у хворих із СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією, які отримували інозин пранобекс (рис.6.1).

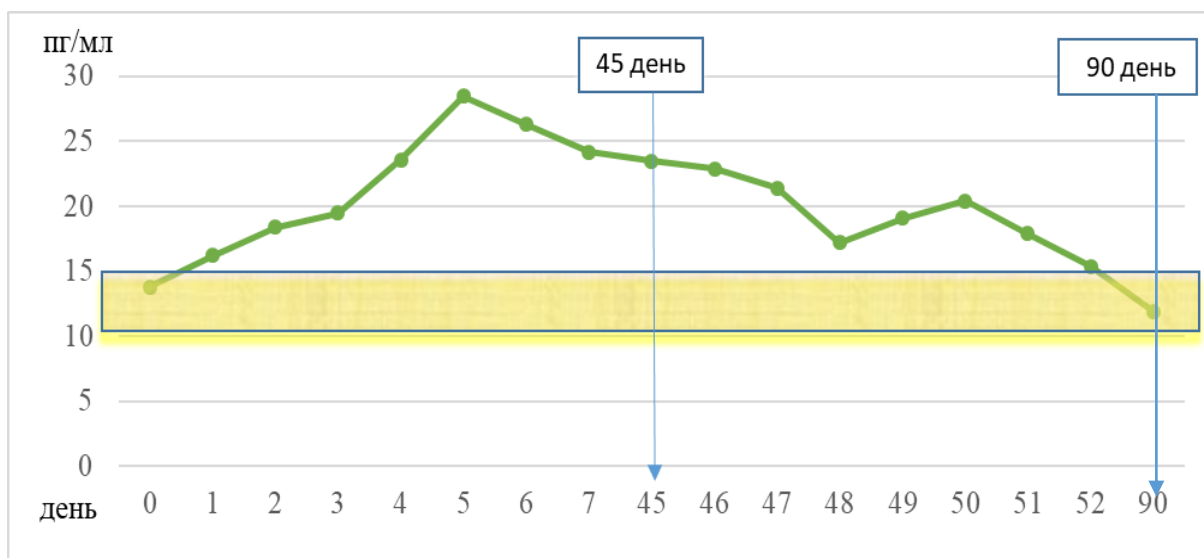


Рис. 6.1 Порівняльний аналіз рівня IFN- α у слині до лікування, в процесі лікування та після лікування у хворих на СЗСТ+ВПГ-1

Як видно з поданих даних рис. 6.1 до лікування вихідний рівень IFN- α в слині хворих на СЗСТ+ВПГ-1 становив $13,8 \pm 1,12$ пг/мл і не відрізнявся від рівня IFN- α у здорових осіб ($12,1 \pm 1,19$ пг/мл).

З першого ж дня лікування рівень IFN- α в слині почав підвищуватися і коливався в межах $13,96$ - $31,27$ пг/мл протягом перших семи днів лікування: рівень IFN- α на 3-7 день підвищувався до $28,5 \pm 2,77$ пг/мл і на сьомий день залишався все ж в 1,8 раз вищим від вихідних величин ($24,2 \pm 1,79$ пг/мл). Починаючи з 45 дня і до 52 дня лікування рівень IFN- α в слині почав поступово знижуватися (від $23,5 \pm 1,67$ пг/мл до $15,4 \pm 1,25$ пг/мл. На 90-й день його рівень знизився більше ніж у 2 рази (від максимального значення рівня IFN- α , яке було відзначене на 5 день лікування) і становив $11,9 \pm 1,03$ пг/мл.

Проведено порівняльну характеристику синтезу IFN- α у сироватці крові у хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією до лікування, в процесі лікування та після лікування (рис.6.2).

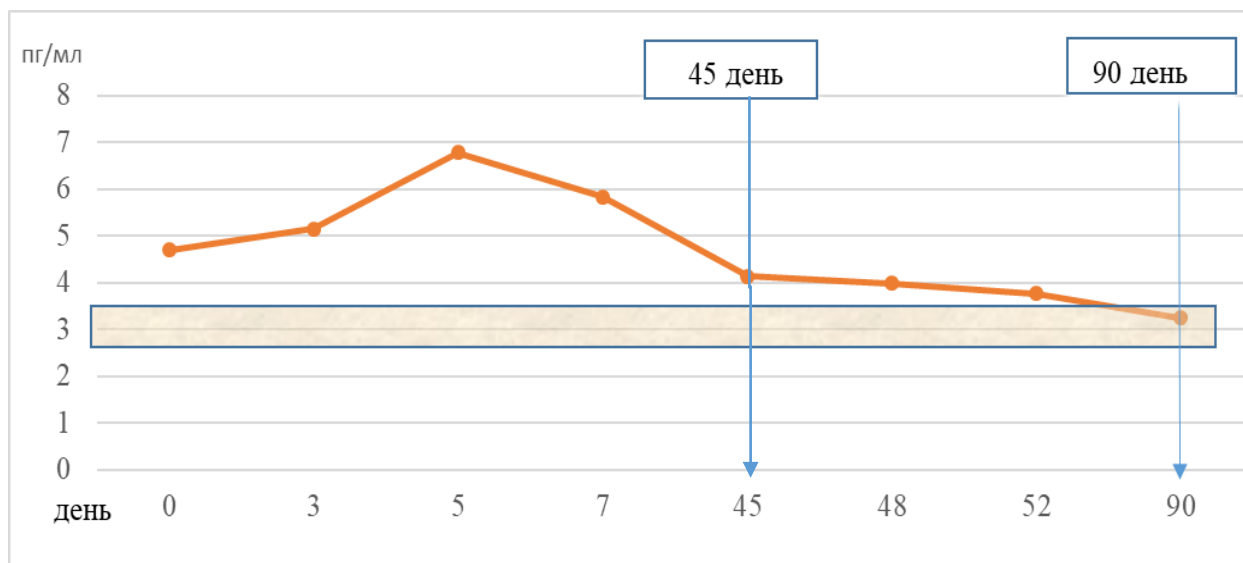


Рис. 6.2 Порівняльний аналіз рівня IFN- α в сироватці крові до лікування, в процесі лікування та після лікування у хворих на СЗСТ+ВПГ-1

Як видно з рис. 6.2, рівень IFN- α у сироватці крові хворих на СЗСТ+ВПГ-1 на 3-7 день лікування підвищувався до $6,78 \pm 1,32$ пг/мл, а на сьомий день відповідав вихідним величинам ($5,83 \pm 1,03$ пг/мл). Протягом періоду 45-52 дня рівень сироваткового IFN- α був стабільним в межах $3,98$ -

4,14 пг/мл і на 90-й день практично не відрізнявся від здорових осіб - $3,25 \pm 1,11$ пг/мл проти $3,02 \pm 0,61$ пг/мл відповідно.

Таким чином, концентрація IFN- α у слині хворих на СЗСТ+ВПГ-1, які отримували інозин пранобекс на тлі базової терапії протягом перших семи днів лікування підвищувалась, стабілізувалася та мала тенденцію до нормалізації протягом подальшого періоду лікування.

На системному рівні динаміка рівня даного інтерферону характеризувалася наростанням його концентрації протягом першого тижня отримання інозин пранобексу та базової терапії з подальшим поступовим його зниженням до рівня, що практично не відрізнявся від здорових осіб.

Отримані дані вказують на те, що комплексна терапія, яка містила імуносупресивний компонент та інозин пранобекс, за рахунок механізму дії останнього продемонструвала інтерферонорегулюючу дію інозину пранобексу у хворих з рецидивуючою ВПГ 1 типу інфекцією та СЗСТ на тлі відсутньої інтерферонорефрактерності.

Додатково, враховуючи тримісячне застосування противірусного та імуномодулюючого інозин пранобексу, нами було проведено аналіз переносимості інозин пранобексу у добовій дозі до 4 г і більше 4 г залежно від ваги пацієнта (Таблиця 6.1, 6.2).

Таблиця 6.1

**Оцінка переносимості інозин пранобексу у добовій дозі до 4 грам у складі комплексної терапії у хворих з СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією
(за оцінкою хворих та лікарів)**

Оцінка переносимості	За оцінкою хворих		За оцінкою лікарів	
	абс	%	абс	%
Добра	13	81,3	15	93,8
Задовільна	3	18,7	1	6,2
Незадовільна	0	-	0	-

Як видно з поданих даних Таблиці 6.1 переносимість інозин пранобексу в добовій дозі до 4 грам за оцінкою хворих становила: «добра» – 81,3%, «задовільна» - 18,7%. А за оцінкою лікарів становила: «добра» – 93,8%, «задовільна» - 6,2%. Жоден з пацієнтів не відзначив незадовільної переносимості. Незадовільного перенесення пацієнтами відзначено не було.

Таблиця 6.2

Оцінка переносимості інозин пранобексу у добовій дозі більше 4 грам у складі комплексної терапії у хворих з СЗСТ+ВПГ-1-інфекцією (за оцінкою хворих та лікарів)

Оцінка переносимості	За оцінкою хворих		За оцінкою лікарів	
	абс	%	абс	%
Добра	14	75,0	15	87,5
Задовільна	4	25,0	3	12,5
Незадовільна	0	-	0	-

Як бачимо з поданих даних Таблиці 6.2 переносимість інозин пранобексу у добовій дозі більше 4 грам за оцінкою хворих становила: «добра» – 75,0%, «задовільна» 25,0%. Переносимість інозин пранобексу у добовій дозі більше 4 грам за оцінкою лікарів становила: «добра» – 87,5%, «задовільна» 12,5%. Незадовільної переносимості пацієнтами також відзначено не було.

Переносимість інозин пранобексу за оцінкою хворих у добовій дозі більше 4 грам виявило більшу частку хворих з задовільним перенесенням (25,0%), ніж у хворих, які отримували інозин пранобекс у добовій дозі до 4 грам (18,7%). Така ж ситуація була відмічена і при оцінці лікарів - більша частка хворих із задовільним перенесенням була відмічена у випадку вживання інозин пранобексу в добовій дозі більше 4 грам.

Висновки до розділу 6

1. Переносимість інозин пранобексу була відзначена хворими «добра» 78,2%, лікарями - 90,6%, хворими «задовільна» - 21,8% та лікарями - 9,4% незалежно від дози інозин пранобексу.

2. Встановлено, що застосування інозин пранобексу в комплексі з базовою терапією в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 не викликало місцевої та системної інфтерферонорефрактерності.

Основні наукові результати розділу 6 опубліковані в праці автора: [7].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вірус простого герпесу протягом усього життя людини чинить постійний, що посилюється з роками, пресинг на імунну систему макроорганізму, створюючи замкнене коло: з одного боку, реактивація персистуючого вірусу відбувається на тлі транзиторного клітинного імунодефіциту, з іншого, – герпетична інфекція супроводжується подальшим зниженням імунітету та провокує розвиток аутоагресії, яка лежить в основі розвитку системних захворювань сполучної тканини. Тому краще розуміння імунопатогенезу системних захворювань сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції 1 типу підтверджує необхідність у подальшому детальному вивченні клінічних особливостей та імунологічних механізмів для формування персоніфікованого підходу до діагностики та лікування цих двох поєднаних патологій.

За допомогою клінічних, загальних лабораторних, біохімічних, молекулярно-генетичних, імунологічних, інструментальних методів обстежено 110 хворих, які були поділені на наступні групи: 1 група - 34 хворих на СЗСТ+ВПГ-1, яку склали 18 хворих на ревматоїдний артрит за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (РА+ВПГ-1) та 16 хворих на системний червоний вовчак за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції (СЧВ+ВПГ-1); 2 група - 40 хворих на СЗСТ (в тому числі 22 хворих на РА та 18 хворих на СЧВ); 3 група - 36 хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію; 4 група - 20 практично здорових осіб.

