ІМУНОЛОГІЯ ТА АЛЕРГОЛОГІЯ

НАУКА І ПРАКТИКА

ISSN 2707-1871

1-2'2021

З Ювілеєм!

Георгій Миколайович Драннік народився 16 березня 1941 року в Умані, що на Черкащині, в родині кадрового військового. 1965 року із відзнакою закінчив лікувальний факультет Харківського медичного інституту, де вперше відчув інтерес до науки. Отримавши пропозицію від академіка Л.Т. Малої залишитися в аспірантурі на кафедрі госпітальної терапії, Георгій Миколайович вирішив спочатку набути практичного досвіду і три роки пропрацював на посаді начальника біохімічної лабораторії у клінічному санаторії «Конча-Заспа» (Київ). У 1968 році Г.М.Драннік став аспірантом нещодавно створеного НДІ захворювань нирок і сечовивідних шляхів МОЗ УРСР (нині Інститут урології НАМН України). Під керівництвом професора А.В. Соколова Георгій Миколайович був залучений до розробки і впровадження у клінічну практику в Україні пересадки нирки. Теми захищених ним як кандидатської, так і докторської дисертацій були присвячені трансплантаційній імунології: «Алотрансплантація нирки на фоні аутоімунного гломерулонефриту» та «Механізми відторгнення алогенної нирки й можливості диференційованого на них впливу» (1980).

Окремий науково-практичний інтерес Г.М. Дранніка полягав у з'ясуванні особливостей дії імуносупресорів, розрахунків їх доз та алгоритму моніторингу адекватності і ефективності імуносупресії. В ході роботи було використано першу вітчизняну панель HLA-типуючих сироваток, що згодом дало змогу започаткувати в Україні дослідження проблеми HLA-фенотипу і схильності до захворювань.

Із 1980 року Г.М. Драннік став завідувачем лабораторії імунології Інституту урології НАМН України, а у 1986 році йому присвоїли звання професора. Із 1984 року він одночасно у співпраці із Інститутом молекулярної біології й генетики (ІМБІГ) розпочав дослідження імунотропних властивостей інтерферону.

Після аварії на ЧАЕС з 1986 року Г.М. Драннік разом із співробітниками з власної ініціативи протягом 3 років здійснював епідеміологічні виїзди у Чернігів і прилеглі зони, де обстежував ліквідаторів аварії, що дало змогу отримати унікальні докази імунокомпроментуючого впливу іонізуючої радіації та психоемоційного стресу на організм людини. Аналіз вже перших даних дав підставу Г.М. Дранніку звернутися до академіка Б.Є. Патона з питанням щодо необхідності розвитку клінічної імунології в Україні.

У липні 1987 було створено Республіканський міжвідомчий науково-дослідний центр клінічної імунології, директором якого був призначений Г.М. Драннік. Центр очолив роботу зі створення республіканської служби клінічної імунології у практичній охороні здоров'я. З того часу було багато зроблено для просвітництва медичної спільноти і виховання спеціалістів – майбутніх клінічних імунологів. Особисто Г.М. Драннік прочитав сотні лекцій для лікарів та науковців по всій країні, які надихали, зацікавлювали і одночасно ознайомлювали із найновітнішими здобутками, пов'язаними із сучасною клінічною та лабораторною імунологією. У результаті наукових досліджень 1989 року було виявлено у більшості здорових киян ознаки синдрому підвищеної стомлюваності та імунної дисфункції, котрий є зоною ризику розвитку імунопатології та імунозалежних хвороб. Пізніше, в 1992 році, схожі зміни було зафіксовано під час експедиційних виїздів до 5 областей України.

З 1992 по 2004 рік Г.М. Драннік, як головний спеціаліст МОЗ України з питань клінічної та лабораторної імунології, активно розробляв та просував накази щодо створення і вдосконалення в країні служби клінічної і лабораторної імунології, затвердження нових медичних спеціальностей «лікар-імунолог клінічний» і «лікар-лаборант імунолог», а також підготував програму «Захист і реабілітація імунної системи населення України», яка у 1992 році виграла конкурс програм Державного комітету з науки і техніки.

Георгій Миколайович брав активну участь у створенні наукової школи імунологів: під його керівництвом захищено 11 докторських і 31 кандидатська дисертації з різних питань клінічної та лабораторної імунології. Поряд із цим, він призначається Головою проблемної комісії АМН та МОЗ України «Клінічна імунологія та алергологія» (2001-2010). У науковому доробку Г.М. Дранніка 15 монографій. Серед них «Система імунітету при захворюваннях внутрішніх органів», «Імунітет та інфекція при пересадці нирки», 1986 (співавтор), «Імунефрологія», 1989, «Генетичні системи крові людини та хвороби», 1990 (співавтор), «Імунотропні препарати», 1994 (співавтори Ю.А. Гриневич, Г.М. Дизик), «Дослідження впливу препаратів „Ербісолу" на функціональну активність Т-хелперів II типу за продукцією ІЛ-4 та ІЛ-10 in vitro», 2003, співавтори В.Є. Дріянська, О.В. Назар, О.М. Ніколаєнко та ін., «Основні принципи діагностики та лікування інфекцій, викликаних а-герпесвірусами I-III типів», 2004, співавтори Л.М. Білянська, С.О. Крамарев, М.А. Мазепа, Г.О. Потьомкіна, В.В. Чоп'як, «Вплив ербісолу ультрафарм при рецидивуючій герпетичній інфекції на продукцію ІЛ-4, ІЛ-10 та експресію активаційних молекул», 2006 (співавтор).

До 100-річчя з дня народження І.І. Мечникова Г.М. Драннік підготував посібник «Введение в клиническую иммунологию». В цілому Г.М. Драннік є автором більш, ніж 800 друкованих статей, 10 патентів і 10 авторських посвідчень.

Велику увагу професор Г.М. Драннік приділяв і приділяє питанням викладання і безперервної медичної (професійної) освіти. Він — засновник і перший керівник (з 1994 р.) кафедри клінічної імунології та алергології з курсом дитячої клінічної імунології (нині – кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики) Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Вона стала першою профільною кафедрою в Україні для викладання на додипломному рівні. Багато часу і зусиль Г.М. Драннік приділяв підготовці викладацьких кадрів, розбудові клінічних баз і їхньому оснащенню, становленню наукової проблематики кафедри. Під його керівництвом розроблено перші програми з викладання дисципліни, які постійно оновлювалися. Видано перші навчальні посібники (1999, 2003, 2006, 2010) і перший підручник державною мовою (2006).

Особливого, приязного, відкритого до дискусії лектора в особі Г.М. Дранніка пам'ятатимуть тисячі студентів. Його лекції були наповнені новими даними, завжди були живими і цікавими. Вони демонстрували важливість опанування певною сумою знань з клінічної імунології та алергології для кожного майбутнього лікаря незалежно від обраного фаху.

З 1997 році, очолюючи опорну кафедру, Г.М. Драннік брав безпосередню участь у створенні кафедр (курсів) клінічної імунології та алергології практично в усіх вищих медичних навчальних закладах України.

У 2012 році Георгій Миколайович, залишившись професором кафедри, передав завідування нею своєму учневі — доктору медичних наук, професору Андрію Ігоровичу Курченку. Але продовжував брати участь у житті колективу кафедри, приділяв увагу студентській науці, завдяки чому на Всеукраїнських олімпіадах з клінічної імунології та алергології багато років поспіль саме студенти-кружківці НМУ імені О.О. Богомольця отримували перші місця.

Продовжуючи лінію на удосконалення професійного рівня і об'єднання зусиль спеціалістів, які працюють у профільному напрямі, у 1998 р. Г.М. Драннік організував І Національний конгрес з імунології та алергології, на якому ухвалили рішення про створення Українського товариства фахівців з імунології, алергології та імунореабілітації (УТІАІ). Г.М. Дранніка обрали першим його президентом. Із 2000 року УТІАІ стало колективним членом Європейської академії алергології та клінічної імунології (EAACI). Під егідою товариства проводилися конгреси, десятки науково-практичних конференцій та семінарів, а також була організована міжнародна Літня школа (Summer Course) для молодих учених імунологів-алергологів.

1998 року Г.М. Драннік заснував і став головним редактором першого в Україні спеціалізованого журналу «Імунологія та алергологія», який одержав статус ВАКівського і видається до сьогодні під назвою «Імунологія та алергологія. Наука і практика».

Здобутки Г.М. Дранніка відображено у низці нагород: знак «Відмінник охорони здоров'я» (1979), Почесна грамота Президії НАМН України (2002, 2015), а також грамота Всесвітньої організації алергологів (2006), лауреат Державної премії України з науки і техніки (2018).

ISSN 2707-1871
doi:10.37321

ІМУНОЛОГІЯ ТА АЛЕРГОЛОГІЯ

НАУКА І ПРАКТИКА

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ
Виходить 4 рази на рік

1-2'2021

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Медичні науки:
Бережна Н.М.
Бутенко Г.М. (науковий консультант)
Возіанов С.О.
Волянський А.Ю.
Гольцев А.М.
Драннік Г.Г. (Канада)
Драннік Г.М. (головний редактор)
Дріянська В.Є.
Кайдашев І.П.
Курченко А.І. (заступник головного редактора)
Літус В.І.
Лісяний М.І.
Мінухін В.В.
Порошина Т.В.
Пшенична І.В. (літературний редактор)
Скляр Н.І.
Чернишова Л.І.
Чернишов В.П.
Широбоков В.П.

Біологічні науки:
Базаліцька С.В.
Бичкова Н.Г.
Король Л.В.
Мінченко Ж.Д.
Нікуліна Г.Г.
Руденко А.В.
Савченко В.С.
Сківка Л.М.
Співак М.Я.

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Бажора Ю.І. (Одеса), Борис О.М. (Київ), Вітовська О.П. (Київ), Господарський І.Я. (Тернопіль), Гриневич Ю.А. (Київ), Дитятківська Є.М. (Дніпро), Заболотний Д.І. (Київ), Засєда Ю.І. (Київ), Зайков С.В. (Київ), Коваль Г.Д. (Чернівці), Лоскутова І.В. (Рубіжне), Мельніков О.Ф. (Київ), Недєльська С.М. (Запоріжжя), Нікольський І.С. (Київ), Охотнікова О.М. (Київ), Фещенко Ю.І. (Київ), Чернюк Н.В. (Івано-Франківськ), Чоп’як В.В. (Львів), Чумак А.А. (Київ)

ЗАСНОВНИКИ

ДУ «Інститут Урології НАМН України»
Українське товариство фахівців з імунології, алергології та імунореабілітації

Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ № 15721-4193Р від 08.10.2009 р.

Включено до переліку наукових фахових видань України, Додаток 3 до наказу Міністерства освіти і науки України від 26.11.2020 № 1471.
Категорія «Б».

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ

04053, м. Київ, вул. В. Винничнека, 9А
«ДУ Інститут Урології НАМН України»

info@immunology.org.ua
www.immunology.org.ua

Матеріали друкуються мовою оригіналу (українською, російською або англійською).

За зміст рекламної інформації відповідальність несе рекламодавець.

Матеріали конференції публікуються в авторській редакції. Відповідальність за науковий рівень поданих робіт та достовірність отриманих результатів несуть автори.

Редакційна колегія не завжди поділяє точку зору авторів публікацій.
Передрук публікацій здійснювати тільки за згодою редакції.

Рекомендовано до друку Вченою Радою ДУ «Інститут Урології НАМН України», протокол №3 від 27.04.2021

Наклад 500 прим.

Здано в набір 28.04.2021. Підписано до друку 21.05.2021.
Формат паперу 64×84 1/8. Гарнітура PragmaticaC. Ум. друк. арк. 12,09. Замовлення № 210521

Зверстано і надруковано в ТОВ “Видавництво “Юстон”
01034, м. Київ, вул. О. Гончара, 36-а т: (044) 360-22-66, www.yuston.com.ua
Свідоцтво про внесення суб’єкта видавничої справи до державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції серія дк № 4973 від 09.09.2015 р.

ISSN 2707-1871
doi:10.37321

IMMUNOLOGY AND ALLERGOLOGY

SCIENCE AND PRACTICE

PRACTICAL, SCIENTIFIC JOURNAL
Published 4 times a year

1-2'2021

EDITORIAL COLLEGE

Medical sciences:

Berezhna N.
Butenko G. (scientific consultant)
Chernyshova L.
Chernyshov V.
Drannik A. (Canada)
Drannik G. (Editor in Chief)
Driianska V.
Holtsev A.
Kajdashev I.
Kurchenko A. (Deputy editor)
Lisyanii M.
Litus V.
Melnikov O.
Minukhin V.
Volianskyi A.
Vozianov S.
Poroshyna T.
Pshenychna I. (Literary editor)
Shyrobokov V.
Skliar N.

Biological science:

Basalitska S.
Bychkova N.
Korol L.
Minchenko Zh.
Nikulin G.
Rudenko A.
Savchenko V.
Skivka L.
Spivak M.

EDITORIAL COUNCIL

Bazhora Yu. (Odesa), Boris O. (Kyiv), Cherniuk N. (Ivano-Frankivsk), Chopiak V. (Lviv), Chumak A. (Kyiv), Dytiatkivska Ye. (Dnipro), Feshchenko Yu. (Kyiv), Hospodarskyi I. (Ternopil), Hrynevych Yu. (Kyiv), Koval G. (Chernivtsi), Loskutova I. (Rubizhne), Melnikov O. (Kyiv), Nedielska S. (Zaporizhzhia), Nikolskyi I. (Kyiv), Okhotnikova O. (Kyiv), Vitovska O. (Kyiv), Zabolotnyi D. (Kyiv), Zaikov S. (Kyiv), Zasieda Yu. (Kyiv).

FOUNDERS

State Center "Institute of Urology AMS of Ukraine"

Ukrainian society of immunology, allergology and immunorehabilitation specialists

State Registration Certificate KB № 15721-4193P dated 08.10.2009.

Included in the list of scientific professional publications of Ukraine,

Annex 3 to the order of the Ministry of Education and Science of Ukraine 26.11.2020 № 1471. Category "B".

EDITORIAL ADDRESS

04053, Kyiv, V. Vynnychenko str, 9a

Institute of Urology AMS of Ukraine

info@immunology.org.ua
www.immunology.org.ua

Printed materials in the original language (Ukrainian, Russian or English).

The content of advertising responsibility of the advertiser.

Conference proceedings are published in author's edition. Responsibility for the scientific level of the submitted works and the reliability of the results are the authors.

Editorial board does not always shared the view of the authors of publications.
Reprint articles carried out only with the consent of the publisher.

Recommended for publication by the Academic Council of State Center "Institute of Urology AMS of Ukraine", Protocol № 3 dated 27.04.2021

Edition 500 copies

Made up and printed "Publishing house "Yuston" Ltd.

01034, Kiev, Gonchara str, 36a; Tel.: (044) 360 2266, e-mail: director.yuston@ukr.net, www.yuston.com.ua

Certificate of making a publishing house subject to publication in the state register of publishers, manufacturers and distributors of publishing products series dq. No. 4973 dated 09.09.2015.

— ЗМІСТ —

СТАН МІКРОЕКОЛОГІЇ ТА МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ПІХВИ У ЖІНОК В ПІСЛЯАБОРТНОМУ ПЕРІОДІ
Пономарьова І.Г., Лісяна Т.О., Стамболі Л.В., Мацола О.М., Лісяний М.І. 5

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ MIR-BART-13 І MIR-BART-15 У ПАТОГЕНЕЗІ АЛЕРГІЧНИХ ХВОРОБ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ ЕПШТЕЙНА-БАРР ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ
Зубченко С.О., Гайдучок І.Г., Чопяк В.В.. 13

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ БІОХІМІЧНОГО ПРОФІЛЮ У ДІТЕЙ З РОЗЛАДАМИ СПЕКТРУ АУТИЗМУ, АСОЦІЙОВАНИМИ З ГЕНЕТИЧНИМ ДЕФІЦИТОМ ФОЛАТНОГО ЦИКЛУ
Мальцев Д.В. 19

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРІВ 9 ТИПУ НА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИНАХ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З КОРОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ
Веклич К.А., Попов М.М., Лядова Т.І., Мартиненко О.В., Сорокіна О.Г.. 29

ОСОБЛИВОСТІ СИРОВАТКОВИХ РІВНІВ ІЛ-10 У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ДІАЛІЗНИХ МЕТОДІВ
Дріянська В.Е., Дудар І.О., Шіфріс І.М., Савченко В.С., Калініна Н.А., Холод В.В. 39

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА МОЖЛИВІСТЬ КОРЕКЦІЇ ДЕЯКИХ ПАРАМЕТРІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ХВОРИХ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ
Шаповалова Ю.Ю., Усатов С.А.. 46

МАТЕРІАЛИ НАУКОВО-ПРАКТИЧНА ОНЛАЙН-КОНФЕРЕНЦІЯ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ПРИКЛАДНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ» 24-25 БЕРЕЗНЯ 2021 РОКУ 52

МАТЕРІАЛИ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ ТРЕТІЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ФОРУМ ІМУНОЛОГІВ, АЛЕРГОЛОГІВ, МІКРОБІОЛОГІВ ТА СПЕЦІАЛІСТІВ КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ, ПРИСВЯЧЕНИЙ 135-РІЧЧЮ ДУ «ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ 20-21 ТРАВНЯ 2021 РОКУ М. ХАРКІВ 56

АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ 58

— CONTENT —

STATE OF VAGINAL MICROECOLOGY AND LOCAL IMMUNITY IN WOMEN DURING THE POST-LABOR PERIOD
Ponomareva I., Lisyana T., Stamboli L., Matsola O., Lisyany N. 11

INVESTIGATION OF MIR-BART-13 AND MIR-BART-15 ROLE IN PATHOGENESIS OF ALLERGIC DISEASES COMBINED WITH CHRONIC EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION
Zubchenko S., Haiduchok I., Chopyak V. 13

THE RESULTS OF THE STUDY OF BIOCHEMICAL PROFILE INDICATORS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS ASSOCIATED WITH GENETIC DEFICIENCY OF THE FOLATE CYCLE
Maltsev D. 19

FEATURES OF THE EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTORS TYPE 9 ON IMMUNOCOMPETENT PERIPHERAL BLOOD CELLS OF PATIENTS WITH MEASLES INFECTION OF VARYING SEVERITY
Veklych K., Popov M., Liadova T., Martynenko A., Sorokina O. 29

PECULIARITIES OF SERUM LEVELS OF IL-10 IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE (CKD) WHO ARE TREATED USING DIALYSIS METHODS
Driianska V., Dudar I., Shifris I., Savchenko V.,
Kalinina N., Kholod V. 39

THE MODERN VIEW ON THE POSSIBILITY OF CORRECTION SOME PARAMETERS OF THE PATIENT’S IMMUNE SYSTEM WITH BRAIN INJURY
Shapovalova Yu., Usatov S. 46

MATERIALS SCIENTIFIC AND PRACTICAL ONLINE CONFERENCE WITH THE INTERNATIONAL PARTICIPATION "CURRENT ISSUES OF APPLIED IMMUNOLOGY AND ALLERGOLOGY" MARCH 24-25, 2021 52

MATERIALS OF THE SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION "THIRD NATIONAL FORUM OF IMMUNOLOGISTS, ALLERGOLOGISTS, MICROBIOLOGISTS AND CLINICAL MEDICINE SPECIALISTS DEDICATED TO THE 135TH ANNIVERSARY SI "INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY NAMED AFTER II MECHNIKOV NATIONAL ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE MAY 20-21, 2021 KHARKIV 56

АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ 58

© Пономарьова І.Г., Лісяна Т.О., Стамболі Л.В., Мацола О.М., Лісяний М.І., 2021
doi:10.37321/immunology.2021.1-2-01
УДК: 618.15-008.8:618.39-071.1

СТАН МІКРОЕКОЛОГІЇ ТА МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ПІХВИ У ЖІНОК В ПІСЛЯАБОРТНОМУ ПЕРІОДІ

ПОНОМАРЬОВА І.Г.[1], ЛІСЯНА Т.О.[1], СТАМБОЛІ Л.В.[1], МАЦОЛА О.М.[1], ЛІСЯНИЙ М.І.[2]

[1]ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», Київ
[2]ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ

ВСТУП

На протязі останнього десятиріччя частота абортів в Україні залишається стабільно високою. Питома вага абортів в структурі материнської смертності складає 18,5-21,3 %, а частота ранніх та віддалених ускладнень після абортів знаходиться в межах від 16 % до 52 % [1, 2].

Поряд з традиційним хірургічним методом переривання вагітності в багатьох країнах світу застосовується медикаментозний аборт, який вважається менш травматичним в порівнянні з кюретажем або вакуум-екскохлеацією. Але відомо, що наслідками медикаментозного аборту є довготермінова присутність відторгнутих некротичних тканин та скупчення значних об’ємів крові, що створює умови для активної проліферації потенційно патогенної мікрофлори [3].

Внаслідок пошкодження едометрію під час хірургічного аборту, ускладнюється його регенерація. Це супроводжується порушенням рецепторної, ендокринної, бар’єрної функції ендометрія [4, 5].

Виникнення в післяабортному періоді запальних захворювань призводить до морфофункціональної неповноцінності ендометрія внаслідок деструкції залоз строми, термінальних судин та склеротичних процесів в них. Ризик інфікування після аборту пов’язують зі зниженням місцевого імунітету [6].

Запальні захворювання, детерміновані інфекційним фактором, на теперішньому етапі займають провідне місце серед ускладнень післяабортного періоду [7,8].

До збудників, які сприяють виникненню запального процесу після аборту належать стрептококи А, В, стафілококи, окремі види ентеробактерій, представники анаеробної мікрофлори або їх асоціацій. На сучасному етапі запальний процес може виникати внаслідок появи мікроорганізмів, які нечутливі до антибактеріальних препаратів [9].

Домінуючі позиції займають стафілококи, які мають великий спектр факторів агресії і власного захисту. Золотистий стафілокок синтезує летальний токсин, дермонекротоксин, гемолізин та ентеротоксин, здатен продукувати плазмокоагулазу, лецитіназу, викликати гемоліз еритроцитів. До факторів патогенності стрептококів відносять їх здатність утворювати стрептолізин, що руйнує клітини крові, лейкоцидин – фермент, який руйнує лейкоцити і викликає дисфункцію імунної системи, некротоксин, летальний токсин, ферменти, що забезпечують проникнення і поширення бактерій в тканинах – гіалуронідаза, стрептокіназа, амілаза, протеїназа.

Серед ентеробактерій, як чинників інфекційної патології у жінок, провідна роль належить ешеріхіям. В їх структуру входить капсульний термостабільний антиген К, який гальмує фагоцитоз та руйнує комплемент, що призводить до послаблення захисної спроможності організму. З високою частотою зі статевих шляхів жінок виділяється клебсієла, яка синтезує ендотоксин, що є ліпополісахаридом клітинної стінки. Поряд з бактеріями в формуванні запальних процесів статевих органів приймають участь гриби роду Candida.

В останні роки збільшилась частота діагностики у хворих після перенесеного аборту гарднерельозу. До основних факторів вірулентності гарднерелл належить цитотоксичність, здатність до утворення біоплівки та адгезії. Існує інформація, яка свідчить, що Gardnerella може підвищувати ризик самовільного аборту [10].

Своєчасне визначення збудника має надзвичайно велике значення для вибору тактики лікування або профілактики запалення в післяабортному періоді [11].

В останнє десятиріччя по ініціативі Американської наукової біологічної спільноти дослідниками різних країн розробляється проєкт «Мікробіом людини». Ці розробки спрямовані на вивчення мікробних спільнот різних біотопів організму людини, при різних патологічних станах. Існує думка, що завдяки здатності реалізувати специфічні адаптаційні механізми, мікробіом людини бере участь в метаболічних, захисних, генетичних процесах життєдіяльності. Завдяки вивченню мікробіому людини, встановлено, що піхву слід розглядати як окремий орган зі своєю динамічною екосистемою. Значну роль в функціонуванні мікробіоти піхви грає утворення при епітеліальних біоплівок, асоційованих зі слизо-

вою оболонкою. До захисних функцій біоплівок відносять їх здатність стримувати колонізацію епітелію піхви різними патогенами та попереджати їх транслокацію у внутрішнє середовище [12, 13].

Враховуючи літературні дані про негативний вплив абортів на захисні функції слизової оболонки та морфофункціональний стан статевих шляхів, слід вважати доцільним дослідження змін мікробіоценозу піхви в післяабортному періоді.

Метою роботи було вивчення стану місцевого імунітету та структури мікробіому піхви в післяабортному періоді та порівняння показників мікробної контамінації піхви в залежності від метода переривання вагітності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ РОБОТИ

Під спостереженням знаходились 130 жінок. Середній вік жінок складав 28±2,06 роки.

В залежності від метода переривання вагітності, пацієнтки були розділені на 2 групи: I група (62 жінки) включала пацієнток, яким був проведений аборт шляхом хірургічного вишкрібання стінок матки, строк вагітності від 8 до 12 тижнів. В II групу (68 жінок) входили пацієнтки, яким був проведений медикаментозний аборт із застосуванням міфепристону, строк вагітності від 2 до 6 тижнів. Пацієнтки обстежувались за 2-3 доби до проведення аборту та на 14-15 добу після аборту.

Групи жінок були ідентичні по віку, менструальній функції, соматичному та гінекологічному анамнезу, паритету. До проведення аборту у всіх пацієнток проводилось комплексне обстеження, яке включало клінічні, гормональні, імунологічні, біохімічні, цитологічні та ультразвукові методи досліджень. В якості контролю обстежено 30 здорових жінок.

Стан мікробіому піхви та цервікального каналу оцінювали за допомогою бактеріоскопічного та бактеріологічного методів дослідження.

Застосування бактеріоскопічного метода дослідження дозволяє визначити типи мікробіоценозу піхви: нормоценоз, проміжний тип, дисбіоз, вагініт (Е.Ф.Кіра) [14].

Проведення мікробіологічних аналізів культуральним методом та облік результатів здійснювали згідно наказу № 234 МОЗ України від 10.05.2007 року.

Посіви здійснювали методом секторного посіву на щільні поживні середовища, що дозволяє визначити ступінь мікробного обсіменіння та виявити максимально можливий спектр аеробної та факультативно-анаеробної мікрофлори. Виділену мікрофлору фарбували по Граму та метиленовим синім.

Таксономічне положення мікроорганізмів визначали відповідно до «Визначника бактерій Берджі». Ідентифікацію мікроорганізмів проводили за їх культуральними та морфологічними ознаками.

Гарднерельоз діагностували методом бактеріоскопії шляхом фарбування мазків по Романовському з подальшим підрахуванням «ключових» клітин, постановкою амінового тесту, визначенням pH.

Кількісний вміст sIgA та IgG, IgA, IgM (г/л) у біологічних рідинах статевих шляхів визначали за допомогою радіальної імунодифузії у гелі з використанням антисироваток до окремих класів імуноглобулінів за методом Mancini та співавт., 1965 (15). Рівень лізоциму у виділеннях цервікального каналу визначали також за допомогою методу радіальної імунодифузії у гелі з використанням однодобової культури сухого порошку Micrococcus Lyzodeiticus за методикою Н.С.Мотавкіної та співавт., 1979 (16).

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили за допомогою стандартних комп'ютерних пакетів «Аналіз даних» Microsoft Excel для Windows 2007. Обчислено значення середнього арифметичного – величина (M), середня похибка середньої величини (m), рівня вірогідності розбіжностей (p). Оцінку достовірності отриманих даних проводили загальноприйнятим методом за допомогою критерію Стьюдента. Достовірність вважалась встановленою, якщо її вірогідність дорівнювала не менше 95 % (0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ

Вивчення показників мікробіому піхви проводили за 2-3 доби до проведення аборту та на 14-15 добу після аборту.

Здійснювали порівняльний аналіз показників мікробної контамінації піхви в післяабортному періоді в залежності від метода застосованого аборту.

В результаті бактеріоскопічного дослідження вмісту піхви у жінок до проведення аборту виявлено перехідний варіант біоценозу: варіабельна кількість лейкоцитів (5-15 в п/зору), незначна тенденція до підвищення щільності обсіменіння піхви грампозитивною коковою флорою, помірна кількість грамнегативних паличок та дріжджових клітин. Не виявлено деструктивних змін епітелію та «ключових» клітин.

Результати аналізу мікробіоценозу культуральним бактеріологічним методом до проведення аборту свідчать про відсутність суттєвих порушень структури мікробіому піхви в порівнянні зі здоровими жінками.

В спектрі виділеної мікрофлори з незначною частотою реєструвались окремі представники ентеробактерій: E-coli – 15,4 %, Klebsiella spp. – 5,4 %.

Частота висіву кокової мікрофлори знаходилась в межах 10,8 %-18,5 %. До проведення аборту до складу мікрофлори піхви не входили стафілококи та стрептококи з патогенними властивостями. Частота контамінації піхви грибами р. Candida була незначною (7,7 %).

