

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені В.Н. КАРАЗІНА

ГОРБАЛЬ НАТАЛЯ МИРОНІВНА



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

**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

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор
Чопяк Валентина Володимирівна,
Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького,
Міністерства охорони здоров'я України,
завідувачка кафедри клінічної імунології та
алергології.

Офіційні опоненти:

член-кореспондент Національної академії
медичних наук України,
доктор медичних наук, професор
Лісяний Микола Іванович
Інститут нейрохірургії
імені академіка А. П. Ромоданова
Національної академії наук України
керівник відділу нейроімунології;

доктор медичних наук, професор
Попов Микола Миколайович
Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України,
професор кафедри загальної та клінічної
імунології та алергології.

Захист відбудеться 14 травня 2021 р. о 12-00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 6, ауд. 580.

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий «14» квітня 2021 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33
доктор медичних наук, доцент



Тетяна ЛЯДОВА

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. 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 (Wang L., 2015; Palmezano-Díaz JM, 2018; Nielsen T.C., 2020).

Відомий вплив ряду епігенетичних та генетичних факторів на виникнення та розвиток СЗСТ (Spagnolo P., 2016; Larionova R.V., 2019). Певна роль серед первинних факторів належить групі герпетичних інфекцій, зокрема вірусу герпесу 1 типу (ВПГ-1) (Sherina N., 2017; Alexopoulos H., Dalakas C.M., 2019). За даними різних авторів поширеність ВПГ-1-інфекції становить від 66,6% в загальній популяції до 97,3% у пацієнтів із СЗСТ (James C., 2016; Larionova R.V., 2019). ВПГ-1 здатний до позитивної персистенції, формуючи латентну інфекцію з можливістю до рецидивування (Лісяний М.І., 2015; David M. Koelle, 2017; Marcocci M.E., 2020; Попов М.М., 2020). 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, ймовірно, приєднуються до хворих на СЗСТ через зниження активності імунної системи, що формується на тлі тривалого 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 процесів (Burgos R., 2015; Arleevskaya M., 2016). У таких пацієнтів зростає ризик тяжкого перебігу СЗСТ з ураженням нервової системи, серцево-судинної, травної, видільної, репродуктивної систем тощо (Лісяний М.І., 2017; Ruth F. Itzhaki, 2018). Поліорганність та атиповість клінічних проявів ВПГ-1-інфекції часто ускладнює інтерпретацію її симптомокомплексу та підбір терапії, маскуючи при цьому основні клінічні прояви СЗСТ (Пукаляк Р.М., 2016).

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, активності формування цих процесів, сучасних ефективних терапевтичних та можливих превентивних заходів для попередження розвитку небезпечних ускладнень, пов'язаних з ВПГ-1.

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 противірусного лікування.

Завдання дослідження:

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 досліджуваних групах.

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 противірусної терапії на тлі базової терапії в пацієнтів із СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції.

6. Вивчити інтерферонорефрактерність та переносимість противірусної 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 противірусної 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 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 противірусної терапії на тлі базової терапії з урахуванням частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції.

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.

Практичне значення отриманих результатів.

Визначено клінічні та імунологічні особливості перебігу СЗСТ у хворих за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції.

З метою ранньої діагностики, профілактики та лікування ВПГ-1-інфекції у хворих на СЗСТ, запропоновано проводити лабораторне обстеження з виявленням ДНК ВПГ-1 одночасно в трьох біосередовищах та рівнів специфічних антитіл.

Проведені дослідження дозволили прогнозувати ризик реактивації ВПГ-1-інфекції, в тому числі кількості її рецидивів протягом року та зростання активності СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції.

На основі розроблених схем лікування хворим на СЗСТ за умов реактивованої ВПГ-1-інфекції рекомендовано включити в комплексну терапію інозин пранобекс та ацикловір залежно від частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції.

Рекомендовано виявляти хворих на СЗСТ з високим ризиком рецидиву ВПГ-1-інфекції, для яких ймовірно профілактичне застосування противірусної терапії.

Теоретичні та практичні узагальнення роботи, її результати впроваджені в практику клінічних баз кафедри клінічної імунології та алергології (03.06.2020, 05.06.2020, 08.06.20), ревматологічного відділення КНП ЛОР Львівської обласної клінічної лікарні (акти впровадження від 03.06.2020), регіонального медичного центру клінічної імунології та алергології Львівського обласного клінічного діагностичного центру (акти впровадження від 05.06.2020) та клініки дитячої імунології та ревматології "Західноукраїнського спеціалізованого дитячого медичного центру" (акти впровадження від 08.06.2020).

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.

Імунологічні обстеження хворих проводилися в імунологічній лабораторії кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

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 симпозиумі з міжнародною участю «Різдвяні читання: харчова алергія – проблема ХІХ століття» (Львів, 2015), ІІ міжнародному симпозиумі «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), ІІІ 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 ІІІ міжнародному симпозиумі «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.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 198 сторінках друкованого тексту, з яких 144 сторінки 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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. З використанням клінічних, лабораторних, молекулярно-генетичних, імунологічних методів протягом 2016-2019 року було обстежено 110 хворих, які знаходились 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. Контролем слугували 20 практично здорових осіб відповідного віку та статі.