З метою порівняння ефективності рекомендованих схем лікування пацієнти з СЗСТ+ВПГ-1 та з реактивованою ВПГ-1-інфекцією додатково були поділені на підгрупи залежно від частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції протягом року: пацієнти з частотою рецидивів 1-2 рази на рік (легкий перебіг) та пацієнти з частотою рецидивів 3 і більше на рік (середньо-тяжкий+тяжкий перебіг). Пацієнти з реактивованою ВПГ-1-інфекцією з частотою рецидивів 1-3 рази на рік отримувати інозин пранобекс в дозуванні 100 мг/кг/добу протягом

перших 14 днів лікування з переходом на підтримуюче дозування - 50 мг/кг/добу протягом 3-х місяців. Пацієнти з ВПГ-1-інфекцією з частотою рецидивів 4 і більше разів на рік отримували протягом перших 14 днів лікування інозин пранобекс (100 мг/кг/добу) + ацикловір (1600 мг/добу), з переходом на підтримуючу терапію інозин пранобексом у дозі 50 мг/кг/добу протягом до 3-х місяців. Пацієнти з СЗСТ+ВПГ-1 отримували протівірусну терапію (за вище вказаною схемою) на тлі базової терапії. Пацієнти із СЗСТ без ознак ВПГ-1-інфекції отримували лише базову терапію.

Клінічний стан досліджуваних пацієнтів оцінювали на основі скарг, даних об'єктивного огляду та індексів активності СЗСТ (DAS28 - для оцінки активності РА, SLEDAI - для оцінки активності СЧВ) і функціонального індексу порушення життєдіяльності HAQ. Верифікація діагнозу ВПГ-1-інфекції базувалась на основі результатів ідентифікації ДНК вірусу одночасно в трьох біосередовищах (кров, слина, зішкряб з місця ураження чи слизових) з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із застосуванням набору реагентів «AmpliSens HSV-typing-FL». За допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) проводили визначення специфічних імуноглобулінів класів IgM та IgG до ВПГ-1 з використанням аналізатора Sunrise Tecan (Франція) на тест-системах „Вектор Бест” (РФ). Фенотипування лімфоцитів периферичної крові проводили на проточному цитофлуориметрі FACS Calibur ("Becton Dickinson", США), використовуючи набір моноклональних антитіл BD Multitest IMK Kit. Визначення IFN- α (в сироватці крові та слині), IFN- γ , IL-4 та IL-10 (в сироватці крові) проводили за допомогою твердофазного імуноферментного методу з використанням тест-системи „Вектор Бест” (РФ) та аналізатора Sunrise Tecan (Франція). Всі статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4. Проводили визначення середніх значень та їх стандартних похибок, оцінку вірогідності різниці за допомогою методу Манна-Уїтні та критерію Стьюдента.

Перший етап роботи передбачав визначення молекулярно-генетичних та серологічних маркерів ВПГ-1-інфекції у хворих досліджуваних груп. У результаті проведення молекулярно-генетичного дослідження в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 була виявлена в слині 38,2% хворих, зішкрябах з місць уражень чи слизових - 64,7%, крові - 11,8%; в тому числі одночасно в двох біосередовищах: слина + зішкряб з місць уражень чи слизових - у 11,8% хворих; зішкряб з місць уражень чи слизових + кров - у 8,82%; у трьох біосередовищах слина + зішкряб з місць уражень чи слизових + кров – в 2,94%.

У хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію ДНК ВПГ-1 виявлялась у слині - в 50,0% хворих, у зішкрябах з місць уражень чи слизових - у 72,2%, у крові - 5,56%; причому тільки в слині у 8 (22,2%) хворих, тільки в зішкрябах з місць уражень чи слизових – у 16 (44,4%) хворих. Одночасно в двох біосередовищах: слина + зішкряб з місць уражень чи слизових - у 10 (27,8%) хворих; слина+ зішкряб з місць уражень чи слизових + кров – в двох (5,56%). Таким чином, ДНК ВПГ-1 у хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію також частіше виявлялась у зішкрябах з місць уражень чи слизових (72,2%). У хворих на СЧВ+ВПГ-1 порівняно з хворими на РА+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 частіше виявлялась у крові (в 3,38 разів), у зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 1,35 разів) та в слині (в 1,31 рази), а також одночасно в кількох середовищах (у 3,0 рази).

Активация специфічної гуморальної ланки імунної системи спостерігалася у всіх групах досліджуваних хворих, на що вказував посилений синтез специфічних IgM та IgG, більш активний у групі хворих із СЗСТ+ВПГ-1. Так, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 рівень IgM-ВПГ-1 становив $1,83 \pm 0,18$ г/л, що було в 4,58 разів вище, ніж у хворих на СЗСТ ($0,40 \pm 0,06$ г/л; $p < 0,05$). Синтез специфічного IgG-ВПГ-1 також виявився у 2,46 разів вищим у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($18,5 \pm 3,25$ г/л) порівняно з хворими на СЗСТ ($7,53 \pm 1,85$ г/л; $p < 0,05$) та не відрізнявся від аналогічного показника в хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію ($16,4 \pm 2,59$ г/л; $p > 0,05$).

У хворих на СЗСТ+ВІГ-1 порівняно з хворими на СЗСТ спостерігалися частіше периферичні нейропатії - в 2,60 разів, ураження органа зору - в 2,36 разів, збільшення лімфатичних вузлів - у 1,83 разів, нефропатію - в 1,76 разів, біль голови - в 1,53 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,49 раз, виражену загальну слабкість - в 1,34 рази. У той же час, порівняно з хворими на ВІГ-1 інфекцією частіше спостерігалися: ураження органу зору - в 4,24 рази, атиповий перебіг ВІГ-1-інфекції (набрякова форма) - в 2,12 разів, периферичні нейропатії - в 1,86 разів, виражену загальну слабкість - в 1,54 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,43 рази.

У хворих на РА+ВІГ-1 порівняно з хворими на РА частіше спостерігалися наступні екстраартикулярні прояви: лімфаденопатія – в 3,67 рази ($p<0,05$), ураження органу зору – в 2,44 рази ($p<0,05$) та субфебрилітет в 1,71 раз ($p<0,05$).

У хворих на СЧВ+ВІГ-1 порівняно з хворими на СЧВ частіше були відзначені: нефропатія – в 2,25 разів, біль голови – в 2,03 рази ($p<0,05$), лімфаденопатія в 1,55 разів ($p<0,05$), гарячка – в 1,35 разів ($p<0,05$), а також симптоми зі сторони слизових оболонок - енантема в 1,69 разів ($p<0,05$) та виразкування слизової оболонки ротової та носової порожнин в 3,10 разів ($p<0,05$).

У групі пацієнтів із РА+ВІГ-1 кількість переважали пацієнти із серопозитивним варіантом РА за РФ, та anti-CCP була превалюючою і складала: за РФ - 77,8% хворих та за anti-CCP – 83,3 % хворих. В пацієнтів лише з РА розподіл був схожим: 72,7% хворих були серопозитивними за ревматоїдним фактором та 81,8% хворих - за антитілами до циклічного цитрулінового пептиду. Тобто, кількість пацієнтів серопозитивних за anti-CCP та за РФ вірогідно не відрізнялася у порівнюваних групах.

Статистична різниця щодо детекції патогномонічних для СЧВ аутоантитіл (ANA, anti-dsDNA, anti-Sm) між хворими на СЧВ+ВІГ-1 та хворими на СЧВ також не була виявлена.

Активність запального процесу в хворих на РА оцінена за індексом DAS28 була наступною: помірна активність (DAS28 до 3,2 до 5,1) - у 68,2% пацієнтів, висока активність (DAS28>5,2) - у 31,8% пацієнтів, а у хворих РА+ВІГ-1: помірна активність - у 55,6% пацієнтів, висока активність - у 44,4% пацієнтів. У хворих на СЧВ проведена оцінка активності та тяжкості перебігу СЧВ згідно міжнародного індексу SLEDAI: у хворих на СЧВ помірний ступінь активності (6-10 балів) – у 61,1% хворих ($p<0,05$), високий (11-19 балів) - 38,9% хворих, а у хворих на СЧВ+ВІГ-1: помірний ступінь активності - у 43,7%, а високий – у 56,3% хворих.

Таким чином, у хворих на РА+ВІГ-1 частота високої активності запального процесу за DAS28 виявилася в 1,4 разів вищою, ніж у хворих на РА. У хворих на СЧВ+ВІГ-1 частіше виявляли високу активність та тяжкий перебіг в 1,45 разів порівняно з хворими на СЧВ.

Проведено порівняльну характеристику функціонального стану хворих за допомогою індексу HAQ у досліджуваних групах хворих, яка дозволила виявити вірогідну різницю між порівнюваними групами. У хворих на СЗСТ+ВІГ-1 значення індексу HAQ було вищим ($1,90\pm0,19$) порівняно з хворими на СЗСТ ($1,44\pm0,13$; $p<0,05$), в тому числі у хворих на СЧВ+ВІГ-1 значення індексу HAQ також виявилось вірогідно вищим ($1,65\pm0,15$) порівняно із хворими на СЧВ ($1,18\pm0,12$; $p<0,05$). У хворих на РА+ВІГ-1 порівняно з хворими на РА вірогідної різниці значення індексу HAQ не виявлено.

Проведено дослідження фенотипічних особливостей лімфоцитів у хворих досліджуваних груп. У хворих на СЗСТ+ВІГ-1 встановлено підвищення кількості Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій ($CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$) порівняно з здоровими особами, на відміну від хворих на СЗСТ, у яких різниця між вказаними показниками була відсутня ($p>0,05$). Очікувано, що рівень $CD16^+56^+$ -лімфоцитів був підвищеним у хворих на СЗСТ+ВІГ-1 ($12,7\pm1,02\%$) та хворих на ВІГ-1 ($14,8\pm2,11\%$), порівняно з хворими на СЗСТ ($10,1\pm0,79\%$; $p<0,05$). Підвищення рівня $CD45^+19^+$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ ($16,2\pm1,10\%$),

ймовірно, було пов'язано із формуванням аутоімунних реакцій за гуморальним типом з активним синтезом аутоантитіл, а у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($15,2 \pm 1,01\%$) додатковим фактором стимуляції антитілогенезу виступав ВПГ-1. Встановлено, що рівень $CD45^{+}56^{+}69^{+}$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($4,96 \pm 0,53\%$) був вищим в 1,68 разів, ніж у хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію та в 1,41 разів - порівняно із хворими на СЗСТ. Особливо висока експресія $CD69^{+}$ антигенів на лімфоцитах відображала більш тяжкий перебіг основного захворювання з додатковим негативним впливом ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1. Рівень $CD8^{+}28^{+}$ -лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($10,1 \pm 1,78\%$) та хворих на ВПГ-1 ($10,7 \pm 0,92\%$) виявився нижчим порівняно із здоровими особами ($15,3 \pm 1,22\%$; $p < 0,05$) та хворими на СЗСТ ($14,6 \pm 1,38$; $p < 0,05$). Рівень $CD8^{+}28^{-}$ - лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($15,7 \pm 1,72\%$) та хворих на ВПГ-1 ($13,6 \pm 1,34\%$) був вищим, ніж у здорових осіб ($9,32 \pm 1,63\%$; $p < 0,05$), причому в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 рівень виявився вищим, ніж у хворих на СЗСТ ($11,4 \pm 1,21\%$; $p < 0,05$). Зміни експресії вказаних рецепторів призводили до більш тяжкого перебігу СЗСТ, в першу чергу в хворих з реактивованою ВПГ-1-інфекцією. Рівень регуляторних $CD4^{+}25^{+}$ -лімфоцитів виявився вищим у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($10,2 \pm 0,84\%$) і у хворих на СЗСТ ($9,89 \pm 0,87\%$) порівняно з здоровими особами ($7,63 \pm 0,71\%$; $p < 0,05$), що може бути компенсаторним фактором імунної відповіді на загострення вірусологічної реплікативної активності, яка несе загрозу посилення аутоагресії. Щодо лімфоцитів $CD3^{+}HLA^{+}DR$, то у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 їх рівень ($13,9 \pm 0,59\%$) був вищим в 1,51 рази порівняно із хворими на СЗСТ та в 1,23 рази порівняно з хворими на ВПГ-1 ($11,3 \pm 1,16\%$; $p < 0,05$). Вказані результати свідчать про підвищену активацію Т-лімфоцитів (особливо у хворих на СЗСТ+ВПГ-1), що сприяло посиленню аутоагресії з залученням клітинної ланки імунної системи.

Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ був відзначений вищий рівень $CD16^{+}56^{+}$ -лімфоцитів, $CD8^{+}28^{-}$ і нижчий $CD8^{+}28^{+}$ -лімфоцитів, а порівняно з хворими на ВПГ-1-інфекцію спостерігався

вищий рівень CD45⁺19⁺-лімфоцитів, CD3⁺HLA⁺DR-лімфоцитів та CD45⁺56⁺69⁺-лімфоцитів.