Кількісні показники виділеної з піхви жінок умовно-патогенної мікрофлори не перевищували діагностичний рівень (<lg4,0 КУО/мл), а концентрація лактобацил знаходилась в межах норми (lg 6,4 КУО/мл).

У 54,6 % обстежених пацієнток зареєстровано формування двох-компонентних мікробних асоціацій, у інших жінок виявлено монокультури. Склад асоціацій переважно був представлений сполученням грампозитивних коків (S.epidermidis) з грибами р.Candida або E.coli з Streptococcus spp.

У здорових жінок кількісні показники висіву мікрофлори з піхви не перевищували lg 4,0 КУО/мл, а частота її реєстрації знаходилась в межах 2 % – 16 %.

Таким чином, одержані дані свідчать про відсутність суттєвих порушень мікробіоценозу піхви у жінок до проведення аборту.

В задачі роботи входило вивчення змін місцевого імунітету та мікробіоти піхви після хірургічного та медикаментозного аборту.

При визначенні стану місцевого імунітету після медикаментозного методу переривання вагітності, було виявлено підвищення вмісту секреторного IgA до 3,84±0,67 г/л, що вище показників у здорових – 0,62±0,12 г/л, (p<0,05). У жінок після хірургічного методу переривання вагітності концентрація sIgA була майже в десять разів вищою порівняно з групою контролю і склала 6,0±0,4 г/л, (p<0,05). При цьому даний показник у хірургічній групі був достовірно вищим, ніж після медикаментозного аборту, (p<0,05) (табл. 1).

Таблиця 1

Концентрація імуноглобулінів і лізоциму у цервікальному слизу обстежених хворих в післяабортному періоді (г/л)

Групи обстежених	Кількість обстежених	Значення показника у обстежених жінок			
		sIgA	IgG	IgA	Лізоцим
I група	62	6,0±0,4*	2,24±0,11*	0,37±0,05*	0,13±0,03
II група	68	3,84±0,67**	1,70±0,31*	0,31±0,15	0,06±0,02*
Контроль	30	0,62±0,12	0,17±0,02	0,12±0,02	0,17±0,03

Примітки:

* – різниця достовірна порівняно з контрольною групою, (p<0,05).

** – різниця достовірна порівняно з другою групою, (p<0,05).

Щодо вмісту лізоциму у цервікальному слизу, то його концентрація у жінок після медикаментозного переривання вагітності була достовірно нижчою – 0,06±0,02 г/л порівняно з пацієнтками після хірургічного аборту та здоровими – 0,13±0,03 і 0,17±0,03 г/л відповідно, (p <0,05). Підвищення концентрації основних класів імуноглобулінів (sIgA, IgG та IgA) у цервікальному слизу даного контингенту хворих, незалежно від методу переривання вагітності, можна розцінювати як ознаку запального процесу з хронічним типом перебігу.

Дослідження вмісту піхви бактеріоскопічним методом на 14-15 добу після хірургічного аборту свідчить про значне підвищення кількості нейтрофілів та лейкоцитів (30-100 в п/з). Спостерігалась вакуолізація цитоплазми епітеліальних клітин, дегенеративні зміни ядер, сукупне підвищення кількості стафілококів, стрептококів, грамнегативних паличок, дріжджових клітин та псевдоміцелія. Виявлено суттєвий дефіцит паличкової мікрофлори, що за тинкторіальними властивостями відповідали типу лактобацил.

Бактеріологічне обстеження жінок I групи на 14-15 добу після аборту дозволило виявити значні зміни структури мікробіоти піхви та суттєве зростання кількісного рівня контамінації піхви Firmicutes та Enterobacteriaceae (табл. 2). В цілому в спектрі виділеної з піхви мікрофлори збільшилась питома вага кишкової мікрофлори (E.coli – 22,6 %, Klebsiella spp. – 16,1%, Enterobacter spp. – 9,7 %, Proteus.vul. – 6,5%). У висівах з піхви збільшилась присутність мікрофлори з патогенними властивостями (E.coli гем+ – 14,5 %, S.epidermidis гем+ – 19,4 %, S.aureus – 11,3 %). На тлі збільшення контамінації слизової оболонки піхви потенційно патогенною мікрофлорою виявлено зменшення показників висіва лактобацил (lg 3,8 КУО/мл). У 34,6 % жінок I групи лактобацили не виявлялись, у інших їх кількість не досягала норми. Кількісні показники реєстрації грибів р. Candida перевищували норму (lg 4,4 КУО/мл). Гарднерельоз діагностовано у 22,6 % обстежених.

Таблиця 2

Показники мікроекології піхви у жінок після хірургічного та медикаментозного аборту (%, lg КУО/мл)

Мікрофлора	Хірургічний аборт I група n= 62		Медикаментозний аборт II група n=68		До проведення аборту (2-3 доба) n=130	
	Частота реєстрації (%)	Концентрація lg КУО/мл	Частота реєстрації (%)	Концентрація lg КУО/мл	Частота реєстрації (%)	Концентрація lg КУО/мл
S.epidermidis	24,2	5,2±0,06*	26,5	4,6±0,04*	18,5	3,6±0,02
S.epidermidis (гем+)	19,4	4,8±0,08	14,7	3,8±0,02	-	-
S.haemolyticus	8,1	4,2±0,04	5,9	2,8±0,06	-	-
S.aureus	11,3	4,6±0,02	8,8	3,6±0,02	-	-
S.faecalis	21,0	5,4±0.08*	19,1	3,2±0,04	14,6	3,2±0,06
S.agalactiae	14,5	4,4±0,06*	22,1	2,6±0,06	10,8	2,8±0,02
S.viridans	6,5	4,2±0,02*	10,3	3,0±0,02	12,3	3,6±0,04
E.coli	22,6	5,4±0,04*	16,2	4,4±0,08*	15,4	3,0±0,02
E.coli (гем+)	14,5	4,8±0,06	10,3	3,2±0,08	-	-
Klebsiella spp.	16,1	4,8±0,08*	11,7	3,8±0,06*	5,4	2,6±0,08
Enterobacter spp.	9,7	4,4±0,02*	8,8	3,2±0,02	8,5	2,2±0,04
Proteus spp.	6,5	4,6±0,06*	4,4	3,0±0,04	2,3	2,8±0,06
Lactobacillus spp.	65,4	3,8±0,06*	82,4	4,0±0,08*	96,2	6,4±0,04
гр. р. Candida	19,4	4,4±0,02	14,7	4,0±0,06	7,7	3,8±0,08

* – різниця статистично вірогідна між показниками до та після аборту (р >0,05).

З більшою частотою, ніж при первинному обстеженні, реєструвалось формування двох, трьох – та чотирьох-компонентних асоціацій умовно – патогенної мікрофлори (відповідно 30,8 %, 52,3 %, 16,2 %). До складу асоціацій з найбільшою частотою входили S.epidermidis (гем+ або гем-). E.coli та гриби р.Candida.

Також відзначалась значна частота асоціацій, що містили ентерокок в сполученні з E.coli., Klebsiella spp. або з іншими представниками роду Enterobacteriaceae.

При обстеженні II групи жінок на 14-15 добу після медикаментозного аборту виявлено менш негативні зміни показників мікробіому піхви, ніж у пацієнток I групи. Дослідження вмісту піхви бактеріоскопічним методом дозволило виявити скупчення грамнегативної та грампозитивної мікрофлори, значну кількість «ключових» клітин, відсутність або дефіцит лактобацил. Кількість лейкоцитів не досягала значного рівня (10-35 в п/з).

Дослідження вмісту піхви жінок II групи бактеріологічним методом в терміни 7-9 діб після медикаментозного аборту дозволило ідентифікувати найбільш поширені види умовно-патогенної мікрофлори. З найбільшою частотою реєструвались мікроорганізми сімейства Staphylococcus з переважанням коагулазонегативних стафілококів (S.epidermidis) та сімейства Streptococcaceae (S.agalactiae). Ступінь обсіменіння піхви цими мікроорганізмами перевищувала діагностичний рівень (>lg 4,0 КУО/мл).

Ентеробактерії з виділень піхви в цій групі хворих висівались в меншій кількості, ніж у жінок I групи (E.coli – lg 4,4 КУО/мл, Enterobacter faecalis – lg 3,2 КУО/мл, Klebsiella oxytoca – lg 3,8 КУО/мл). Показники висіву ентерокока та грибів р.Candida не досягали високого рівня (E.faecalis – lg 3,2 КУО/мл, гр.р. Candida – lg 4,0 КУО/мл).

Представники нормальної мікрофлори – лактобацили, – у 17,6 % обстежених не виявлялись, у 66,2 % висівались в незначній концентрації (lg 4,0 КУО/мл). Лише у 16,2 % жінок лактобацили визначались в достатній кількості.

Гарднерельоз виявлено у 32,4 % жінок.

Більшість виділеної після медикаментозного аборту умовнопатогенної мікрофлори знаходилась в 2-х та в 3-х компонентних асоціаціях (32,4 %; 45,6%). До складу асоціацій з найбільшою частотою входили S.epidermidis з грибами р.Candida або S.agalactiae з E.coli. Концентрація стафілококів з гемолітичними та плазмокоагулюючими властивостями не досягала діагностичних показників (>lg 4,0 КУО/мл).

Порівняння результатів дослідження після хірургічного та медикаментозного аборту свідчить про формування негативних змін місцевого імунітету та мікробіоценозу різного ступеня, які мали особливості в залежності від застосованого методу аборту.

Деструктивні зміни мікробіоти піхви внаслідок хірургічного аборту супроводжувались накопиченням в спектрі мікрофлори піхви транзиторної умовно патогенної мікрофлори, зокрема грампозитивних коків з патогенними властивостями (S.epidermidis гем+, S.haemoliticus, S.aureus в сполученні з грибами р. Candida).

Також у жінок після хірургічного аборту реєструється значне збільшення питомої ваги в складі мікрофлори піхви представників кишкової мікрофлори, що може бути пов’язано з її транслокацією з кишківника.

Мікробіом піхви після медикаментозного аборту характеризується зростанням кількісних показників непатогенних грампозитивних коків та їх асоціацій зі стрептококами (S.faecalis), а також високою частотою реєстрації гарднерельозу.

Виявлені зміни місцевого імунітету та збільшення кількісних показників контамінації піхви змішаною потенційно-патогенною мікрофлорою можуть супроводжуватись порушенням структури, трофіки, метаболічних процесів і функцій слизової оболонки. Також активна проліферація мікроорганізмів з патогенними властивостями може сприяти розвитку і підтримці мікробно-тканинної інтоксикації.

Одержані дані свідчать про доцільність застосування профілактичних засобів та патогенетично обґрунтованих схем терапії, спрямованих на елімінацію бактеріальних збудників, нормалізацію та відновлення рівня локального імунітету та захисної мікрофлори у жінок після хірургічного та медикаментозного аборту.

ВИСНОВКИ

1. Після проведення хірургічного чи медикаментозного переривання вагітності у жінок на 14-15 добу у піхві спостерігаються порушення місцевого імунітету та мікробіотичні зміни, які якісно та кількісно відрізняються між собою в залежності від типу аборту.
2. Після хірургічного аборту в терміни 14-15 діб у пацієнток реєструється збільшення частоти виділення та зростання ступеня обсіменіння піхви різними представниками мікроорганізмів роду Enterobacteriacea в асоціаціях з стафілококами та грибами роду Candida. Після медикаментозного аборту в структурі мікробіоти піхви відмічається тенденція до збільшення питомої ваги грампозитивних коків в асоціаціях з ентерококом, а також збільшення частоти виявлення ознак гарднерельозу.
3. Після хірургічного аборту спостерігається більш значне зниження показників лізоциму та підвищення рівня імуноглобулінів (SIgA, IgG, IgA) в цервікальному слизі, ніж після медикаментозного переривання вагітності.
4. Встановлений дисбаланс місцевого імунітету та активна проліферація потенційно патогенної флори, збільшення частоти формування бактеріальних спільнот, яка асоціюється з дефіцитом лактобактерій у піхві жінок після хірургічного переривання вагітності, свідчать про необхідність імунної та бактеріальної корекції виявлених порушень.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Білецька Г.А.* Аборт як комплексна проблема сьогодення в Україні / Г.А. Білецька, Я.О. Ковальова // Цивільне право. Медичне правою.-2019.-№ 2(37). – С.5-12.
2. *Лихошерстова Н.В.* Аборт как социальное явление: проблема искусственного прерывания беременности / Н.В.Лихошерстова // Социология в современном мире: наука, образование, творчество.-2019.-№ 11. – С.317-319.
3. *Дикке Г.Б.* Медикаментозный аборт в амбулаторной практике / Г.Б.Дикке // ГЭОТАР-Медиа, 2020.-384 с.
4. *Kapp N., Lohr P.* Modern methods to induce abortion: Safety, efficacy and choice. Best Pract. Res. Clin.Obstet. Gynaecol.2020;63:37-44.
5. *Алехина А.Г., Петров Ю.А., Блесманович А.Е., Галущенко Е.М.* Влияние исскуственного прерывания беременности на репродуктивные возможности женщин. Health and Education Millennium.2019;21(1). http://dx.doi.org/10/26787/nydha222674252019211
6. *Ревенько О.О.* Сучасна антибіотикопрофілактика постабортних запальних ускладнень / О.О. Ревенько // Здоровье женщины.-2012.-№ 3 (69). – С.11-15.
7. *Tibaldi C.Cappello N., Lanino M., Polarolo G.* Matermal risk factors for abnormal vaginal mictobiota during pregnancy. Int. J.Gynacool Obstet. 2016;133:89-93.
8. *Carlsson I., Breding K., Larsson P.* Complications related to induced abortion: a combined retrospective and longitudinal follow-up study. BMC Women’s Health. 2019; 18:158.
9. *Дикке Г.Б.* Полимикробные ассоциации в этиологии воспалительных заболеваний половых органов у женщин / Г.Б. Дикке // Акушерство и гинекология.-2017.-№ 6.-С.12-26.

10. *Крысанова А.А.* Gardnerella Vaginalis: Генотипическое и фенотипическое разнообразие, факторы вирулентности и роль в патогенезе бактериального вагиноза / А.А. Крысанова // Журнал акушерства и женских болезней.-2019. – №1(68). – С.59-67.
11. *Сенчук А.Я.* Профилактика послеабортных воспалительных осложнений у женщин группы высокого риска / А.Я. Сенчук, А.В. Заболотная // Здоровые женщины.-2006. – №4 (28).-С.162-163.
12. *Paramel Jayaprakash T., Wagner E.C., Abert A.Y.* High Diversity and Variability in the Vaginal Microbiom in Women Follourng Preteren Premature Rupture of Membranes. Plos One. 2016; 11 (11):16-19.
13. *Бенюк В.О.* Мікроекосистема піхви у жінок репродуктивного віку і методи її корекції / В.О. Бенюк, О.А. Щерба // Здоровье женщины.-2017.-№8 (124). – С.44-50.
14. *Кира Е.Ф.* Бактериальный вагиноз – М. МИА,2012 .– 471с.
15. *Mancini G.* Immunochemical guantitation of antigens by single radial immunodiffusojn / Immunochemistry,1965. – Vol.2. – No 3. – P. 235-254.
16. *Motavkina N.S.* Micromethod of guantitative determination of lysozyme / N.S.Motavk ina.V.M.Kovalev.A.S.Sharonov // Laboratory work,1979. – No12. – P.722-724.

РЕЗЮМЕ

СТАН МІКРОЕКОЛОГІЇ ТА МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ПІХВИ У ЖІНОК В ПІСЛЯАБОРТНОМУ ПЕРІОДІ

Пономарьова І.Г.[1], Лісяна Т.О.[1], Стамболі Л.В.[1], Мацола О.М.[1], Лісяний М.І.[2]

[1]ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», Київ

[2]ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ

Вступ. На протязі останнього десятиріччя частота абортів в Україні залишається стабільно високою. Поряд з традиційним хірургічним методом переривання вагітності в багатьох країнах світу застосовується медикаментозний аборт, який вважається менш травматичним в порівнянні з хірургічним абортом. Але відомо, що наслідками медикаментозного аборту є довготермінова присутність відторгнутих некротичних тканин та скупчення значних об’ємів крові, що створює умови для активної проліферації потенційно патогенної мікрофлори. Виникнення в післяабортному періоді запальних захворювань призводить до морфо-функціональної неповноцінності ендометрія внаслідок деструкції залоз строми, термінальних судин та склеротичних процесів в них. Ризик інфікування після аборту пов’язують зі зниженням місцевого імунітету.

Мета роботи. Вивчення стану місцевого імунітету та структури мікробіому піхви в післяабортному періоді та порівняння показників мікробної контамінації піхви в залежності від метода застосування аборту.

Матеріали та методи. Під спостереженням знаходилось 130 жінок, які були розділені на 2 групи: I група (62 жінки) включала пацієнток, яким був проведений хірургічний аборт та II група (68 жінок), яким був проведений медикаментозний аборт. Пацієнтки обстежувались за 2-3 доби до проведення аборту та на 14-15 добу після аборту. Проведення мікробіологічних аналізів та облік результатів здійснювали згідно наказу № 234 МОЗ України від 10.05.2007 року. Кількісний вміст sIgA та IgG, IgA, IgM (г/л) та рівень лізоциму у біологічних рідинах статевих шляхів визначали за допомогою радіальної імунодифузії у гелі з використанням антисироваток до окремих класів імуноглобулінів за методом Mancini.

Результати. В ході дослідження встановлено, що після хірургічного аборту в терміни 14-15 діб у пацієнток реєструється збільшення частоти виділення та зростання ступеня обсіменіння піхви різними представниками мікроорганізмів роду Enterobacteriacea в асоціаціях із стафілококами та грибами роду Candida. Після медикаментозного аборту в структурі мікробіоти піхви відмічається тенденція до збільшення питомої ваги грампозитивних коків в асоціаціях з ентерококом, а також збільшення частоти реєстрації гарднерельозу. Після хірургічного аборту спостерігається більш значне зниження показників лізоциму та підвищення рівня імуноглобулінів (SIgA, IgG, IgA) в цервікальному слизі, ніж після медикаментозного переривання вагітності.

Висновки. Встановлено дисбаланс місцевого імунітету та активна проліферація потенційно патогенної флори, збільшення частоти формування бактеріальних спільнот, яка асоціюється з дефіцитом лактобактерій у піхві жінок після хірургічного аборту, що свідчить про необхідність імунної та бактеріальної корекції виявлених порушень.

Ключові слова: хірургічний аборт, медикаментозний аборт, післяабортний період, мікробіота піхви, місцевий імунітет, проліферація.

РЕЗЮМЕ

СОСТОЯНИЕ МИКРОЭКОЛОГИИ И МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ВЛАГАЛИЩА У ЖЕНЩИН В ПОСЛЕАБОРТНОМ ПЕРИОДЕ

Пономарева И.Г.[1], Лисяна Т.А.[1], Стамболи Л.В.[1], Мацола О.Н.[1], Лисяный Н.И.[2]

[1]ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины », Киев

[2]ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова НАМН Украины », Киев

Вступление. На протяжении последнего десятилетия частота абортов в Украине остается стабильно высокой. Наряду с традиционным хирургическим методом прерывания беременности, во многих странах мира применяется медикаментозный аборт, который считается менее травматичным по сравнению с хирургическим абортом. Но известно, что последствиями медикаментозного аборта являются долгосрочное присутствие отторгнутых некротических тканей и скопление значительных объемов крови, что создает условия для активной пролиферации потенциально патогенной микрофлоры. Возникновение в послеабортном периоде воспалительных заболеваний приводит к морфо-функциональной неполноценности эндометрия вследствие деструкции желез стромы, терминальных сосудов и склеротических процессов в них. Риск инфицирования после аборта связывают со снижением местного иммунитета.

Цель работы. Изучение состояния местного иммунитета и структуры микробиома влагалища в послеабортном периоде и сравнение показателей микробной контаминации влагалища в зависимости от метода применения аборта.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 130 женщин, которые были разделены на 2 группы: I группа (62 женщины) включала пациенток, которым был проведен хирургический аборт и II группа (68 женщин), которым был проведен медикаментозный аборт. Пациентки обследовались за 2-3 суток до проведения аборта и на 14-15 сутки после аборта. Проведение микробиологических анализов и учет результатов осуществляли согласно приказу № 234 МОЗ Украины от 10.05.2007 года. Количественное содержание sIgA и IgG, IgA, IgM (г/л) и уровень лизоцима в биологических жидкостях половых путей определяли с помощью радиальной иммунодиффузии в геле с использованием антисывороток к отдельным классам иммуноглобулинов методом Mancini.

Результаты. В ходе исследования установлено, что после хирургического аборта в сроки 14-15 суток у пациенток регистрируется увеличение частоты выделения и роста степени обсемененности влагалища различными представителями микроорганизмов рода Enterobacteriacea в ассоциациях со стафилококками и грибами рода Candida. После медикаментозного аборта в структуре микробиоты влагалища отмечается тенденция к увеличению удельного веса грамположительных кокков в ассоциациях с энтерококком, а также увеличение частоты регистрации гарднереллеза. После хирургического аборта наблюдается более значительное снижение показателей лизоцима и уровня иммуноглобулинов (SIgA, IgG, IgA) в цервикальной слизи, чем после медикаментозного прерывания беременности.

Выводы. Установлено дисбаланс местного иммунитета и активная пролиферация потенциально патогенной флоры, увеличение частоты формирования бактериальных сообществ, которая ассоциируется с дефицитом лактобактерий во влагалище женщин после хирургического аборта, что свидетельствует о необходимости иммунной и бактериальной коррекции выявленных нарушений.

Ключевые слова: хирургический аборт, медикаментозный аборт, послеабортный период, микробиота влагалища, местный иммунитет, пролиферация.

SUMMARY

STATE OF VAGINAL MICROECOLOGY AND LOCAL IMMUNITY IN WOMEN DURING THE POST-LABOR PERIOD

Ponomareva I.[1], Lisyana T.[1], Stamboli L.[1], Matsola O.[1], Lisyany N.[2]

[1]State Institution “Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. Lukyanova NAMS of Ukraine “, Kyiv

[2]State Institution “Institute of Neurosurgery named after acad. A. P. Romodanov NAMS of Ukraine “, Kyiv

Introduction. Over the past decade, the frequency of abortions in Ukraine has remained consistently high. Along with the traditional surgical method of termination of pregnancy, medical abortion is used in many countries around the world, which is considered less traumatic than surgical abortion. But it is known that the consequences of medical abortion are the long-term presence of rejected necrotic tissues and the accumulation of significant volumes of blood, creating conditions for the active proliferation of potentially pathogenic microflora. The emergence of inflammatory diseases in the post-abortion period leads to morpho-functional inferiority of the endometrium due to the destruction of stromal glands, terminal vessels and sclerotic processes in them. The risk of infection after abortion is associated with a decrease in local immunity.

Objective. Study of the state of local immunity and the structure of the vaginal microbiome in the post-abortion period and comparison of indicators of microbial contamination of the vagina, depending on the method of using abortion.

Materials and methods. The study included 130 women who were divided into 2 groups: Group I (62 women) included patients who underwent surgical abortion and Group II (68 women) who underwent medical abortion. Patients were examined 2-3 days before the abortion and 14-15 days after the abortion. Microbiological analyzes were carried out and the results were recorded in accordance with Order No. 234 of the Ministry of Health of Ukraine dated 10.05.2007. The quantitative content of sIgA and IgG, IgA, IgM (g / l) and the level of lysozyme in biological fluids of the genital tract were determined by radial immunodiffusion in a gel using antisera to certain classes of immunoglobulins using the Mancini method.

Results. In the course of the study, it was found that after a surgical abortion in the period of 14-15 days, an increase in the frequency of discharge and an increase in the degree of vaginal dissemination by various representatives of microorganisms of the Enterobacteriacea genus in associations with staphylococci and fungi of the genus Candida was recorded. After medical abortion in the structure of the vaginal microbiota, there is a tendency to an increase in the proportion of gram-positive cocci in associations with enterococcus, as well as an increase in the frequency of registration of gardnerellosis. After surgical abortion, there is a more significant decrease in lysozyme and the level of immunoglobulins (SIgA, IgG, IgA) in cervical mucus than after medical termination of pregnancy.

Conclusions. An imbalance of local immunity and active proliferation of potentially pathogenic flora, an increase in the frequency of formation of bacterial communities, which is associated with a deficiency of lactobacilli in the vagina of women after surgical abortion, indicate the need for immune and bacterial correction of the identified disorders.

Key words: surgical abortion, medical abortion, post-abortion period, vaginal microbiota, local immunity, proliferation.

Конфлікт інтересів відсутній.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Пономарьова Інна Георгіївна**
  Завідувач бактеріологічною лабораторією ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», кандидат біологічних наук
  Адреса: 04050, м. Київ,
  вул. П. Майбороди, 8
  тел.: +380679712056
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Лісяна Тамара Олександрівна**
  Старший науковий співробітник лабораторії мікробіології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», кандидат біологічних наук
  Адреса: 04050, м. Київ,
  вул. П. Майбороди, 8
  тел.: +380686848465
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Стамболі Людмила Веніамінівна**
  Старший науковий співробітник лабораторії імунології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», кандидат біологічних наук
  Адреса: 04050, м. Київ,
  вул. П. Майбороди, 8
  тел.: +380505957450
  E-mail: stamboli.ludmila@gmail.com

- **Мацола Ольга Миколаївна**
  Лікар-бактеріолог ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України»,
  Адреса: 04050, м. Київ,
  вул. П. Майбороди, 8
  тел.: +380961885550
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Лісяний Микола Іванович**
  Начальник відділу нейроімунології ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», член-кор НАМНУ, професор
  Адреса: 04050, м.Київ, вул. П. Майбороди,32
  тел.: +380675953436
  E-mail: nimun.neuro@gmail.com

- **Пономарева Инна Георгиевна**
  Заведующая бактериологической лабораторией ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», кандидат биологических наук
  Адрес: 04050, г. Киев, ул. П. Майбороды, 8
  тел.: +380679712056
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Лисяна Тамара Александровна**
  Старший научный сотрудник лаборатории микробиологии ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины », кандидат биологических наук
  Адрес: 04050, г. Киев,
  ул. П. Майбороды, 8
  тел.: +380686848465
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Стамболи Людмила Вениаминовна**
  Старший научный сотрудник лаборатории иммунологии ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», кандидат биологических наук
  Адрес: 04050, г. Киев, ул. П. Майбороды, 8
  тел.: +380505957450
  E-mail: stamboli.ludmila@gmail.com

- **Мацола Ольга Николаевна**
  Врач-бактериолог ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины»
  Адрес: 04050, г. Киев,
  ул. П. Майбороды, 8
  тел.: +380961885550
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Лисяный Николай Иванович**
  Начальник отдела нейроиммунологии ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова АМН Украины», член-корр. НАМНУ, профессор
  Адрес: 04050, г. Киев,
  ул. П. Майбороды, 32
  тел.: +380675953436
  E-mail: nimun.neuro@gmail.com

- **Ponomarova Inna**
  Head of the bacteriological laboratory of the State Institution “Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O.M. Lukyanova National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Candidate of Biological Sciences
  Address: 04050, Kyiv, street P. Mayborodi, 8,
  tel.: + 380679712056
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Lysiana Tamara**
  Senior Researcher of the Laboratory of Microbiology of the State Institution “Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O.M. Lukyanova National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Candidate of Biological Sciences
  Address: 04050, Kyiv, street P. Mayborodi, 8
  tel.: + 380686848465
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Stamboli Lyudmila**
  Senior Researcher of the Laboratory of Immunology of the State Institution “Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O.M. Lukyanova National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Candidate of Biological Sciences
  Address: 04050, Kyiv, street P. Mayborodi, 8
  tel.: + 380505957450
  E-mail: stamboli.ludmila@gmail.com

- **Matsola Olha**
  Bacteriologist of the Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O.M. Lukyanova National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
  Address: 04050, Kyiv, street P. Mayborodi, 8
  tel.: + 380961885550
  E-mail: microbiki@gmail.com

- **Lysianiy Mykola**
  Head of the Department of Neuroimmunology of the State Institution «Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Corresponding Member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Professor
  Address: 04050, Kyiv, street P. Mayborodi, 32
  tel.: + 380675953436
  E-mail: nimun.neuro@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 27.03.2021 р.

© Зубченко С.О., Гайдучок І.Г., Чопяк В.В., 2021
doi:10.37321/immunology.2021.1-2-02
УДК 616.98:578.825.13]-056.3-092-07:577.216-07

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ MIR-BART-13 І MIR-BART-15 У ПАТОГЕНЕЗІ АЛЕРГІЧНИХ ХВОРОБ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ ЕПШТЕЙНА-БАРР ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

ЗУБЧЕНКО С.О.[1], ГАЙДУЧОК І.Г.[2], ЧОПЯК В.В.[1]

[1]Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
[2]ТзОВ «Львівський медичний інститут»

ВСТУП

Серйозними викликами для людської цивілізації були і залишаються інфекційні захворювання, особливо вірусного генезу. За даними ВООЗ, смертність пацієнтів від цих хвороб посідає друге місце в світі після серцево-судинних хвороб [3].