Обстежені 110 хворих 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 відповідного віку та статі. Найбільш поширеними патологіями серед СЗСТ були РА та СЧВ, у зв'язку з чим нами було відібрано хворих власне з цими патологіями.

Хворі з групи на СЗСТ+ВПГ-1 та хворі з групи на реактивовану ВПГ-1-інфекцію, які отримували протівірусне лікування були додатково поділені на підгрупи залежно від частоти рецидивів ВПГ-1-інфекції протягом року: 1) хворі із частотою рецидивів 1-2 рази на рік (легкий перебіг); 2) хворі із 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 протівірусну терапію (за вище вказаною схемою) на тлі базової терапії. Пацієнти із СЗСТ з ДНК ВПГ-1(-) отримували лише базову терапію.

Число хворих із легким перебігом ВПГ-1-інфекції у групі хворих на СЗСТ+ВПГ-1 становило 47,1%, у групі хворих на ВПГ-1-інфекцію – 66,7%, а з середньо-тяжким+тяжким – відповідно у 52,9% та 33,3% ($p<0,05$). Таким чином, серед хворих на СЗСТ+ВПГ-1 переважав середньо-тяжкий та тяжкий перебіг ВПГ-1-інфекції, а серед хворих на реактивовану ВПГ-1 інфекцію – легкий перебіг.

Протокол обстеження та дослідження відповідав етичним стандартам і був схвалений комісією з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького (протокол засідання № 5 від 17.02.2016 р.). Перед включенням у дослідження усі пацієнти підписали відповідну форму інформованої згоди.

Клінічний стан досліджуваних пацієнтів оцінювали на основі скарг, даних об'єктивного огляду та індексів активності СЗСТ (DAS28 - для оцінки активності РА, SLEDAI-2K - для оцінки активності СЧВ і для всіх хворих HAQ - функціонального індексу порушення життєдіяльності)

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).

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики із застосуванням пакету прикладних програм «MP Exel XP» та «Statistica SPSS 10.0 for Windows». Проводили визначення середнього арифметичного, квадратичного відхилення та середньої помилки середнього арифметичного. Вірогідність результатів оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента (для парних або незалежних груп даних), при порівнянні частоти змін користувалися методом Фішера та критерієм χ^2 . Вірогідними вважали відмінності при $p < 0,05$. Зв'язок показників визначали на основі кореляційного аналізу за Спірманом. Для встановлення чинників, які при поєднаній дії мають достовірний вплив на виникнення рецидивів герпесвірусної інфекції 1 типу в пацієнтів із СЗСТ, було застосовано покроковий метод логістичної регресії з поступовим включенням вірогідних ознак за методом Вальда. Отримані коефіцієнти моделі аналізувалися за допомогою критерію ксі-квадрат. При прогнозуванні кількості рецидивів ВПГ-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.

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно з результатами проведеного 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%.

Таким чином, ДНК ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 частіше виявляли в зішкрябах з місць уражень чи слизових (у 64,7%).

У хворих на реактивовану ВПГ-1-інфекцію ДНК ВПГ-1 виявляли в слині - в 50,0% хворих, у зішкрябах з місць уражень чи слизових - у 72,2%, у крові - 5,56%; причому тільки в слині - у 22,2% хворих, тільки в зішкрябах з місць уражень чи слизових – у 44,4% хворих. Одночасно в двох біосередовищах: слина + зішкряб з місць уражень чи слизових - у 27,8% хворих; слина+ зішкряб з місць уражень чи слизових + кров – в 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 частіше ДНК ВПГ-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).

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; $p > 0,05$).

Серед хворих на СЗСТ+ВПГ-1-інфекцію переважали особи жіночої статі - 73,5% (середній вік $33,2 \pm 4,7$) у порівнянні з хворими на СЗСТ, серед яких кількість осіб жіночої статі також була переважаючою - 72,5% (середній вік $37,4 \pm 3,2$). У хворих на СЗСТ+ВПГ-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 разів, 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+ВПГ-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 разів ($p < 0,05$).

У хворих на СЧВ+ВПГ-1 порівняно з хворими на СЧВ частіше були відзначені: нефропатія - в 2,25 разів, біль голови - в 2,03 рази ($p < 0,05$), збільшення регіонарних лімфатичних вузлів 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+ВПГ-1 та хворих на РА.