Проведено порівняльний аналіз рівня IFN- γ , IL-4, IL-10 у сироватці крові, а IFN- α в сироватці крові та в слині. Рівень IFN- γ в сироватці крові хворих на СЗСТ+ВПГ-1 виявився вищим ($5,71 \pm 0,56$ пг/мл), ніж у здорових осіб ($4,19 \pm 0,51$ пг/мл; $p < 0,05$) та в хворих на ВПГ-1 ($2,81 \pm 0,42$ пг/мл; $p < 0,05$) і нижчим, ніж у хворих на СЗСТ ($7,83 \pm 0,89$ пг/мл; $p < 0,05$). Максимальне збільшення рівня IFN- γ спостерігалось у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та хворих на СЗСТ, що сприяло подальшій втраті імунної толерантності, стимуляції В-лімфоцитів та, як наслідок, посилення продукції аутоантитіл. Зниження синтезу IFN- γ у пацієнтів на ВПГ-1 свідчило про виснаження механізмів противірусного захисту. Найвищий рівень ($4,13 \pm 0,51$ пг/мл) IL-4 в сироватці крові був виявлений у хворих на ВПГ-1 інфекцію, що було в 1,93 рази більше, ніж у хворих на СЗСТ та, ймовірно, пов'язано з активацією гуморальної ланки імунної системи, в тому числі специфічного антитілогенезу. Рівень IL-10 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ($2,47 \pm 0,40$ пг/мл) виявився нижчим, ніж у здорових осіб ($3,79 \pm 0,52$ пг/мл; $p < 0,05$). Вказані зміни рівня IL-10 могли проявляти імуносупресивний вплив, знижуючи експресію цитокінів Т-хелперів 1 типу, відповідальних за формування клітинного противірусного імунітету. Найвища концентрація IFN- α виявилася у хворих на ВПГ-1-інфекцію, що було вище в 1,46 разів, ніж у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та в 1,97 разів - ніж у хворих на СЗСТ. Підвищення рівня IFN- α - у слині вказує на активацію противірусного захисту. Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими на СЗСТ встановлено вищий рівень IL-4, нижчий рівень IFN- γ , а порівняно з хворими на ВПГ-1 спостерігали нижчий рівень IFN- α у слині і вищий рівень IFN- γ в сироватці крові.

Проведено математичне моделювання з використанням імунологічних показників, що дало змогу отримати низку рівнянь для визначення прогнозу перебігу захворювань. Визначено ризик реактивації ВПГ-1-інфекції для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 (чутливість 100%, специфічність 85%, загальна

точність моделі 92,5 %), прогноз кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції протягом року - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та з ВПГ-1, прогноз зростання активності СЗСТ - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 (чутливість 83,33%, специфічність 100%, загальна точність моделі 90%) та з СЗСТ (чутливість 88,89 %, специфічність 90,91%, загальна точність моделі 90 %).

Клінічна ефективність комплексної терапії в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 була оцінена на основі динаміки кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції та функціонального індексу НАQ. Отже, після проведеного лікування у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 кількість рецидивів зменшилася в 1,64 рази, а показник функціонального індексу НАQ в 1,37 рази.

Вірусологічна ефективність лікування в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 була оцінена шляхом аналізу динаміки виявлення ДНК ВПГ-1 та рівнів специфічних антитіл класів IgM та IgG. Отже, після тримісячного курсу комплексної терапії в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 частота виявлення ДНК ВПГ-1 зменшилась у слині в 3,25 рази, у зішкрябі з місця уражень чи слизових – у 3,67 рази та в крові у 4,0 рази. Вірусологічна ефективність протівірусної терапії становила 70,6%.

Таким чином, комбіноване застосування протівірусного лікування та тлі базової терапії призвело до вірогідного зниження реплікації ВПГ-1 в слині, крові та зішкрябі з місць уражень чи слизових у хворих з СЗСТ+ВПГ-1, що свідчило про ефективність застосування інозин пранобексу та ацикловіру в якості протівірусних препаратів для лікування реактивованої ВПГ-1-інфекції. Окрім цього, у вказаних хворих спостерігалось зниження синтезу специфічного IgM-ВПГ-1 в 2,32 рази та зниження рівня специфічного Ig-ВПГ-1 в 2,85 разів.

Оцінка імунологічної ефективності ґрунтувалася на аналізі динаміки популяційного, субпопуляційного складу лімфоцитів, їх активізаційних маркерів, рівня цитокінів IFN- γ , IL-4 та IL-10 в сироватці крові, IFN- α (в сироватці крові та слині).

Після закінчення курсу комбінованої терапії в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 було виявлено зменшення кількості CD16⁺56⁺-лімфоцитів у 1,48 разів та CD3⁺HLA⁺DR-лімфоцитів у 1,38 разів ($p < 0,05$). Відносна кількість CD8⁺CD28⁺-лімфоцитів у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 збільшилася в 1,42 рази, а CD8⁺CD28⁻ та CD56⁺69⁺ лімфоцитів - зменшилась відповідно в 1,50 та 1,66 разів. Після проведеного лікування спостерігалось підвищення рівня IL-10 в 1,40 разів та зниження в 1,28 разів рівня IFN- γ в сироватці крові. Концентрація IFN- α в сироватці крові зменшилась в 1,41 рази, а в слині - в 1,27 рази.

Для визначення інтерферонорефрактерності у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 на тлі застосування інозин пранобексу проведений порівняльний аналіз концентрації IFN- α у сироватці крові та слині за наступною схемою: до лікування, протягом перших семи днів лікування, на 45-52 день лікування та 90 день від початку лікування. Концентрація IFN- α у сироватці крові підвищувалася до $6,78 \pm 1,32$ пг/мл на 5 день лікування з поступовим зниження його рівня до $3,77 \pm 1,05$ пг/мл на 52 день та наступною його нормалізацією на 90 день лікування - $3,25 \pm 1,11$ пг/мл, що практично не відрізнялося від здорових осіб ($3,02 \pm 0,61$ пг/мл). Динаміка рівня IFN- α в слині характеризувалася наростанням його концентрації протягом першого тижня лікування (до $28,5 \pm 2,77$ пг/мл) з подальшим поступовим його зниженням ($11,9 \pm 1,03$ пг/мл), що практично не відрізнялося від показників здорових осіб ($12,1 \pm 1,19$ пг/мл). Отримані дані вказують на те, що терапія інозин пранобексом продемонструвала його інтерферонорегулюючу дію в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та не сприяла формуванню інтерферонорефрактерності.

У хворих на СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ 1 типу інфекції була оцінена переносимість протівірусної терапії з урахуванням добової дози інозин пранобексу (до 4 г та більше 4 г залежно від ваги пацієнта). Переносимість інозин пранобексу в добовій дозі до 4 г було оцінено пацієнтами як «добре» - у 81,3%, лікарями у 93,8% хворих, «задовільно»

пацієнтами у 18,7% хворих, лікарями - у 6,2%. При отриманні добової дози інозин пранобексу більше 4 грам оцінку «добре» поставили 75,0% пацієнтів та 87,5% - лікарів, «задовільно» - 25,0% пацієнтів та 12,5% лікарів. Незадовільного перенесення інозин пранобексу відзначено не було.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальне наукове завдання – удосконалення імунодіагностики та розробка підходів до застосування імуномодулюючої та противірусної терапії та створення математичної моделі прогнозування несприятливого перебігу та попередження розвитку ускладнень у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу.

1. Встановлено, що у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 частіше виявлялася в зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 64,7%), ніж у слині (38,2%) та крові (11,8%); порівняно із хворими на РА+ВПГ-1 у хворих на СЧВ+ВПГ-1 частіше ДНК ВПГ-1 виявляли в крові (в 3,38 разів), у зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 1,35 разів) та в слині (в 1,32 рази); у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ рівень IgM ВПГ-1 був підвищений у 4,58 рази, а IgG ВПГ-1 - у 2,46 рази.

2. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно хворими на СЗСТ спостерігали частіше периферичні нейропатії - в 2,60 рази, ураження органа зору - в 2,36 разів, збільшення лімфатичних вузлів - у 1,83 разів, нефропатію - в 1,76 разів, біль голови - в 1,53 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,49 раз, виражену загальну слабкість - в 1,34 рази. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими на ВПГ-1 інфекцію частіше спостерігали: ураження органу зору - в 4,24, атиповий перебіг ВПГ-1-інфекції (набрякова форма) - в 2,12 разів, периферичні нейропатії - в 1,86 разів, виражену загальну слабкість - в 1,54 рази, тривалий субфебрилітет - у 1,43 рази. Функціональний індекс НАQ у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 був у 1,32 рази вищим, ніж у хворих на СЗСТ, в основному серед хворих на СЧВ+ВПГ-1.

3. Досліджено, що у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ була підвищена кількість CD16+56+ - лімфоцитів (в 1,26 разів), CD8+28- - лімфоцитів (в 1,38 разів) та знижена кількість CD8+28+ - лімфоцитів (в 1,45 разів); порівняно з хворими на реактивовану ВПГ-1-інфекцію - більша кількість CD19+45+ - лімфоцитів (в 1,27 разів), CD3+HLA+DR - лімфоцитів (в 1,23 рази)

та CD45+56+69+ - лімфоцитів (в 1,68 разів). У хворих з СЧВ+ВПГ-1 порівняно із хворими на РА+ВПГ-1 була відзначена більша кількість CD3+CD4+ - лімфоцитів (в 1,21 рази), CD19+45+ - лімфоцитів (в 1,24 рази) та CD8+CD28+-лімфоцитів (в 1,30 разів).

4. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно із хворими на СЗСТ встановлено: вищий рівень IL-4 (в 1,65 разів), нижчий рівень IFN- γ (в 1,37 разів), а порівняно з пацієнтами з реактивованою ВПГ-1-інфекцією спостерігали вищий рівень IFN- γ (в 1,50 разів), нижчий IFN- α у слині (в 1,46 разів).

5. Використовуючи результати імунологічних досліджень запропоновано математичні моделі за методом логістичної регресії для прогнозування ризику реактивації ВПГ-1-інфекції у хворих на СЗСТ (чутливість 100%, специфічність 85%, загальна точність моделі 92,5%), ризику зростання активності СЗСТ у хворих з реактивованою ВПГ-1-інфекцією (чутливість 83,33%, специфічність 100%, загальна точність моделі 90%) та за методом множинної регресії для прогнозування кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції на рік у хворих на СЗСТ.

6. У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 доведена клінічна ефективність протівірусного лікування на тлі базової терапії, що характеризувалась зниженням функціонального індексу НАQ в 1,37 рази та зменшенням кількості рецидивів ВПГ-1-інфекції у 1,64 рази; вірусологічна ефективність, що характеризувалась зниженням частоти виявлення ДНК ВПГ-1 в слині в 3,25 рази, у зішкрябах з місця ураження чи слизової – у 3,67 рази та крові - у 4,0 рази на тлі зниженого синтезу специфічних імуноглобулінів класу IgM та IgG; імунологічна ефективність, що характеризувалась зниженням кількості CD16+56+ - лімфоцитів - в 1,48 разів, CD3+HLA+DR-лімфоцитів - в 1,38 разів, CD56+69+ лімфоцитів - в 1,66 разів та підвищення відносної кількості CD8+CD28+- лімфоцитів - в 1,42 рази; зниженням рівня IFN- α в крові - в 1,41 рази, в слині в 1,27 раз, IFN- γ - в 1,29 разів та підвищення IL-10 - в 1,40 разів.

7. Переносимість інозин пранобексу була відзначена хворими «добра» 78,2%, лікарями - 90,6%, хворими «задовільна» - 21,8% та лікарями - 9,4% незалежно від дози інозин пранобексу.

8. Встановлено, що застосування інозин пранобексу в комплексі з базовою терапією в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 не викликало місцевої та системної інфтерферонорефрактерності.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У хворих на СЗСТ з реактивованою ВПГ-1-інфекцією рекомендовано проводити молекулярно-генетичні дослідження з визначенням ДНК вірусу в трьох біологічних середовищах (кров, слина, зішкряб) та дослідження рівня специфічних IgM ВПГ-1 та IgG ВПГ-1.