Однією з найпоширеніших у світі є інфекція, зумовлена вірусом Епштейна-Барр (EBV). За різними даними, EBV інфіковано понад 95% людської популяції [5]. Первинне зараження EBV, як правило, протікає безсимптомно. Однак, якщо інфікування вперше відбувається в молодому віці, може розвинутися інфекційний мононуклеоз [1, 11, 16]. Сьогодні первинна EBV-інфекція, особливо в Україні, є первинно хронічним захворюванням, для якого гострий епізод є швидше винятком. Вірус залишається прихованим у В-клітинах пам›яті і контролюється компетентною системою імунного нагляду, яка постійно видаляє заражені ним клітини, в яких EBV знаходиться у фазі латенції [10, 15]. За умов імунних порушень, EBV може активуватися, а латентно інфіковані вірусом клітини можуть трансформуватися в лімфобласти, що характеризуються посиленою проліферацією клітин, як це спостерігається при лімфопроліферативних захворюваннях. Крім зазначених захворювань, EBV асоціюють з низкою онкологічних, аутоімунних хвороб, синдромом хронічної втоми тощо. Також EBV може спричиняти хронічні маніфестні, стерті й атипові форми різних хвороб [10]. Однак, існує відносно невелика кількість досліджень асоціативної ролі EBV у патогенезі розвитку алергопатології [2, 4, 14]. Зауважимо також, що типовою помилкою як західних, так і вітчизняних колег є те, що хронічна EBV-інфекція не має клінічного значення і потребує лікування лише в імуноскомпрометованих хворих.

На сьогодні достатньо вивченими є більшість механізмів уникнення EBV впливу факторів імунної системи, серед них: продукція вірусом IL-10 (фактору супресії), який пригнічує активність гуморального та клітинного імунітету (передусім Т-цитотоксичних лімфоцитів, NK-клітин); білку B13, який також пригнічує Т-клітинний імунітет, блокує NK-клітини шляхом пригнічення IL-12 тощо [13]. Окрім цього, EBV відноситься до високомутабельних вірусів, які формують механізми ухиляння від факторів імунного захисту, в першу чергу від впливу специфічних імуноглобулінів. Ще одним цікавим механізмом EBV є його здатність до продукції власних miRNAs, зокрема miR-BART-13 і miR-BART-15. Саме питання щодо вірусних miRNAs і їх ролі в патогенезі EBV-індукованих хвороб сьогодні є мало вивченим, тому особливо актуальним.

Метою нашої роботи було дослідження рівнів miR-BART-13 і miR-BART-15 у пацієнтів з алергічними хворобами на тлі різних фаз хронічної EBV-інфекції.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводилось відповідно до 7-го перегляду принципів Гельсінкської декларації прав людини (2013), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідних законів України. Робота виконувалась на кафедрі клінічної імунології та алергології ЛНМУ ім. Данила Галицького впродовж 2017-2019 років.

Визначення ДНК EBV у крові, слині та слизовій задньої стінки глотки виконували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на діагностикумах «AmpliSens» (РФ) з використанням «Rotor-Gene 6000» (Corbett Recearch, Австралія).

Для визначення загального IgE і специфічних антитіл класу G до антигенів EBV (EBNA-IgG, VCA-IgG, VCA-IgM) застосовували метод імуноферментного аналізу з використанням тест-систем «Euroimmun» (Німеччина), згідно з інструкцією фірми виробника. Шкірні прик-тести виконували екстрактами алергенів (Inmunotek, Іспанія), постановка і оцінка результатів проводилась відповідно до європейських вимог. Оцінка функції зовнішнього дихання (ФЗД) проводилась на підставі результатів спірометрії (Vitalograf ALPHA № AL011734, Німеччина).

Наявність різних нозологій АХ діагностували за критеріями Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA, 2016), Global initiative for asthma (GINA, 2016-2017), уніфікованим клінічним протоколом «Атопічний дерматит» (2016), «The EAACI/GA LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria» (2014-2018).

За результатами молекулярно-генетичних аналізів і визначення специфічних до EBV антитіл, виокремили 46 хворих і розділили на групи: 1-а група – 27 осіб з АХ на тлі активної фази хронічної EBV-інфекції (ДНК EBV «+»), 2-а група – 19 осіб з АХ і латентною фазою EBV-інфекції (ДНК EBV «-»). Серед пацієнтів було 29 (63,0 %) жінок, 17 (37,0 %) чоловіків, віком 18-59 років. Контрольну групу склали 20 EBV-серонегативних осіб з АХ відповідного віку і статі.

Визначення експресії miR-BART-13 і miR-BART-15 у зразках сироватки визначали методом зворотної транскрипції і ПЛР у реальному часі. Зворотну транскрипцію проводили з використанням набору High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Byosystems, США), специфічних праймерів для кожної miRNAs і 10 нг тотальної РНК. Кількісну ПЛР у реальному часі проводили з використанням TaqMan MicroRNA Assays (Applied Biosystems, США): U6 snRNA (як ендогенний контроль). Отримані дані були проаналізовані за допомогою програмного забезпечення 7500 Fast Real_time PCR. Дослідження проводились у відділі загальної та молекулярної патофізіології інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України на підставі угоди про співпрацю.

Результати досліджень аналізували з використанням методу варіаційної статистики за допомогою програми STATISTICA 6 (Statsoft, USA) із застосуванням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

На підставі детального аналізу анамнестичних даних, клінічного огляду, лабораторних, в т.ч. цитологічних та інструментальних показників, результатів алергодіагностики in vivo (ШПТ), були виокремлені клініко-лабораторні особливості пацієнтів груп дослідження, які за критеріями позиційних документів були підставою для діагностики різних нозологій АХ.

Таким чином, у пацієнтів з хронічною EBV-інфекцією в активній фазі, частіше діагностована БА легка персистуюча або АР з бронхообструктивним синдромом в анамнезі, еозинофільний синдром (кров – 22,2 % та назоцитограма – 51,8%), гіпер-IgE синдром (77,8%), більш виражені порушення ФЗД. У цій групі хворих також частіше спостерігались ознаки набутих імунних порушень. У пацієнтів з хронічною EBV-інфекцією в латентній фазі частіше спостерігалися симптоми АД в стадії загострення і персистуючого АР чи коморбідності з БА, інтермітуючою в стадії ремісії. Більша половина (52,6 %) пацієнтів цієї групи були полісенсибілізованими, а обтяжений сімейний анамнез спостерігався в 1,2 рази рідше порівняно з пацієнтами з активною фазою EBV. У EBV-серонегативних пацієнтів частіше були прояви АР інтермітуючого/персистуючого, кропив’янки і негативні результати ШПТ (60,0%).

У групах дослідження проведено порівняльний аналіз рівнів miR-BART-13 і miR-BART-15. Як і слід було очікувати, miR-BART-15 і miR-BART-13 виявлені лише в пацієнтів з хронічною EBV-інфекцією. Відтак, концентрація miR-BART-13 була більшою як серед пацієнтів з АХ в активній ($p<0,01$), так і латентній ($p<0,05$) фазах хронічної EBV-інфекції порівняно з контролем, а статистично значущих відмінностей між 1-ю і 2-ю групами не було. Щодо концентрації miR-BART-15, то її рівень у пацієнтів з АХ на тлі EBV-інфекції також був вищим, однак без статистичних відмінностей як з групою контролю ($p>0,05$), так і між групами з різними фазами EBV ($p>0,05$).

Оскільки у даних пацієнтів були верифіковані різні АХ, ми вирішили дослідити та порівняти рівні цих miRNAs залежно від нозологій АХ з урахуванням хронічної EBV-інфекції у різних фазах. Визначили, що концентрація miR-BART-13 і -15 була вищою у пацієнтів з БА, персистуючою на тлі активної фази EBV-інфекції, порівняно з пацієнтами з іншими АХ, а також з БА, інтермітуючою у стадії ремісії на тлі латентної фази EBV ($p<0,05$). За попередніми даними, у пацієнтів з БА були виявлені зміни ФЗД (зокрема, ОФВ1<80 %). Тому, наступним етапом було проведення кореляційного аналізу з miR-BART-13 і -15, і показників ФЗД у пацієнтів з БА. Виявлено зворотній кореляційний зв›язок середньої сили між рівнями miR-BART-13 та ОФВ1 ($r=-0,391$, $p=0,038$), однак лише в групі пацієнтів з активною фазою EBV.

Обговорення. EBV став одним з першим вірусів людини, у якому виявлена експресія miRNAs [6]. Кодовані EBV miRNAs можуть модулювати латентні/літичні (активні) фази життєвого циклу EBV, а також перешкоджати основним клітинним механізмам, таким як апоптоз, проліферація, прогресування клітинного циклу, трансформаційна здатність тощо [12]. За даними низки авторів показано, що рівні miR-BART2-5p, 4, 7, 13, 15 та 22 були значно підвищені у пацієнтів із системними проявами хронічної EBV-інфекції в активній фазі порівняно з пацієнтами з гострим інфекційним мононуклеозом. А рівні експресії miR-BART2-5p 13 і 15 мали прямі кореляційні зв’язки зі специфічними клінічними симптомами хронічної активної EBV-інфекції, що не залежали від рівня вірусного навантаження у плазмі. Відтак, автори зробили висновок, що miR-BART2-5p 13 і 15 є потенційними біомаркерами тяжкості і прогнозу хронічної активованої EBV-інфекції [8, 9]. Оскільки miRNAs мають високу стабільність і порівняно легко визначаються кількісно, сьогодні активно обговорюються питання щодо використання їх як біомаркерів EBV асоційованих захворювань [11].

За нашими даними, хронічна EBV-інфекція, зокрема в активній фазі вірусу, часто виявляється серед пацієнтів з АХ. У проведеному нами дослідженні виявлені підвищені рівні miR-BART-13 і miR-BART-15 у пацієнтів з АХ на тлі хронічної EBV-інфекції в активній та латентній фазах порівняно з контролем, що очевидно вказувало на наявність вірусу в організмі. Однак, поділивши пацієнтів на групи, залежно від нозологій АХ, ми виявили, що вищі miR-BART-15 і достовірно вищі рівні miR-BART-13 спостерігались саме серед групи пацієнтів з БА, персистуючою на тлі активної фази EBV-інфекції. У даній групі пацієнтів також виявлений зворотній кореляційний зв›язок між рівнями miR-BART-13 та показниками ФЗД (ОФВ1). У пацієнтів з БА на тлі латентної фази хронічної EBV-інфекції відповідних кореляцій не виявлено. Отже, у пацієнтів з БА персистуючою і активною фазою хронічної EBV-інфекції підвищення рівнів експресії miR-BART-13 може виступати біомаркером тяжкості алергічного запального процесу у нижніх дихальних шляхах, зокрема збільшення рівня бронхіальної обструкції. Наше припущення ґрунтується на результатах невеликої кількості пацієнтів, що вимагає подальшого вивчення на більшій когорті відповідних хворих.

ВИСНОВКИ

У пацієнтів з АХ на тлі хронічної EBV-інфекції в активній і латентній фазах виявлені підвищені рівні miR-BART-15 і достовірно вищі рівні miR-BART-13, порівняно з EBV-серонегативними хворими на АХ.

Концентрація miR-BART-15 була вищою, а miR-BART-13 достовірно вищою у пацієнтів з БА, персистуючою на тлі активної фази EBV-інфекції, порівняно з пацієнтами з іншими алергічними хворобами та з латентною фазою EBV-інфекції.

У пацієнтів з БА, персистуючою на тлі активної фази EBV-інфекції виявлений зворотній кореляційний зв›язок між рівнями miR-BART-13 та ОФВ1.

У хворих на БА на тлі EBV-інфекції в активній фазі підвищений рівень експресії miR-BART-13 може виступати біомаркером тяжкості алергологічного запального процесу в нижніх дихальних шляхах.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Лядова Т. І., Волобуєва О. В., Павлікова К. В., Сорокіна О. Г., Гололобова О. В., Козлов О. П. Дослідження динаміки показників імунної відповіді у хворих на інфекційний мононуклеоз, викликаний вірусом Епштейна-Барр. Journal of V. N. Karazin` KhNU. Series «Medicine». 2019; Issue 38:39-48.
2. Чоп’як В.В., Зубченко С.О., Пасічнюк І.П. Аналіз поширеності гіпер IgE-синдрому серед практично-здорових осіб юнацького віку. Вісник проблем біології і медицини. 2014 Вип 3;1(10):380-87.
3. Чоп’як В.В., Потьомкіна Г.О. Ефективність застосування Гропринозину у хворих із хронічною інфекцією, зумовленою вірусом Епштейна-Барр, у стадії реплікації вірусу. Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2011;4(43):60-68.
4. Arianna Mareri, Stuart P, Adler K. Herpesvirus-associated acute urticaria: an age matched case-control study. J. Allergy Clinical Immunol. 2013;8:203-09.
5. Cohen J.I. Epstein-Barr virus infection. N. Engl. J. Med. 2000;343:481-92.
6. Gourzones C, Gelin A, Bombik I, Klibi J, Verillaud B, Gnigay J. Extra-cellular release and blood diffusion of BART viral micro-RNAs produsedby EBV-infected nasopharyngeal carcinoma cell. Virol. J. 2010, (7):271.
7. Kanegane H, Wakiguchi H, Kanegane C, Kurashige T, Tosato G. Viral interleukin-10 in chronic active Epstein-Barr virus infection. J Infect Dis 1997, 176: 254-257.
8. Kawano Y, Iwata S, Kawada J, Gotoh K, Suzuki M, Torii Y, Kojima S, Kimura H, Ito Y. Plasma viral microRNA profiles reveal potential biomarkers for chronic active Epstein-Barr virus infection. J Infect Dis. 2013 Sep 1;208(5):771-9.
9. Komabayashi Y, Kishibe K, Nagato T, Ueda S, Takahara M, Harabuchi Y. Downregulation of miR-15a due to LMP1 promotes cell proliferation and predicts poor prognosis in nasal NK/T-cell lymphoma. Am J Hematol. 2014 Jan;89(1):25-33.
10. Liadova, T. I. & Pavlikova, K. V. The Research of Dynamics of Immune Responsibility Indicators in Patients with Epstein–Barr Virus (EBV) Infections. European Journal of Medicine and Natural Sciences, 2019;3(1):29-32.
11. Li ZY, Lou JG, Chen J. Analysis of primary symptoms and disease spectrum in Epstein-Barr virus infected children. Zhonghua Er Ke Za Zhi. 2004. 42 (1): 20-22.
12. Lo AK, Dawson CW, Jin DY, Lo KW. The pathological roles of BART miRNAs in nasopharyngeal carcinoma. J. Pathol. 2012, (227):392-403.
13. Popov, M., Lyadova, T., Volobuyeva, O., Shepileva, N., Kozlov, A. & Sorokina, O. Cytokine production peculiarities in different forms of Epstein-Barr virus infection. Georgian medical news, 2017;263:55-59.
14. Saghafian-Hedengren S, Sverremark-Ekstr m

E, Linde A, Lilja G, Nilsson C. Early-life EBV infection protects against persistent IgE-sensitization. J Allergy Clin Immunol. 2010 Feb;125(2):433-8.

15. Savard M, B langer C, Tardif M, Gourde P, Flamand L, Gosselin J. Infection of primary human monocytes by Epstein-Barr virus. J Virol. 2000 Mar;74(6):2612-9.
16. Xie, J., Wang, H. L., Qiu, Z. F. & Li, T. S. (). An analysis of immunophenotyping of peripheral lymphocytes in adult patients with infectious mononucleosis and chronic active Epstein-Barr virus infection. Zhonghua nei ke za zhi, 2016;55(6): 455-459.

РЕЗЮМЕ

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ miR-BART-13 і miR-BART-15 У ПАТОГЕНЕЗІ АЛЕРГІЧНИХ ХВОРОБ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ ЕПШТЕЙНА-БАРР ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Зубченко С.О.[1], Гайдучок І.Г.[2], Чопяк В.В.[1]

[1]Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
[2]ТзОВ «Львівський медичний інститут»

Вступ. Віруси герпесу надзвичайно поширені в людській популяції і здатні вражати практично всі органи і системи, викликати маніфестацію супутніх захворювань, їх атиповий перебіг і стійкість до традиційних методів терапії. За літературними даними і власними клінічними спостереженнями сьогодні частіше зустрічається інфекція, викликана вірусом Епштейна-Барр (EBV). Одним із механізмів уникнення вірусом імунного нагляду є здатність до продукції власних miRNAs, зокрема miR-BART-13 і miR-BART-15. Дослідження ролі вірусних miRNAs у патогенезі різних хвороб, в т.ч. алергічних, є актуальними.

Мета. Дослідити рівні miR-BART-13 і miR-BART-15 у пацієнтів з алергічними хворобами (АХ) на тлі різних фаз хронічної EBV-інфекції.

Матеріали та методи. Виконували детальний аналіз анамнестичних даних, клінічний огляд, загальні лабораторні, цитологічні, інструментальні, специфічні алергологічні, молекулярно-генетичні дослідження, статистичний аналіз. Визначення експресії miR-BART-13 і miR-BART-15 у зразках сироватки визначали методом зворотної транскрипції і ПЛР у реальному часі. Виокремили 46 хворих на АХ на тлі активної та латентної фаз хронічної EBV-інфекції, з них 63,0 % жінок, 37,0 % чоловіків, віком 18-59 років. Контрольну групу склали 20 EBV-серонегативних осіб з АХ відповідного віку і статі.

Результати дослідження. Концентрація miR-BART-13 і miR-BART-15 була вищою у пацієнтів з персистуючою бронхіальною астмою (БА) на тлі активної фази EBV-інфекції порівняно з латентною фазою EBV-інфекції і пацієнтами з іншими АХ ($p<0,05$). У хворих на БА на тлі хронічної EBV-інфекції в активній фазі концентрація miR-BART-13 зворотно ($r=-0,391$, $p=0,038$) корелювала з показниками функцій зовнішнього дихання (ОФВ1).

Висновки. У пацієнтів з БА, персистуючою на тлі активної фази EBV-інфекції, рівні BART-15 і miR-BART-13 були вищими порівняно з пацієнтами з іншими АХ та з латентною фазою EBV-інфекції. Наявність зворотного кореляційного зв›язку між рівнями miR-BART-13 та ОФВ1 вказувала на участь вірусу в активній фазі в патогенезі алергічного запального процесу в нижніх дихальних шляхах і роль miR-BART-13 як біологічного маркера тяжкості цього процесу.

Ключові слова: хронічна Епштейна-Барр вірусна інфекція, алергічні хвороби, miR-BART-13, miR-BART-15

РЕЗЮМЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ miR-BART-13 и miR-BART-15 В ПАТОГЕНЕЗЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ БОЛЕЗНЕЙ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭПШТЕЙНА-БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Зубченко С.О.[1], Гайдучок И.Г.[2], Чопяк В.В.[1]

[1]Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

[2]ОгОО «Львовский медицинский институт»

Введение. Вирусы герпеса чрезвычайно распространены в человеческой популяции и способны поражать практически все органы и системы, вызывать манифестацию сопутствующих заболеваний, их атипичное течение и устойчивость к традиционным методам терапии. По литературным данным и собственным клиническим наблюдениям, сегодня чаще встречается инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр (EBV). Одним из механизмов избегания вирусом иммунного надзора является способность к продукции собственных miRNAs, в частности miR-BART-13 и miR-BART-15. Исследование роли вирусных miRNAs в патогенезе различных болезней, в т.ч. аллергических, актуальны.

Цель. Исследовать уровни miR-BART-13 и miR-BART-15 у пациентов с аллергическими болезнями (АБ) на фоне разных фаз хронической EBV-инфекции.

Материалы и методы. Выполняли детальный анализ анамнестических данных, клинический осмотр, общие лабораторные, цитологические, инструментальные, специфические аллергологические, молекулярно-генетические исследования, статистический анализ. Определение экспрессии miR-BART-13 и miR-BART-15 в образцах сыворотки определяли методом обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени. Выделили 46 больных с АБ на фоне активной и латентной фаз хронической EBV-инфекции, из них 63,0 % женщин, 37,0 % мужчин в возрасте 18-59 лет. Контрольную группу составили 20 EBV-серонегативных пациентов с АБ соответствующего возраста и пола.

Результаты исследования. Концентрация miR-BART-13 и miR-BART-15 была выше у пациентов с персистирующей бронхиальной астмой (БА) на фоне активной фазы EBV-инфекции по сравнению с латентной фазой EBV-инфекции и пациентами с другими АБ ($p<0,05$). У больных с БА на фоне хронической

EBV-инфекции в активной фазе концентрация miR-BART-13 обратно (r=-0,391, p=0,038) коррелировала с показателями функций внешнего дыхания (ОФВ1).

Выводы. У пациентов с БА, персистирующей на фоне активной фазы EBV-инфекции, уровни BART-15 и miR-BART-13 были выше по сравнению с пациентами с другими АБ и с латентной фазой EBV-инфекции. Наличие обратной корреляционной связи между уровнями miR-BART-13 и ОФВ1 указывала на участие вируса в активной фазе в патогенезе аллергического воспалительного процесса в нижних дыхательных путях и роль miR-BART-13 как биологического маркера тяжести этого процесса.

Ключевые слова: хроническая Эпштейна-Барр вирусная инфекция, аллергические болезни, miR-BART-13, miR-BART-15

SUMMARY

INVESTIGATION OF miR-BART-13 AND miR-BART-15 ROLE IN PATHOGENESIS OF ALLERGIC DISEASES COMBINED WITH CHRONIC EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION

Zubchenko S.[1], Haiduchok I.[2], Chopyak V.[1]

[1]Danylo Halytsky Lviv National Medical University
[2]LLC " Lviv Medical Institute"

Introduction. Herpes viruses are highly widespread in human population and can affect almost all organs and systems, provoke manifestation of concomitant diseases, their atypical course and resistance to traditional therapeutic methods. According to literature data and own clinical observations, infection caused by Epstein-Barr virus (EBV) is the most common nowadays. One of the mechanisms of escaping immune response by the virus is the ability to produce its own miRNAs, in particular miR-BART-13 and miR-BART-15. Investigation of the role of viral miRNAs in pathogenesis of various diseases, including allergic ones, is an urgent issue.

Aim. To investigate miR-BART-13 and miR-BART-15 levels in patients with allergic diseases (AD) combined with different phases of chronic EBV infection.

Materials and methods. Thorough analysis of anamnestic data, clinical examination, general laboratory, cytological, instrumental, specific allergological, molecular and genetic investigations, and statistical analysis were performed. Determination of miR-BART-13 and miR-BART-15 expression in serum samples was performed by the method of reverse transcription and real time PCR. Thus, 46 patients with allergic disease in combination with active and latent phases of chronic EBV infection were selected, among them 63.0 % of women and 37.0 % of men, aged from 18-59 years. A control group included 20 EBV-seronegative individuals of different genders and ages with allergic disease.

Results of investigation. Concentration of miR-BART-13 and miR-BART-15 was higher in patients with persistent bronchial asthma (BA) in combination with active phase of EBV infection compared with latent phase of EBV infection and patients with other allergic diseases ($p<0.05$). In patients with BA combined with chronic EBV infection in active phase, concentration of miR-BART-13 reversely (r=-0.391, p=0.038) correlated with the indices of forced expiratory volume in 1 second (FEV1).

Conclusions. In patients with persistent BA combined with active phase of EBV infection, levels of BART-15 and miR-BART-13 were higher compared with the patients with other allergic diseases and with latent phase of EBV infection. Presence of reverse correlation between the levels of miR-BART-13 and FEV1 indicated participation of virus in active phase in pathogenesis of allergic inflammatory process in the lower respiratory tract and a role of miR-BART-13 as a biological marker of severity in this process.

Key words: chronic Epstein-Barr virus infection, allergic diseases, miR-BART-13, miR-BART-15.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Зубченко Світлана Олександрівна**
к.м.н, доцент кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
Адреса: вул. Пекарська, 69, Львів, Львівська область, 79010, Україна
Моб. тел.: +38 067 670 66 43
E-mail: svitlana_zu@meta.ua
http://orcid.org/0000-0003-4471-4884

- **Зубченко Светлана Александровна**
к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета имени Даниила Галицкого
Адрес: ул. Пекараская, 69, Львов, Львовская область, 79010, Украина
Моб. тел.: +38 067 670 66 43
E-mail: svitlana_zu@meta.ua
http://orcid.org/0000-0003-4471-4884

- **Zubchenko Svitlana,**
PhD Associate Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky
Lviv National Medical University
Address: st. Pekarska, 69, Lviv, Lviv region, 79010, Ukraine
Tel.: +38 067 670 66 43
E-mail: svitlana_zu@meta.ua
http://orcid.org/0000-0003-4471-4884

- **Гайдучок Ігор Григорович**
к.м.н, доцент, генеральний директор ТзОВ «Львівський медичний інститут»
Адреса: вул. Валер'яна Поліщука, 76, Львів, Львівська область, 79018, Україна
Тел.: (032) 239-37-01
E-mail: lvivmedinst@gmail.com, ihor.hayduchok@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2897-8417

- **Гайдучок Игорь Григорьевич**
к.м.н., доцент, генеральный директор ОгОО «Львовский медицинский институт»
Адрес: ул. Валерьяна Полищука, 76, Львов, Львовская область, 79018, Украина
Тел.: (032) 239-37-01
E-mail: lvivmedinst@gmail.com, ihor.hayduchok@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2897-8417

- **Haiduchok Ihor**
candidate of Medical Sciences, Associate Professor, General director of LLC «Lviv Medical Institute»
Address: st. Valerian Polishchuk, 76, Lviv, Lviv region, 79018, Ukraine
Tel.: (032) 239-37-01
E-mail: lvivmedinst@gmail.com, ihor.hayduchok@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2897-8417

- **Чопяк Валентина Володимирівна**
  д.мед.н., професор кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
  Адреса: вул. Пекарська, 69, Львів, Львівська область, 79010, Україна
  Моб. тел.: +38 067 280 10 43
  E-mail: chopyakv@ukr.net
  http://orcid.org/0000-0003-3127-2028

- **Чопяк Валентина Владимировна**
  д.мед.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии Львовского национального медицинского университета имени Даниила Галицкого
  Адрес: ул. Пекараская, 69, Львов, Львовская область, 79010, Украина
  Моб. тел.: +38 067 280 10 43
  E-mail: chopyakv@ukr.net
  http://orcid.org/0000-0003-3127-2028

- **Chopiak Valentyna**
  MD of Sciences, Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University
  Address: st. Pekarska, 69, Lviv, Lviv region, 79010, Ukraine
  Tel.: +38 067 280 10 43
  E-mail: chopyakv@ukr.net
  http://orcid.org/0000-0003-3127-2028

Стаття надійшла до редакції 27.03.2021 р.

© Мальцев Д.В., 2021
doi:10.37321/immunology.2021.1-2-03
УДК 612.017.1:616-008]:577.164.17:577.121

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ БІОХІМІЧНОГО ПРОФІЛЮ У ДІТЕЙ З РОЗЛАДАМИ СПЕКТРУ АУТИЗМУ, АСОЦІЙОВАНИМИ З ГЕНЕТИЧНИМ ДЕФІЦИТОМ ФОЛАТНОГО ЦИКЛУ

МАЛЬЦЕВ Д.В.