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

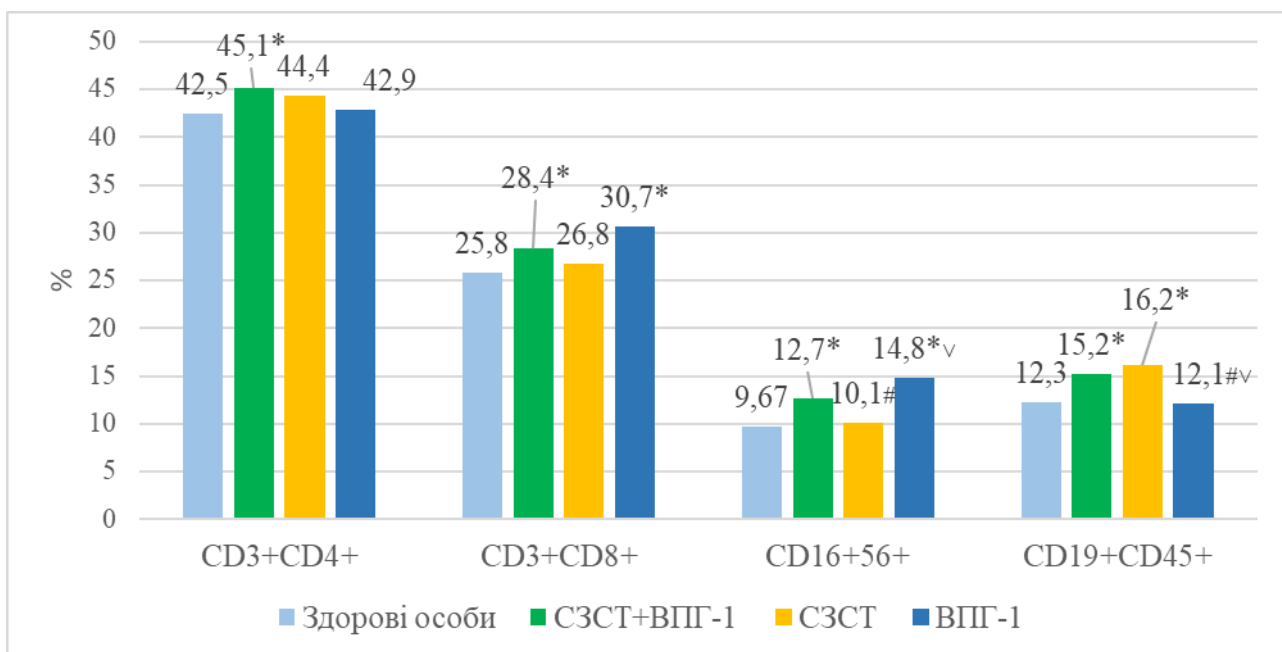
Проведена оцінка активності запального процесу в хворих досліджуваних груп. Активність запального процесу в хворих на РА оцінена за індексом DAS28 була наступною: помірна активність (DAS28 до 3,2 до 5,1) - у 68,2% пацієнтів, висока активність (DAS28 $> 5,2$) - у 31,8% пацієнтів, а у хворих РА+ВПГ-1: 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+ВППГ-1: помірний ступінь активності - у 43,7%, а високий – у 56,3% хворих.

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

Проведено порівняльну характеристику функціонального стану всіх хворих на СЗСТ за допомогою індексу НАQ, яка дозволила виявити різницю між порівнюваними групами. У хворих на СЗСТ+ВППГ-1 значення індексу НАQ було вищим ($1,90\pm0,19$) порівняно з хворими на СЗСТ ($1,44\pm0,13$; $p<0,05$), у хворих на СЧВ+ВППГ-1 значення індексу НАQ також виявилось вищим ($1,65\pm0,15$) порівняно із хворими на СЧВ ($1,18\pm0,12$; $p<0,05$).

Оцінку стану клітинної ланки імунної системи проводили на основі аналізу кількісного складу популяцій, субпопуляцій лімфоцитів та їх активізаційних маркерів. Проведено дослідження фенотипічних особливостей лімфоцитів у хворих досліджуваних груп (рис. 1, 2).



Примітка: *- показник вірогідності між пацієнтами досліджуваних груп та здоровими особами ($P\leq0,05$);

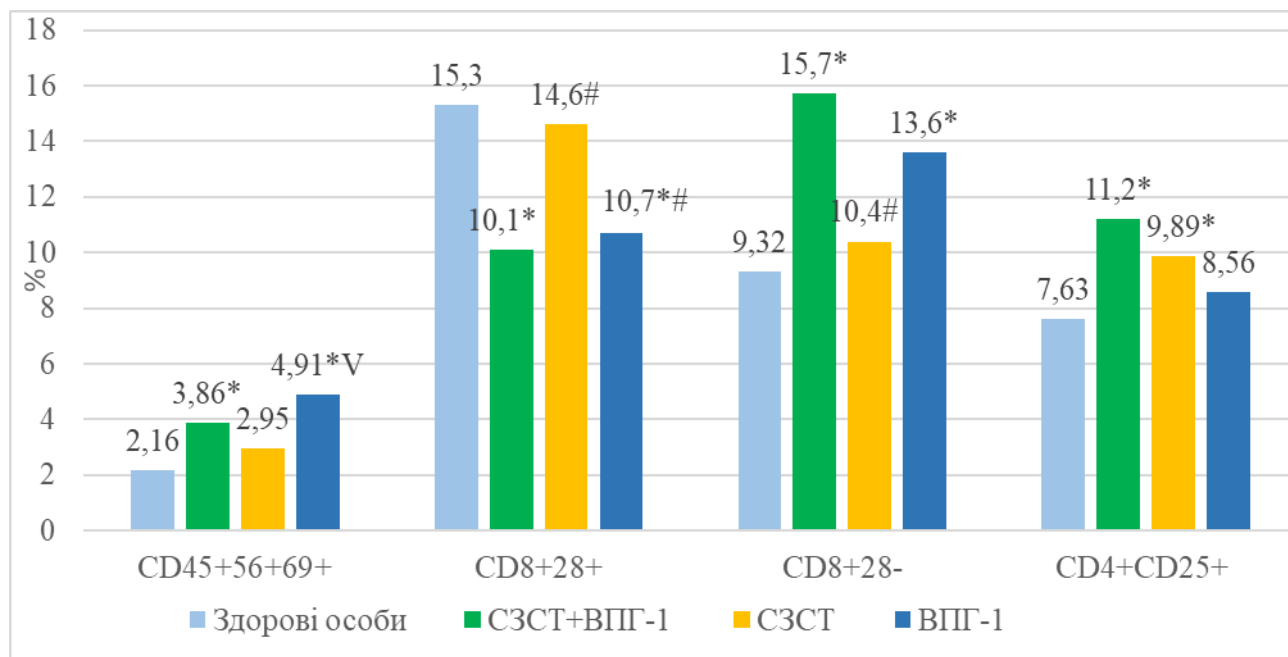
#- показник вірогідності поміж групами хворих на СЗСТ+ВППГ-1 з іншими групами ($P\leq0,05$);