2. Активність та динаміку запального процесу в хворих на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-типу інфекції рекомендовано оцінювати, використовуючи індекс НАQ та рівні IFN- γ , IL-4 та IL-10 в сироватці крові, IFN- α в сироватці крові та слині.

3. Хворим на СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції запропоновано використовувати наступні імунологічні чинники: для прогнозування реактивації ВПГ-1-інфекції (IL-10, CD8⁺28⁺-, CD8⁺28⁻-, CD45⁺56⁺69⁺-лімфоцитів), для прогнозування зростання ступеня активності СЗСТ (CD8⁺28⁻-лімфоцитів, IFN γ , IFN α (у слині)) та для прогнозування частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції (IFN α (слина), IFN γ , IL-10, CD3⁺HLA⁺DR⁻, CD4⁺CD25⁺-, CD8⁺28⁻-лімфоцитів).

4. Пацієнтам із реактивованою ВПГ-1-інфекцією з кількістю рецидивів 1-2 рази на рік запропоновано застосовувати інозин пранобекс у дозуванні 100 мг/кг/добу протягом 14 днів з переходом на дозування 50 мг/кг/добу протягом трьох місяців. Пацієнтами з кількістю рецидивів більше 3 і більше на рік рекомендовано до вище вказаного лікування додати ациковір 1600 мг/добу в комплексі з інозин пранобексом в перші 14 днів лікування та продовження застосування інозин пранобексу до 3 місяців.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абакушина Е. В., Кузьмина Е. Г., Коваленко Е. И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. *Иммунология*. 2012. № 4. С. 220–224.
2. Абдулмеджиева А. Г., Торганова И. Г., Витязева И. И. Влияние бессимптомной формы герпес-вирусной инфекции на эффективность лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология*. 2009. № 1. С. 45–48.
3. Абрамов В. В. Взаимозависимость параметров иммунитета и высшей нервной деятельности у человека / В. В. Абрамов, Т. Я. Абрамова, В. С. Кожевников и др. *Докл. Росс. Академии наук*. 2000. Т. 371, № 3. С. 410–412.
4. Алексеева Е. И., Литвицкий П. Ф. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, алгоритмы диагностики и лечения : рук. для врачей, преподавателей, науч. сотр. Москва : ВЕДИ, 2007. 368 с.
5. Бельська Л.М., Лісяний М.І., Ключникова А.І. Імунологічні показники пацієнтів з гліомами залежно від інфікування пухлин герпесвірусами. *Онкологія*. 2017. Т. 19, № 1. С. 29-32.
6. Варламова Т. В., Доршакова Н. В., Карапетян Т. А. Вирусы как кофакторы процесса нарушений аутоиммунной толерантности. *Уч. записки Петрозавод. гос. ун-та*. 2016. № 8(161). С. 14–19.
7. Горбаль Н. М., Іщейкін К. Е., Потьомкіна Г. О., Гайдучок І. Г., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Моніторинг синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію. *Пробл. екології та медицини*. 2018. Т. 22, № 5–6. С. 3–9.
8. Горбаль Н. М., Іщейкін К. Е., Потьомкіна Г. О., Гайдучок І. Г., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Особливості продукції IFN-α у хворих на рецидивуючу герпесвірусну інфекцію 1-го та 2-го типів. *Семейная медицина*. 2019. № 3(83). С. 37–42.
9. Горбаль Н. М., Чопяк В. В., Синенький О. В., Гайдучок І. Г. Особливості фенотипового розподілу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у

пацієнтів із інфекцією спричиненою вірусом простого герпесу та системними захворюваннями сполучної тканини.

10. Дранник Г. Н., Свидро Е. В. Инфекции, вызываемые вирусами простого герпеса. *Здоров'я України*. 2007. № 2. С. 24–25.
11. Дюдюн А. Д., Полион Н. Н., Нагорный А. Е Герпесвирусная инфекция. Клинико-иммунологические особенности. Клиническая лекция. *Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология*. 2015. № 3–4. С. 119–141.
12. Железникова Г. Ф. Воздействие вирусов на синтез цитокинов хозяина. *Вопр. вирусологии*. 2007. № 4. С. 4–10.
13. Зербіно Д. Д., Господарський І. Я., Федоров Ю. В., Чопяк В. В. Лекції з клінічної імунології та алергології для практичних лікарів : цикл лекцій. Ч. 2 : Вибр. питання клін. імунології та алергології. Львів : ЛНМУ, 2018. 622 с.
14. Злотникова М. В., Новикова И. А. Механизмы естественного и адаптивного иммунитета при инфекциях, вызванных вирусами простого герпеса 1 и 2 типа : лекция. *Пробл. здоровья и экологии*. 2014. № 1. С. 7–14.
15. Иванов В. А. Рецепторы к интерлейкину-4 и -13: строение, функция и генетический полиморфизм / В. А. Иванов, В. И. Трофимов, В. Н. Минеев и др. *Пульмонология*. 2010. № 3. С. 113–119.
16. Исаков В. А., Архипова Е. И., Исаков Д. В. Герпесвирусные инфекции человека : рук. для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. Санкт-Петербург : СпецЛит, 2013. 670 с.
17. Исаков В. А., Сельков С. А., Мошетова Л. К., Чернакова Г. М. Современная терапия герпесвирусных инфекций: рук. для врачей. Санкт-Петербург ; Москва, 2004. 176 с.
18. Исаков Д. В., Исаков В. А. Новые аспекты патогенеза простого герпеса : обзор. *Вестн. гематологии*. 2016. Т. 12, № 4. С. 13–18.
19. Казмирчук В. Е. Ошибки в диагностике и лечении инфекционной патологии. *Клін. імунологія, алергологія, інфектологія*. 2007. № 6. С. 50–52.

20. Казмірчук В. Є., Ковальчук Л. В. Клінічна імунологія та алергологія. Вінниця : НОВА КНИГА, 2006. 528 с.
21. Казмірчук В. Є., Мальцев Д. В. Сучасний погляд на етіологію, патогенез і лікування автоімунних хвороб людини. *Клін. імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2009. № 4(23). С. 23–32.
22. Калугина М. Ю. Герпетические инфекции у больных с иммунодефицитным состоянием / М. Ю. Калугина, Н. В. Каражас, В. И. Козина и др. *ЖМЭИ*. 2009. № 1. С. 79–80.
23. Караулов А. В., Евсегнеева И. В., Тюленева Е. Б. Изучение содержания растворимых форм дифференцировочных антигенов у больных с сахарным диабетом. *Росс. биотерапевт. журн.* 2006. № 1. С. 75–79.
24. Киселев О. И., Ткаченко Б. И., Ершов Ф. И. Индукция интерферонов: новые подходы к созданию функциональных индукторов. *Фундаментальные направления молекулярной медицины*. Санкт-Петербург, 2005. С. 269–327.
25. Клинические рекомендации: Простой герпес у взрослых : утв. решением Пленума правления Нац. науч. общества инфекционистов 30 окт. 2014 г. Москва, 2014. 129 с.
26. Коваленко В. М. Національний підручник з ревматології / В. М. Коваленко, Н. М. Шуба, В. К. Казимирко и др. Київ : МОРІОН, 2013. 672 с.
27. Коваленко В. Н., Головач И. Ю., Борткевич О. П. Сучасні мішені для цільової терапії ревматоїдного артриту: від моноклональних антитіл до блокаторів сигнальних молекул. *Укр. ревматол. журн.* 2012. № 49(3). С. 5–15.
28. Лисяный Н.И., Ключникова А.И., Лисяный А.Н., Бельская Л.Н., и др., Частота выявления днк вируса герпеса 4 типа в опухолях головного мозга. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2015. №3. С. 35-37.
29. Мальцев Д. В. Нові відкриття у механізмах інтерферон-залежного контролю над латентними альфа-герпесвірусами у сенсорних гангліях.

Чоловіче здоров'я, гендерна та психосоматична медицина. 2018. № 2(07). С. 19–32.

30. Мальцев Д. В. Герпесвірусні нейроінфекції людини : монографія. Київ : ЦУЛ, 2017. 468 с.
31. Мальцев Д. В., Горбенко В. Ю. Клінічний випадок попереково-крижового мієліту HSV2-етіології у пацієнта з вибіркоvim дефіцитом природних кілерів. *Укр. неврол. журн.* 2018. № 2. С. 74–80.
32. Мальцев Д. В., Недопако Я. Я. Дефіцит природних кілерів: гетерогенність, клініка, діагностика, лікування, клінічні приклади. *Укр. мед. часопис.* 2013. № 2(94). С. 129–142.
33. Меледина И. В. Функциональное состояние иммунной и нервной систем у пациентов с инфекцией вирусом простого герпеса различной степени тяжести / И. В. Меледина, В. В. Абрамов, Т. Я. Абрамова и др. *Сибир. мед. журн.* 2008. Т. 82, № 7 : Спец. вып. : Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии», посв. 85-летию каф. инфекц. болезней Иркут. гос. мед. ун-та, 27–28 нояб. 2008 г., Иркутск. С. 49–54.
34. Методичні рекомендації для самостійної (позааудиторної) роботи студентів / ЛНМУ ім. Д. Галицького, каф. клін. імунології та алергології. Львів, 2015.
35. Москалец О. В. Роль инфекций в развитии аутоиммунных заболеваний. *Казан. мед. журн.* 2017. Т. 98, № 4. С. 586–591.
36. Муругин В. В. Комплекс методов исследования НК-клеток в норме и при патологии : дис. ... канд. мед. наук : 03.03.03. Москва, 2012. 134 с.
37. Муругин В. В., Зуйкова И. Н., Муругина Н. Е. Дефицит дегрануляции НКклеток у больных хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекцией. *Иммунология.* 2010. Т. 31(6). С. 284–289.
38. Наби-Заде К. Т. Комплексная противовирусная и иммунозаместительная терапия сочетанной герпетической инфекции : автореф. дис. на соискание

уч. степ. канд. мед. наук : спец. 14.00.11 «Кожные и венерические болезни». Москва, 2003. 192 с.

39. Насонов Е. Л., Александрова Е. Н., Новиков А. А. Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонифицированной терапии. *Вестн. РАМН*. 2015. Т. 70, № 2. С. 169–182. doi: 10.15690/vramn.v70i2.1310.
40. Насонов Е. Л., Александрова Е. Н., Новиков А. А. Аутоиммунные ревматические заболевания: итоги и перспективы научных исследований. *Науч.-практ. ревматология*. 2015. Т. 53, № 3. С. 230–237. doi: 10.14412/1995-4484-2015-230-237.
41. Невская Т. А., Рязанцева Т. А., Гусева Н. Г. Клиническое значение интерлейкина-4 при системной склеродермии. *Науч.-практ. ревматология*. 2002. Т. 40, № 1. С. 9–13. doi: 10.14412/1995-4484-2002-741.
42. Новикова И. А. Клиническая иммунология и аллергология : учеб. пособие. Минск : Тесей, 2011. 392 с.
43. Носик Н. Н., Стаханова В. М. Лабораторная диагностика вирусных инфекций. *Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия*. 2000. Т. 2, № 2. С. 70–78.
44. Пронина Н. А. Влияние персистенции вируса простого герпеса на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками при ревматоидном артрите / Н. А. Пронина, В. С. Свиридова, Е. Н. Кологривова и др. *Мед. иммунология*. 2009. Т. 11, № 1. С. 91–94. doi: 10.15789/1563-0625-2009-1-91-94
45. Протокольний підхід з надання медичної допомоги хворим на аутоімунні ревматичні хвороби : метод. рекомендації. Львів, 2007. 47 с.
46. Ревматология : клинические рекомендации / гл. ред. Е. Л. Насонова. Москва : ГЭОТАР-Меди, 2008. 272 с.
47. Савво В. М., Киселева Л. П. Вирусы и аутоиммунные ревматические заболевания взгляд на проблему. *Анали Мечников. ін-ту*. 2010. № 2. С. 5–10.