Інститут експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця

ВСТУП

Одним із важливих досягнень в психіатрії останніх років є з’ясування асоціації генетичного дефіциту фолатного циклу і розладів спектру аутизму у дітей [26]. Дані історично першого мета-аналізу рандомізованих контрольованих клінічних досліджень Pu D. зі спів. 2013 року, в якому проаналізовано результати 8 випробувань за участю 1672 дітей з розладами спектру аутизму та 6760 здорових дітей, продемонстрував, що патогенний поліморфний варіант MTHFR C677T асоційований з розладами спектру аутизму у дітей [22]. Надалі мета-аналіз рандомізованих контрольованих клінічних досліджень Mohammad N.S. зі спів. 2016 року, що охоплював дані 1361 дітей з розладами спектру аутизму і 6591 здорових дітей показав, що MTHFR C677T і пов’язана з цим гіпергомоцистеїнемія асоційовані з розладами спектру аутизму у дітей. Додатково було продемонстровано синергізм MTHFR C677T і MTRR A66G в індукції гіпергомоцистеїнемії і підвищенні ризику розвитку розладів спектру аутизму у носія [20]. Результати наступного мета-аналізу рандомізованих контрольованих клінічних досліджень Rai V. 2016 року, що охоплював дані 13 випробувань за участю 1978 дітей з розладами спектру аутизму та 7257 здорових дітей, встановив асоціацію між MTHFR C677T і розладами спектру аутизму у дітей як серед європейців, так й осіб азіатської популяції. MTHFR C677T підвищував ризик розвитку розладів спектру аутизму у всіх 4 застосовуваних генетичних моделях (ORT проти C=1,48; 95 % CI=1,18-1,86; P=0,0007; ORTT+CT проти CC=1,70, 95 % CI=0,96-2,9, p=0.05; ORTT проти CC=1,84, 95 % CI=1,12-3,02, p=0,02; ORCT проти CC=1,60, 95 % CI=1,2-2,1, p=0,003; ORTT проти CT+CC=1,5, 95 % CI=1,02-2,2, p=0,03) [23]. Дані нещодавнього мета-аналізу рандомізованих контрольованих клінічних досліджень Sadeghiyeh T. зі спів. 2019 року, в якому проаналізували результати 25 клінічних досліджень за типом випадок-контроль, виявили асоціацію між MTHFR 677C>T і розладами спектру аутизму в загальній популяції, та MTHFR 1298A>C та розладами спектру аутизму у дітей тільки серед європейців. Зокрема, MTHFR 677C>T підвищував ризик розвитку розладів спектру аутизму у дітей у 5 генетичних моделях (T проти C: OR=1,483, 95 % CI=1,188-1,850, p≤ 0.001; TT проти CC: OR=1,834, 95 % CI=1,155-2,913, p=0,010; TC проти CC: OR=1,512, 95 % CI=1,101-2,078, p=0,011; TT+TC проти CC: OR=1,632, 95 % CI=1,261-2,113, p≤0,001; TT проти TC+CC: OR=1,427, 95 % CI=1,002-2,032, p= 0,049) [25]. Останній мета-аналіз рандомізованих контрольованих клінічних досліджень Li Y. зі спів. 2020 року, що охоплює результати 15 випробувань, вказує на асоціацію MTHFR C677T з розладами спектру аутизму у дітей в 5 генетичних моделях (viz, алельна, домінантна, рецесивна, гетерозиготна, гомозиготна). Підгрупний аналіз показав асоціацію як MTHFR C677T, так і MTHFR A1298C з розладами спектру аутизму у дітей [15].

Результати контрольованого клінічного дослідження Haghiri R. зі спів. за участю 103 дітей з розладами спектру аутизму і 130 здорових дітей групи контролю показали тісну асоціацію MTR A2756G і розладів спектру аутизму у дітей. Продемонстровано збільшення ризику розвитку розладів спектру аутизму в 1,6 разів у носіїв MTR A2756G [13].

Таким чином, всі 4 основних поліморфних варіанти генів ензимів фолатного циклу асоційовані з розладами спектру аутизму у дітей, однак поточна доказова база такої асоціації більша у MTHFR C677T і MTHFR A1298C і менша – у MTR A2756G і MTRR A66G.

Mohammad N.S. зі спів., використовуючи модель ANN (artificial neural network) у контрольованому клінічному дослідженні за участю 138 дітей з розладами спектру аутизму та 138 здорових дітей показали, що визначення патогенних полімофрних варіантів генів GCPII C1561T, SHMT1 C1420T, MTHFR C677T, MTR A2756G, та MTRR A66G з діагностичною метою дозволяє встановити ризик розвитку розладів спектру аутизму у носія з точністю в 63,8% [20].

Різні патогенні поліморфні варіанти генів фолатного циклу можуть діяти синергічно, суттєво підвищуючи ризик розвитку розладів спектру аутизму у дітей. Про синергізм між MTHFR C677T і MTRR A66G йшлося в результатах мета-аналізу Mohammad N.S. зі спів. [20]. Натомість Arab A.H. зі спів. у контрольованому клінічному дослідженні за участю 112 дітей з розладами

спектру аутизму та 104 здорових дітей встановили синергічний ефект MTHFR C677T і MTHFR A1298C в формуванні ризику розвитку розладів спектру аутизму у дітей (рис. 1) [5]. Чим більше кількість патогенних поліморфних варіантів генів фолатного циклу в геномі носія, тим вищий ризик розвитку розладів спектру аутизму у нього.

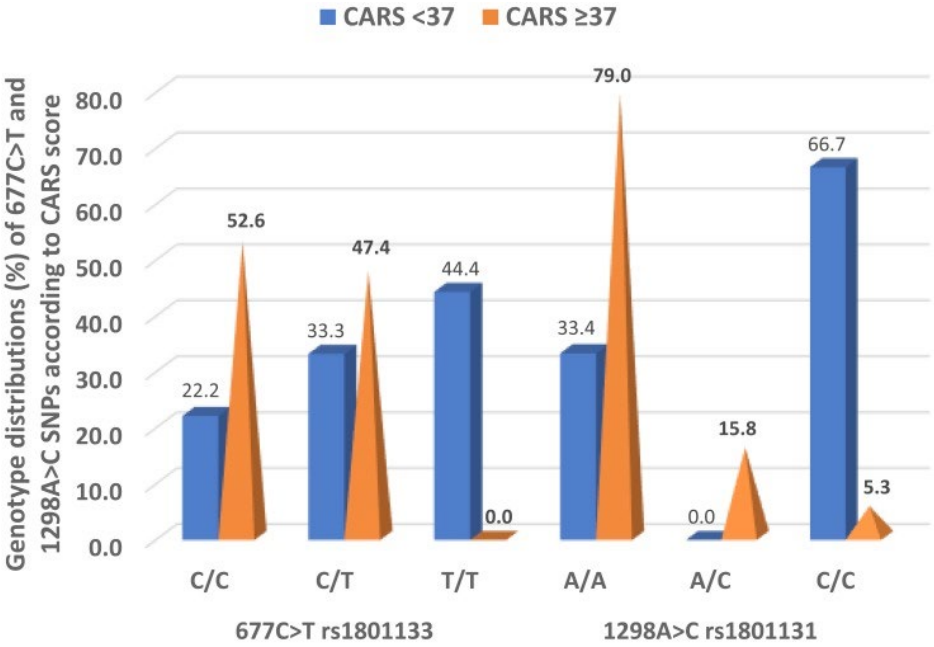

Рис. 1. Розподіл 677C>T rs1801133 та 1298A>C rs1801131 SNPs у випадках CARS (childhood autism rating scale) <37 та ≥37 (за Arab A.H. зі спів.) [5]

Результати клінічних досліджень демонструють, що патогенні поліморфні варіанти генів фолатного циклу здатні призводити до розвитку енцефалопатії з клінічною картиною розладів спектру аутизму принаймні трьома шляхами: (а) метаболічним, тісно пов’язаним з феноменом гіпергомоцистеїнемії та індукцією оксидативного стресу в тканині ЦНС [7, 8, 10], (б) імунозалежним, зумовленим розвитком нейротропних опортуністичних інфекцій, антинейронального автоімунітету та персистуючого системного/інтрацеребрального запалення [18, 19, 21], та (в) генорегуляторним, опосередкованим шляхом дерепресії інших патогенних мутацій/поліморфізмів в геномі носія внаслідок порушення процесів метилювання ДНК [24].

Існує припущення, що як прямі, так й імунозалежні механізми розвитку енцефалопатії пов’язані з порушенням метаболізму, тому важливим видається вивчення профілю біохімічних порушень у дітей з генетичним дефіцитом фолатного циклу, асоційованим з розладами спектру аутизму.

Мета роботи: вивчення біохімічних порушень у дітей з генетичним дефіцитом фолатного циклу, асоційованим з розладами спектру аутизму, для розуміння механізму формування енцефалопатії й імунодефіциту, а також і пошуку біомаркерів моніторингу стану та мішеней подальших терапевтичних втручань з попередження і/або зменшення нейротоксичності та імуносупресії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Проаналізовано медичні дані 138 дітей віком від 3 до 8 років з генетичним дефіцитом фолатного циклу, у яких відзначалися розлади спектру аутизму (97 хлопчиків і 41 дівчинка). Усі вони були пацієнтами спеціалізованої нейроімунологічної клініки Vivere (реєстраційне досьє від 22.12.2018 №10/2212-М). Отримання даних для дослідження та обробка матеріалу проводилася згідно договору № 150221 від 15.02.2021р., та висновку комісії біоетичної експертизи (протокол № 140 від 21.12.2020 р. НМУ імені О.О. Богомольця). Діагноз розладів спектру аутизму був виставлений дитячими психіатрами за критеріями DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders) та ICD-10 (The International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems). Патогенні поліморфні варіанти генів фолатного циклу визначали методом ПЛР на підставі виявлення заміни нуклеотидів MTHFR C677T у моно формі (27 пацієнтів), а також – у поєднанні з іншими замінами нуклеотидів – MTHFR A1298C, MTRR A66G і/або MTR A2756G (111 осіб). Ці особи склали досліджувану групу (ДГ). До контрольної групи (КГ) віднесли 51 дитину (37 хлопчиків та 14 дівчаток) аналогічного вікового розподілу, які не страждали на гене-

тичний дефіцит фолатного циклу. Аналізували показники біохімічного профілю, які за результатами останніх досліджень вважаються інформативними біомаркерами генетичного дефіциту фолатного циклу, зокрема, – сироваткову концентрацію гомоцистеїну (N= 5,2 мкмоль/л), вітамінів В6 (N=8,7-27,2 мкг/л), В12 (N=197-771 пг/мл), D3 (N=30-60 нг/мл), фолієвої кислоти, або вітаміну В9 (N=3,89-26,8 нг/мл), креатиніну (1-3 роки N=21-36 мкмоль/л; 3-5 років N=27-42 мкмоль/л; 5-8 років N=28-52 мкмоль/л), креатинфосфокінази (загальної) (N=39-308 Од/л) та лактатдегідрогенази (N=135-225 Од/л).

Статистичну обробку матеріалу проводили шляхом порівняльного і структурного аналізів. Для визначення вірогідності відмінностей між показниками у групах спостереження використовували параметричний Т-критерій Ст’юдента з показником довірчої ймовірності р та непараметричного критерію – числа знаків Z за Урбахом Ю.В. Для вивчення асоціацій між патогенними поліморфними варіантами генів фолатного циклу та параметрами біохімічного профілю застосовували показник відношення шансів (odds ratio, OR) та 95 % довірчий інтервал (95 % CI). Для проведення статистичних розрахунків користувалися програмою Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для пацієнтів ДГ був характерним такий патерн біохімічних порушень: гіпергомоцистеїнемія, зниження сироваткових концентрацій вітамінів В6, В12, D3 та фолієвої кислоти, гіперкреатинінемія, підвищення сироваткової концентрації креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази, що суттєво відрізняло їх від осіб КГ (рис. 2). Зокрема, підвищення концентрації гомоцистеїну за межі референтних значень в сироватці крові дітей ДГ на момент обстеження мало місце у 88 %, зниження сироваткової концентрації вітаміну В6 – у 76 %, вітаміну В12 – у 79 %, вітаміну D3 – у 72 %, фолієвої кислоти – у 69 %, гіперкреатинінемія – в 65 %, підвищення сироваткових концентрації креатинфосфокінази – в 57 % та лактатдегідрогенази – в 79 % випадків.

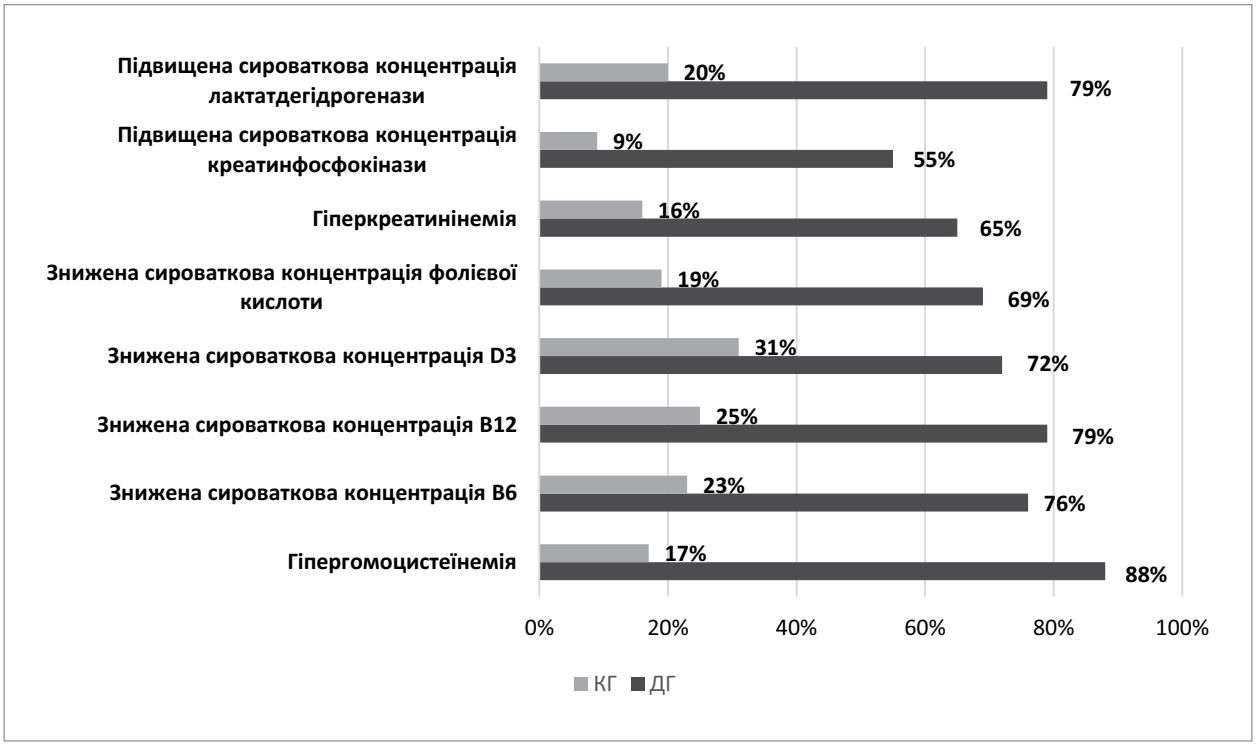

Рис. 2. Результати структурного аналізу показників біохімічного профілю серед пацієнтів ДГ (n=138) та КГ (n=51)

Як видно з рис. 2, відзначалася вірогідна відмінність в структурному розподілі пацієнтів з досліджуваними порушеннями біохімічного статусу в ДГ і КГ. Як ми й очікували, гіпергомоцистеїнемія була найтиповішою ознакою осіб ДГ і зустрічалася в 5 разів частіше. Знижена сироваткова концентрація вітамінів В6 і В12 мала місце втричі частіше, а низька концентрація вітаміну D3 – вдвічі частіше в ДГ, ніж в контрольній. Підвищена сироваткова концентрація креатинфосфокінази зустрічалася рідше, ніж зміни інших досліджуваних показників, однак зустрічалася вп’ятеро частіше, ніж в КГ. Результати структурного і порівняльного аналізів вказують на те, що досліджувані біохімічні

порушення є типовими розладами для дітей з генетичним дефіцитом фолатного циклу, асоційованим з аутизмом, і не є характерними для здорових дітей.

В табл. 1 порівняні середні величини досліджуваних показників біохімічного профілю в ДГ і КГ.

Таблиця 1

Середні величини (X±m) досліджуваних показників біохімічного профілю у пацієнтів ДГ (n=138) і КГ (n=51)

Показник	ДГ (X±m)	КГ (X±m)	Т-критерій	Число знаків Z
Гомоцистеїн, мкмоль/л	9,63±0,36	3,42±0,11	p 0,05	Z Z0,05
Вітамін B12, пг/мл	112,64±25,12	337,78±38,47	p 0,05	Z Z0,05
Вітамін B6, мкг/л	6,32±0,24	18,11±1,72	p 0,05	Z Z0,05
Вітамін D3, нг/мл	13,98±1,37	35,65±2,94	p 0,05	Z Z0,05
Фолієва кислота, пг/мл	2,97±0,46	17,19±2,99	p 0,05	Z Z0,05
Креатинін, мкмоль/л	69,13±4,31	32,36±2,12	p 0,05	Z Z0,05
Креатинфосфокіназа, ОД/л	314,12±29,76	52,17±19,53	p 0,05	Z Z0,05
Лактатдегідрогеназа, ОД/л	378,47±29,78	178,24±17,83	p 0,05	Z Z0,05

Таким чином, сироваткова концентрація гомоцистеїну, креатиніну, креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази вірогідно більша, а сироваткова концентрація вітамінів B6, B12, D3 і фолієвої кислоти – вірогідно менша у пацієнтів з генетичним дефіцитом фолатного циклу, асоційованим з розладами спектру аутизму, ніж у здорових дітей.

Подібні дані щодо більшості досліджуваних біохімічних показників вже продемонстровані в інших клінічних дослідженнях, однак досі не було здійснено комплексного аналізу біохімічного профілю в таких випадках. Проведені наукові роботи стосувалися вивчення лише окремих показників метаболізму без зв’язку з іншими індикаторами, часто – й без уточнення діагнозу генетичного дефіциту фолатного циклу, а тільки з урахуванням клінічних проявів розладів спектру аутизму, які можуть мати гетерогенне походження.

Відомо, що гіпергомоцистеїнемія є основним біохімічним порушенням при генетичному дефіциті фолатного циклу у людей [7, 12]. Результати мета-аналізу рандомізованих контрольованих клінічних досліджень Guo B.Q. зі спів. 2020 року, що охоплював 31 випробування за участю 3304 дітей, включаючи 1641 пацієнтів з розладами спектру аутизму, продемонстрували, що гіпергомоцистеїнемія асоційована з розладами спектру аутизму (Hedges’s g=0,56; 95 % CI=0,36-0,76, P<0,001) [12]. Нейротоксичні ефекти гомоцистеїну наразі добре вивчені [7], і з ними пов’язані прямі дисметоболічні механізми розвитку енцефалопатії, які зазвичай призводять до певних клінічних результатів [12]. За нашими спостереженнями, більше патогенетичне значення мають імунотоксичні ефекти гомоцистеїну та індукованого цим агентом оксидативного стресу, що призводять до порушення розвитку імунної системи організму дитини з формуванням специфічної форми імунодефіциту [1, 2, 3]. Цей імунодефіцит відповідальний за розвиток імунної дисрегуляції та реалізацію імуноопосередкованих та імунозапальних шляхів нейронального пошкодження в формуванні енцефалопатії, яка проявляється затримкою психомовленнєвого розвитку дитини з проявами розладів спектру аутизму [18, 21]. Це підтверджується клінічною ефективністю деяких імунотерапевтичних втручань [19].

Результати мета-аналізу контрольованих клінічних досліджень, підготовленого Wang Z. зі спів. у 2020 році, що охоплювали результати 34 випробувань за участю 20580 дітей, вказують, що знижена сироваткова концентрація вітаміну D, є характерною ознакою дітей з розладами спектру аутизму (mean difference (MD): -7.46 ng/mL, 95 % CI: -10.26; -4.66 ng/mL, p<0,0001, I2=98 %) [27]. Відповідно до цього, дані систематичного огляду та мета-аналізу контрольованих клінічних досліджень Li B. зі спів. 2020 року, що включає результати 5 випробувань за участю 349 осіб, вказують, що суплементація препаратами вітаміну D з приводу дефіциту цього нутрієнту в сироватці крові допомагає вірогідно знизити виразність проявів гіперактивності (pooled MD: -3.20; 95 % CI: [-6.06, -0.34]) з низькою гетерогенністю (I2=10 %, p=0,33) у дітей з розладами спектру аутизму [14].

Результати контрольованого клінічного дослідження Yekta . зі спів. за участю 118 дітей продемонстрували вірогідне підвищення сиро-

ваткової концентрації гомоцистеїну та зниження – вітаміну В12, однак не фолієвої кислоти у дітей з розладами спектру аутизму і синдромом дефіциту уваги та гіперактивності у порівнянні зі здоровими особами [28]. Дані контрольованого клінічного дослідження Belardo A. зі спів. за участю 120 пацієнтів свідчать про вірогідне зниження сироваткових концентрацій вітамінів В6 і В12, а також – фолієвої кислоти у дітей з розладами спектру аутизму порівняно зі здоровими дітьми [6].

Результати контрольованих клінічних досліджень Lv M.N. зі спів. [17] та Al-Mosalem O.A. зі спів. [4], проведених незалежно один від одного, вказують на вірогідне підвищення сироваткової концентрації та активності креатинфосфокінази у дітей з розладами спектру аутизму порівняно зі здоровими особами. Дані контрольованого клінічного дослідження El-Ansary A. зі спів. свідчать, що підвищення сироваткової концентрації лактатдегідрогенази і креатинфосфокінази є біомаркерами розладів спектру аутизму у дітей поряд з деякими іншими показниками метаболічного профілю [9].

В 2018 році Li Y.J. зі спів. провели систематичний огляд результатів рандомізованих контрольованих клінічних досліджень, присвячених мікронутритивним порушенням, що відзначаються у дітей з розладами спектру аутизму. Результати 7 таких досліджень вказують, що суплементація препаратами вітаміну В6 неефективна щодо корекції розладів психічного статусу у дітей з аутизмом. Дані двох інших випробувань показали, що застосування метильної форми вітаміну В12 призводить до деякого покращення з боку показників психічного статусу у дітей з розладами спектру аутизму. Результати трьох досліджень із застосування препаратів вітаміну D3 свідчать про недостатню ефективність цього підходу щодо корекції психічних розладів у дітей з аутизмом. Дані ще одного випробування показали користь від призначення фолієвої кислоти при розладах спектру аутизму у дітей [16].

Важливим є питання щодо патогенетичної значимості виявлених біохімічних порушень у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованих з генетичним дефіцитом фолатного циклу. Наразі говорять про прямі нейротоксичні впливи, як, наприклад, у гомоцистеїну [7]. Дефіцит вітамінів може порушувати обмін речовин в ЦНС, зокрема – впливати на метаболізм нейротрансміттерів. Як зазначають Gevi F. зі спів., дефіцит вітаміну В6 сповільнює трансформацію збуджуючої амінокислоти глутамату у гальмівний нейромедіатор гамма-аміномасляну кислоту, що може мати важливу роль в індукції симптомів гіперактивності та гіперзбудливості у дітей з розладами спектру аутизму [11]. Також біохімічні порушення можуть негативно впливати на розвиток імунної системи, сприяючи формуванню стану імунодефіциту, який здатен опосередковувати ряд імунозалежних ускладнень, задіяних у патогенезі енцефалопатії у дітей з розладами спектру аутизму [18, 21].

Також є важливим питання щодо походження виявлених біохімічних порушень. Наразі встановлено, що механізм біохімічного дисбалансу у дітей з розладами спектру аутизму є складним і багатокомпонентним. Так, деякі порушення є прямим наслідком наявності патогенних поліморфних варіантів генів циклу фолієвої кислоти, тобто безпосередньо пов’язані з дисфункцією ензимів фолатного циклу. Зокрема, йдеться про феномен гіпергомоцистеїнемії [12]. Інші порушення можуть мати непрямий механізм розвитку. Наприклад, дефіцит ряду вітамінів пояснюють як порушенням всмоктування нутрієнтів у тонкій кишці у зв’язку з розвитком персистуючого ентероколіту у дітей з розладами спектру аутизму, так і поведінковими порушеннями, що передбачають обмеження харчового раціону через вибірковість у їжі при розладах спектру аутизму [20]. Ознаки мітохондріальної дисфункції, що включають підвищення сироваткової концентрації креатиніну, лактатдегідрогенази і креатинфосфокінази, є наслідком оксидативного стресу, що розвивається як через пряму дію гомоцистеїну на ферменти антиоксидантної системи, так і – непрямий вплив обумовленої біохімічними порушеннями імунної дисрегуляції, що асоційована з посиленим виробленням прооксидантних сполук [8, 21].

Отже, при генетичному дефіциті фолатного циклу у дітей з розладами спектру аутизму відзначається специфічний патерн біохімічних порушень, що відрізняється від біохімічного профілю здорових дітей, і може мати суттєве практичне значення.

Важливими є питання щодо спряженості порушень показників біохімічного профілю з патогенними поліморфними варіантами генів циклу фолієвої кислоти та відмінності в асоціаціях між різними генотипами дефіциту фолатного циклу і тими чи іншими біохімічними розладами. Дані вивчення зв’язку порушень досліджуваних біохімічних показників (OR; 95 % CI) з результатами генетичного тестування серед пацієнтів ДГ наведені у табл. 2.

Таблиця 2

Результати вивчення асоціації порушень досліджуваних біохімічних показників (OR; 95 % CI) з комбінацією виявлених поліморфізмів генів ДГ (n=138)

Генотип	Гомоцистеїн	B12	B6	D3	Фолієва кислота	Креатинін	КФК	ЛДГ
MTHFR C677T	4,094; 1,851-9,051	2,841; 1,235-6,533	2,506; 1,110-5.6601,110-	2,402; 1,068-5,401	2,367; 1,056-5,304	2,882; 1,257-6,609	3,267; 1,399-7,626	2,917; 1,2686,707
MTHFR C677T + MTHFR A1298C	5,444; 2,314-12,807	5,464; 2,320-12,872	4,992; 2,132-11,685	4,958- 2,124-11,577	4,516; 1,949-10,463	5,464; 2,320-12,872	3,857; 1,669-8,911	6,612; 2,762-15,831
MTHFR C677T+ MTRR A66G	4,737; 2,080-10,788	3,111; 1,340-7,223	2,917; 1,268-6,707	3,182; 1,362-7,431	3,598; 1,530-8,462	3,857; 1,669-8,911	3,231; 1,384-7,541	3,947; 1,780-8,756
MTHFR C677T +MTR A2756G	4,334; 1,945-9,660	3,947; 1,780-8,756	3,750; 1,701-8,265	4,737; 2,080-10,788	3,553; 1,623-7,775	3,947; 1,780-8,756	3,801; 1,708-8,461	3,725; 1,672-8,300
MTHFR C677T+ MTHFR A1298C+ MTRR A66G	6,629; 2,629- 16,718	6,261; 2.500-15,682	5,392; 2,209-13,166	7,292; 2,831-18,782	5,367; 2,179-13,218	4,911; 1,944-12,403	5,612; 2,143-14,698	4,819; 1,917-12,114
MTHFR C677T+ MTHFR A1298C+ MTR A2756G	6,432; 2,606-15,870	5,404; 2,380-12,272	5,765; 2,514-13,217	6,125; 2,649-14,163	5,921; 2,554-13,727	5,224; 2,295-11,895	4,644; 2,073-10,401	5,573; 2,424-12,811
MTHFR C677T+ MTRR A66G+ MTR A2756G	6,176; 2,570-14,842	4,871; 2,100-11,297	5,412; 2,315-12,651	5,828; 2,462-13,793	5,701; 2,406-13,508	5,701; 2,406-13,508	5,729; 2,341-14,023	3,947; 1,780-8,756
MTHFR C677T + MTHFR A1298C + MTR A2756G + MTRR A66G	7,206; 3,026-17,157	7,212; 2,861-18,177	6,657; 2,677-16,555	5,641; 2,316-13,740	6,044; 2,456-14,873	4,583; 1,942-10,816	6,509; 2,614-16,205	6,111; 2,475-15,091

Як показують дані табл. 2, всі досліджувані генотипи асоційовані з характерним патерном біохімічних змін, про який ішлося вище, а не тільки з відхиленнями рівнів окремих біохімічних показників. Очікувана частота тих чи інших біохімічних порушень при наявності певного генотипу збільшується від 2 до 7 разів залежно від біохімічного показника та патогенного поліморфного варіанту гену ензиму циклу фолієвої кислоти. Це свідчить про комплексний характер виявлених біохімічних порушень. Для кожного досліджуваного генотипу, здебільшого характерні спряжені відхилення рівнів різних біохімічних показників, що дозволяє говорити про характерні відмінності біохімічного статусу залежно від генотипу (генотип-асоційовані біохімічні профілі). Так, для генотипу MTHFR C677T частота порушень показників біохімічного статусу збільшується в 2-4 рази, тоді як для генотипу MTHFR C677T + MTHFR A1298C – в 3-6 разів. Продемонстровано неоднаковий вплив різних патогенних поліморфних варіантів генів на виразність досліджуваних біохімічних порушень. Так, для MTHFR A1298C притаманна тісніша асоціація з відхиленнями у рівнях досліджуваних біохімічних показників порівняно з MTRR A66G і MTR A2756G. Показано також, що накопичення патогенних поліморфних варіантів генів ензимів циклу фолієвої кислоти асоційовано з виразнішими змінами у біохімічному профілі (кумулятивний ефект). Відповідно до цього, найважчим з точки зору порушень біохімічного статусу є генотип MTHFR C677T + MTHFR A1298C + MTR A2756G + MTRR A66G, а найлегшим – MTHFR C677T. Гомоцистеїн з-поміж інших досліджуваних біохімічних показників тісніше асоційований з генетичним дефіцитом фолатного циклу, і зміни у його сироватковій концентрації краще від-

повідають відмінностям у генетичному дефекті пацієнта. Цю особливість можна пов’язати з прямим зв’язком феномену гіпергомоцистеїнемії з метаболічним блоком, що формується при дефіциті фолатного циклу, тоді як, наприклад, на сироваткові концентрації вітамінів очікувано впливають й деякі інші чинники, такі як якість всмоктування в тонкій кишці та дієтичні особливості.