v- показник вірогідності поміж групами хворих на СЗСТ та іншими групами ($P\leq0,05$)

Рис.1 Фенотипічні особливості лімфоцитів у хворих на СЗСТ+ВППГ-1 та інших досліджуваних групах

У хворих на СЗСТ+ВППГ-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+ВПГ-1 ($12,7 \pm 1,02\%$) та хворих на ВПГ-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+ВПГ-1 ($15,2 \pm 1,01\%$) додатковим фактором стимуляції антитілогенезу виступав ВПГ-1 (Авдєєва А.С, 2018).



Примітка: *- показник вірогідності між пацієнтами досліджуваних груп та здоровими особами ($P \leq 0,05$);

#- показник вірогідності поміж групами хворих на СЗСТ+ВПГ-1 з іншими групами ($P \leq 0,05$);

V- показник вірогідності поміж групами хворих на СЗСТ та іншими групами ($P \leq 0,05$)

Рис.2 Активізаційні маркери лімфоцитів у пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та інших досліджуваних групах

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 (Cibrian D. 2017, Dulic S., 2017, Jose R Lamas, 2018).

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 ($11,4 \pm 1,21\%$; $p < 0,05$). Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 та ВПГ-1 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.

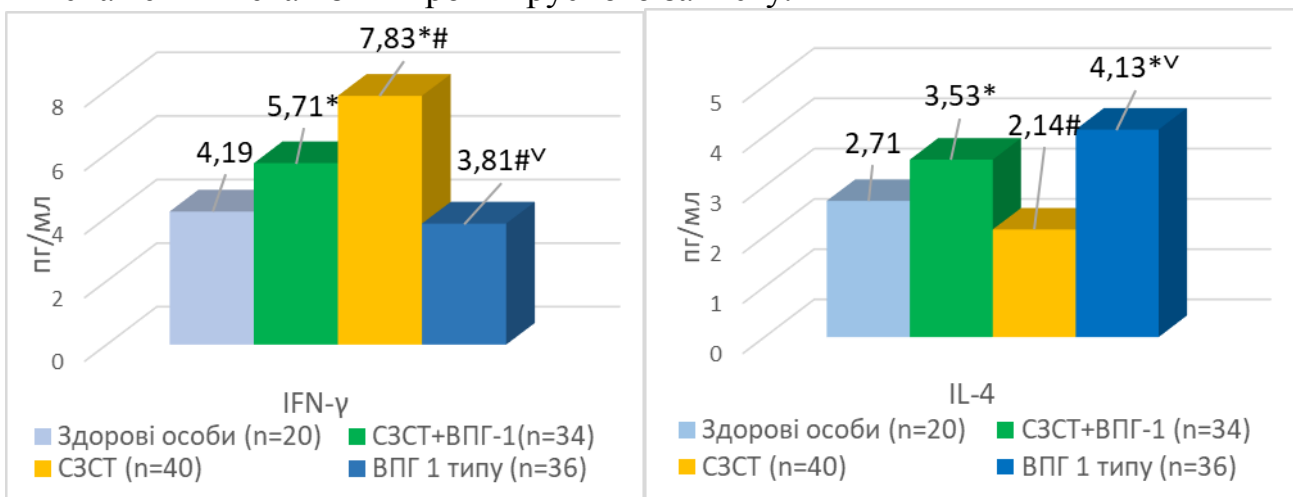
Зміни експресії вказаних рецепторів призводили до більш тяжкого перебігу СЗСТ, в першу чергу в хворих з реактивованою ВПГ-1-інфекцією (Żabińska M, 2016; Vuddamalay Y., 2017; Chen X., 2018).

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 (Чопяк В.В., 2016).

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 (Moulton R.V., 2015).