48. Самгин М. А., Халдин А. А. Простой герпес: дерматологические аспекты. Москва : МЕДпресс-информ. 2002. 160 с.
49. Симбирцев А. С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета. *Иммунология*. 2005. № 6. С. 368–376.
50. Сорокіна О. Г., Лядова Т. І., Попов М. М., Дорош Д. М., та ін. Вікові особливості перебігу деяких форм герпесвірусної інфекції. *Міжнародний медичний журнал (інфекційні хвороби)*. 2020. №3. С. 79-82.
51. Abaitua F., O'Hare P. Identification of a highly conserved, functional nuclear localization signal within the N-terminal region of herpes simplex virus type 1 VP1-2 tegument protein. *J Virol*. 2008. Vol.82. P. 5234–5344.
52. Abe T., Barber G.N. Cytosolic-DNA-mediated, STING-dependent proinflammatory gene induction necessitates canonical NF-kappaB activation through TBK1. *J Virol*. 2014. Vol. 88. P.5328–5341. doi: 10.1128/JVI.00037-14.
53. Abe T., Harashima A., Xia T., Konno H., Konno K, Morales A, Ahn J, Gutman D, Barber GN. STING recognition of cytoplasmic DNA instigates cellular defense. *Mol Cell*. 2013. Vol. 50. P. 5–15.
54. Ablasser A., Bauernfeind F., Hartmann G., Latz E., Fitzgerald K.A., Hornung V. RIG-I-dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate. *Nat Immunol*. 2009. Vol. 10(10). P. 1065-1072.
55. Adamo A., Collis S.J., Adelman C.A., et al. Preventing nonhomologous end joining suppresses DNA repair defects of Fanconi anemia. *Mol Cell*. 2010. Vol. 39(1). P. 25–35.
56. Advani S.J., Markert J.M., Sood R.F., Samuel S., Gillespie G.Y., Shao M.Y. et al. Increased oncolytic efficacy for high-grade gliomas by optimal integration of ionizing radiation into the replicative cycle of HSV-1. *Gene Ther*. 2011. Vol. 18. P. 1098–1102.

57. Adjei A. A. Seroprevalence of HHV-8, CMV, and EBV among the general population in Ghana, West Africa / A. A. Adjei, H. B. Armah, F. Gbagbo et al. *BMC Infect. Dis.* 2008. Vol. 8. Article 111. doi: 10.1186/1471-2334-8-111.
58. Adler A. C. Herpes simplex encephalitis with two false — negative cerebrospinal fluid PCR tests and review of negative PCR results in the clinical setting / A. C. Adler, S. Kadimi, C. Apaloo et al. *Case Rep. Neurol.* 2011. Vol. 3(2). P. 172–178. doi: 10.1159/000330298.
59. Agelidis A. M., Shukla D. Cell entry mechanisms of HSV: what we have learned in recent years. *Future Virol.* 2015. Vol. 10(10). P. 1145–1154. doi: 10.2217/fvl.15.85.
60. Agostini S., Mancuso R., Baglio F., Clerici M. A protective role for herpes simplex virus type-1-specific humoral immunity in Alzheimer's Disease. *Expert Rev. of Anti-infective Ther.* 2017. Vol. 15, Is. 2. P. 89–91.
61. Akpolat N. Relationship between serum cytokine levels and histopathological changes of liver in patients with hepatitis B / A. C. Adler, S. Kadimi, C. Apaloo et al. *World J. Gastroenterol.* 2005. Vol. 11(21). P. 3260–3263. doi: 10.3748/wjg.v11.i21.3260.
62. Alexopoulos H., Dalakas M.C. The immunobiology of autoimmune encephalitides. *J Autoimmun.* 2019. Vol. 104:102339. doi: 10.1016/j.jaut.2019.102339.
63. Almerigogna F. Natural killer cell deficiencies in a consecutive series of children with herpetic encephalitis / F. Almerigogna, F. Fassio, M. G. Giudizi et al. Vol. 24, Is. 1. P. 231–238. doi: 10.1177/039463201102400128.
64. Amand M. Human CD56^{dim} CD16^{dim} cells as an individualized natural killer cell subset / M. Amand, G. Iserentant, A. Poli et al. *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. Article 699. doi: 10.3389/fimmu.2017.00699.
65. Aoki R. Mast cells play a key role in host defense against herpes simplex virus infection through TNF- α and IL-6 production / R. Aoki, T. Kawamura, F. Goshima et al. *J. Invest. Dermatol.* 2013. Vol. 133, Is. 9. P. 2170–2179. doi: 10.1038/jid.2013.150.

66. Apps R. Relative expression levels of the HLA class-I proteins in normal and HIV-infected cells / R. Apps, Zh. Meng, G. Q. Prete et al. *J. Immunol.* 2015. Vol. 194(8). P. 3594–3600. doi: 10.4049/jimmunol.1403234.
67. Aquino-López A. Interferon gamma induces changes in natural killer (NK) cell ligand expression and alters NK cell-mediated lysis of pediatric cancer cell lines / A. Aquino-López, V. V. Senyukov, Z. Vlasic et al. *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. Article 391. P. 1–12. doi: 10.3389/fimmu.2017.00391.
68. Arleevskaya M. I., Kravtsova O. A., Lemerle J., Renaudineau Y., Tsibulkin A. P. How Rheumatoid Arthritis Can Result from Provocation of the Immune System by Microorganisms and Viruses. *Frontiers in microbiology.* 2016. Vol. 7, 1296. doi: 10.3389/fmicb.2016.01296.
69. Arreygue-Garcia N. A. Augmented serum level of major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) protein and reduced NKG2D expression on NK and T cells in patients with cervical cancer and precursor lesions / N. A. Arreygue-Garcia, A. Daneri-Navarro, A. Toro-Arreola del et al. *BMC Cancer.* 2008. Vol. 8. Article 16. doi: 10.1186/1471-2407-8-16.
70. Ashkar A. A. Toll-like receptor (TLR)-3, but not TLR4, agonist protects against genital herpes infection in the absence of inflammation seen with CpG DNA / A. A. Ashkar, X.-D. Yao, N. Gill et al. *J. Infect. Dis.* 2004. Vol. 190(10). P. 1841–1849. doi: 10.1086/425079.
71. Astruc J. *De Morbis Venereis Libri Sex.* Paris [Widow of P. du Mesnil for G. Cavelier], 1736. 599 p.
72. Ballantyne C. M., Kozak C. A., O'Brien W. E., Beaudet A. L. Assignment of the gene for intercellular adhesion molecule-1 (Icam-1) to proximal mouse chromosome 9. *Genomics.* 1991. Vol. 9(3). P. 547–550. doi: 10.1016/0888-7543(91)90423-c.
73. Barreiro L. B. Evolutionary dynamics of human Toll-like receptors and their different contributions to host defense / L. B. Barreiro, M. Ben-Ali, H. Quach et al. *PLoS Genet.* 2009. Vol. 5. Is. 7. Article e1000562. doi: 10.1371/journal.pgen.1000562.

74. Baumert T. F., Thimme R., Weizsäcker von F. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2007. Vol. 13(1). P. 82–90. doi: 10.3748/wjg.v13.i1.82.
75. Bellucci R. Interferon- γ -induced activation of JAK1 and JAK2 suppresses tumor cell susceptibility to NK cells through upregulation of PD-L1 expression / R. Bellucci, M. Allison, D. Bommarito et al. *OncoImmunology*. 2015. Vol. 4, Is. 6. Article e1008824. doi: 10.1080/2162402X.2015.1008824.
76. Berthou C. Interferon-gamma-induced membrane PAF-receptor expression confers tumor cell susceptibility to NK perforin-dependent lysis / C. Berthou, J. F. Bourge, Y. Zhang et al. *Blood*. 2000. Vol. 95. P. 2329–2336.
77. Bertoletti A., Gehring A. J. The immune response during hepatitis B virus infection. *J. Gen. Virol.* 2006. Vol. 87(Pt 6). P. 1439–1449. doi: 10.1099/vir.0.81920-0.
78. Biron C. A., Byron K. S., Sullivan J. L. Severe herpesvirus infections in an adolescent without natural killer cells. *N. Engl. J. Med.* 1989. Vol. 320(26). P. 1731–1735. doi: 10.1056/NEJM198906293202605.
79. Blouin C. M., Lamaze C. Interferon gamma receptor: the beginning of the journey. *Front. Immunol.* 2013. Vol. 4. Article 267. doi: 10.3389/fimmu.2013.00267.
80. Bochud P. Y. Polymorphisms in TLR2 are associated with increased viral shedding and lesional rate in patients with genital herpes simplex virus Type 2 infection / P. Y. Bochud, A. S. Magaret, D. M. Koelle et al. *J. Infect. Dis.* 2007. Vol. 196, Is. 4. P. 505–509. doi: 10.1086/519693.
81. Boehme K. W., Compton T. Innate sensing of viruses by toll-like receptors. *J. Virol.* 2004. Vol. 78, Is. 15. P. 7867–7873. doi: 10.1128/JVI.78.15.7867-7873.2004.
82. Boisson-Dupuis S. Inborn errors of human STAT1: allelic heterogeneity governs the diversity of immunological and infectious phenotypes / S. Boisson-Dupuis, X.-F. Kong, S. Okada et al. *Curr. Opin. Immunol.* 2012. Vol. 24(4). P. 364–378. doi: 10.1016/j.coi.2012.04.011.

83. Casanova J. L, Tardieu M., Abel L. Genetic predisposition to herpetic meningo-encephalitis in children. *Bull. Acad. Natl. Med.* 2010. Vol. 194(6). P. 915–922.
84. Chew T., Taylor K. E., Mossman K. L. Innate and adaptive immune responses to herpes simplex virus. *Viruses.* 2009. Vol. 1(3). P. 979–1002. doi: 10.3390/v1030979.
85. Chisholm S. E., Howard K., Gomez M. V., Reyburn H. T. Expression of ICP0 is sufficient to trigger natural killer cell recognition of herpes simplex virus-infected cells by natural cytotoxicity receptors. *J. Infect. Dis.* 2007. Vol. 195, Is. 8. P. 1160–1168. doi: 10.1086/512862.
86. Chung A. W. Rapid degranulation of NK cells following activation by HIV-specific antibodies / A. W. Chung, E. Rollman, R. J. Center et al. *J. Immunol.* 2009. Vol. 182(2). P. 1202–1210. doi: 10.4049/jimmunol.182.2.1202.
87. Current developments in biotechnology and bioengineering: Human and Animal Health Applications / eds V. Soccol, A. Pandey, R. Resende. Amsterdam : Elsevier, 2016. 680 p.
88. Dalbeth N., Callan M. F. C. A subset of natural killer cells is greatly expanded within inflamed joints. *Arthr. Rheum.* 2002. Vol. 46. No. 7. P. 1763–1772. doi: 10.1002/art.10410.
89. Decman V. Gamma interferon can block herpes simplex virus type 1 reactivation from latency, even in the presence of late gene expression / V. Decman, P. R. Kinchington, S. A. Harvey et al. *J. Virol.* 2005. Vol. 79. P. 10339–10347.
90. Delogou L. G., Deidda S., Delitala G., Manetti R. Infectious diseases and autoimmunity. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2011. Vol. 5(10). P. 679–687. doi: 10.3855/jidc.2061.
91. Dilnessa T., Zeleke H. Cell culture, cytopathic effect and immunofluorescence diagnosis of viral infection. *Journ. of Microbiol. and Modern Techniq.* 2017. Vol. 2, Is. 1. P. 1–8.
92. Dimitropoulou D. Serum cytokine profile in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic active hepatitis B and inactive hepatitis B virus carriers /

- D. Dimitropoulou, M. Karakantza, G. L. Theodorou et al. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2013. Vol. 4(1). P. 24–27. doi: 10.4291/wjgp.v4.i1.24.
93. Erkeller-Yusel F. Lymphocyte subsets in a large cohort of patients with systemic lupus erythematosus / F. Erkeller-Yusel, F. Hulstaart, I. Hannet et al. *Lupus.* 1993. Vol. 2(4). P. 227–231. doi: 10.1177/096120339300200404.
 94. Farrar M. A., Schreiber R. D. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annu. Rev. Immunol.* 1993. Vol. 11. P. 571–611. doi: 10.1146/annurev.iy.11.040193.003035.
 95. Ferlazzo G., Münz C. NK cell compartments and their activation by dendritic cells. *J. Immunol.* 2004. Vol. 172(3). P. 1333–1339. doi: 10.4049/jimmunol.172.3.1333.
 96. French A. R., Yokoyama W. M. Natural killer cells and autoimmunity. *Arthr. Res. Ther.* 2004. Vol. 6. Article 8.
 97. Gay F. P., Holden M. The herpes-encephalitis problem. *The Journ. of Infec Diseases.* 1929. Vol. 45, No. 6. P. 415–434.
 98. Ghoreschi K. Interleukin-4 therapy of psoriasis induces Th2 responses and improves human autoimmune disease / K. Ghoreschi, P. Thomas, S. Breit et al. *Nat. Med.* 2003. Vol. 9(1). P. 40–46. doi: 10.1038/nm804.
 99. Guo Y. Herpes simplex virus encephalitis in a patient with complete TLR3 deficiency: TLR3 is otherwise redundant in protective immunity / Y. Guo, M. Audry, M. Ciancanelli et al. *J. Exp. Med.* 2011. Vol. 208(10) P. 2083–2098. doi: 10.1084/jem.20101568.
 100. Hammer M. M, Gosangi B., Hatabu H. Human herpesvirus alpha subfamily (herpes simplex and varicella zoster) viral pneumonias: CT Findings. *J. Thorac. Imaging.* 2018. Vol. 33, Is. 6. P. 384–389. doi: 10.1097/RTI.0000000000000364.
 101. Handbook of human immunology / eds O’Gorman M. R. G., A. Donnenberg. 2-nd ed. Boca Raton : CRC Press, 2008. 640 p.