ВИСНОВКИ

Для дітей із генетичним дефіцитом фолатного циклу, асоційованого з розладами спектру аутизму, характерний специфічний патерн біохімічних змін, що не є типовим для здорових дітей, і може пояснювати патогенез імунодефіциту та енцефалопатії. Відзначаються гіпергомоцистеїнемія, дефіцит деяких вітамінів групи В та ознаки мітохондріальної дисфункції. Механізм розвитку цих біохімічних порушень може бути складним і багатокомпонентним, однак всі досліджувані біохімічні відхилення тісно асоційовані саме з патогенними поліморфними варіантами генів ензимів фолатного циклу, а їх виразність залежить як від виду патогенного поліморфного варіанту гену, так – й від кількості і композиції патогенних замін нуклеотидів в генотипі пацієнта. Найсприятливішим в біохімічному плані є генотип MTHFR C677T, тоді як найважчим є генотип із комбінацією поліморфізмів MTHFR C677T + MTHFR A1298C + MTR A2756G + MTRR A66G. Отримані дані дозволяють краще зрозуміти патогенез хвороби. Виявлений патерн біохімічних порушень може бути використаний в діагностичному процесі як при скринінгу генетичного дефіциту фолатного циклу, так і при оцінці важкості стану й проведенні клінічного моніторингу дітей з розладами спектру аутизму. Крім того, зазначені порушення можуть бути об’єктом терапевтичних втручань з метою корекції біохімічного статусу пацієнта та послаблення проявів імуносупресії та психічних порушень.

Джерела фінансування. Дослідження виконувалося як фрагмент науково-дослідної роботи на замовлення МОЗ України (№ держреєстрації 0121U107940).

ЛІТЕРАТУРА

1. Мальцев Д.В. Иммунодефицит, обусловленный генетически детерминированным нарушением фолатного цикла, у детей с расстройствами аутистического спектра // Імунологія та алергологія: наука і практика. – 2019. – № 1. – С. 4–22.
2. Мальцев Д.В. Оценка иммунного статуса у детей с расстройством аутистического спектра, ассоциированным с генетическим дефицитом фолатного цикла // Лікарська справа. – 2018. – №1-2. – С. 11–23.
3. Мальцев Д.В. Расширенный клинико-лабораторный фенотип при генетически детермированном нарушении фолатного цикла у детей с расстройствами спектра аутизма // Международный неврологический журнал. – 2018. – №5 (99). – С. 13–25.
4. Al-Mosalem O.A., El-Ansary A., Attas O., Al-Ayadhi L. Metabolic biomarkers related to energy metabolism in Saudi autistic children // Clin. Biochem. – 2009. – Vol. 42(10-11). – P. 949–957.
5. Arab A.H., Elhawary N.A. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants Confer Potential Vulnerability to Autism Spectrum Disorder in a Saudi Community // Neuropsychiatr. Dis. Treat. – 2019. – Vol. 15. – P. 3569–3581.
6. Belardo A., Gevi F., Zolla L. et al. The concomitant lower concentrations of vitamins B6, B9 and B12 may cause methylation deficiency in autistic children // J. Nutr. Biochem. – 2019. – Vol. 70. – P. 38–46.
7. Bhatia P., Singh N. Homocysteine excess: delineating the possible mechanism of neurotoxicity and depression // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2015. – Vol. 29(6). – P. 522–528.
8. Chen L., Shi X.J., Liu H. et al. Oxidative stress marker aberrations in children with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis of 87 studies (N = 9109) // Transl. Psychiatry. – 2021. – Vol. 11(1). – P. 15.
9. El-Ansary A., Hassan Wail M., Daghestani M. et al. Preliminary evaluation of a novel nine-biomarker profile for the prediction of autism spectrum disorder // PLoS One. – 2020. – Vol. 15(1). – e0227626.
10. Frustaci A., Neri M., Cesario A. et al. Oxidative stress-related biomarkers in autism: systematic review and meta-analyses // Free Radic. Biol. Med. – 2012. – Vol. 52(10). – P. 2128–2141.
11. Gevi F., Belardo A., Zolla L. A metabolomics approach to investigate urine levels of neurotransmitters and related metabolites in autistic children // Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis. Dis. – 2020. – Vol. 1866(10). – P. 165859.
12. Guo B.Q., Li H.B., Ding S.B. et al. Blood homocysteine levels in children with autism spectrum disorder: An updated systematic review and meta-analysis // Psychiatry Res. – 2020. – Vol. 291. – P. 113283.
13. Haghiri R., Mashayekhi F., Bidabadi E., Salehi Z. Analysis of methionine synthase

(rs1805087) gene polymorphism in autism patients in Northern Iran // Acta Neurobiol. Exp. (Wars). – 2016. – Vol. 76(4). – P. 318–323.

14. Li B., Xu Y., Zhang X. et al. The effect of vitamin D supplementation in treatment of children with autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // Nutr. Neurosci. – 2020. – Vol. 7. – P. 1–11.
15. Li Y., Qiu S., Shi J. et al. Association between MTHFR C677T/A1298C and susceptibility to autism spectrum disorders: a meta-analysis // BMC Pediatr. 2020. – Vol. 20(1). – P. 449.
16. Li Y.J., Li Y.M., Xiang D.X. et al. Supplement intervention associated with nutritional deficiencies in autism spectrum disorders: a systematic review // Eur. J. Nutr. – 2018. – Vol. 57(7). – P. 2571–2582.
17. Lv M.N., Zhang H., Shu Y. et al. The neonatal levels of TSB, NSE and CK-BB in autism spectrum disorder from Southern China // Transl. Neurosci. – 2016. – Vol. 7(1). – P. 6–11.
18. Mead J., Ashwood P. Evidence supporting an altered immune response in ASD // Immunol. Lett. – 2015. – Vol. 163(1). – P. 49-55.
19. Melamed I.R., Heffron M., Testori A, Lipe K. A pilot study of high-dose intravenous immunoglobulin 5% for autism: Impact on autism spectrum and markers of neuroinflammation // Autism Res. – 2018. – Vol. 11(3). – P. 421–433
20. Mohammad N.S., Shruti P.S., Bharathi V. et al. Clinical utility of folate pathway genetic polymorphisms in the diagnosis of autism spectrum disorders // Psychiatr. Genet. – 2016. – Vol. 26(6). – P. 281–286.
21. Noriega D.B., Savelkoul H.F. Immune dysregulation in autism spectrum disorder // Eur. J. Pediatr. – 2014. – Vol. 173(1). – P. 33–43.
22. Pu D., Shen Y., Wu J. Association between MTHFR gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis // Autism Res. – 2013. – Vol. 6(5). – P. 384–392.
23. Rai V. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism with autism: evidence of genetic susceptibility // Metab. Brain Dis. – 2016. – Vol. 31(4). – P. 727–735.
24. Rai V. Strong Association of C677T Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene With Nosyndromic Cleft Lip/Palate (nsCL/P) // Indian. J. Clin. Biochem. – 2018. – Vol. 33(1). – P. 5–15.
25. Sadeghiyeh T., Dastgheib S.A., Mirzaee-Khoramabadi K. et al. Association of MTHFR 677C>T and 1298A>C polymorphisms with susceptibility to autism: A systematic review and meta-analysis // Asian J Psychiatr. – 2019. – Vol. 46. – P. 54–61.
26. Wan L., Li Y., Zhang Z., Sun Z. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase and psychiatric diseases // Transl. Psychiatry. – 2018. – Vol. 8(1). – P. 242.
27. Wang Z., Ding R., Wang J. et al. The Association between Vitamin D Status and Autism Spectrum Disorder (ASD): A Systematic Review and Meta-Analysis // Nutrients. – 2020. – Vol. 13(1). – E86.
28. Yekta ., Alpay M., Tufan A.E. et al. Comparison of serum B12, folate and homocysteine concentrations in children with autism spectrum disorder or attention deficit hyperactivity disorder and healthy controls // Neuropsychiatr. Dis. Treat. – 2019. – Vol. 15. – P. 2213–2219.

РЕЗЮМЕ

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ БІОХІМІЧНОГО ПРОФІЛЮ У ДІТЕЙ З РОЗЛАДАМИ СПЕКТРУ АУТИЗМУ, АСОЦІЙОВАНИМИ З ГЕНЕТИЧНИМ ДЕФІЦИТОМ ФОЛАТНОГО ЦИКЛУ

Мальцев Д.В.

Інститут експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця

Обґрунтування. Результати останніх мета-аналізів рандомізованих контрольованих клінічних досліджень вказують на асоціацію генетичного дефіциту фолатного циклу з розладами спектру аутизму у дітей.

Мета дослідження: вивчення біохімічних порушень у дітей з генетичним дефіцитом фолатного циклу, асоційованим з розладами спектру аутизму, для розуміння механізму формування енцефалопатії й імунодефіциту, а також – пошуку біомаркерів моніторингу стану та мішеней подальших терапевтичних втручань з попередження і/або зменшення нейротоксичності та імуносупресії.

Матеріали і методи. Досліджувану групу (ДГ) склали 138 дітей з діагнозом розладів спектру аутизму (DSM-IV-TR та ICD-10), у яких відзначався генетичний дефіцит фолатного циклу (MTHFR C677T + MTHFR A1298C і/або MTR A2756G і/або MTRR A66G; ПЛР). Контрольна група (КГ) включала 51 здорову дитину відповідного вікового і гендерного розподілу. Аналізували показники біохімічного профілю, зокрема сироваткову концентрацію гомоцистеїну, вітамінів B6, B12, D3, фолієвої кислоти, креатиніну, креатинфосфокінази (КФК) та лактатдегідрогенази (ЛДГ).

Результати та їх обговорення. Для пацієнтів ДГ характерний специфічний патерн біохімічних порушень (p 0,05; Z Z0,05). Відзначаються гіпергомоцистеїнемія, дефіцит деяких вітамінів групи B, вітаміну D3 та ознаки мітохондріальної дисфункції. Підвищення концентрації гомоцистеїну в сироватці крові дітей ДГ на момент обстеження мало місце у 88 %, знижен-

ня сироваткової концентрації вітаміну В6 – в 76 %, вітаміну В12 – в 79 %, вітаміну D3 – в 72 %, фолієвої кислоти – в 69 %, гіперкреатинінемія – в 65 %, підвищення сироваткових концентрації КФК – в 57 % та ЛДГ – в 79 % випадків.

Розрахунки відношення шансів (OR) та 95 % довірчого інтервалу (95 % CI) вказують, що всі досліджувані генотипи асоційовані з характерним патерном біохімічних змін. Очікувана частота тих чи інших біохімічних порушень при наявності певного генотипу збільшується від 2 до 7 разів, залежно від виду біохімічного показника, типу, композиції та кількості патогенних поліморфних варіантів генів ензимів циклу фолієвої кислоти з феноменом генотип-асоційованих патернів та кумулятивним ефектом.

Висновки. Для генетичного дефіциту фолатного циклу, асоційованого з розладами спектру аутизму у дітей, характерний специфічний патерн біохімічних змін, що не є типовим для здорових дітей, і може бути залученим до патогенезу імунодефіциту та енцефалопатії. Це може бути використано в діагностичному процесі при скринінгу генетичного дефіциту фолатного циклу, оцінці важкості стану й проведенні клінічного моніторингу дітей з розладами спектру аутизму. Зазначені порушення можуть бути об’єктом терапевтичних втручань з метою корекції біохімічного статусу пацієнта та послаблення проявів імуносупресії та психічних порушень.

Ключові слова: гомоцистеїн, вітаміни групи В, вітамін D3, фолієва кислота, креатинін, КФК, ЛДГ.

РЕЗЮМЕ

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БИОХИМИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ СПЕКТРА АУТИЗМА, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ДЕФИЦИТОМ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА

Мальцев Д.В.

Институт экспериментальной и клинической медицины НМУ имени А.А. Богомольца

Обоснование. Результаты последних мета-анализов рандомизированных контролируемых клинических исследований указывают на ассоциацию генетического дефицита фолатного цикла и расстройств спектра аутизма у детей.

Цель исследования: изучение биохимических нарушений у детей с генетическим дефицитом фолатного цикла, ассоциированным с расстройствами спектра аутизма, для понимания механизма формирования энцефалопатии и иммунодефицита, а также – поиска биомаркеров мониторинга состояния и мишеней дальнейших терапевтических вмешательств по предупреждению и/или уменьшению нейротоксичности и иммуносупрессии.

Материалы и методы. Исследуемую группу (ДГ) составили 138 детей с диагнозом расстройств спектра аутизма (DSM-IV-TR и ICD-10), у которых отмечался генетический дефицит фолатного цикла (MTHFR C677T + MTHFR A1298C и/или MTR A2756G и/или MTRR A66G; ПЦР). Контрольная группа (КГ) включала 51 здорового ребенка соответствующего возрастного и гендерного распределения. Анализировали показатели биохимического профиля, в частности – сывороточную концентрацию гомоцистеина, витаминов В6, В12, D3, фолиевой кислоты, креатинина, креатинфосфокиназы (КФК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

Результаты и их обсуждение. Для пациентов ДГ характерен специфический паттерн биохимических нарушений (p 0,05; Z Z0,05). Отмечаются гипергомоцистеинемия, дефицит некоторых витаминов группы В, витамина D3 и признаки митохондриальной дисфункции. Повышение концентрации гомоцистеина в сыворотке крови детей ДГ на момент обследования имело место в 88 %, снижение сывороточной концентрации витамина В6 – в 76 %, витамина В12 – в 79 %, витамина D3 – в 72 %, фолиевой кислоты – в 69 %, гиперкреатенинемия – в 65 %, повышение сывороточных концентрации КФК – в 57 % и ЛДГ – в 79 % случаев.

Расчеты отношение шансов (OR) и 95 % доверительного интервала (95 % CI) указывают, что все исследуемые генотипы ассоциированы с характерным паттерном биохимических изменений. Ожидаемая частота тех или иных биохимических нарушений при наличии определенного генотипа увеличивается от 2 до 7 раз в зависимости от вида биохимического показателя, типа, композиции и количества патогенных полиморфных вариантов генов ферментов цикла фолиевой кислоты с феноменом генотип-ассоциированных паттернов и кумулятивным эффектом.

Выводы. Для генетического дефицита фолатного цикла, ассоциированного с расстройствами спектра аутизма у детей, характерен специфический паттерн биохимических изменений, который не является типичным для здоровых детей, и может быть вовлечен в патогенез иммунодефицита и энцефалопатии. Это может быть использовано в диагностическом процессе при скрининге генетического дефицита фолатного цикла, оценке тяжести состояния и проведении клинического мониторинга детей с расстройствами спектра аутизма. Указанные нарушения могут быть объектом терапевтических вмешательств с целью коррекции биохимического статуса пациента и ослабления проявлений иммуносупрессии и психических нарушений.

Ключевые слова: гомоцистеин, витамины группы В, витамин D3, фолиевая кислота, креатинин, КФК, ЛДГ.

SUMMARY

THE RESULTS OF THE STUDY OF BIOCHEMICAL PROFILE INDICATORS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS ASSOCIATED WITH GENETIC DEFICIENCY OF THE FOLATE CYCLE

Maltsev D.

Institute of Experimental and Clinical Medicine at the O’Bogomolets NMU

Backgrounds. The results of recent meta-analyzes of randomized controlled clinical trials indicate an association of genetic folate deficiency with autism spectrum disorders in children.

The aim of the study: to study the biochemical disorders in children with genetic deficiency of the folate cycle associated with autism spectrum disorders, to understand the mechanism of encephalopathy and immunodeficiency, as well as to find biomarkers for monitoring and targets of further therapeutic interventions to prevent and/or reduce neurotoxicity and immunosuppression..

Materials and methods. The study group (DG) consisted of 138 children diagnosed with autism spectrum disorders (DSM-IV-TR and ICD-10), who had a genetic deficiency of the folate cycle (MTHFR C677T + MTHFR A1298C and/or MTR A2756G and/or MTRR A66G; PCR). The control group (CG) included 51 healthy children of the appropriate age and gender distribution. Biochemical profile parameters were analyzed, including serum homocysteine, vitamins B6, B12, D3, folic acid, creatinine, creatine phosphokinase (CPK) and lactate dehydrogenase (LDH).

Results and discussion. Patients with DG are characterized by a specific pattern of biochemical disorders (p 0.05; Z Z0.05). Hyperhomocysteinemia, deficiency of some B vitamins, vitamin D3 and signs of mitochondrial dysfunction are noted. An increase in the concentration of homocysteine in the serum of children DG at the time of the examination occurred in 88 %, a decrease in serum concentrations of vitamin B6 – 76 %, vitamin B12 – 79 %, vitamin D3 – 72 %, folic acid – 69 %, hypercreatininemia – in 65 %, increased serum concentrations of CPK – in 57 % and LDH – in 79 % of cases.

Calculations of the odds ratio (OR) and 95 % confidence interval (95 % CI) indicate that all genotypes studied are associated with a characteristic pattern of biochemical changes. The expected frequency of certain biochemical disorders in the presence of a certain genotype increases from 2 to 7 times depending on the type of biochemical indicator, type, composition and number of pathogenic polymorphic variants of folic acid cycle enzyme genes with genotype-associated patterns and cumulative effect.

Conclusions. Genetic folate deficiency associated with autism spectrum disorders in children is characterized by a specific pattern of biochemical changes that is not typical of healthy children and may be involved in the pathogenesis of immunodeficiency and encephalopathy. It can be used in the diagnostic process in screening for genetic deficiency of the folate cycle, assessing the severity of the condition and conducting clinical monitoring of children with autism spectrum disorders. These disorders can be the object of therapeutic interventions to correct the biochemical status of the patient and reduce the manifestations of immunosuppression and mental disorders.

Key words: homocysteine, B vitamins, vitamin D3, folic acid, creatinine, CPK, LDH.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Мальцев Дмитро Валерійович**
  Інститут експериментальної і клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, зав. лабораторією імунології і молекулярної біології
  Адреса: 01601, просп. Перемоги, 34,
  Київ, Україна
  Тел.: (068)100-85-95
  E-mail: dmaltsev@ukr.net
- **Мальцев Дмитрий Валерьевич**
  Институт экспериментальной и клинической медицины НМУ имени А.А. Богомольца, зав. лабораторией иммунологии и молекулярной биологии
  Адрес: 01601, просп. Победы, 34,
  г. Киев, Украина
  Тел.: (068) 100-85-95
  E-mail: dmaltsev@ukr.net
- **Maltsev Dmytro**
  Experimental and Clinical Medicine Institute at the O.O. Bohomolets National Medical University
  Address: 34 Peremohy ave.,
  Kyiv 01601, Ukraine
  Tel.: (068) 100-85-95
  E-mail: dmaltsev@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 27.03.2021 р.

© Веклич К.А., Попов М.М., Лядова Т.І., Мартиненко О.В., Сорокіна О.Г., 2021
doi:10.37321/immunology.2021.1-2-04
УДК 616.915-097

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРІВ 9 ТИПУ НА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИНАХ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З КОРОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ

ВЕКЛИЧ К.А., ПОПОВ М.М., ЛЯДОВА Т.І., МАРТИНЕНКО О.В., СОРОКІНА О.Г.

Харківський національний університет імені. В.Н.Каразіна, Харків

Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи (НДР) кафедри загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Роль імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та оптимізація засобів лікування» (№ держреєстрації 0117U004874)

Кір – висококонтагіозне вірусне інфекційне захворювання, яке характеризується розвитком загальноінтоксикаційного, лихоманкового, катарального синдромів, кон’юнктивітом та розвитком типового п’ятнисто-папульозного висипу. Персистенція вірусу кору в організмі людини призводить також до імуносупресії, що в свою чергу є передумовою високої сприйнятливості ураженого організму до приєднання різних вторинних патогенів.

Під час останнього спалаху кору, що спостерігався на території України у 2017-2019 роках, високі показники смертності були обумовлені не тільки дією самого вірусу, але й приєднанням вторинної бактеріальної флори та розвитком позагоспітальних пневмоній, що на фоні імуносупресії, викликаної безпосередньою дією вірусу, мали тяжкий перебіг навіть за умови використання потужних антибактеріальних засобів.

Важливою ланкою захисту макроорганізму від проникнення патогенів є вроджена імунна відповідь, що використовує рецептори розпізнавання образів (англ. – Pattern Recogniton Receptors, PRR) для виявлення мікроорганізмів, що проникли в організм людини. PRR розпізнають ендогенні та екзогенні ліганди, у тому числі і асоційовані з патогенами молекулярні патерни (англ. – Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), що являють собою збережені хімічні мотиви, які експресуються мікроорганізмами. Найбільш повно охарактеризованим типом рецепторів розпізнавання образів, що являють собою важливі модулятори вродженої імунної відповіді завдяки здатності розпізнати мікроорганізми, локалізовані як у міжклітинному просторі, так і всередині клітин, є Toll-like рецептори (TLR). Після виявлення PAMPs, TLR запускають каскад передачі сигналів, що призводить до продукції медіаторів запалення. Toll-like рецептори є найбільш повно охарактеризованим типом рецепторів розпізнавання образів і являють собою важливі модулятори вродженої імунної відповіді, оскільки вони здатні розпізнати мікроорганізми, локалізовані як у міжклітинному просторі, так і всередині клітин. Той факт, що TLR широко представлені у клітинах організму, підтверджує їх центральну роль у розпізнаванні потенційних патогенів. Лігандами для TLR виступає дволанцюгова РНК (дРНК), одноланцюгова РНК (оРНК), вірусна та бактеріальна РНК або неметильовані CPG мотиви ДНК, що з’являються в результаті гідролітичної деградації мікроорганізмів [1, 2].

Одним з важливих TLR є Toll-like рецептор 9 типу. Активація експресії цього рецептора та передача сигналу із його залученням є важливими механізмами запуску вродженої імунної відповіді, що призводить до активації різних структур в залежності від типу клітин. У конвекційних (кДК) та плазмоцитоїдних (пДК) дендритних клітинах, макрофагах TLR9 активують каскад передачі сигналу, кульмінацією якого є продукція прозапальних цитокінів – ФНПα, ІЛ-6 та ІЛ-12 та інтерферону 1 типу [3, 4]. Також було продемонстровано, що TLR9 є важливим у захисті організму від ураження легеневої тканини, викликаної S.Pneumoniae та S.aureus [5-8].

Не дивлячись на розуміння важливості TLR9 у активації вродженої імунної відповіді на проникнення патогенів, роль цього рецептора у захисті організму від корової інфекції, а також зв’язок рівню експресії даного рецептора з рівнем та характером реакції цитокінової мережі та станом специфічної імунної відповіді досліджена недостатньо. Саме тому, враховуючи значну кількість пацієнтів з коровою інфекцією, що знаходились на лікуванні у КЗОЗ КНП ХОР ОКІЛ, імунологічні порушення, що були виявлені у цих пацієнтів [9], а також значну кількість пацієнтів, що мали бактеріальні ускладнення з боку респіраторного тракту, вважалось цікавим дослідити рівень експресії Toll-like рецепторів 9 типу у цієї когорти пацієнтів та встановити зв’язок між рівнем його експресії, ступенем імунологічних порушень та наявністю ускладнень.

Мета дослідження: визначення рівню експресії Toll-like рецепторів 9 типу на лімфоцитах та моноцитах периферійної крові у пацієнтів з кором різного ступеня тяжкості як з ускладненнями, так і без них.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідження було включено 65 пацієнтів з діагнозом «кір», що знаходились на лікуванні у КЗОЗ КНП ХОР ОКІЛ в період з 2017 до 2019 роки. Критеріями залучення до дослідження були наявність кору різного ступеня тяжкості, як з наявністю ускладнень, так і без них. Пацієнти були розподілені на 4 групи, в залежності від тяжкості перебігу захворювання та наявності ускладнень. У 1 групу було включено пацієнтів, що мали захворювання середнього ступеня тяжкості без ускладнень та знаходились на лікуванні у загальному відділенні (n=20); у 2 групу увійшли пацієнти з кором середнього ступеню тяжкості, що мали ускладнення у вигляді позагоспітальної пневмонії та знаходились на лікуванні у загальному відділенні (n=20); у 3 групу було включено пацієнтів з кором тяжкого ступеня тяжкості, що не мали ускладнень та знаходились на лікуванні у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (n=16); група 4 включала в себе пацієнтів з кором тяжкого ступеня тяжкості, що мали ускладнення у вигляді позагоспітальної пневмонії та знаходились на лікуванні у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (n=9). Середній вік хворих – 36,16±1,59 років, жінок – 48%, чоловіків – 52%. Хворі звертались до стаціонару на 5,18±0,15 день від початку захворювання та 4,29±0,12 день від появи висипань. Діагноз встановлювався хворим на підставі наявності типових клінічних ознак захворювання (катаральний та інтоксикаційний синдроми, синдром ураження очей, синдром енантеми та екзантеми з типовою стадійністю появи та зникнення висипань), даних об’єктивного, інструментального та лабораторного методів дослідження, епідеміологічних даних (контакт із хворими зі встановленим діагнозом “кір”). Наявність пневмонії підтверджувалася за допомогою даних рентгенографії органів грудної клітини. Усі пацієнти відмічали проведення у дитинстві вакцинації проти кору. Контрольну групу склали 20 добровільних донорів, що на момент відбору зразків крові не мали клінічних ознак кору, не контактували із хворими на кір та не мали критеріїв виключення (наявність супутніх гострих та хронічних захворювань з боку різних органів та систем, імуносупресивних та аутоімунних захворювань, прийом імуносупресивних препаратів, проведення оперативних втручань за 6 місяців до госпіталізації з приводу кору, пологи за 6 місяців до госпіталізації з приводу кору). Усі добровільні донори відмічали наявність у дитинстві вакцинації проти кору та ніколи не хворіли на кір протягом життя.

Усім пацієнтам у день надходження до стаціонару проводилось визначення у суспензії лейкоцитів рівню експресії Toll-like рецепторів 9 типу. Дослідження проводилось з використанням методу проточної цитометрії з використанням набору моноклональних антитіл TLR9 (CD123+) (ФРН) згідно з інструкцією виробника. Також методом твердофазного імуноферментного аналізу за допомогою наборів реагентів АТ “Вектор-Бест” (Російська федерація), згідно інструкції виробника, проводилось вивчення концентрації у сироватці крові про- та протизапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4, ІЛ-10) та інтерферонів альфа і гамма та визначення рівня у сироватці крові вірус-специфічних імуноглобулінів класів М, А та G з рівнем авідності останніх з використанням тест-систем фірм “ХЕМА” (Україна), “The Native Antigen Company” (США) та “Вектор-Бест” (Російська федерація) згідно з інструкцією виробника. Також було проведено кореляційний аналіз між показниками рівню експресії Toll-like рецеторів та концентрації у сироватці крові прозапальних цитокінів та інтерферонів альфа і гамма. Статистична обробка отриманих даних проводилась за допомогою програми IBM SPSS Statistics 22.0. Дані у таблицях представлені у вигляді середньої арифметичної (M) ± середня помилка середньої арифметичної (m). При інтерпретації значущості різниці результатів використовували критерій Манна-Уітні, критичною величиною рівня значущості вважали $p<0,05$. При проведенні кореляційного-регресійного аналізу використовувався коефіцієнт кореляції Пірсона (критичне значення коефіцієнту Стьюдента p 0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ

Вивчення рівню про- та протизапальних цитокінів, ІНФ альфа та гамма продемонструвало значні зміни рівнів вказаних показників в усіх досліджуваних групах. У пацієнтів 1 групи рівень ІЛ-1 та ІЛ-6 в сироватці крові підвищився у 3,9 разів, ІНФα – у 2,8 разів, ІНФγ – у 2,5 рази, ІЛ-4 та ІЛ-10 – у 3,7 та 3,6 разів; у пацієнтів 2 групи – вказані показники зросли у 3,2; 3,2; 2,4; 1,7; 3,0; та 2,8 разів, відповідно. У пацієнтів 3 групи рівень ІЛ-1 підвищився у 2,6 разів, ІЛ-6 – у 1,9 разів, ІНФα – 1,7 разів, ІНФγ – 1,3 рази, ІЛ-4 – 1,4 рази, ІЛ-10 – 1,1 рази. У пацієнтів 4 групи – рівні ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4 та ІЛ-10 підвищились у 1,03, 1,01, 1,04 та 1,06 разів, відповідно; рівні ІНФα та ІНФγ у пацієнтів цієї групи були нижчими, ніж у осіб контрольної групи – у 1,06 та 1,1 рази, відповідно. (Рис. 1).