Проведено порівняльний аналіз рівня $IFN-\gamma$, $IL-4$, $IL-10$ у сироватці крові, а $IFN-\alpha$ в сироватці крові та в слині (рис.3, 4, 5, 6). Рівень $IFN-\gamma$ 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; $p < 0,05$), що видно з рисунку 3. Максимальне підвищення рівня $IFN-\gamma$ 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 $IFN-\gamma$ у пацієнтів на ВПГ-1 свідчило про виснаження механізмів протівірусного захисту.



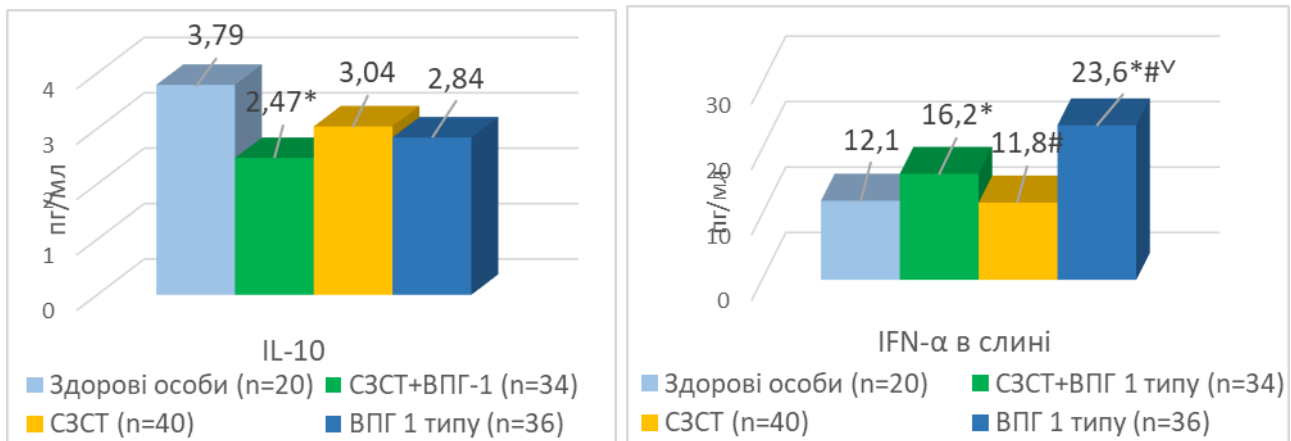
Примітка: *- статистична різниця з групою здорові особи; # - статистична різниця з групою СЗСТ+ВПГ-1; v - статистична різниця з групою СЗСТ;

Рис. 3, 4 Рівні $IFN-\gamma$, $IL-4$ у сироватці крові досліджуваних груп хворих та здорових осіб

Найвищий рівень IL-4 ($4,13 \pm 0,51$ пг/мл) в сироватці крові був виявлений у хворих на ВПГ-1 інфекцію, що було в 1,93 рази вище, ніж у хворих на СЗСТ, що, 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; $p < 0,05$) (рис.5). У хворих на СЧВ+ВПГ-1 було відзначено нижчий у 1,73 рази рівень IL-10, ніж у хворих на РА+ВПГ-1. Вказані зміни рівня IL-10 могли проявляти імуносупресивний вплив, знижуючи експресію цитокінів Т-хелперів 1 типу, відповідальних за формування клітинного протівірусного імунітету (Godsell J., 2016; Uchida M., 2019).

Найвища концентрація IFN- α виявилася у хворих на реактивовану 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 вказувало на активацію протівірусного захисту.



Примітка: *- статистична різниця з групою здорові особи; # - статистична різниця з групою СЗСТ+ВПГ-1; ^ - статистична різниця з групою СЗСТ;

Рис. 5, 6 Рівні IL-10 у сироватці крові, IFN- α у слині досліджуваних груп хворих та здорових осіб

Таким чином, у хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими на СЗСТ встановлено вищий рівень IL-4 та нижчий рівень IFN- γ . Порівняно з хворими на ВПГ-1 у хворих на СЗСТ+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 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%).

За методом логістичної регресії виокремлено ряд чинників, які мають вплив на ризик реактивації ВПГ-1-інфекції у пацієнтів із СЗСТ (табл.1).

**Результати коефіцієнтів регресії щодо ймовірності
реактивації 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

Ймовірність рецидивів ВПГ-1-інфекції (Н) у пацієнтів із СЗСТ залежно від вибраних нами факторів обчислювалась за формулою:

$$H = \frac{1}{1 + e^{-R}} * 100\%$$

де $e = 2,718...$ – основа натуральних логарифмів, а R – величина, яку з урахуванням коефіцієнтів регресії визначали за формулою:

$$R = 1205,94 - 219,17 * V1 - 181,36 * V2 + 6,86 * V3 + 425,14 * V4$$

Чутливість даної моделі становила 100 %, специфічність – 85 %, а загальна точність моделі - 92,5 %.

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, в тому числі у пацієнтів із РА+ВПГ 1 типу - в 1,42 рази, а в пацієнтів із СЧВ+ВПГ 1 типу - в 1,30 разів.

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. Так, після тримісячного курсу комплексної терапії в хворих на СЗСТ+ВПГ-1 ДНК ВПГ-1 була виявлена тільки в 29,4% хворих. 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.