102. Horbal N. M. Peculiarities of immunological parameters in patients with recurrent herpes simplex virus infection. *Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci* 2019. Vol. 57, № 2. P. 128–132.
103. Ibáñez F. J. Experimental dissection of the lytic replication cycles of herpes simplex viruses in vitro / F. J. Ibáñez, M. A. Farías, M. P. Gonzalez-Troncoso et al. *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. Article ID 2406. doi: 10.3389/fmicb.2018.02406.
104. Itzhaki R.F. Corroboration of a Major Role for Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2018. Vol.10:324. doi: 10.3389/fnagi.2018.00324.
105. James C, Harfouche M, Welton NJ, et al. Herpes simplex virus: global infection prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ.* 2020;98(5):315-329. doi:10.2471/BLT.19.237149.
106. Jenks J. A., Goodwin M. L., Permar S. R. The roles of host and viral antibody fc receptors in herpes simplex virus (HSV) and human cytomegalovirus (HCMV) infections and immunity. *Front. Immunol.* 2019. Vol. 10. Article 2110. P. 1–9. doi: 10.3389/fimmu.2019.02110.
107. Jiang X. The herpes simplex virus type 1 latency associated transcript (LAT) can protect neuronal derived C1300 and Neuro2A cells from Granzyme B induced apoptosis and CD8 T-cell killing / X. Jiang, A. A. Chentoufi, C. Hsiang et al. *J. Virol.* 2010. Vol. 22. P. 2325–2332. doi: 10.1128/JVI.01791-10.
108. Jodo S. CD95 (Fas) ligand-expressing vesicles display antibody-mediated, FcR-dependent enhancement of cytotoxicity / S. Jodo, A. M. Hohlbaum, Sh. Xiao et al. *J. Immunol.* 2000. Vol. 165(10). P. 5487–5494. doi: 10.4049/jimmunol.165.10.5487.
109. Kak G., Raza M., Tiwari B. K. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomol. Concepts.* 2018. Vol. 9, Is. 1. P. 64–79. doi: 10.1515/bmc-2018-0007.

110. Kaner R. J. Fibroblast growth factor receptor is a portal of cellular entry for herpes simplex virus type 1 / R. J. Kaner, A. Baird, A. Mansukhan et al. *Science*. Vol. 248, Is. 4961. P. 1410–1413. doi: 10.1126/science.2162560.
111. Karalian M. A., Stepanian S. M., Ulumian A. K., Karapetian E. T. Natural killer cell immunodeficiency and herpesvirus infection in tuberculosis. *Probl. Tuberk. Bolezn. Legk.* 2007. Vol. 3. P. 25–28.
112. Kastrukoff L. F. A role for natural killer cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis / L. F. Kastrukoff, N. G. Morgan, D. Zecchini et al. *J. Neuroimmunol.* 1998. Vol. 86. P. 123–133. doi: 10.1016/s0165-5728(98)00014-9.
113. Katzene S. I., Leib D. A. Herpes simplex virus and interferon signaling induce novel autophagic clusters in sensory neurons. *J. Virol.* 2016. Vol. 90, No. 9. P. 4706–4719. doi: 10.1128/JVI.02908-15.
114. Kennedy P. G. E., Rovnak J., Badani H., Cohrs R. J. A comparison of herpes simplex virus type 1 and varicella-zoster virus latency and reactivation. *J. Gen. Virol.* 2015. Vol. 96(Pt. 7). P. 1581–1602. doi: 10.1099/vir.0.000128.
115. Koelle D. M. Worldwide circulation of HSV-2 × HSV-1 recombinant strains / D. M. Koelle, P. Norberg, M. P. Fitzgibbon et al. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. Article ID 44084. doi: 10.1038/srep44084.
116. Kotenko S. V. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex / S. V. Kotenko, G. Gallagher, V. V. Baurin et al. *Nat. Immunol.* 2003. Vol. 4(1). P. 69–77. doi: 10.1038/ni875.
117. Kurt-Jones E. A. Herpes simplex virus 1 interaction with Toll-like receptor 2 contributes to lethal encephalitis / E. A. Kurt-Jones, M. Chan, Sh. Zhou et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004. Vol. 101(5). P. 1315–1320. doi: 10.1073/pnas.0308057100.
118. Kuzushita N., Sugimoto Y., Sasaki Y., Hayashi H. Involvement of TAP2 and LMP7 gene polymorphisms in HCV infection. *Nihon Rinsho*. 2001. Vol. 59. P. 1248–1253.
119. Lai C. L., Yuen M. F. The natural history of chronic hepatitis B. *J. Viral. Hepat.* 2007. Vol. 14, Suppl. 1. P. 6–10.

120. Lajoie L., Congy-Jolivet N., Bolzec A., Thibault G. Gradual increase of FcγRIIIa/CD16a expression and shift toward IFN-γ secretion during differentiation of CD56^{dim} natural killer cells. *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. Article 1556. doi: 10.3389/fimmu.2017.01556.
121. Lalvani A., Millington K. A. T cells and tuberculosis: beyond interferon-γ. *J. Infect. Diseases.* 2008. Vol. 197, Is. 7. P. 941–943. doi: 10.1086/529049.
122. Lanier L. L. Evolutionary struggles between NK cells and viruses. *Nat. Rev. Immunol.* 2008. Vol. 8, No. 4. P. 259–268. doi: 10.1038/nri2276.
123. Lauta V. M. Update on the use of interferons in clinical practice. *Clin. Ter.* 1995. Vol. 146(6–7). P. 393–448.
124. Lee D. H., Ghiasi H. Roles of M1 and M2 macrophages in herpes simplex virus 1 infectivity. *J. Virol.* 2017. Vol. 91(15). Article ID e00578-17. doi: 10.1128/JVI.00578-17.
125. Lee H. S. Interferon-gamma regulates inflammatory cell death by targeting necroptosis in experimental autoimmune arthritis / H. S. Lee, J. Y. Kwon, S.-Y. Kim et al. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7(1). Article 10133. doi: 10.1038/s41598-017-09767-0.
126. Leo J. The New Scarlet Letter: Herpes, an incurable virus, threatens to undo the sexual revolution. *Time.* 1982. Aug. 02. URL : <http://www.time.com/time/magazine/article/0,9171,1715020,00.html> (date of aviable 17.03.2019).
127. Lim H. K. TLR3 deficiency in herpes simplex encephalitis: high allelic heterogeneity and recurrence risk / H. K. Lim, M. Seppänen, T. Hautala et al. *Neurology.* 2014. Vol. 83(21). P. 1888–1897. doi: 10.1212/WNL.0000000000000999.
128. Lima G. K. Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR9 expressed in trigeminal ganglia are critical to viral control during herpes simplex virus 1 infection / G. K. Lima, G. P. Zolini, D. S. Mansur et al. *Am. J. Pathol.* 2010. Vol. 177, Is. 5. P. 2433–2445. doi: 10.2353/ajpath.2010.100121.

129. Lin F.-ch., Young H. A. Interferons: Success in anti-viral immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014. Vol. 25(4). P. 369–376. doi: 10.1016/j.cytogfr.2014.07.015.
130. Ljunggren H.-G., Kärre K. Host resistance directed selectively against H-2 deficient lymphoma variants: Analysis of the mechanism. *J. Exp. Med.* 1985. Vol. 162. P. 1745–1759. doi: 10.1084/jem.162.6.1745.
131. Ljunggren H.-G., Kärre K. In search of the «missing self»: MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol. Today.* 1990. Vol. 11(7). P. 237–244. doi: 10.1016/0167-5699(90)90097-s.
132. Mah A. Y., Cooper M. A. Metabolic regulation of natural killer cell IFN- γ production. *Crit. Rev. Immunol.* 2016. Vol. 36(2). P. 131–147. doi: 10.1615/CritRevImmunol.2016017387.
133. Menezes M. E. MDA-7/IL-24: multifunctional cancer killing cytokine / M. E. Menezes, S. Bhatia, P. Bhoopathi et al. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014. Vol. 818. P. 127–153. doi: 10.1007/978-1-4471-6458-6_6.
134. Mettenleiter T. C. Herpesvirus assembly and egress. *J. Virol.* 2002. Vol. 76(4). P. 1537–1547. doi: 10.1128/JVI.76.4.1537–1547.2002.
135. Momot T. Association of killer cell immunoglobulin-like receptors with scleroderma / T. Momot, S. Koch, N. Hunzelmann et al. *Arthr. Rheum.* 2004. Vol. 50, No. 5. P. 1561–1565. doi: 10.1002/art.20216.
136. Moretta L., Moretta A. Unravelling natural killer cell function: triggering and inhibitory human NK receptors. *EMBO J.* 2004. Vol. 23(2). P. 255–259. doi: 10.1038/sj.emboj.7600019.
137. Münz C., Chijioke O. Natural killer cells in herpesvirus infections. *F1000Res.* 2017. Vol. 6. Article ID F1000 Faculty Rev-1231. doi: 10.12688/f1000research.11197.1.
138. Murtas D. IRF-1 responsiveness to IFN- γ predicts different cancer immune phenotypes / D. Murtas, D. Maric, V. Giorgi de et al. *Br. J. Cancer.* 2013. Vol. 109(1). P. 76–82. doi: 10.1038/bjc.2013.335.

139. Nahmias A. J., Dowdle W. R. Antigenic and biologic differences in herpesvirus hominis. *Prog. Med. Virol.* 1968. No. 10. P. 110–159.
140. Nandakumar S. Natural Killer cells as novel helpers in anti-herpes simplex virus immune response / S. Nandakumar, S. N. Woolard, D. Yuan et al. *J. Virol.* 2008. Vol. 82, No. 21. P. 10820–10831. doi: 10.1128/JVI.00365-08.
141. Nathanson N. *Viral Pathogenesis and Immunity*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 220 p.
142. Navarro J. M., Perez-Ruiz M. Antiviral Immunity. *Current Immunology Reviews*. 2011. Vol. 7, Is. 1. P. 19–24. doi: 10.2174/157339511794474244.
143. Nielsen T.C., Nassar N., Harrison C, Shand A et al. Prevalence of autoimmune disease among pregnant women and women of reproductive age in New South Wales, Australia: a population-based study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020. Vol. 13. P. 1-9. doi: 10.1080/14767058.2020.1817893.
144. Ollier W. Rheumatoid arthritis and Epstein-Barr virus: a case of living with the enemy? *Ann. Rheum. Dis.* 2000. Vol. 59(7). P. 497–499. doi: 10.1136/ard.59.7.497.
145. Ortiz G. C., Sheridan J. F., Marucha P. T. Stress-induced changes in pathophysiology and interferon gene expression during primary HSV-1 infection. *Brain Behav. Immun.* 2003. Vol. 17(5). P. 329–338. doi: 10.1016/s0889-1591(03)00027-8.
146. Palmezano-Díaz J.M., Figueroa-Pineda C.L., Rodríguez-Amaya R.M., et al. Prevalence and characterization of autoimmune diseases in patients older than 13 years in a hospital of Colombia. *Med Int Mex.* 2018. Vol. 34(4). P. 522-535.
147. Paludan S. R., Bowie A. G., Horan K. A., Fitzgerald K. A. Recognition of herpesviruses by the innate immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 11(2). P. 143–154. doi: 10.1038/nri2937.
148. Parker F., Nye R. N. Studies on filterable viruses: II. Cultivation of herpes virus. *Am. J. Pathol.* 1925. Vol. 1(3). P. 337–340.