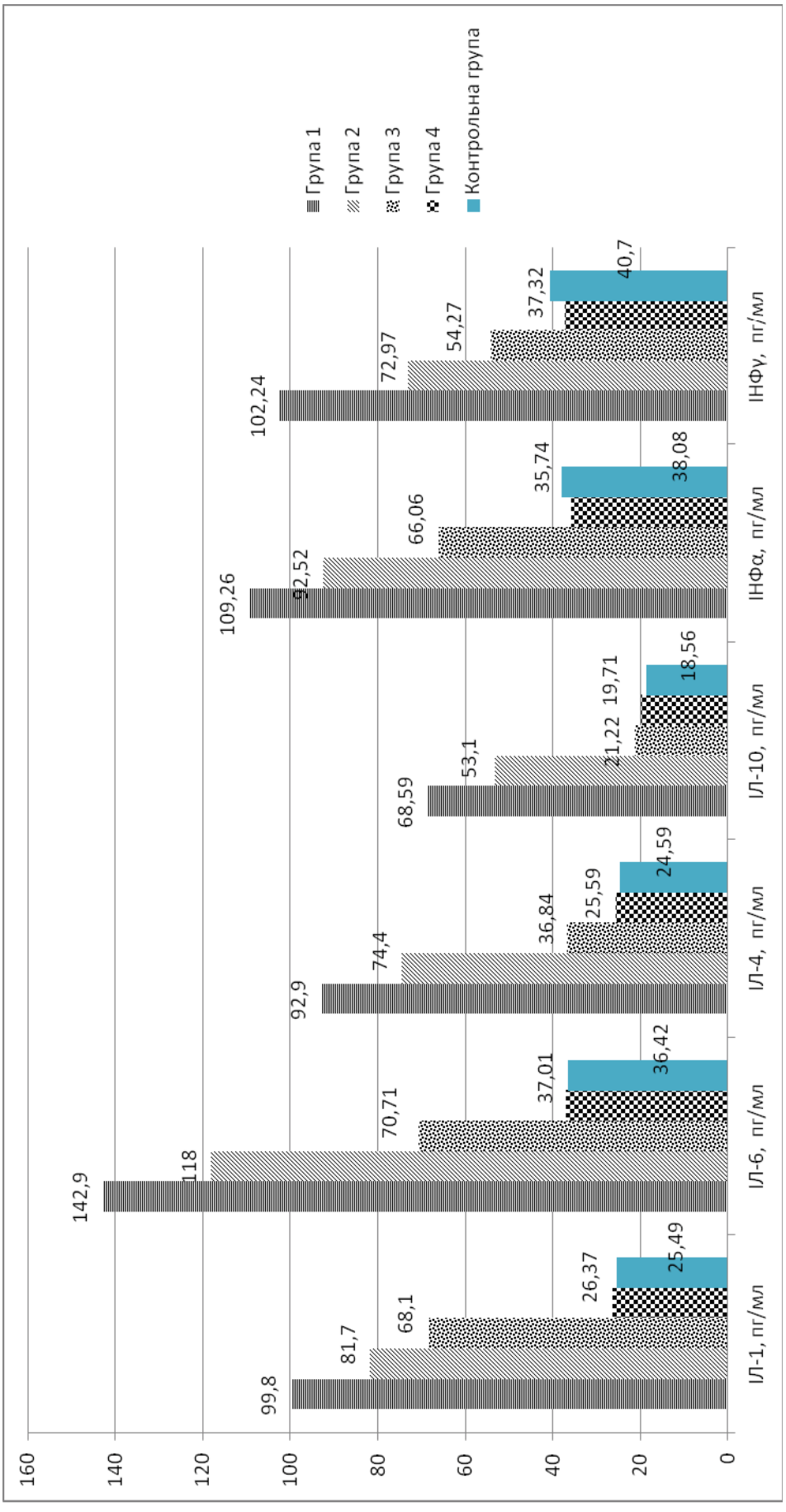

Рисунок 1. Цитокіновий профіль пацієнтів 1-4 груп у день надходження до стаціонару

Дослідження рівнів специфічних антитіл та авідності IgG у день надходження до стаціонару продемонструвало зниження їх рівнів по відношенню до осіб контрольної групи у всіх групах пацієнтів. У порівнянні з показниками осіб контрольної групи, у пацієнтів 1 групи рівень IgA був знижений у 1,13 разів, IgG – був знижений у 1,2 рази, авідність IgG була знижена в 1,09 разів; у пацієнтів 2 групи показники були знижені у 1,7; 1,28 та 1,17 разів, відповідно. У пацієнтів 3 групи рівень IgA був знижений у 2,42 рази, IgG – був знижений у 1,75 разів, авідність IgG була знижена в 1,37 разів; у пацієнтів 4 групи показники були знижені у 3,4; 1,98 та 1,76 разів, відповідно. Також у пацієнтів 1-4 груп була зареєстрована наявність Ig класу M, що були відсутніми у осіб контрольної групи (Рис. 2, 3).

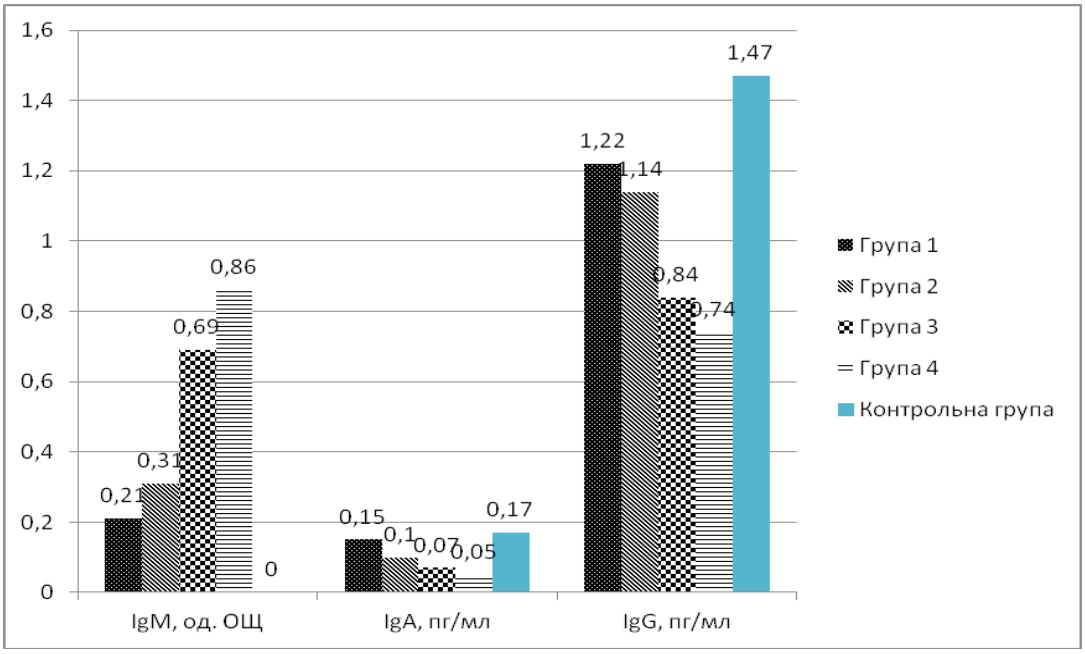

Рисунок 2. Рівні IgA, IgM, IgG у хворих 1-4 груп у день надходження до стаціонару

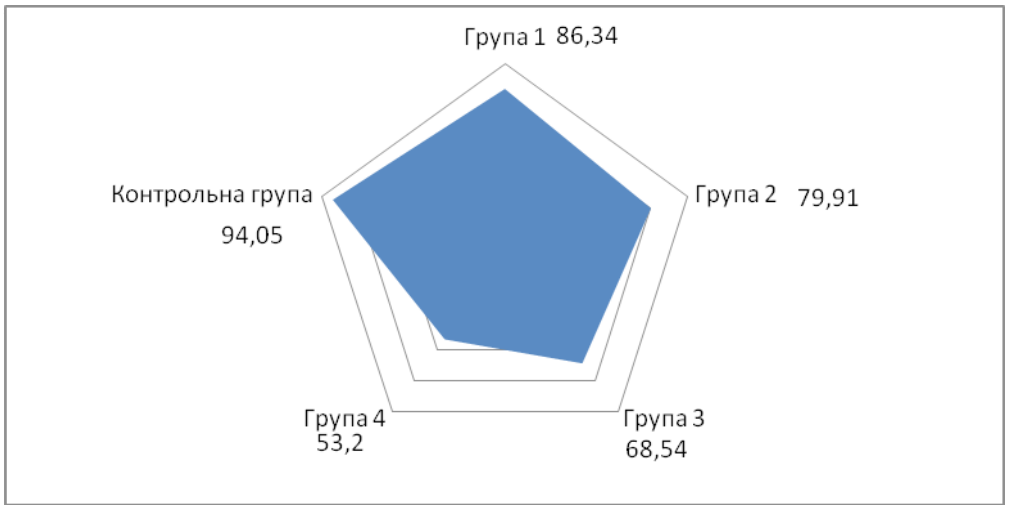

Рисунок 3. Авідність IgG у хворих 1-4 груп у день надходження до стаціонару

Аналіз даних, отриманих при вивченні рівню експресії Toll-like рецепторів 9 типу, продемонстрував наступні зміни: у пацієнтів 1 групи рівень експресії TLR9 був у 2,53 рази вищим, ніж у осіб контрольної групи; у пацієнтів 2 групи – у 1,96 разів вищим, ніж у осіб контрольної групи; у пацієнтів 3 групи – у 1,33 рази, а у пацієнтів 4 групи – у 1,35 разів нижчий, ніж у осіб контрольної групи (Табл. 1).

Таблиця 1

Рівні експресії TLR9, показники цитокінового профілю та специфічної імунної відповіді пацієнтів 1-4 груп у день надходження до стаціонару

Показник	Група 1 (n = 20)	Група 2 (n = 20)	Група 3 (n = 16)	Група 4 (n = 9)	Контрольна група (n = 20)
ТЛР9+ CD123+, %	2,13±0,34*	1,65±0,26*	0,73±0,07	0,62±0,04	0,84±0,02
ІНФα, пг/мл	109,26±6,74*	92,52±2,21*	66,06±3,54*	35,74±3,95	38,08±2,34
ІНФγ, пг/мл	102,24±4,41*	72,97±3,45*	54,27±2,66*	37,32±3,94	40,7±2,29
ІЛ-1, пг/мл	99,8±26,83*	81,7±9,87*	68,10±7,71*	26,37±2,33	25,49±1,88
ІЛ-6, пг/мл	142,9±21,05*	118,0±17,84*	70,71±7,54*	37,01±9,00	36,42±2,02
ІЛ-4, пг/мл	92,9±5,88*	74,4±7,04*	36,84±4,79*	25,59±4,92	24,59±2,02
ІЛ-10, пг/мл	68,59±6,02*	53,1±4,42*	21,22±2,24	19,71±2,73	18,56±1,66
IgM, од. ОЩ	0,21±0,06*	0,31±0,06*	0,69±0,09*	0,86±0,13*	0
IgA, пг/мл	0,15±0,06	0,1±0,02	0,07±0,02	0,05±0,01*	0,17±0,05
IgG, пг/мл	1,22±0,13	1,14±0,1	0,84±0,11*	0,74±0,10*	1,47±0,13
Авідність, %	86,34±1,16*	79,91±1,51*	68,54±1,59*	53,2±2,02*	94,05±0,47

** p<0,05 між показниками хворих та контрольної групи

Проведення кореляційного аналізу Пірсона, проведеного щодо показників в день надходження пацієнтів до стаціонару, продемонструвало наявність прямого кореляційного зв’язку між рівнем експресії TLR9 та рівнем у сироватці крові інтерферону альфа, інтерферону гамма та прозапальних цитокінів (ІЛ-1 та ІЛ-6). У відношенні протизапальних цитокінів – інтерлейкінів 4 та 10 – встановлено зворотній кореляційний зв’язок.

У відношенні ІНФ альфа у всіх досліджуваних групах виявлено прямий високий кореляційний зв’язок, коефіцієнт кореляції (r) становив у 1 групі +0,80; у 2 групі +0,79; у 3 групі +0,77 та в 4 групі +0,74; залежність ознак в усіх групах була статистично значущою (p<0,05). Кореляційний зв’язок між показниками рівню експресії TLR9 та рівнем ІНФγ коливався від слабкого до помітного та становив у 1 групі +0,23 (слабкий), у 2 групі +0,65 (помітний); у 3 групі +0,54 (помітний); у 4 групі +0,42 (помірний); залежність ознак в усіх групах статистично значуща (p<0,05). Визначення кореляційного зв’язку між рівнем експресії TLR9 та рівнем ІЛ-1 встановило прямий кореляційний зв’язок між показниками, при чому у пацієнтів 1-3 групи залежність ознак була статистично значущою, а у пацієнтів 4 групи – статистично незначущою (p>0,05); коефіцієнт кореляції між TLR9 та ІЛ-1 у пацієнтів 1-4 груп становив, відповідно, +0,79; +0,49; +0,53 та +0,65. Кореляційний зв’язок між рівнем експресії TLR9 та рівнем у сироватці крові інтерлейкіну-6 коливався від вельми високого (у пацієнтів 1 та 4 груп) до високого (у пацієнтів 2 та 3 груп). Показники коефіцієнту кореляції у відношенні рівня ІЛ-6 становили: 1 група +0,95; 2 група +0,79; 3 група + 0,81; 4 група +0,93.

У відношенні протизапальних цитокінів – інтерлейкіну 4 та 10 – встановлено негативний кореляційний зв’язок з рівнем експресії TLR9. Статистична значущість залежності між показниками, що вивчалися в усіх групах по відношенню до усіх показників, була відсутньою (p>0,05), а сила зв’язку коливалась від слабкої (-0,3) до високої (-0,76).

ОБГОВОРЕННЯ

Вивчення цитокінового профілю хворих на кір виявило три типи цитокінового реагування на інфекційний процес: нормореактивний, дисоціативний та гіпореактивний. Нормореактивний тип цитокінового реагування був притаманний пацієнтам 1 та 2 груп, у яких захворювання мало середньотяжкий перебіг та характеризувалось статистично значущим (p≤0,05) підвищенням рівнів про- та протизапальних цитокінів та інтерферонів у порівнянні з особами контрольної групи. У пацієнтів 3 групи, у яких захворювання мало тяжкий перебіг та не супроводжувалось розвитком ускладнень, виявлено дисоціативний тип цитокінового реагування, який характеризувався значущим підвищенням рівнів прозапальних цитокінів та низьким рівнем протизапальних цитокінів, та ІНФα та ІНФγ. Пацієнти 4 групи, у яких захворювання мало тяжкий перебіг та супроводжувалося роз-

витком пневмонії, мали гіпореактивний тип цитокінового реагування, який характеризувався низькими рівнями про- та протизапальних цитокінів, концентрації яких були дещо вищими за рівень осіб контрольної групи, та інтерферонів, рівні яких були нижчими за показники контрольної групи. В день надходження до стаціонару рівні про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові були підвищеними у всіх групах пацієнтів у порівнянні з особами контрольної групи. Не дивлячись на значні досягнення у розумінні особливостей продукціїї цитокінів імунокомпетентними клітинами у відповідь на різноманітні вірусні патогени, характер реакції цитокінової мережі при коровій інфекції різних ступенів тяжкості у сучасній літературі висвітлено недостатньо.

Дослідження рівнів специфічних антитіл та авідності IgG у день надходження до стаціонару продемонструвало зниження їх рівнів по відношенню до осіб контрольної групи у всіх групах пацієнтів, при чому найбільш низькі показники було зареєстровано у пацієнтів 4 групи, що мали тяжкий перебіг захворювання та розвиток пневмонії. Та навпаки, більш легкий та сприятливий перебіг захворювання спостерігався у пацієнтів, що на початку захворювання мали більш низькі рівні вірус-специфічних імуноглобулінів класу М – 1 та 2 групи, а більш тяжкий – у пацієнтів 3 та 4 групи, що на початку захворювання мали значне підвищення рівнів цих імуноглобулінів. Дослідження рівнів вірус-специфічних IgA продемонструвало, що захворювання з більш тяжким перебігом розвивається на фоні значного зниження рівнів його показників, у той час як захворювання із середньотяжким перебігом супроводжується незначними змінами показника. А.П. Топтигіна та співавтори [10] у своєму дослідженні продемонстрували, що в групі пацієнтів з гострими проявами корової інфекції, які не були вакциновані проти кору, спостерігаються високі рівні вірус-специфічних IgM та підвищення концентрації низькоавідних IgG; у зразках крові групи пацієнтів з гострими проявами захворювання, що раніше були вакциновані проти кору, виявлялися незначна концентрація IgM, специфічних до вірусу кору, високі рівні вірус-специфічних IgA та високоавідних IgG. Автори вважають, що люди, які впродовж життя втратили захисний рівень антитіл, можуть захворіти корoм, проте хвороба в них має нетяжкий або навіть атиповий перебіг, оскільки в організмі таких пацієнтів зберігаються Т- та В-клітини пам’яті, що мають змогу швидко відреагувати на проникнення вірусу та зупинити його дисемінацію. Пацієнти, що були вакциновані, але не сформували імунної відповіді, або ж ті, що не були вакциновані взагалі, скоріш за все, будуть мати тяжкий перебіг захворювання.

Проведене нами дослідження виявило, що в пацієнтів 1 та 2 груп, що мали нормореактивний тип цитокінового реагування та достовірно вищі рівні IgA та IgG, рівень експресії TLR9 на мононуклеарах переферійної крові був вищим, ніж у осіб контрольної групи; у пацієнтів 1 групи рівень експресії TLR9 був у 2,53 рази, а у пацієнтів 2 групи – у 1,96 разів вищим, ніж у осіб контрольної групи. У пацієнтів 3 групи, що мали дисоціативний тип цитокінового реагування та більш значне, у порівнянні з пацієнтами 1 та 2 груп, зниження рівнів IgA та IgG, рівень експресії TLR9 був у 1,33 рази нижчий, ніж у осіб контрольної групи. У пацієнтів 4 групи, що мали гіпореактивний тип цитокінового реагування та статистично значуще зниження рівнів IgA та IgG, рівень експресії TLR9 був найнижчим; у пацієнтів цієї групи показник експресії TLR9 був у 1,35 разів нижчий, ніж у осіб контрольної групи.

Звертає на себе увагу той факт, що серед пацієнтів з нормореактивним типом цитокінового реагування у пацієнтів 2 групи, у яких захворювання мало середньотяжкий перебіг, але супроводжувалось розвитком пневмонії, підвищення рівню експресії TLR9 було менш значним, у порівнянні з пацієнтами 1 групи, що ускладнень не мали. Також звертає на себе увагу значне зниження рівню експресії TLR9 у пацієнтів 4 групи, що мали тяжкий перебіг захворювання з розвитком позагоспітальної пневмонії.

Враховуючи отримані дані, можна зробити висновок про важливе значення активної експресії рецепторів розпізнавання образів, зокрема Toll-like рецепторів 9 типу, у розвитку активної імунної відповіді, спрямованої на елімінацію патогену, а також як у тяжкості перебігу захворювання, так і при розвитку ускладнень.

Вчасна та значна активація експресії Toll-like рецепторів 9 типу є запорукою адекватної та доцільної стимуляції імунної відповіді організма-хазяїна на проникнення патогену. Зниження активності експресії TLR9 може розглядатися як передумова порушення цитокінового реагування на проникнення вірусу кору, а також розвитку бактеріальних ускладнень вірусних інфекцій, що супроводжуються імуносупресією.

ВИСНОВКИ

Тяжкість перебігу корової інфекції асоціюється з рівнем експресії Toll-like рецепторів 9 типу.

Рівень експресії TLR9 знаходиться у прямому кореляційному зв’язку з активністю продукції прозапальних цитокінів, інтерферонів альфа та гамма і може розглядатися як фактор, що впливає на стан імунної відповіді на корову інфекцію.

Зниження активності експресії TLR9 на мононуклеарах може розглядатися як фактор тяж-

кості перебігу корової інфекції і її ускладнень, ризику розвитку бактеріальної пневмонії.

Дослідження порушення активності експресії TLR9 на імунокомпетентних клітинах периферійної крові може використовуватися для більш глибокого розуміння порушень імунної системи у пацієнтів із вірусними захворюваннями у якості предиктору та можливого фактора тяжкого перебігу захворювання та розвитку ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kumar V. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. Int immunopharmacology, Vol. 59 (2018): 391-412, doi: 10.1016/j.intimp.2018.03.002
2. Lester S., Li K. Yoll-loke receptors in antiviral immunity. J.Mol.Biol 2014, 426(6): 1246–1264, doi: 10.1016/j.jmb.2013.11.024
3. Combes, A., Camosseto, V., N’Guessan, P. et al. BAD-LAMP controls TLR9 trafficking and signalling in human plasmacytoid dendritic cells. Nat Commun 8, 913 (2017). https://doi.org/10.1038/s41467-017-00695-1
4. Sasai M, Linehan MM, Iwasaki A. Bifurcation of Toll like receptor 9 signaling by adaptor protein 3. Science. 2010;329:1530 1534. doi: 10.1126/science.1187029
5. Barbara Albiger, Sofia Dahlberg, Andreas Sandgren et all, Toll-like receptor 9 acts at an early stage in host defence against pnumococcal infection. Cell. Microbiol, 2007 Mar; 9(3):633-44. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00814.x
6. Bhan U, Lukacs NW, Osterholzer JJ, Newstead MW, Zeng X, Moore TA, McMillan TR, Krieg AM, Akira S, Standiford TJ. TLR9 is required for protective innate immunity in Gram-negative bacterial pneumonia: role of dendritic cells. J Immunol. 2007;179:3937–3946. doi: 10.4049/jimmunol.179.6.3937
7. Bhan U, Trujillo G, Lyn-Kew K, Newstead MW, Zeng X, Hogaboam CM, Krieg AM, Standiford TJ. Toll-like receptor 9 regulates the lung macrophage phenotype and host immunity in murine pneumonia caused by Legionella pneumophila. Infect Immun. 2008;76:2895–2904. doi: 10.1128/IAI.01489-07
8. Dane Parker, Alice Prince. Staphylococcus aureus induces type 1 interferon signaling in dendritic cells via TLR9. J Immunol. 2012 Oct 15; 189(8): 4040–4046. doi: 10.4049/jimmunol.1201055
9. Веклич К.А., Попов М.М., Лядова Т.І., Сорокіна О.Г. Аутоімунні маркери при коровій інфекції різного ступіня тяжкості. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2020. Том 20, випуск 4 (72). с.11-16. doi 10.31718/2077-1096.20.4.11 . Veklych KA, Popov MM, Liadova TI, Sorokina OG autoimmune markers in measles infection of varying severity. Current problems of modern medicine. 2020. Volume 20, issue 4 (72). p. 11-16. doi 10.31718/2077-1096.20.4.11
10. Топтыгина А.П., Мамаева Т.А., Алешкин В.А., Особенности специфического гуморального иммунного ответа против вируса кори. Инфекция и иммунитет. 2013. Том 3, №3. с. 243-250. https://doi.org/10.15789/2220-7619-2013-3-243-250 .
11. Toptygina AP, Mamaeva TA, Aleshkin VA, Features of a specific humoral immune response against the measles virus. Infection and immunity. 2013. Volume 3, №3. p.243-250. https://doi.org/10.15789/2220-7619-2013-3-243-250.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРІВ 9 ТИПУ НА ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИНАХ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З КОРОВОЮ ІНФЕКЦІЄЮ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ

Веклич К.А., Попов М.М., Лядова Т.І., Мартиненко О.В., Сорокіна О.Г.

Харківський національний університет імені. В.Н.Каразіна, Харків

Мета дослідження: визначення рівню експресії Toll-like рецепторів 9 типу на лімфоцитах та моноцитах периферійної крові у пацієнтів з кором різного ступеня тяжкості як з ускладненнями, так і без них.

Матеріали та методи. У дослідження було включено 65 пацієнтів з діагнозом «кір», що знаходились на лікуванні у КЗОЗ КНП ХОР ОКІЛ в період з 2017 до 2019 роки. В залежності від тяжкості перебігу захворювання та наявності ускладнень пацієнти, залучені у дослідження, були розділені на 4 групи. Контрольну групу склали 20 добровільних донорів, що на момент відбору зразків крові не мали критеріїв виключення.

Усім пацієнтам у день надходження до стаціонару проводилось визначення у суспензії лейкоцитів рівню експресії Toll-like рецепторів 9 типу, концентрації у сироватці крові про- та протизапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4, ІЛ-10) та інтерферонів альфа і гамма, а також визначення рівня у сироватці крові вірусспецифічних імуноглобулінів класів М, А та G з рівнем авідності останніх. На підставі отриманих даних було проведено кореляційний аналіз між показниками рівню експресії Toll-like рецепторів та рівнями продукції вказаних показників.

Результати. Проведена робота дозволила виявити серед пацієнтів з кором три типи цитокінового реагування – нормореактивний, дисоціативний та гіпореактивний, кожен з яких характеризується різним характером реакції цитокінової мережі на корову інфекцію та має прямий зв’зок з тяжкістю перебігу захворювання та ризиком розвитку ускладнень.

Встановлено, що корова інфекція у дорослого населення розвивається на фоні низьких титрів специфічних антитіл і їх низької авідності, а тяжкий перебіг захворювання в певній мірі обумовлюється реакцією імунної системи за первинним типом, що підтверджується високими рівнями специфічних IgM на початку захворювання.

Аналіз даних, отриманих при вивченні рівню експресії Toll-like рецепторів 9 типу, продемонстрував, що в пацієнтів 1 та 2 груп, що мали нормореактивний тип цитокінового реагування та достовірно вищі рівні IgA та IgG, рівень експресії TLR9 на мононуклеарах периферійної крові був вищим, ніж у осіб контрольної групи. У пацієнтів 3 групи, що мали дисоціативний тип цитокінового реагування та більш значне, у порівнянні з пацієнтами 1 та 2 груп, зниження рівнів IgA та IgG, рівень експресії TLR9 був у 1,33 рази нижчий, ніж у осіб контрольної групи. У пацієнтів 4 групи, що мали гіпореактивний тип цитокінового реагування та статистично значуще зниження рівнів IgA та IgG, рівень експресії TLR9 був найнижчим; у пацієнтів цієї групи показник експресії TLR9 був у 1,35 рази нижчий, ніж у осіб контрольної групи

Проведення кореляційного аналізу Пірсона, проведеного щодо показників в день надходження пацієнтів до стаціонару, продемонструвало наявність прямого кореляційного зв’язку між рівнем експресії TLR9 та рівнем у сироватці крові інтерферону альфа, інтерферону гамма та прозапальних цитокінів (ІЛ-1 та ІЛ-6). У відношенні протизапальних цитокінів – інтерлейкінів 4 та 10 – встановлено зворотній кореляційний зв’язок.

Висновки. Тяжкість перебігу корової інфекції асоціюється з рівнем експресії Toll-like рецепторів 9 типу.

Рівень експресії TLR9 знаходиться у прямому кореляційному зв’язку з активністю продукції прозапальних цитокінів, інтерферонів альфа та гамма і може розглядатися як фактор, що впливає на стан імунної відповіді на корову інфекцію.

Зниження активності експресії TLR9 на мононуклеарах може розглядатися як фактор тяжкості перебігу корової інфекції і її ускладнень, ризику розвитку бактеріальної пневмонії.

Дослідження порушення активності експресії TLR9 на імунокомпетентних клітинах переферійної крові може використовуватися для більш глибокого розуміння порушень імунної системи у пацієнтів із вірусними захворюваннями у якості предиктора та можливого фактора тяжкого перебігу захворювання та розвитку ускладнень.

Ключові слова: кір, Toll-like рецептори, інтерферон, цитокіни, імуноглобуліни.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ 9 ТИПА НА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФИРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С КОРЕВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Веклич К.А., Попов Н.Н., Лядова Т.И., Мартыненко А.В., Сорокина О.Г.

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина

Цель исследования: определение уровня экспрессии Toll-like рецептора 9 типа на мононуклеарах периферической крови у пациентов с коревой инфекцией различной степени тяжести, как с осложнениями, так и без них.

Материалы и методы. В исследование было включено 65 пациентов с диагнозом «корь», находившихся на стационарном лечении в КПЗО КНП ХОС ОКИБ в период с 2017 по 2019 гг. В зависимости от степени тяжести заболевания и наличия осложнений, пациенты были разделены на 4 группы. Контрольную группу составляли 20 добровольных доноров, которые на момент отбора образцов крови не имели критериев исключения.

Всем пациентам в день поступления в стационар проводилось определение в суспензии лейкоцитов уровня экспрессии Toll-like рецепторов 9 типа, концентрация в сыворотке крови про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10) и интерферонов альфа и гамма, а также определение в сыворотке крови уровня вирус-специфических иммуноглобулинов классов М, А и G с определением уровня авидности последних. На основании полученных данных проводился корреляционный анализ между показателями уровня экспресии Toll-like рецепторов 9 и уровнями продукции указанных показателей.