Таким чином, комбіноване застосування протівірусного лікування та тлі базової терапії призвело до зниження реплікації ВПГ-1 в слині, крові та зішкрябі з місць уражень чи слизових у хворих на 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 специфічних IgM в 2,32 рази та зниження рівня специфічного IgG в 2,85 разів (Lasek W., 2016).

Оцінка імунологічної ефективності ґрунтувалась 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+ВПП-1 було виявлено зниження 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+ВПП-1 підвищилася в 1,42 рази, а CD8⁺CD28⁻ та CD56⁺69⁺ лімфоцитів - знизилася відповідно в 1,50 та 1,66 разів.

Після проведеного лікування спостерігалася підвищення рівня IL-10 - в 1,40 разів та зниження рівня IFN- γ - в 1,28 разів в сироватці крові. Рівень IFN- α в сироватці крові зменшився в 1,41 рази, а в слині - в 1,27 рази. Рівень вказаних цитокінів після лікування нормалізувався та не відрізнявся від показників здорових осіб

Для визначення інтерферонорефрактерності у пацієнтів із СЗСТ+ВПП-1 на тлі застосування інозин пранобексу проведений порівняльний аналіз рівня 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.

Рівень IFN- α у сироватці крові підвищувався 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 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) (рис. 7).

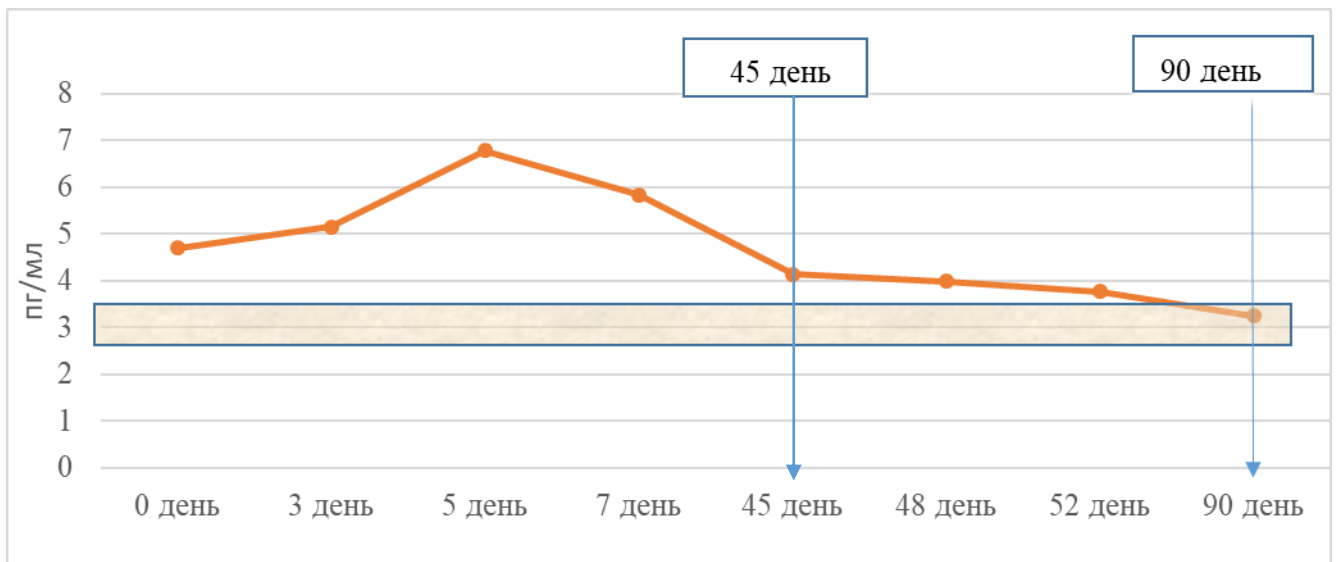


Рис. 7 Порівняльний аналіз рівня IFN- α в сироватці крові до лікування, в процесі лікування та після лікування у хворих на СЗСТ+ВПП-1

Динаміка рівня IFN- α в слині (рис. 8) 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).