149. Pedraza S. T., Betancur J. G., Urcuqui-Inchima S. Viral recognition by the innate immune system: the role of pattern recognition receptors. *Colombia Médica*. 2010. Vol. 41, No. 4. P. 377–387.
150. Pende D. Killer ig-like receptors (KIRs): their role in NK cell modulation and developments leading to their clinical exploitation / D. Pende, M. Falco, M. Vitale et al. *Front. Immunol.* 2019. Vol. 10. Article 1179. doi: 10.3389/fimmu.2019.0117.
151. Pestka S., Krause C. D., Walter M. R. Interferons, interferon-like cytokines and their receptors. *Immunol. Rew.* 2004. Vol. 202. P. 8–32. doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x.
152. Physiological basis of aging and geriatrics / ed. P. S. Timiras. 4th ed. Boca Raton : CRC Press, 2007. 536 p.
153. Poli A. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset / A. Poli, T. Michel, M. Thérésine et al. *Immunology*. 2009. Vol. 126(4). P. 458–465. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x.
154. Pridgeon C. Natural killer cells in the synovial fluid of rheumatoid arthritis patients exhibit a CD56bright, CD94bright, CD158negative phenotype / C. Pridgeon, G. P. Lennon, L. Pazmany et al. *Rheumatology* (Oxford). 2003. Vol. 42(7). P. 870–878. doi: 10.1093/rheumatology/keg240.
155. Ramos-Casals M. Acute viral infections in patients with systemic lupus erythematosus: description of 23 cases and review of the literature / M. Ramos-Casals, M. J. Cuadrado, P. Alba et al. *Medicine* (Baltimore). 2008. Vol. 87(6). P. 311–318. doi: 10.1097/MD.0b013e31818ec711.
156. Rasmussen S. B. Type I interferon production during herpes simplex virus infection is controlled by cell-type-specific viral recognition through Toll-like receptor 9, the mitochondrial antiviral signaling protein pathway, and novel recognition systems / S. B. Rasmussen, L. N. Sorensen, L. Malmgaard et al. *J. Virol.* 2007. Vol. 81(24). P. 13315–13324. doi: 10.1128/JVI.01167-07.
157. Raulet D. H., Vance R. E. Self-tolerance of natural killer cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2006. Vol. 6(7). P. 520–531. doi: 10.1038/nri1863.

158. Robertson M. J. Role of chemokines in the biology of natural killer cells. *J. Leukoc. Biol.* 2002. Vol. 71(2). P. 173–183.
159. Roizman B., Knipe D. M., Whitley R. J. Herpes simplex virus. *Fields virology* / eds. D. M. Knipe, P. M. Howley. 5-th ed. Philadelphia, 2007. Vol. 1. P. 2503–2576.
160. Root-Bernstein R., Fairweather D. Complexities in the relationship between infection and autoimmunity. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2014. Vol. 14(1). Article 407. doi: 10.1007/s11882-013-0407-3.
161. Schepis D. Herpes simplex virus infection downmodulates NKG2D ligand expression / D. Schepis, M. D'Amato, M. Studahl et al. *Scand. J. Immunol.* 2009. Vol. 69, Is. 5. P. 429–436. doi: 10.1111/j.1365-3083.2009.02241.x.
162. Schindler H., Lutz M. B., Röllinghoff M., Bogdan C. The production of IFN- γ by IL-12/IL-18-activated macrophages requires STAT4 signaling and is inhibited by IL-4. *J. Immunol.* 2001. Vol. 166, Is. 5. P. 3075–3082. doi: 10.4049/jimmunol.166.5.3075.
163. Sergerie Y., Rivest S., Boivin G. Tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β play a critical role in the resistance against lethal herpes simplex virus encephalitis. *J. Infect. Dis.* 2007. Vol. 196, Is. 6. P. 853–860. doi: 10.1086/520094.
164. Sexually transmitted diseases. Treatment guidelines. Management of Genital Herpes. 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports.* 2010. Dec. 17. Vol. 59, No. 12. URL : <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/genital-ulcers.html> (date of available 20.01.2018).
165. Schmitt S. K. Reactive arthritis. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2017. Vol. 31(2). P. 265–277. doi: 10.1016/j.idc.2017.01.002.
166. Sheppard P. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R / P. Sheppard, W. Kindsvogel, W. Xu et al. *Nat. Immunol.* 2003. Vol. 4(1). P. 63–68. doi: 10.1038/ni873.
167. Sibia J., Limbach F.-X. Reactive arthritis or chronic infectious arthritis? *Ann. Rheum. Dis.* 2002. Vol. 61. P. 580–587. doi: 10.1136/ard.61.7.580.

168. Singh R. R. IL-4 and many roads to lupuslike autoimmunity. *Clin. Immunol.* 2003. Vol. 108(2). P. 73–79. doi: 10.1016/s1521-6616(03)00145-1.
169. Song L. H. Serum cytokine profiles associated with clinical presentation in Vietnamese infected with hepatitis B virus / L. H. Song, V. Q. Binh, D. N. Duy et al. *J. Clin. Virol.* 2003. Vol 28(1). P. 93–103. doi: 10.1016/s1386-6532(02)00271-8.
170. Spagnolo P., Cordier J.-F, Cottin V. Connective tissue diseases, multimorbidity and the ageing lung. *European Respiratory Journal.* 2016. Vol. 47 (5). P. 1535-1558; DOI: 10.1183/13993003.00829-2015
171. Steven M. Interferon gamma, IL-12, IL-12R and STAT-1 immunodeficiency diseases: Disorders of the interface of innate and adaptive immunity. *Holland Immunol. Res.* 2007. Vol. 38(1–3). P. 342–346.
172. Strauss J. H., Strauss E. G. Viruses and human disease. San Diego : Acad Press, 2002. 383 p.
173. Su C., Zhan G., Zheng C. Evasion of host antiviral innate immunity by HSV-1, an update. *Virol. J.* 2016. Vol. 13. Article 38. doi: 10.1186/s12985-016-0495-5.
174. Su Ch.; Zhan G.; Zheng Ch. Evasion of host antiviral innate immunity by HSV-1, an update recruitment of the downstream adaptor TBK1. *Virol. J.* 2016. Vol. 13. Article 38. doi: 10.1186/s12985-016-0495-5.
175. Suazo P. A. Evasion of early antiviral responses by herpes simplex viruses / P. A. Suazo., F. J. Ibañez, A. R. Retamal-Díaz et al. *Mediators Inflamm.* 2015. Article ID 593757. doi: 10.1155/2015/593757.
176. Sun P. Involvement of MAPK/NF- κ B signaling in the activation of the cholinergic anti-inflammatory pathway in experimental colitis by chronic vagus nerve stimulation / P. Sun, K. Zhou, Sh. Wang et al. *PLoS One.* Vol. 8, Is. 8. Article e69424. doi: 10.1371/journal.pone.0069424.
177. Svend E.-E. Macrophages and cytokines in the early defence against herpes simplex virus. *Virol. J.* 2005. No. 2. Article ID 59. doi: 10.1186/1743-422X-2-59.
178. Takeuchi O., Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.* 2009. Vol. 227(1). P. 75–86. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00737.x.

179. Tognarelli E. I. Herpes simplex virus evasion of early host antiviral responses / E. I. Tognarelli, T. F. Palomino, N. Corrales et al. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019. Vol. 9. Article ID 127. doi: 10.3389/fcimb.2019.00127.
180. Tombácz D. Multiple long-read sequencing survey of herpes simplex virus dynamic transcriptome / D. Tombácz, N. Moldovan, Z. Balázs et al. *Front. Genet.* 2019. Vol. 10. Article 834. doi: 10.3389/fgene.2019.00834.
181. Toussiroit E., Roudier J. Epstein-Barr virus in autoimmune diseases. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2008. Vol. 22(5). P. 883–896. doi: 10.1016/j.berh.2008.09.007.
182. Trivedi P. M. Repurposed JAK1/JAK2 inhibitor reverses established autoimmune insulinitis in NOD mice / P. M. Trivedi, K. L. Graham, N. A. Scott et al. *Diabetes.* 2017. Vol. 66. P. 1650–1660. doi: 10.2337/db16-1250.
183. Unni A. M., Bondar T., Medzhitov R. Intrinsic sensor of oncogenic transformation induces a signal for innate immunosurveillance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008. Vol. 105(5). P. 1686–1691. doi: 10.1073/pnas.0701675105.
184. VanderBorgh A., Geusens P., Raus J., Stinissen P. The autoimmune pathogenesis of rheumatoid arthritis: role of autoreactive T cells and new immunotherapies. *Semin. Arthritis Rheum.* 2001. Vol. 31(3). P. 160–175. doi: 10.1053/sarh.2001.27736.
185. Vassantachart J. M., Menter A. Recurrent lumbosacral herpes simplex virus infection. *Proc (Bayl. Univ. Med. Cent).* 2016. Vol. 29(1). P. 48–49. doi: 10.1080/08998280.2016.11929356.
186. Velazquez-Salinas L., Verdugo-Rodriguez A., Rodriguez L. L., Borca M. V. The role of interleukin 6 during viral infections. *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10. Article 1057. P. 1–6. doi: 10.3389/fmicb.2019.01057.
187. Vezzani A. The toll receptors family: from microbial recognition to seizures. *Epilepsy Current.* 2006. Vol. 6, No. 1. P. 11–13. doi: 10.1111/j.1535-7511.2005.00080.x.
188. Villareal Ch., Whittum-Hudson J. A., Hudson A. P. Persistent Chlamydiae and chronic arthritis. *Arthritis Res.* 2002. Vol. 4(1). P. 5–9. doi: [10.1186/ar382](https://doi.org/10.1186/ar382).

189. Vivier E. Functions of natural killer cells / E. Vivier, E. Tomasello, M. Baratin et al. *Nat. Rev. Immunol.* 2008. Vol. 9, No. 5. P. 503–510. doi: 10.1038/ni1582.
190. Wang L., Wang F.-S., Gershwin M.E. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. (Review). *J Intern Med.* 2015. Vol. 278. P. 369–395. doi: 10.1111/joim.12395.
191. Weed D. J., Nicola A. V. Herpes simplex virus Membrane Fusion. *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.* 2017. Vol. 223. P. 29–47. doi: 10.1007/978-3-319-53168-7_2.
192. West J. A. Activation of plasmacytoid dendritic cells by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus / J. A. West, S. M. Gregory, V. Sivaraman et al. *J. Virol.* 2011. Vol. 85(2). P. 895–904. doi: 10.1128/JVI.01007-10.
193. Wildy P. Herpes history and classification. *The herpes-viruses* / ed. A. S. Kaplan. New York : Academic Press, 1973. P. 1–25.
194. Willmann O. Toll-like receptor 3 immune deficiency may be causative for HSV-2-associated mollaret meningitis / O. Willmann, P. Ahmad-Nejad, M. Neumaier et al. *Eur. Neurol.* 2010. Vol. 63(4). P. 249–251. doi: 10.1159/000287585.
195. Xu Z.-G. The latency pattern of Epstein-Barr virus infection and viral IL-10 expression in cutaneous natural killer/T-cell lymphomas / Z.-G. Xu, K. Iwatsuki, N. Oyama et al. *Br. J. Cancer.* 2001. Vol. 84. P. 920-925.
196. Yamamoto T., Kimura T., Fujimoto W. Effects of innate immunity and cytokines on HSV infection in Darier's disease. *Journ. of Dermatol. Science.* 2016. Vol. 84, Is. 1. P. 11–25.
197. Yang Ch.-A. Association of TLR3-hyporesponsiveness and functional TLR3 L412F polymorphism with recurrent herpes labialis / Ch.-A. Yang, M. J. Raftery, L. Hamann et al. *Hum. Immuno.* 2012. Vol. 73(8). P. 844–851. doi: 10.1016/j.humimm.2012.04.008.
198. Yen J.-H. Major histocompatibility complex class I-recognizing receptors are disease risk genes in rheumatoid arthritis / J.-H. Yen, B. E. Moore, T. Nakajima

- et al. *J. Exp. Med.* 2001. Vol. 193(10). P. 1159–1167.
doi: 10.1084/jem.193.10.1159.
199. Wood C. D., Carvell T., Gunnell A., Ojeniyi O. O., Osborne C., West M. J. Enhancer control of microRNA miR-155 expression in Epstein-Barr virus-infected B cells. *J. Virol.* 2018. Vol. 92(19). P. 00716–00718.
doi: 10.1128/JVI.00716-18.
200. Yamamoto K. Mechanisms of autoimmunity. Recent concept. *JMAJ.* 2004. Vol. 47, No. 9. P. 403–406.
201. Zamorano J., Rivas M. D., Pérez-G M. Interleukin-4: A multifunctional cytokine. *Inmunología.* 2003. Vol. 22, No. 2. P. 215–224.
202. Zhang S. Y. TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis / S. Y. Zhang, E. Jouangry, S. Ugolini et al. *Science.* 2007. Vol. 317(5844). P. 1522–1527. doi: 10.1126/science.1139522.
203. Zeng H., Luo B., Zhang Y., Xie Zh., Ye Z. Treatment of reactive arthritis with biological agents: a review. *Biosci. Rep.* 2020. Vol. 40(2). Article ID BSR20191927. doi: 10.1042/BSR20191927.