Результаты. Проведенная работа позволила выявить среди пациентов с корью три типа цитокинового реагирования – нормореактивный, диссоциативный и гипореактивный, каждый из которых характеризуется различным характером реагирования цитокиновой сети на коревую инфекцию и имеет прямую связь с тяжестью течения заболевания и риском развития осложнений.

Установлено, что коревая инфекция у взрослого населения развивается на фоне низких титров специфичных антител и низкой их авидности, а тяжелое течение заболевания в некоторой степени обуславливается реакцией иммунной системы по первичному типу, что подтверждается высокими уровнями специфических IgM в начале заболевания.

Анализ данных, полученных при изучении уровня Toll-like рецепторов 9 типа, показал, что у пациентов 1 и 2 групп, которые имели нормореактивный тип цитокинового реагирования и достоверно более высокие уровни IgA и IgG, уровень экспрессии TLR9 на мононуклеарах периферической крови был выше, чем у лиц контрольной группы. У пациентов 3 группы, которые имели диссоциативный тип иммунного реагирования и более значительное, по сравнению

с пациентами 1 и 2 групп, снижение уровней IgA и IgG, уровень экспрессии TLR9 был в 1,33 раза ниже, чем у лиц контрольной группы. У пациентов 4 группы, которые имели гипореактивный характер цитокинового реагирования и статистически значимое снижение уровней IgA и IgG, уровень экспрессии TLR9 был самым низким; у пациентов этой группы показатель экспрессии TLR9 был в 1,35 раз ниже, чем у лиц контрольной группы.

Корреляционный анализ Пирсона, проведенный в отношении показателей в день поступления пациентов в стационар, продемонстрировал наличие прямой корреляционной связи между уровнем экспрессии TLR9 и уровнем в сыворотке крови интерферона альфа и гамма, и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6). В отношении противовоспалительных цитокинов – ИЛ-4 и ИЛ-10 – установлена обратная корреляционная связь.

Выводы. Тяжесть течения коревой инфекции ассоциируется с уровнем экспресии Toll-like рецепторов 9 типа.

Уровень экспресии TLR9 находится в прямой корреляционной связи с активностью продукции провоспалительных цитокинов, интерферонов альфа и гамма и может рассматриваться как фактор, влияющий на состояние иммунного ответа на коревую инфекцию.

Снижение активности экспрессии TLR9 на мононуклеарах может рассматриваться как фактор тяжести течения коревой инфекции и ее осложнений, риска развития бактериальной пневмонии.

Исследования нарушений активности экспресии TLR9 на иммунокомпетентных клетках периферической крови может использоваться для более глубокого понимания нарушений иммунной системы у пациентов с вирусными заболеваниями в качестве предиктора и возможного фактора тяжелого течения заболевания и развития осложнений.

Ключевые слова: корь, Toll-like рецепторы, интерферон, цитокины, иммуноглобулины.

SUMMARY

FEATURES OF THE EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTORS TYPE 9 ON IMMUNOCOMPETENT PERIPHERAL BLOOD CELLS OF PATIENTS WITH MEASLES INFECTION OF VARYING SEVERITY

Veklych K., Popov M., Liadova T., Martynenko A., Sorokina O.

V. N. Karazin Kharkiv National University

Aim of the study: to determine the level of Toll-like receptor type 9 expression on peripheral blood mononuclears in patients with measles infection of varying severity, both with and without complications.

Materials and methods. The study included 65 patients with a diagnosis of measles who were on inpatient treatment in the Kharkiv region infectious hospital in the period from 2017 to 2019 years. Depending on the severity of the disease and the presence of complications the patients were divided into 4 groups. The control group consisted of 20 voluntary donors who did not have the exclusion criteria at the time of blood sampling.

All patients on the day of admission to the hospital underwent assessment of the level of Toll-like receptors type 9 expression in the white blood cell suspension, the concentration in the blood serum of pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, IL-4, IL-10) and interferons alpha and gamma, as well as the determination in the blood serum of the level of virus-specific immunoglobulins of M, A and G classes with the determination of the level of avidity of the latter. Based on the obtained data a correlation analysis between the indicators of the level of Toll-like receptors type 9 expression and the levels of production of mentioned indices was performed.

Results. The study revealed three types of cytokine response among patients with measles – normoreactive, dissociative, and hyporeactive, each of which is characterized by a different nature of the cytokine network response to measles infection and has a direct relationship with the severity of the disease and the risk of complications.

It was found that measles infection in the adult population develops against the background of low titers of specific antibodies and their low avidity, and the severe course of the disease is to some extent caused by the reaction of the immune system according to the primary type, which is confirmed by high levels of specific IgM at the beginning of the disease.

Analysis of the data obtained when studying the level of Toll-like receptors type 9 showed that in patients of groups 1 and 2, who had a normoreactive type of cytokine response and significantly higher levels of IgA and IgG, the level of TLR9 expression on peripheral blood mononuclears was higher than in the control group. In patients of group 3, who had a dissociative type of immune response and a more significant decrease in IgA and IgG levels compared to patients of groups 1 and 2, the level of TLR9 expression was 1.33 times lower than in the control group. In group 4 patients who had a hyporeactive cytokine response and a statistically significant decrease in IgA and IgG levels, the level of TLR9 expression was the lowest; in patients of this group, the TLR9 expression index was 1.35 times lower than in the control group.

Pearson’s correlation analysis of the indices on the day of admission to the hospital showed a direct correlation between the level of TLR9 expression and the level of interferon alpha and gamma in the blood serum, as well as level of proinflammatory cytokines (IL-1, IL-6). An inverse correlation was established with respect to anti-inflammatory cytokines-IL-4 and IL-10.

Conclusions. The severity of measles infection is associated with the level of Toll-like receptors type 9 expression.

The level of TLR9 expression is directly correlated with the activity of proinflammatory cytokines, interferons alpha and gamma production and can be considered as a factor affecting the state of the immune response to measles infection.

A decrease in the activity of TLR9 expression on mononuclears can be considered as a factor of the severity of the course of measles infection and its complications, and the risk of bacterial pneumonia.

Studies of violations of TLR9 expression activity on immunocompetent peripheral blood cells can be used to better understand the immune system disorders in patients with viral diseases as a predictor and possible factor of severe disease and the development of complications.

Key words: measles, Toll-like receptors, interferon, cytokines, immunoglobulins.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Веклич Ксенія Артемівна**
  асистент кафедри загальної та клінічної імунології та алергології,
  Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна.
  м.Харків, Україна
  тел.: (057) 707-54-50
  E-mail: kseniia_veklych@ukr.net

- **Веклич Ксения Артемовна**
  ассистент кафедры общей и клинической иммунологии и аллергологии,
  Харковський национальный университет имени В.Н.Каразина.
  г.Харьков, Украина
  тел.: (057) 707-54-50
  E-mail: kseniia_veklych@ukr.net

- **Veklich Kseniia**
  Assistant of Department of General and Clinical Immunology and Allergology,
  V.N. Karazin Kharkiv National University
  Kharkiv, Ukraine
  tel.: (057) 707-54-50
  E-mail: kseniia_veklych@ukr.net

- **Попов Микола Миколайович**
  доктор медичних наук, професор кафедри клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна.
  м.Харків, Україна
  тел.: (057) 707-54-50
  E-mail: m.popov@karazin.ua

- **Попов Николай Николаевич**
  доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической иммунологии и аллергологии,
  Харковський национальный университет имени В.Н.Каразина.
  г.Харьков, Украина
  тел.: (057) 707-54-50
  E-mail: m.popov@karazin.ua

- **Popov Mykola**
  Doctor of Medicine, Professor of Department of General and Clinical Immunology and Allergology,
  V.N. Karazin Kharkiv National University
  Kharkiv, Ukraine
  tel.: (057) 707-54-50
  E-mail: m.popov@karazin.ua

- **Лядова Тетяна Іванівна**
  доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри клінічної імунології та алергології,
  Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна.
  м.Харків, Україна
  тел.: (057) 707-54-50
  E-mail: t.liadova@karazin.ua

- **Лядова Татьяна Ивановна**
  доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической иммунологии и аллергологии,
  Харковський национальный университет имени В.Н.Каразина.
  г.Харьков, Украина
  тел.: (057) 707-54-50
  E-mail: t.liadova@karazin.ua

- **Liadova Tetiana**
  Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology,
  V.N. Karazin Kharkiv National University,
  Kharkiv, Ukraine
  tel.: (057) 707-54-50
  E-mail: t.liadova@karazin.ua

- **Мартиненко Олександр Віталійович**
  доктор фізико-математичних наук, професор кафедри гігієни и соціальної медицини,
  Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна.
  м.Харків, Україна
  тел.: (057) 702-04-55
  E-mail: alexander.v.martynenko@karazin.ua

- **Мартыненко Александр Витальевич**
  доктор физико-математических наук, профессор кафедры гигиены и социальной медицины, Харковський национальный университет имени В.Н.Каразина.
  г.Харьков, Украина
  тел.: (057) 702-04-55
  E-mail: alexander.v.martynenko@karazin.ua

- **Martynenko Oleksander**
  Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Professor of Department of Hygiene and Social Medicine
  V.N. Karazin Kharkiv National University,
  Kharkiv, Ukraine
  tel.: (057) 702-04-55
  E-mail: alexander.v.martynenko@karazin.ua

- **Сорокіна Ольга Георгіївна**
  кандидат медичних наук, доцент кафедри загальної та клінічної імунології та алергології,
  Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна.
  м.Харків, Україна
  тел.: (066) 263 48 84
  E-mail: olga-sorokina@ukr.net

- **Сорокина Ольга Георгиевна**
  кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической иммунологии и аллергологии,
  Харковський национальный университет имени В.Н.Каразина.
  г.Харьков, Украина
  тел.: (066) 263 48 84
  E-mail: olga-sorokina@ukr.net

- **Sorokina Olga**
  Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Department of General and Clinical Immunology and Allergology,
  V.N. Karazin Kharkiv National University.
  Kharkiv, Ukraine
  tel.: (066) 263 48 84
  E-mail: olga-sorokina@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 27.03.2021 р.

© Дріянська В.Е., Дудар І.О., Шіфріс І.М., Савченко В.С., Калініна Н.А., Холод В.В., 2021
doi:10.37321/immunology.2021.1-2-05
УДК 616.61-036.1-002.2-06:616.381-089.819

ОСОБЛИВОСТІ СИРОВАТКОВИХ РІВНІВ ІЛ-10 У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ДІАЛІЗНИХ МЕТОДІВ

ДРІЯНСЬКА В.Е., ДУДАР І.О., ШІФРІС І.М., САВЧЕНКО В.С., КАЛІНІНА Н.А., ХОЛОД В.В.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ, Україна

Існує ряд регуляторних механізмів, що забезпечують тонкий баланс між ефективною імунною відповіддю і патогенезом та перебігом патології. Один із таких механізмів обумовлений протизапальним інтерлейкіном-10 (ІЛ-10), який є членом сімейства цитокінів, що включає також ІЛ-19 -22, -24, -26, - 28A, -28B і -29. Всі цитокіни цього сімейства мають схожі риси геномної організації, зв’язуються з подібними рецепторами та активуються шляхом JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) [4, 5].

Участь ІЛ-10 у багатьох патологічних станах продемонстрована як на моделях тварин, так і на людях з мутаціями в ІЛ-10/ІЛ-10R [6]. Однак, незважаючи на значний прогрес в біології ІЛ-10, все ще існує безліч невирішених питань. Основні його функції протизапальні та інгібуючі, він є регулятором негативного зворотного зв’язку, який впливає на запалення через аутокринні і паракринні механізми [6, 25].

Цей імуносупресивний ефект є широким і проявляється як на клітинному, так і на гуморальному рівнях, хоча є два домінуючих напрямки, за допомогою яких ІЛ-10 обмежує потенційно руйнівні запальні реакції: 1) інгібування презентації антигену дендритними клітинами і 2) інгібування активації і інфільтрації макрофагів з вторинним ефектом ослаблення експресії прозапальних цитокінів. [7]. Вважається, що на клітинному рівні ІЛ-10 діє як посттранскрипційний регуляторний агент для пригнічення білка, стабілізуючого інформаційну РНК (мРНК) HuR (людського антигену R), сприяючи специфічній дестабілізації мРНК запальних цитокінів. Вважається, що IL-10 інгібує апоптотичні сигнальні шляхи, а саме – p38 MAPK (мітоген-активована протеїнкіназа), через STAT3 (сигнальний перетворювач і активатор транскрипції 3) залежну передачу сигналів, тим самим обмежуючи загибель тканин і дисфункцію органів після травми. [14].

ІЛ-10 грає важливу регулюючу роль у здоров’ї і гомеостазі як на місцевому, так і на системному рівнях, він є складним багатофункціональним цитокіном, який безпосередньо бере участь у фіброзній реакції на пошкодження [27], що при подальших дослідженнях може дати більш точну картину його ефектів, специфічних для клітин і навколишніх умов, а також дозволить визначити його терапевтичний потенціал, в тому числі у хворих на ХХН.

Важливе значення мають отримані дані щодо ролі ІЛ-10 та його взаємодій з прозапальною ланкою імунітету у разі різних патологій, в тому числі ниркових та коморбідних захворювань у пацієнтів з ХХН [2, 10, 13, 21].

Останнім часом значна увага приділяється імунним механізмам в розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН). ХНН характеризується прогресуючим фіброзом клубочків і втратою функції нефрону внаслідок гломерулярного склерозу і атрофії канальців, незалежно від етіології захворювань нирок.

ХНН розвивається в результаті хронічних гломерулонефриту (ХГН) та пієлонефриту, діабетичного гломерулосклерозу та інших захворювань, які вражають нирки [18]. ХГН – прогресуюче запальне захворювання нирок, характеризується незворотним і прогресуючим клубочковим і тубулоінтерстиціальним фіброзом [3, 17]. Механізми, за допомогою яких запальний процес призводить до погіршення ниркової функції, до кінця не з’ясовані. Відомо, що імунозапальні медіатори модулюють ендотеліальну функцію, адгезію та інтерстиціальну міграцію циркулюючих імунних клітин (моноцитів, лейкоцитів або нейтрофілів) [28]. ІЛ-10 може сприяти відкладенню імунних комплексів в мезангії, тим самим сприяє прогресуванню пошкодження клубочків [11, 23].

Імунологічні порушення, які запускають реакції цитокінового каскаду, сприяють етіології та патогенезу ХНН. На тлі цього, ІЛ-10 грає важливу роль в регуляції і підтримці нормальної функції нирок, а також при гострому ураженні нирок і в прогресуванні ХХН. У нирках ІЛ-10 секретується, головним чином, мезангіальними і ендотеліальними клітинами. Мезангіальні клітини є основним локальним джерелом ІЛ-10 в нормальній нирці.

Корисні властивості ІЛ-10 були ідентифіковані при множинних гетерогенних патологіях нирок, а також негативно впливали на ураження клубочків [8, 11]. Mu et al. повідомили, що ІЛ-10 знижує фіброз на щурячій моделі хронічного захворювання нирок (CKD), що пояснюють його імуносупресивною функцією [17]. Продемон-

стровано серйозне пошкодження канальців з посиленням запалення і відкладення колагену у мишей з дефіцитом ІЛ-10, у них також підвищена регуляція профібротичного маркеру – -SMA [9, 12]. ІЛ-10 впливає на шляхи передачі сигналів профіброзу, які є унікальними для нирок – ІЛ-10 вивільняється мезенхімальними стромальними клітинами, пригнічує передачу сигналів RAAS і, таким чином, зменшує рубцювання канальців після односторонньої обструкції сечоводу (UUO) [9]. Молекулярний механізм цього полягає в зниженні мРНК запальних цитокінів через пригнічення транскрипції HuR. Введення екзогенного ІЛ-10 після UUO послаблює тубулоінтерстиціальний фіброз аналогічно ефектам ІЛ-10, які спостерігаються в шкірі [25].

У хворих з хронічною нирковою недостатністю на початкових етапах її розвитку продукція ІЛ-10 вище, ніж в групі здорових осіб, але дані щодо цього цитокіну у діалізних хворих не співпадають у різних авторів [24]. Якщо після пересадки нирки в післяопераційному періоді рівень ІЛ-10 виявляється низьким, це є фактором розвитку реакції відторгнення, а при його високій продукції відзначається толерантність до трансплантату. У хворих з кризом відторгнення часто спостерігається зниження здатності лімфоцитів продукувати ІЛ-10 [16].

Гемотрансфузії, які актуальні для хворих на ХХН, збільшують продукцію ІЛ-10. При лікуванні гепатиту С (який часто супроводжує діалізних хворих) інтерфероном високий рівень ІЛ-10, поряд з низьким вихідним рівнем ГГТ (гама-глютаматтранспептідази) і нормальним рівнем заліза, розглядають як один з основних критеріїв сприятливого терапевтичного прогнозу. Низькі рівні цього інтерлейкіна асоціюють з метаболічним синдромом у пацієнтів [22, 25].

Протизапальні цитокіни, які відіграють істотну роль в підтримці балансу про- і протизапальних факторів, впливають на перебіг ішемічної хвороби серця і її ускладнень як найбільш частої коморбідної патології у хворих на ХХН VД, тому що ІЛ-10 є одним з основних інгібіторів синтезу прозапальних цитокінів макрофагами, що гальмує надмірний ріст ендотелію.

З огляду на широкий спектр протизапальних властивостей ІЛ-10, терапевтичні маніпуляції з цим цитокіном викликали великий інтерес [15, 19, 20]. Введення ІЛ-10 в різних моделях коліту у тварин довело свою ефективність; були зроблені зусилля по розробці стратегій для специфічної доставки ІЛ-10, і цікавим підходом була розробка бактерій, сконструйованих для транспортування протизапального цитокіну в кишківник [22].

Терапевтичні маніпуляції з ІЛ-10 були передбачені в контексті кількох інших патологій. І при ревматоїдному артриті, і при псоріазі введення ІЛ-10 дало деякі багатообіцяючі результати на доклінічному та клінічному рівнях [22]. При алергічній астмі, коли патологічні реакції на алергени розвиваються через порушення імунної толерантності, успішні терапевтичні стратегії пов'язані з підвищенням рівня ІЛ-10. Важка стероїдорезистентна астма асоціюється з нездатністю клітин пацієнта підвищувати рівень ІЛ-10 у відповідь на дексаметазон [29].

Протилежна стратегія полягає в блокаді ІЛ-10 при патологіях, коли його надлишок шкідливий. Невелике клінічне випробування, проведене у пацієнтів на системний червоний вовчак, показало поліпшення симптомів після блокади ІЛ-10 [6].

Таким чином, надлишкова і генералізована продукція прозапальних цитокінів призводить до розвитку органних дисфункцій. Такі цитокіни як інтерлейкін-6 (ІЛ-6), інтерлейкін-8 (ІЛ-8) і фактор некрозу пухлини-альфа (ФНП-), є медіаторами запалення, які відіграють важливу роль у патогенезі ХНН. Інтерлейкін-10 (ІЛ-10) має імуномодулюючі властивості і пригнічує запальні процеси [17, 23, 26], що дуже важливо характеризувати разом з прозапальною ланкою, визначаючи ступінь дисбалансу у пацієнтів з ХХН VД.

Розуміння складних сигнальних механізмів за участю ІЛ-10 може розкрити нові потенційні терапевтичні цілі, в тому числі у хворих на ХХН, які лікуються за допомогою гемо- (ГД) чи перитонеального (ПД) діалізу.

Метою роботи було визначити середні сироваткові рівні ІЛ-10 у хворих на ХХН VД і особливості у разі використання ГД- (1 гр. – 41 хворий) та ПД-лікування (2 гр. – 14 хворих).

Матеріали і методи. Особливості сироваткових рівнів ІЛ-10 визначали у 55 пацієнтів з ХХН VД, що лікувалися за допомогою діалізних методів – гемо- (ГД) та перитонеального (ПД) діалізу протягом 2015-2019 рр. Дослідження проводили за допомогою імуноферментного аналізатору «SunRise TouchScreen», використовували тест-системи „Вектор Бест" (РФ). Межі нормальних значень (референтний діапазон) були отримані на основі результатів дослідження 20 умовно здорових осіб.

Отримані дані оброблені статистично на персональному комп'ютері за допомогою пакета програм "SPSS for Windows. Версія 11" та "MedStat". Для статистичної обробки використовувались параметричні критерії статистики – тест Ст'юдента або непараметричні – критерій Уілкоксона. Достовірною вважали різницю при $p<0,05$. Кореляційний зв'язок кількісних показників рівнів цитокінів, за умов їх нормального розподілу, визначали за методом Пірсона (r). Кореляційний аналіз за Кендалом ( ) використовували у разі відсутності нормального розподілу показників.

Отримані результати. Дослідження ІЛ-10 показали тенденцію до зниження середніх показників протизапального цитокіну у всіх хворих на ХХН VД порівняно із здоровими – відповідно, 23,4 (15,6; 109,4) та 97,7 (31,3; 143,2) пг/мл (p=0,059).

Середній рівень ІЛ-10 у ПД-хворих достовірно нижче норми, тоді як у ГД – спостерігалась тенденція до зниження порівняно зі здоровими (рис. 1). При цьому не відмічено достовірних відмінностей за середніми показниками ІЛ-10 залежно від модальності терапії – p=0,255. Такі результати частково підтверджують результати Малишева Н.Є. та ін. про те, що дисбаланс у хворих на ХХН з прогресуючим перебігом обумовлений активацією клітин, що продукують прозапальні цитокіни, на тлі незміненої секреції протизапальних, в тому числі ІЛ-10 [1].

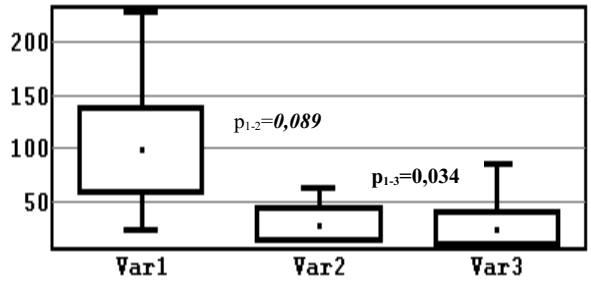

Рис. 1 - Середні рівні ІЛ-10 у ГД і ПД-пацієнтів (відповідно, Var 2 і 3) в порівнянні з показниками у здорових донорів (Var 1).

В процесі лікування не виявлено достовірної динаміки ІЛ-10 як у ГД-, так і ПД-хворих (рис. 2), хоча після сеансів еферентної терапії середні рівні цього протизапального медіатора не відрізнялись від норми в обох групах (p=0,199 і p=0,100).

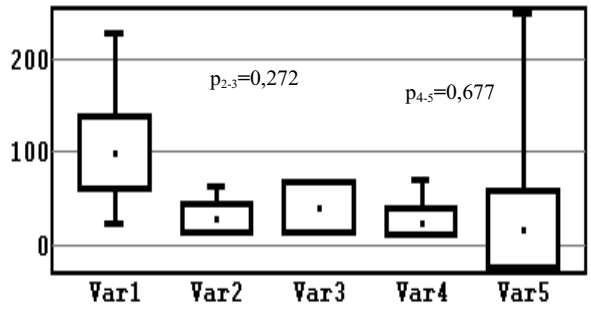

Рис. 2 - Середні рівні ІЛ-10 у ГД (Var 2 і 3) і ПД-пацієнтів (Var 4 і 5) до та після проведеного лікування і у здорових донорів (Var 1).

Проведений аналіз кореляційних зв’язків (коефіцієнт Кендала) між прозапальними цитокінами (ФНП-, ІЛ-6, -8, MCP-1), та протизапальним ІЛ-10 у хворих обох груп.

У ГД-хворих виявлено прямий кореляційний зв’язок між ІЛ-6 та ІЛ-8 (Tau=0,224, p=0,03) та зворотній між ІЛ-6 ті ІЛ-10 (Tau=-0,271, p=0,01). Наші результати співпадають з даними інших дослідників і їх думкою про важливу роль ІЛ-6 в індукції секреції ІЛ-8 і навпаки, а також його зв’язків із протизапальним ІЛ-10 [1]. У ПД-пацієнтів існує зворотній зв’язок між ІЛ-8 та ІЛ-10 (Tau=-0,556) на рівні значущості (p=0,01).

ВИСНОВКИ

Діалізна терапія у хворих на ХХН супроводжується зниженням рівнів ІЛ-10 (більш вираженим у ПД-пацієнтів) на фоні тривалої дії високої активності клітин імунної системи по продукції прозапальних цитокінів і, відповідно, хронічного запалення зі зниженням компенсаторних можливостей Т-регуляторних лімфоцитів по секреції у відповідь на цей стан протизапального медіатора.

Лікування з використанням ПД призводить до більш негативного впливу на баланс взаємодії клітин моноцитарно-макрофагальної системи і Т-регуляторними, про що свідчить наявність кореляційних прямих зв’язків у ГД-хворих між ІЛ-6 та ІЛ-8 (p=0,03) та зворотній між ІЛ-6 ті ІЛ-10 (p=0,01), тоді як у ПД – лише зворотній між ІЛ-8 та ІЛ-10 (p=0,01).

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЛИВОСТІ СИРОВАТКОВИХ РІВНІВ ІЛ-10 У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ДІАЛІЗНИХ МЕТОДІВ

Дріянська В.Е., Дудар І.О., Шіфріс І.М., Савченко В.С., Калініна Н.А., Холод В.В.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ, Україна

Мета роботи – визначення сироваткових рівнів протизапального цитокіну ІЛ-10 у хворих на хронічну хворобу нирок, що лікуються постійним діалізом ((ХХН VД ст.), і їх особливостей у ГД- і ПД-пацієнтів.

Матеріали і методи. В проспективне відкрите дослідження включено 55 пацієнтів с ХХН VД ст., які лікувались гемо- (ГД) і перитонеальним (ПД) діалізом протягом 2015-2019 рр.

Дослідження було проведено в два етапи. На першому визначались сироваткові рівні ІЛ-10. На другому етапі – дослідження динаміки ІЛ-10 як у ГД, так і ПД-хворих.

Дослідження вмісту ІЛ-10 в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу (ELISA) за допомогою аналізатору «SunRise TouchScreen», тест-системи „Вектор Бест” (РФ). Статистична обробка результатів проведена з використанням програми “SPSS for Windows. Версія 11” і “MedStat”.

Результати. Виявлено тенденцію до зниження середніх показників ІЛ-10 в крові хворих на ХХН VД –

23,4 (15,6; 109,4) порівняно з 97,7 (31,3; 143,2) пг/мл у здорових донорів (20) (p=0,059). Середній рівень цього протизапального медіатора у ПД-пацієнтів – 23,4 (15,6; 70,3) – достовірно нижче за норму (p=0,034), тоді як у ГД – тільки тенденція до зниження – 27,3 (15,6; 117,2) пг/мл, p=0,089 порівняно з нормою. При цьому різниця середніх сироваткових рівнів ІЛ-10 при порівнянні груп хворих залежно від модальності терапії недостовірна (p=0,255).

Після лікування за допомогою еферентних методів терапії середні рівні ІЛ-10 не відрізнялись від норми як у ГД- (p=0,199), так і ПД-хворих (p=0,100).

Висновок. Діалізна терапія у хворих на ХХН VД супроводжується зниженням сироваткових рівнів ІЛ-10 (достовірним у ПД-пацієнтів) на фоні тривалого хронічного запалення зі зниженням резервних можливостей клітин імунної системи, що його продукують.

Ключові слова: хронічна хвороба нирок VД, інтерлейкін-10, гемо- і перитонеальний діаліз.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ СЫВОРОТОЧНЫХ УРОВНЕЙ ИЛ-10 У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК, КОТОРЫЕ ЛЕЧАТСЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДИАЛИЗНЫХ МЕТОДОВ

Дриянская В.Е., Дударь И.А., Шифрис И.М., Савченко В.С., Калинина Н.А., Холод В.В.

ГУ «Институт нефрологии НАМН Украины», Киев, Украина

Целью работы было определение сывороточных уровней противовоспалительного цитокина ИЛ-10 у больных с хронической болезнью почек, которые лечатся постоянным амбулаторным диализом ((ХБП VД ст.), и их особенностей у ГД- и ПД-пациентов.

Материалы и методы. В проспективное открытое исследование было включено 55 пациентов с ХБП VД ст., которые лечились гемо- (ГД) и перитонеальным (ПД) диализом на протяжении 2015-2019 гг.

Исследование было проведено в два этапа. На первом проведено определение уровней сывороточного ИЛ-10. На втором этапе – исследование динамики ИЛ-10 как у ГД, так и ПД-больных.

Определение содержания ИЛ-10 в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ELISA) с помощью анализатора «SunRise TouchScreen», тест-системы „Вектор Бест" (РФ). Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы "SPSS for Windows. Версия 11" и "MedStat".