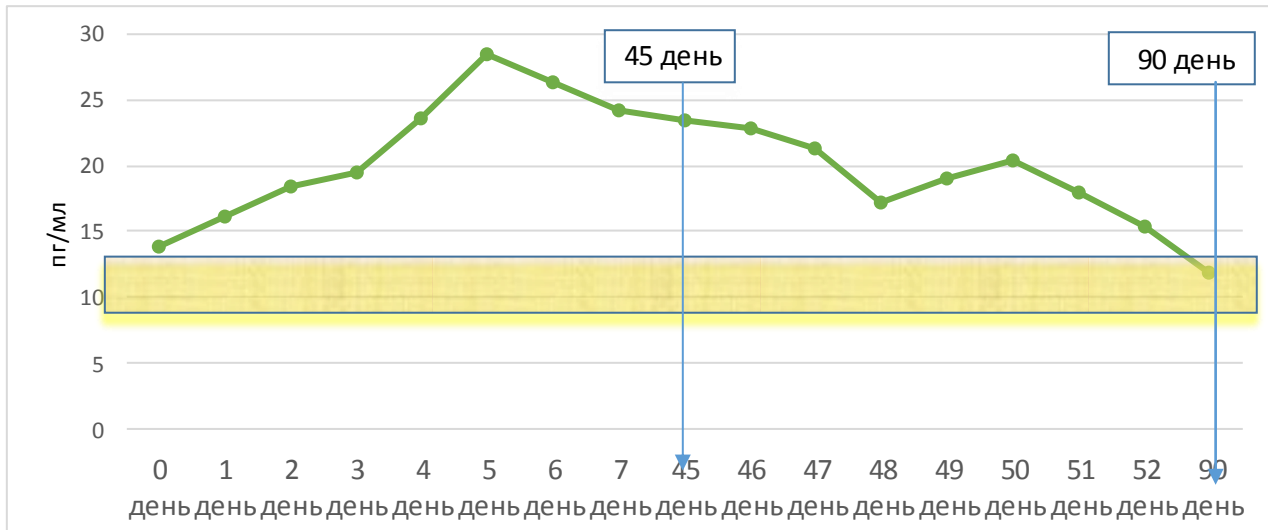


Рис. 8 Порівняльний аналіз рівня IFN-α у слині до лікування, в процесі лікування та після лікування у хворих на СЗСТ+ВПГ-1

Отримані дані вказують на те, що терапія інозин пранобексом продемонструвала його інтерферонорегулюючу дію в пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та не сприяла формуванню інтерферонорефрактерності.

Нами була оцінена також переносимість противірусної терапії у хворих на СЗСТ на тлі реактивованої ВПГ-1-інфекції з урахуванням добової дози інозин пранобексу (до 4 г та більше 4 г залежно від ваги пацієнта). Отже, переносимість інозин пранобексу в добовій дозі до 4 г було оцінено пацієнтами як «добре» - у 81,3%, лікарями - у 93,8%, «задовільно» пацієнтами - у 18,7%, 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 органа 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 інтєрферонорефрактерності.

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, зішкрєб) 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 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 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).

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. – 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 оптимізації ранньої діагностики та розробці терапевтичних підходів у пацієнтів із системними захворюваннями сполучної тканини за умов реактивованої герпетичної інфекції першого типу (СЗСТ+ВПГ-1) з урахуванням клінічних, вірусологічних та імунологічних показників даних пацієнтів.

Встановлено особливості клінічного перебігу СЗСТ у пацієнтів із ВПГ-1-інфекцією порівняно з хворими на СЗСТ з використанням індексів активності DAS28, SLEDAI 2K та функціонального індексу HAQ.

У хворих на СЗСТ+ВПГ-1 порівняно з хворими на СЗСТ встановлено наступні імунологічні особливості: підвищений рівень $CD16^{+}56^{+}$ -лімфоцитів, $CD3^{+}HLA^{+}DR$ -лімфоцитів, $CD45^{+}56^{+}69^{+}$ -лімфоцитів, IFN- α (в слині), IL-4 (в сироватці крові) та знижений рівень $CD8^{+}28^{+}$ -лімфоцитів та IFN- γ (в сироватці крові) ($p < 0,05$).

Створено математичні моделі для прогнозування ризику реактивації ВПГ-1-інфекції у хворих на СЗСТ, кількості рецидивів ВПГ-1 інфекції протягом року - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та з ВПГ-1 та прогнозування зростання активності СЗСТ - для пацієнтів із СЗСТ+ВПГ-1 та з СЗСТ.

Запропоновано метод лікування хворих на СЗСТ+ВПГ-1, який передбачав застосування противірусної терапії (ацикловіру та/або інозин пранобексу) на тлі базової терапії з доведеною клінічною, вірусологічною, імунологічною ефективністю.

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

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

ABSTRACT

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

The thesis for the scientific degree of the candidate of medical sciences in 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 the optimization of early detection and development of therapeutic approaches in patients with systemic connective tissue diseases under conditions of reactivated herpes simplex virus type 1 infection (CTD+HSV-1) taking into account the molecular genetic and immunological parameters of these patients.

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 scrapings from lesions or mucous membranes - 64.7%, blood - 11.8%; in two bioenvironments simultaneously: saliva + scraping from lesions or mucous membranes - in 11.8% patients; scraping from lesions or mucous membranes + blood - in 8.8% patients; saliva + scraping from

lesions or mucous membranes + blood - in 2.9% patients. In patients with Systemic Lupus Erythematosus+HSV-1 (SLE+HSV-1) compared to patients with rheumatoid arthritis+HSV-1 (RA+HSV-1), HSV-1 DNA was more often found in the blood (by 3.39), in scrapings from lesions or mucous membranes (by 1.35) and in saliva (by 1.31), as well as in several environments simultaneously (by 3.0). Increased specific antibody genesis was observed in patients with CTD+HSV-1, who had 4.58 times higher level of IgM-HSV-1, and IgG-HSV -1 – 2.85 times higher compared to patients with CTD, and no significant difference in IgG-HSV-1 was detected compared to 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.

High activity of the inflammatory process in patients with RA (according to DAS28) was more often found in patients with RA+HSV-1 (1.39 times more often than in patients with RA). Patients with SLE+HSV-1 were more likely to suffer from high activity and severe course of disease – 1.45 times more often compared to patients with SLE.