ДОДАТКИ

Керівник установи в якій впроваджується пропозиція

«13»



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Оцінка синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію

(найменування пропозиції для впровадження)

2. Установа, що розробила (поштова адреса) прізвище, ім'я, по батькові авторів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Горбаль Н.М., Чопяк В.В., Потьомкіна Г.О., Ломіковська М.П., Кріль І.Й., Синенький О.В., Гичка М.М.

3. Джерело інформації: Стаття "Моніторинг синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію" /Горбаль Н.М., Іщейкін К.Е., Потьомкіна Г.О., Гайдучок І.Г., Кріль І.Й., Чопяк В.В.// Проблеми екології та медицини. – 2018.- Том 22, N 5-6.

(назва, рік видання метод. реком., інформаційного листа, вихідні дані статті, №.і.т.п.)

4. Впроваджено в: Львівська обласна клінічна лікарня
(найменування лікувально-профілактичного закладу)

5. Термін впровадження: грудень 2019 р. – травень 2020 р.

6. Загальна кількість спостережень – 40

7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3):

- позитивні – 38 (кількість спостережень)
- невизначені – 2 (кількість спостережень)
- негативні – 0 (кількість спостережень)

8. Зауваження, пропозиції – відсутні

«03» 06 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Синенький О.В.

Керівник установи в якій впроваджена пропозиція

«03»



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Оцінка ефективності протівірусної терапії у пацієнтів із простою герпесвірусною інфекцією та системними захворюваннями сполучної тканини (найменування пропозиції для впровадження)
2. Установа, що розробила (поштова адреса) прізвище, ім'я, по батькові авторів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
Горбаль Н.М., Чопяк В.В., Потьомкіна Г.О., Ломіковська М.П., Кріль І.Й., Синенький О.В., Гичка М.М.
3. Джерело інформації: Стаття "Застосування протівірусної терапії у пацієнтів із простою герпесвірусною інфекцією та системними захворюваннями сполучної тканини" / Горбаль Н.М. // Праці Наукового товариства імені Шевченка. Медичні науки. - 2019. - 57 (2).
(назва, рік видання метод. реком., інформаційного листа, вихідні дані статті, № і т.п.)
4. Впроваджено в: Львівська обласна клінічна лікарня
(найменування лікувально-профілактичного закладу)
5. Термін впровадження : грудень 2019 р. – травень 2020 р.
6. Загальна кількість спостережень – 40
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3):
- позитивні – 38 (кількість спостережень)
- невизначені – 2 (кількість спостережень)
- негативні – 0 (кількість спостережень)
8. Зауваження, пропозиції – відсутні

«03» 06 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Синенький О.В.

Затверджую»
 Керівник установи, який впроваджує пропозицію

«05»



Фіскаляк Р. М.
 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Оцінка ефективності протівірусної терапії у пацієнтів із простою герпесвірусною інфекцією та системними захворюваннями сполучної тканини

(найменування пропозиції для впровадження)

2. Установа, що розробила (поштова адреса) прізвище, ім'я, по батькові авторів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Горбаль Н.М., Чоп'як В.В., Потьомкіна Г.О., Ломіковська М.П., Кріль І.Й., Пукаляк Р.М.

3. Джерело інформації: Стаття "Застосування протівірусної терапії у пацієнтів із простою герпесвірусною інфекцією та системними захворюваннями сполучної тканини" / Горбаль Н.М. // Праці Наукового товариства імені Шевченка. Медичні науки. - 2019. - 57 (2). (назва, рік видання метод. реком., інформаційного листа, вихідні дані статті, № і т.п.)

4. Впроваджено в: Львівський обласний клінічний діагностичний центр
 (найменування лікувально-профілактичного закладу)

5. Термін впровадження : грудень 2019 р. – травень 2020 р.

6. Загальна кількість спостережень – 15

7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3):

- позитивні – 14 (кількість спостережень)
- невизначені – 1 (кількість спостережень)
- негативні – 0 (кількість спостережень)

8. Зауваження, пропозиції – відсутні

«05»

06

2020 р.

Відповідальний за впровадження
 проф. Чоп'як В.В.

Керівник установи в якій впроваджена пропозиція

«05»



Пукляк Р. М.
2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Оцінка синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію
(найменування пропозиції для впровадження)
2. Установа, що розробила (поштова адреса) прізвище, ім'я, по батькові авторів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
Горбаль Н.М., Чоп'як В.В., Потьомкіна Г.О., Ломіковська М.П., Кріль І.Й., Пукаляк Р.М.
3. Джерело інформації: Стаття "Моніторинг синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію" / Горбаль Н.М., Ішейкін К.Е., Потьомкіна Г.О., Гайдучок І.Г., Кріль І.Й., Чоп'як В.В. // Проблеми екології та медицини. – 2018.- Том 22, N 5-6.
(назва, рік видання метод. реком., інформаційного листа, вихідні дані статті, № і т.п.)
4. Впроваджено в: Львівський обласний клінічний діагностичний центр
(найменування лікувально-профілактичного закладу)
5. Термін впровадження: грудень 2019 р. – травень 2020 р.
6. Загальна кількість спостережень – 17
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3):
- позитивні – 15 (кількість спостережень)
- невизначені – 2 (кількість спостережень)
- негативні – 0 (кількість спостережень)
8. Зауваження, пропозиції – відсутні

«05» 06 2020

Відповідальний за впровадження

Чоп'як В.В.

В.В. Чоп'як

«Затверджую»

Керівник установи, в якій впроваджена пропозиція

Синюта А.В.

2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Оцінка синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію
(найменування пропозиції для впровадження)
2. Установа, що розробила (поштова адреса) прізвище, ім'я, по батькові авторів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
Горбаль Н.М., Чоняк В.В., Потьомкіна Г.О., Ломіковська М.П., Кріль І.Й., Бойко Я.С., Синюта А.В.
3. Джерело інформації: Стаття "Моніторинг синтезу IFN-α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію" Горбаль Н.М., Іщейкін К.Е., Потьомкіна Г.О., Гайдучок І.Г., Кріль І.Й., Чоняк В.В. Проблеми екології та медицини. – 2018.- Том 22, N 5-6.
(назва, рік видання метод. рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № і т.п.)
4. Впроваджено в:
Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр
(найменування лікувально-профілактичного закладу)
5. Термін впровадження: грудень 2019 р. – травень 2020 р.
6. Загальна кількість спостережень – 16
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3):
- позитивні – 15 (кількість спостережень)
- невизначені – 1 (кількість спостережень)
- негативні – 0 (кількість спостережень)
8. Зауваження, пропозиції – відсутні

«08»

06

2020 р.

Відповідальний за впровадження

Бойко Я.С.

«Затверджую»

Керівник установи в якій впроваджена пропозиція

Синюта А.В.
2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Оцінка ефективності протівірусної терапії у пацієнтів із простою герпесвірусною інфекцією та системними захворюваннями сполучної тканини (найменування пропозиції для впровадження)

2. Установа, що розробила (поштова адреса) прізвище, ім'я, по батькові авторів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Горбаль Н.М., Чопяк В.В., Потьомкіна Г.О., Ломіковська М.П., Кріль І.Й., Бойко Я.Є., Синюта А.В.

3. Джерело інформації: Стаття "Застосування протівірусної терапії у пацієнтів із простою герпесвірусною інфекцією та системними захворюваннями сполучної тканини" / Горбаль Н.М. // Праці Наукового товариства імені Шевченка. Медичні науки. - 2019. - 57 (2). (назва, рік видання метод. реком., інформаційного листа, вихідні дані статті, № і т.п.)

4. Впроваджено в:

Західноукраїнський спеціалізований дитячий медичний центр
(найменування лікувально-профілактичного закладу)

5. Термін впровадження: грудень 2019 р. – травень 2020 р.

6. Загальна кількість спостережень – 11

7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3):

- позитивні – 9 (кількість спостережень)

- невизначені – 2 (кількість спостережень)

- негативні – 0 (кількість спостережень)

8. Зауваження, пропозиції – відсутні

«06» 06 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Бойко Я.Є.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

Наукові праці, опубліковані у фахових виданнях України

1. Горбаль Н. М., Чопяк В. В., Синенький О. В., Гайдучок І. Г. Особливості фенотипового розподілу лімфоцитів та їх активізаційних маркерів у пацієнтів із інфекцією спричиненою вірусом простого герпесу та системними захворюваннями сполучної тканини. *Вісн. Харків. нац. ун-ту імені В. Н. Каразіна. Сер.: Медицина*. 2020. Вип. 40. С. 23–32. (Особистий внесок здобувача - формування груп обстеження, аналіз та систематизація матеріалу).

2. Horbal N. M. Peculiarities of immunological parameters in patients with recurrent herpes simplex virus infection. *Праці наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки* 2019. Т. 57, № 2. С. 128–132. (*Index Copernicus*).

3. Горбаль Н. М., Іщейкін К. Е., Потьомкіна Г. О., Гайдучок І. Г., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Особливості продукції IFN- α у хворих на рецидивуючу герпесвірусну інфекцію 1-го та 2-го типів. *Семейная медицина*. 2019. № 3(83). С. 37–42. (Особистий внесок здобувача - дисертантом проведено підбір, аналіз та систематизація матеріалу).

4. Горбаль Н. М., Іщейкін К. Е., Потьомкіна Г. О., Гайдучок І. Г., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Моніторинг синтезу IFN- α на місцевому та системному рівнях у хворих на рецидивуючу просту герпесвірусну інфекцію. *Пробл. екології та медицини*. 2018. Т. 22, № 5–6. С. 3–9. (Особистий внесок здобувача - здобувачу належить ідея дослідження, набір хворих, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку) (*Index Copernicus*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

5. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О., Ліщук-Якимович Х. О., Горбаль Н. М. Оцінка ефективності препарату Імодину у хворих на Епштейн-Барр вірусний реактивний артрит. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями*: матеріали конф. 2015. С. 223.

(Особистий внесок здобувача - формування груп обстеження, аналіз та систематизація матеріалу).

6. Ліщук-Якимович Х. О., Потьомкіна Г. О., Ломіковська М. П., Горбаль Н. М. Клінічні та імунологічні особливості геморагічних васкулітів та тлі полісенсibiliзації. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями* : матеріали конф. 2015. С. 149. *(Особистий внесок здобувача - дисертантом проведено підбір, аналіз та систематизація матеріалу).*

7. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О., Горбаль Н. М. Клініка, діагностика та стан імунної системи у хворих на реактивний артрит на тлі вірусної інфекції Епштейн-Барр. *Український ревматологічний журнал (матеріали конференції)*. 2015. № 3(61). С. 91. *(Особистий внесок здобувача огляд сучасних літературних джерел з даної проблеми, набір хворих та узагальнення отриманих результатів).*

8. Зубченко С. О., Горбаль Н. М. Особливості перебігу мікст-герпесвірусних інфекцій. *Проблеми військової охорони здоров'я* : зб. наук. пр. Укр. військ.-мед. акад. 2015. Вип. 44, № 2. С. 148. *(Особистий внесок здобувача - збір матеріалу, узагальнення отриманих результатів, підготовка тексту статті).*