In patients with CTD+HSV-1 compared to patients with CTD, the value of the functional HAQ index was 1.32 times higher, as well as in patients with SLE+HSV -1 compared to patients with SLE, the value of the HAQ index was also 1.40 times higher.

By phenotyping lymphocytes in patients with CTD+HSV-1, an increased number of CD16⁺56⁺-lymphocytes was detected compared to patients with CTD ($p < 0.05$), CD3⁺HLA⁺DR-lymphocytes compared to patients with CTD (1.51 times) and patients with HSV-1 infection (1.23 times), which testified to the activation of the cellular chain of the immune system against the background of increased antiviral protection; CD45⁺19⁺-lymphocytes compared to patients with reactivated HSV -1 infection ($p < 0.05$), CD45⁺56⁺69⁺-lymphocytes compared to patients with reactivated HSV-1 infection (1.68 times) and patients with CTD (1.41 times) and a reduced number of CD8⁺28⁺-lymphocytes compared to patients with CTD (1.51 times), which indicated the suppression of costimulatory signals required for the formation of an adequate immune response.

Patients with CTD+HSV -1 compared to patients with CTD had significantly higher levels of IL-4, lower level of IFN- γ , against the background of a slightly increased IFN- α concentration in saliva. Compared to patients with HSV -1, patients with CTD+HSV -1 had significantly lower levels of IFN- α in saliva and higher IFN- γ level in blood serum against the background of slightly reduced IL-4 level.

Based on the findings of immunological studies, mathematical models have been proposed to determine the reactivation risk of HSV-1 infection for patients with

CTD+HSV -1, the prediction of the number of HSV-1 infection relapses during the year - for patients with CTD+HSV-1 and HSV-1 and prediction of CTD activity growth - for patients with CTD+HS -1 and CTD.

For patients with CTD+HSV-1 the clinical effectiveness of antiviral treatment against the background of basic therapy has been proven: based on the HAQ functional index decrease by 1.37 times and a reduction in the number of relapses of HSV-1 infection by 1.64 times; virological efficacy – based on a decrease in the frequency of detection of HSV-1 DNA in saliva by 3.25 times, in scrapings from the lesion or mucous membranes – by 3.67 times and blood – by 4.0 times against the background of reduced synthesis of specific IgM immunoglobulins and IgG; immunological efficacy based on a decreased number of $CD16^+56^+$ - lymphocytes – by 1.48 times, $CD3^+HLA^+DR$ -lymphocytes – by 1.38 times, $CD56^+69^+$ - lymphocytes – by 1.66 times and an increase in the relative number of $CD8^+CD28^+$ - lymphocytes – by 1.42 times; a decreased level of IFN- α in the blood - 1.41 times, in saliva 1.27 times, IFN- γ – 1.29 times and an increase in IL-10 – by 1.40 times

Based on determining the dynamics of IFN- α level in blood serum and saliva under the influence of antiviral against the background of basic therapy, it was proved that inosine pranobex therapy had interferon-regulating effects in patients with CTD+HSV-1, but did not contribute to interferon refractoriness.

The tolerability of antiviral therapy in patients with CTD against the background of reactivated HSV type 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). Tolerability of inosine pranobex in a daily dose of up to 4 g was assessed by doctors as "good" in 93.8% of sick people, by patients - in 81.3%, and more than 4 grams – evaluated as "good" by 75.0% of patients and 87.5% of doctors. Unsatisfactory tolerability of inosine pranobex was not observed.

Key words: systemic connective tissue diseases, herpes simplex virus type 1 infection, activity indices, lymphocytes, interleukins, antiviral therapy, interferon refractoriness.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВПГ-1	– вірус простого герпесу 1 типу
ІФА	– імуноферментний аналіз
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
РА	– ревматоїдний артрит
РФ	– ревматоїдний фактор
СЗСТ	– системні захворювання сполучної тканини
СЗСТ+ВПГ-1	– хворі із системними захворюваннями сполучної тканини на тлі герпесвірусної інфекції 1 типу
СЧВ	– системний червоний вовчак
ANA	– антинуклеарні антитіла
Anti-dsDNA	– антитіла до двоспиральної 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
HAQ	– Health Assessment Questionare, враховує функціональний індекс порушення життєдіяльності при СЗСТ
HSV-1	– herpes simplex virus type 1 infection
IFN- α , IFN- γ	– інтерферон-альфа та інтерферон-гамма
IgM, IgG	– імуноглобуліни класів М та G
IL-4, IL-10	– інтерлейкін 4 та 10
RA	– rheumatoid arthritis
SLE	– Systemic Lupus Erythematosus
SLEDAI	– Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, індекс активності системного червоного вовчаку

Підписано до друку 13.04.21
Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Друк на різнографі. Зам. №13/04-3
Ум. друк. арк. 0,9
Наклад 100 прим.

Видавництво “Галич-Прес”
Видавець ФОП Король І.В.
м. Львів, вул. Гнатюка, 17
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924
Свідоцтво ДК №5353 від 24.05.2017 р.