Результаты. Выявлена тенденция к снижению средних показателей ИЛ-10 в крови больных ХБП VД – 23,4 (15,6; 109,4) в сравнении с 97,7 (31,3; 143,2) пг/мл у здоровых доноров (20) (p=0,059). Средний уровень этого противовоспалительного медиатора у ПД-пациентов – 23,4 (15,6; 70,3) – достоверно ниже нормы (p=0,034), тогда как у ГД – только тенденция к снижению – 27,3 (15,6; 117,2), p=0,089 по сравнению с нормой. При этом разница средних сывороточных уровней ИЛ-10 при сравнении групп больных в зависимости от модальности терапии недостоверна (p=0,255).

После лечения с помощью эфферентных методов терапии средние уровни ИЛ-10 не отличались от нормы как у ГД- (p=0,199), так и ПД-больных (p=0,100).

Вывод. Диализная терапия у больных ХБП VД сопровождается снижением сывороточных уровней ИЛ-10 (достоверным у ПД-пациентов) на фоне длительного хронического воспаления со снижением резервных возможностей продуцирующих его клеток иммунной системы.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек VД, интерлейкин-10, гемо- и перитонеальный диализ.

SUMMARY

PECULIARITIES OF SERUM LEVELS OF IL-10 IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE (CKD) WHO ARE TREATED USING DIALYSIS METHODS

Driianska V., Dudar I., Shifris I., Savchenko V., Kalinina N., Kholod V.

SI «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

The aim of the work was to determine the blood serum antiinflammatory cytokine IL-10 in chronic kidney disease (CKD) VD patients treated with continuous dialysis (CAPD) and their features in HD and PD patients.

Materials and methods. The prospective open-label study included 55 patients with CKD grade VD who were treated with hemo (HD) and peritoneal (PD) dialysis during 2015-2019. The study was conducted in two stages. At the first stage, the determination of IL-10 serum level. At the second stage, a prospective study of the dynamics of IL-10 in both HD and PD patients.

Serum IL-10 level were determined by ELISA on «SunRise TouchScreen», «Vector Best» (RF). Statistical analysis was performed by using "SPSS for Windows version 11" and "MedStat".

Results. There was revealed a tendency towards a decrease in the average IL-10 values in the blood of patients with CKD VD – 23.4 (15.6; 109.4) in comparison with 97.7 (31.3; 143.2) pg/ml in healthy donors (20) (p=0.059). The average level of this antiinflammatory mediator in PD-patients is 23.4 (15.6; 70.3) – significantly lower than the norm (p=0.034), while in HD – only a downward trend – 27.3 (15.6; 117.2) pg/ml, p=0.089 in comparison with the norm. At the same time, the difference in mean serum levels of IL-10 when comparing groups of patients, depending on the modality of therapy, is insignificant (p=0.255).

After treatment with efferent methods of therapy, the mean levels of IL-10 did not differ from the norm in both HD- (p=0.199) and PD-patients (p=0.100).

Conclusion. Dialysis therapy in patients with CKD VD is accompanied by a decrease in serum levels of IL-10 (significant in PD patients) against the background of prolonged chronic inflammation with a decrease in the reserve capacity of the cells of the immune system producing it.

Key words: chronic kidney disease VD, interleukin-10, hemo- and peritoneal dialysis.

Інформація про внесок кожного учасника:

В.Є. Дріянська – аналіз отриманих імунологічних даних і написання статті;

І.О. Дудар – контроль за лікуванням та план обстеження хворих;

І.М. Шіфріс – лікування пацієнтів та аналіз клінічних даних;

В.С.Савченко – імуноферментні дослідження ІЛ-10;

Н.А.Калініна – імуноферментні дослідження ІЛ-10;

В.В. Холод - статистичний аналіз рівнів ІЛ-10 в групах хворих.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. *Малышев М.Е., Бельских О.А., Сорокина А.А., Зубор О.И.* Информативность показателей цитокинового профиля сыворотки крови слюнной жидкости у больных хроническими болезнями почек . Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2016, № 1. 44-49. https://cyberleninka.ru/article/n/informativnost-pokazateley-tsitokinovogo-profilya-syvorotki.
2. *Меленевич А.Я.* Клінічне значення інтерлейкіну-18 та інтерлейкіну-10 у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у поєднанні з гіпертонічною хворобою. Zaporozhye medical journal. 2018. Vol. 20. №. 5. С. 623-627. http://zmj.zsmu.edu.ua.
3. *Alicic R. Z., Michele T. Rooney, Katherine R.* Tuttle Diabetic Kidney Disease Challenges, Progress, and Possibilities. Clin J Am Soc Nephrol. 2017. Vol. 12, N 12. P. 2032-2045. DOI: 10.2215/CJN.11491116.
4. *Burmeister Amanda R. and Marriott Ian.* The Interleukin-10 Family of Cytokines and Their Role in the CNS. Front. Cell. Neurosci. 2018. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00458.
5. *Commins S.* The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. J. Allergy Clin Immunol. 2008. Vol.121. P. 1108-1111. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.02.026.
6. *Emilie D.* Interleukin 10 in disseminated lupus erythematosus. J Soc Biol. 2002. 196 (1). P. 19-21. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12134628.
7. *Engelhardt Karin R., Grimbacher Bodo.* IL-10 in humans: lessons from the gut, IL-10/IL-10 receptor deficiencies, and IL-10 polymorphisms. Curr Top Microbiol Immunol. 2014. 380. P. 1-18. DOI: 10.1007/978-3-662-43492-5_1.
8. *Gotoh K, Inoue M, Masaki T, et al.* Obesity related chronic kidney disease is associated with spleen-derived IL-10. Nephrol Dial Transplant. 2013. 28. P. 1120–1130. DOI: 10.1093/ndt/gfs440.
9. *Gregorini M, Corradetti V, Rocca C, et al.* Mesenchymal stromal cells prevent renal fibrosis in a rat model of unilateral ureteral obstruction by suppressing the renin-angiotensin system via HuR. PLoS One. 2016. 11. P. 1-19. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148542.
10. *Hua Su, ChunTao Lei, Chun Zhang.* Interleukin 6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease. Front Immunol. 2017. N 8. P 405.12. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00405.
11. *Hueso M., Navarro E., Moreso F. et al.* Intragraft expression of the IL-10 gene is up-regulated in renal protocol biopsies with early interstitial fibrosis, tubular atrophy, and subclinical rejection. Am J Pathol. 2010. P. 176. 1696–1704. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090411.
12. *Jin Y, Liu R, Xie J, Xiong H, He JC, Chen N.* Interleukin-10 deficiency aggravates kidney inflammation and fibrosis in the unilateral ureteral obstruction mouse model. Lab Invest. 2013. 93. P. 801–811. https://www.nature.com/articles/labinvest201364.
13. *Kamanaka Masahito, Huber Samuel, Zenewicz Lauren A, Gagliani Nicola et al.* Memory/effector (CD45RB(lo)) CD4 T cells are controlled directly by IL-10 and cause IL-22-dependent intestinal pathology. J Exp Med. 2011. 208 (5). P. 1027-40. DOI: 10.1084/jem.20102149.
14. *Krishnamurthy P, Lambers E, Verma S, et al.* Myocardial knockdown of mRNA-stabilizing protein HuR attenuates post-MI inflammatory response and left ventricular dysfunction in IL10-null mice. FASEB J. 2010. 24. P. 2484–2494. DOI: 10.1096/fj.09-149815.
15. *Massimo Fioranelli and Roccia Maria Grazia.* Twenty-five years of studies and trials for the therapeutic application of IL-10 immunomodulating properties. From high doses administration to low dose medicine new paradigm. J Integr Cardiol, 2014. Vol. 1 (1). P. 2-6. DOI: 10.15761/JIC.1000102.
16. *Mota A. P., Vila a S. S., das Merc s F. L., et al.* Cytokines signatures in short and long-term stable renal transplanted patients. Cytokine. 2013. 62 (2). P. 302–309. DOI: 10.1016/j.cyto.2013.03.001.
17. *Mu W., Ouyang X., Agarwal A. et al.* IL-10 suppresses chemokines, inflammation, and fibrosis in a model of chronic renal disease. J Am Soc Nephrol. 2005. 16. P. 3651–3660. DOI: 10.1681/ASN.2005030297.

18. *Naqvi R.* Glomerulonephritis Contributing to Chronic Kidney Disease. Urol. Nephrol. Open Access J. 2017. Vol. 5, N 4. P. 00179. DOI:10.15406/unoaj.2017.05.00179.
19. *O’Garra A, Barrat FJ, Castro AG, Vicari A, Hawrylowicz C.* Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease. Immunol Rev. 2008. 223. P. 114–131.
20. *Ouyang Wenjun, O’Garra Anne.* L-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. Immunity. 2019. 50 (4). P. 871-891. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.020.
21. *Rios Danyelle Romana Alves, Pinheiro Melina Barros, Wander Valadares de Oliveira Junior et al.* Cytokine Signature in End-Stage Renal Disease Patients on Hemodialysis. Dis Markers. 2017. 9678391. doi: 10.1155/2017/9678391.
22. *Saraiva Margarida, Vieira Paulo, O’Garra Anne.* Biology and therapeutic potential of interleukin-10. J Exp Med. 2020. 217 (1). https:// doi.org/10.1084/jem.20190418.
23. *Sinuani I., Beberashvili I., Averbukh Z., Sandbank J.* Role of IL-10 in the progression of kidney disease. World J Transplant. 2013. Vol 3, No 4. P. 91-98. DOI: 10.5500/wjt.v3.i4.91.
24. *Sharif M. R., Chitsazian Z., Moosavian M., et al.* Immune disorders in hemodialysis patients. Iranian Journal of Kidney Diseases. 2015. 9 (2). P. 84–96.
25. *Steen Emily H., Wang Xinyi, Balaji Swathi, Butte Manish J. et al.* The Role of the Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. Advances in Wound Care. 2020. Vol. 9, N. 4. https://doi.org/10.1089/wound.2019.1032.
26. *Stenvinkel P., Ketteler M., Johnson R.J., Lindholm B. et al.* IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia – the good, the bad, and the ugly. Kidney Int. 2005. Vol. 67, N 4. P. 1216-1233. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00200.x.
27. *Sziksz E., Pap D., Lippai R. et al.* Fibrosis related inflammatory mediators: role of the IL-10 cytokine family. Mediators Inflamm. 2015. 764641. https://doi.org/10.1155/2015/764641.
28. *Vianna H. R., Bouissou C. M., Soares M., Tavares M. S. et al.* Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines. J. Bras. Nefrol. 2011. Vol. 33, N 3. P. 351-364. DOI: 10.1590/s0101-28002011000300012.
29. *Xystrakis Emmanuel, Kusumakar Siddharth, Boswell Sandra, Peek Emma et al.* Reversing the defective induction of IL-10-secreting regulatory T cells in glucocorticoid-resistant asthma patients. J Clin Invest. 2006. 116 (1) P. 146-55. DOI: 10.1172/JCI21759.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Дріянська Вікторія Євгенівна**
д.мед.н., проф., заступник директора з наукової роботи, зав. лаб. імунології ДУ «Інститут нефрології НАМН України»
Адреса: Київ, вул. Дегтярівська, 17-В
Тел.: 0675069622
E-mail: victoriadriyanskaya@gmail.com

- **Дриянская Виктория Евгеньевна**
д.мед.н., проф., Заместитель директора по научной работе, зав. лаб. иммунологии ГУ «Институт нефрологии АМН Украины»
Адрес: Киев, ул. Дегтяревская, 17-В
Тел.: 0675069622
E-mail: victoriadriyanskaya@gmail.com

- **Driianska Viktoriia**
Doctor of Medicine, Professor, Deputy Director for Research, Head lab. of Immunology, Institute of Nephrology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine
Address: Kyiv, str. Degtyarivska, 17-V
Tel.: 0675069622
E-mail: victoriadriyanskaya@gmail.com

- **Дудар Ірина Олексіївна**
д.мед.н., проф., зав. відділу еферентних технологій ДУ «Інститут нефрології НАМН України»
Адреса: Київ, вул. Дегтярівська 17-В
Тел.: 044 2259377
E-mail: directorinephrology@kiev.ua

- **Дударь Ирина Алексеевна**
д.мед.н., проф., Зав. отдела эфферентных технологий ГУ «Институт нефрологии АМН Украины»
Адрес: Киев, ул. Дегтяревская, 17-В
Тел .: 044 2259377
E-mail: directorinephrology@kiev.ua

- **Dudar Iryna**
Doctor of Medicine, Professor, Head Department of Efferent Technologies, Institute of Nephrology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine
Address: Kyiv, street Degtyarivska, 17-V
Tel .: 044 2259377
E-mail: directorinephrology@kiev.ua

- **Шіфріс Ірина Михайлівна**
к.мед.н., пров. н.с. відділу еферентних технологій ДУ «Інститут нефрології НАМН України»
Адреса: Київ, вул. Дегтярівська 17-В
Тел .: 044 2259377
E-mail: directorinephrology@kiev.ua

- **Шифрис Ирина Михайловна**
к.м.н., пер. н.с. отдела эфферентных технологий ГУ «Институт нефрологии АМН Украины»
Адрес: Киев, ул. Дегтяревская 17-В
Тел.: 044 2259377
E-mail: directorinephrology@kiev.ua

- **Shifris Iryna**
Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher of the Department of Efferent Technologies of the Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine
Address: Kyiv, street Degtyarivska 17-V
Tel.: 044 2259377
E-mail: directorinephrology@kiev.ua

- **Савченко Вікторія Станіславівна**
  к.б.н., с.н.с. лаб. імунології ДУ «Інститут нефрології НАМН України»
  Адреса: Київ, вул. Дегтярівська, 17-В
  Тел.: (044) 486 54 03
  E-mail: utiainew@gmail.com

- **Калініна Наталія Альбертівна**
  к.б.н., с.н.с. лаб. імунології ДУ «Інститут нефрології НАМН України»
  Адреса: Київ, вул. Дегтярівська, 17-В
  Тел.: (044) 486 54 03
  E-mail: utiainew@gmail.com

- **Холод Валерія Володимирівна**
  к.мед.н., с.н.с. лаб. імунології ДУ «Інститут нефрології НАМН України»
  Адреса: Київ, вул. Дегтярівська, 17-В
  Тел.: 0675069621
  E-mail: valeriadriyanskaya@gmail.com

- **Савченко Виктория Станиславовна**
  к.б.н., с.н.с. лаб. иммунологии ГУ «Институт нефрологии АМН Украины»
  Адрес: Киев, ул. Дегтяревская, 17-В
  Тел.: (044) 486 54 03
  E-mail: utiainew@gmail.com

- **Калинина Наталья Альбертовна**
  к.б.н., с.н.с. лаб. иммунологии ГУ «Институт нефрологии АМН Украины»
  Адрес: Киев, ул. Дегтяревская, 17-В
  Тел.: (044) 486 54 03
  E-mail: utiainew@gmail.com

- **Холод Валерия Владимировна**
  к.м.н., с.н.с. лаб. иммунологии ГУ «Институт нефрологии АМН Украины»
  Адрес: Киев, ул. Дегтяревская, 17-В
  Тел.: 0675069621
  E-mail: valeriadriyanskaya@gmail.com

- **Savchenko Viktoriia**
  Ph.D., senior researcher lab. of Immunology, Institute of Nephrology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine
  Address: Kyiv, str. Degtyarivska, 17-V
  Tel.: (044) 486 54 03
  E-mail: utiainew@gmail.com

- **Kalinina Nataliia**
  Ph.D., senior researcher lab. of Immunology, Institute of Nephrology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine
  Address: Kyiv, str. Degtyarivska, 17-V
  Tel.: (044) 486 54 03
  E-mail: utiainew@gmail.com

- **Kholod Valeriia**
  Candidate of Medical Sciences, Senior Research Fellow lab. of Immunology, Institute of Nephrology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine
  Address: Kyiv, street Degtyarivska, 17-V
  Tel.: 0675069621
  E-mail: valeriadriyanskaya@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 27.03.2021 р.

© Шаповалова Ю.Ю., Усатов С.А., 2021
doi:10.37321/immunology.2021.1-2-06
УДК 616.8-085.2/.3

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА МОЖЛИВІСТЬ КОРЕКЦІЇ ДЕЯКИХ ПАРАМЕТРІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ХВОРИХ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ

ШАПОВАЛОВА Ю.Ю., УСАТОВ С.А.

Державний заклад «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне

ВСТУП

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) є найбільш частим та тяжким видом травматизму, що призводить до смерті постраждалих у найбільш працездатному віці від 20 до 40 років, але і серед тих, що вижили, повне функціональне відновлення центральної нервової системи (ЦНС) спостерігається відносно рідко. В загальній структурі інвалідності наслідки ЧМТ складають 25-30 %, при цьому, інвалідність I та II груп є переважною і дорівнює 64 % [1, 2, 3]. Неодноразово відзначалося, що ЧМТ та процеси, що її супроводжують, змінюють стан імунної системи, виникають вже в момент травми та поглиблюються у післятравматичному періоді. Запальний процес при ЧМТ є результатом дії медіаторів і цитокінів, що секретуються різними активованими клітинами [4, 5]. Швидкість загоєння уражень після перенесеної ЧМТ залежить від ефективності антимікробного захисту та процесів регенерації і при тяжкій травмі, і при оперативному втручанні [6]. У післяопераційному періоді відзначалися зміни балансу про- та протизапальних цитокінів, складу імунокомпетентних клітин, які супроводжували ускладнення та сприяли уповільненню загоєння після перенесеної травми [7]. Результати досліджень імунної системи у хворих на ЧМТ [8], на нашу думку, можуть слугувати відправною крапкою для визначення доцільності та обсягу проведення імунокорекції у ранній післяопераційний період та у реабілітаційному періоді.

Оскільки при всіх видах ЧМТ, особливо у післяопераційному періоді, відзначалося зниження стану клітинного імунітету, і це слугувало підґрунтям розвитку аутоімунних реакцій [4, 9], виникає необхідність вибору імунотропного препарату, який міг би ефективно корегувати виявлені зміни. Одним із таких препаратів може бути імунофан. Препарат є лікарською формою у вигляді 0,005% розчину імунофану по 1 мл в ампулах для внутрішньом’язових та підшкірних ін’єкцій, що створена на основі гексапептиду зі структурою формули Arg- -Asp-Lys-Val-Tyr-Arg [10].

З урахуванням імунологічних характеристик хворих на ЧМТ у післяопераційному періоді, можна очікувати позитивні клініко-імунологічні зміни після застосування імунофану.

Отже, незважаючи на значну розповсюдженість і увагу дослідників до ЧМТ, є потреба вивчення її клінічних і імунологічних особливостей та пошук шляхів раціональної імунокорекції.

Мета роботи – вивчити вплив імунофану на стан цитокінів сироватки крові: інтерлейкінів IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, інтерферону (IFN)- у пацієнтів із ЧМТ середньої тяжкості в післяопераційному періоді.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження були залучені 47 хворих на ЧМТ середньої тяжкості – із забоєм головного мозку середньої тяжкості, ускладненим гематомою різної локалізації і об’єму, яка була отримана унаслідок дорожньо-транспортної пригоди і підлягала оперативному втручанню. Всі хворі мали середньотяжку ЧМТ при оцінці за шкалою ком Глазго (ШКГ) – (9,3±0,7) балів. Серед травмованих було – 44 чоловіки (93,6 %) та 3 жінки (6,4 %) у середньому віці (32,7±2,5) років. Діагноз ЧМТ і гематоми були підтверджені при нейровізуалізації згідно Протоколам надання медичної допомоги при ЧМТ. Всі хворі методом сліпої рандомізації були розподілені на 2 групи: I – (24 хворих), які у післяопераційному періоді лікувалися згідно затверджених протоколів та рекомендацій [12, 13]. Це лікування було позначене як загальноприйняте. Хворим II групи (23 особи), яким у післяопераційному періоді додатково вводився препарат імунофан у дозі 1,0 мл 0,005 % розчину внутрішньом’язово 1 раз на день впродовж 10 днів з третьої доби після операції. Це лікування було позначене як «комплексне». Сироватку крові хворих досліджували одразу після проведеної операції та через 10 днів лікування.

Склад досліджуваних цитокінів сироватки IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6 та γ-IFN вивчали спектрофотоколориметричним методом із використанням наборів реактивів для імуноферментного аналізу, розроблених фірмою «ProCon» (СПб, РФ), ТОВ ”Цитокін” (Росія, м. Санкт-Петербург), за допомогою імуноферментного спектрофотометру «Rider 2100» (Франція).

Для розробки контрольних значень були досліджені 25 практично здорових осіб аналогічних віку та статі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На початку лікування у хворих із ЧМТ ІІ групи всі досліджені цитокіни в сироватці крові відзначалися порівняними із такими у пацієнтів І групи, і були близькими до значень референтної норми, але із тенденцією до зростання за виключенням значного підвищення IL-1β та несуттєвого – IL-4.

На початку комплексного лікування в обох групах хворих відзначалися значення цитокінів, порівняні між собою (табл. 1). Через два тижні у пацієнтів ІІ групи були отримані кращі показники досліджених цитокінів, ніж в І групі (табл. 2).

Таблиця 1

Динаміка вмісту цитокінів у сироватці крові досліджених хворих

Показник, пг/мл	Показник здорових осіб (n=25)	І група (n=24)	
		Після операції	Через 10 днів лікування
IL-2	9,5±0,7	11,1±1,3	26,9±2,1*)
IL-6	55,3±13,1	66,3±12,7	139,6±13,5*)
γ-IFN	13,4±2,1	18,4±2,7	55,9±3,4*)
IL-4	47,3±5,1	78,3±4,2*	70,4±3,7*
IL-1β	43,2±4,5	226,4±11,2*	196,3±12,8*)
IL-1β/IL-4,	0,91±0,04	2,89±0,2*	2,79±0,3*

Примітки:

1. * – p<0,05 при порівнянні із практично здоровими особами;
2.) – p<0,05 при порівнянні показників у різні періоди спостереження

Таблиця 2

Динаміка вмісту цитокінів у сироватці крові досліджених хворих із ЧМТ на тлі додавання імунофану

Показник, пг/мл	Показник здорових осіб (n=25)	І група (n=24)	ІІ група (n=23)	
		Через 2 тижні лікування	Після операції	Через 2 тижні лікування
IL-2	9,5±0,7	26,9±2,1*)	10,8±1,1	18,6±1,3*)
IL-6	55,3±13,1	139,6±13,5*)	61,7±9,8	98,5 ± 7,2*)
γ-IFN	13,4±2,1	55,9±3,4*)	16,2 ± 3,1	42,5 ± 3,4*)
IL-4	47,3±5,1	70,4±3,7*	80,3±3,9*	61,2±4,9*)
IL-1β	43,2±4,5	196,3±12,8*)	219,2±10,4*	148,9±13,2*)
IL-1β/IL-4	0,91±0,04	2,79 ± 0,3*	2,73±0,4	2,43±0,3*

Примітки:

1. * – p<0,05 при порівнянні із практично здоровими особами;
2.) – p<0,05 при порівнянні показників у різні періоди спостереження

Вміст IL-1β у сироватці крові, визначений одразу після оперативного втручання, спостерігався підвищеним у 5,24 рази (p<0,05) від показника норми, дорівнював (226,4±11,2) пг/мл, що ми пов'язували із особливостями цього цитокіна як «стартового» при будь-якому запаленні, що пояснювалося достатнім обсягом часу для стимуляції продукції цього IL після отримання ЧМТ та оперативного втручання.

IL-4 теж був підвищеним до (78,3±4,2) пг/мл, або у 1,66 рази від значень практично здорових осіб (p<0,05), очевидно, внаслідок активації продукції протизапальних IL у відповідь на зростаючу концентрацію прозапальних.

Через 2 тижні після проведеного хірургічного втручання з приводу ЧМТ, ускладненої гематомою, спостерігалося підвищення вмісту IL-2 у 2,4 рази (p<0,05) від початкового до (26,9±2,1) пг/мл.

Підвищення концентрації IL-6 відзначалося у 2,1 рази від вихідного рівня ($p<0,05$) і досягало (139,6±13,5) пг/мл.

Вміст IL-1β почав поступово знижуватися, став меншим у 1,15 рази від початкового ($p<0,05$) і дорівнював (196,3±12,8) пг/мл, але залишився вірогідно вищим за референтну норму у 4,5 рази.

При цьому співвідношення концентрацій цитокінів із різноспрямованою біологічною дією IL-1β/IL-4 на початку спостереження було у 3,18 рази вищим за таке у практично здорових осіб, а через 2 тижні після проведеного лікування його динаміка була незначною: воно зменшилося до (2,79±0,3), але продовжувало бути вірогідно вищим за аналогічне в контрольній групі у 3,1 рази.

Таким чином, у пацієнтів із ЧМТ – забоєм головного мозку середньої тяжкості, ускладненим гематомою, у період одразу післяоперативного втручання, в сироватці крові відмічалося суттєве підвищення концентрації IL-1β, незначне – IL-4 при значному зростанні їх співвідношення. Через два тижні після проведення загальноприйнятого лікування у пацієнтів спостерігалося зростання вмісту у сироватці крові IL-2, IL-6, γ-IFN, що співпадає із даними інших дослідників [5, 11]. При цьому концентрації IL-1β та IL-4 та їх співвідношення зменшувалися незначно, що створювало підстави для проведення імунокорекції.

Після комплексного лікування вміст у сироватці крові травмованих II групи IL-2 знижувався значніше – у 1,7 рази від попереднього до (18,6±1,3) пг/мл, проте, залишився вищим за референтну норму майже вдвічі ($p<0,01$), в той же час він був нижчим за такий в I групі у 1,4 рази ($p<0,05$).

У сироватці крові пацієнтів II групи після комплексного лікування концентрація IL-6 становила (98,5±7,2) пг/мл, була достовірно нижчою за таку в I групі у 1,4 рази, проте, продовжувала бути вищою за референтну норму у 1,8 разів ($p<0,01$).

Значення γ-IFN в II групі наприкінці комплексного лікування були достовірно вищими, ніж у I групі, у 1,3 рази ($p<0,05$), дорівнювали (42,5±3,4) пг/мл та перебільшували контрольні у 3,2 рази ($p<0,01$).

IL-4 у сироватці крові травмованих II групи після терміну комплексного лікування був рівним (61,2±4,9) пг/мл, що було нижче як за попередній показник у 1,3 рази ($p<0,05$), так і за такий в I групі у 1,2 рази ($p<0,05$) і відображувало позитивний вплив імунофану на цитокіновий профіль сироватки крові та на секреторну активність імунокомпетентних клітин, що спостерігалось і в інших дослідженнях [10].

Показник IL-1β у сироватці крові пацієнтів II групи після проведеного лікування із додаванням імунофану зменшився більш суттєво – до (148,9±13,2) пг/мл, або у 1,3 рази ($p<0,05$) від аналогічного в I групі, але залишився вищим за референтну норму у 3,4 рази ($p<0,01$). Співвідношення IL-1β/IL-4 у досліджених II групи після комплексного лікування було нижчим за аналогічне в I групі у 1,14 разів, але залишилось вищим за референтну норму, що вказувало на збереження продукції прозапальних цитокінів та переважання системного запального процесу над протизапальним та знайшло своє підтвердження при інших дослідженнях імунної системи при ЧМТ [6].

Таким чином, у пацієнтів II групи після операційного втручання на тлі проведення комплексного лікування із додаванням до загальноприйнятих засобів імуноактивного препарату імунофану відбувалось більш суттєве, ніж при лікуванні пацієнтів I групи, зниження всіх вивчених цитокінів та співвідношення IL-1β/IL-4, що відображувало імунологічну активність імунофану [14] при лікуванні пацієнтів із ЧМТ. Проте, збереження всіх прозапальних цитокінів підвищеними свідчить, що в організмі хворих продовжують існувати запальні зміни, наявність яких може слугувати підставою для тривалого відновлювального періоду та до проведення їм медичної реабілітації у відновлювальному періоді.

ВИСНОВКИ

У пацієнтів із ЧМТ – забоєм головного мозку середньої тяжкості, ускладненим гематомою, у період одразу після оперативного втручання, в сироватці крові відмічалося суттєве підвищення концентрації IL-1β, незначне – IL-4 при значному зростанні їх співвідношення.

Через два тижні після проведення загальноприйнятого лікування у пацієнтів з ЧМТ спостерігалося зростання вмісту в сироватці крові IL-2, IL-6, γ-IFN. При цьому концентрації IL-1β та IL-4 та їх співвідношення зменшувалися незначно.

Відзначені підвищеними рівні IL-2, IL-6, γ-IFN у сироватці крові хворих через два тижні після проведення лікування загальноприйнятими засобами та повільна динаміка IL-1β та IL-4 створювали підстави для проведення імунокорекції.

Проведення комплексного лікування із додаванням до загальноприйнятих препаратів імуноактивного засобу імунофану пацієнтам II групи сприяло більш суттєве, ніж при лікуванні пацієнтів I групи, зниження всіх досліджених цитокінів та співвідношення IL-1β/IL-4, що відображувало імунологічну активність імунофану при лікуванні таких хворих.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Григорова І.А., Куфтеріна Н.С.* Динаміка когнітивних змін у хворих із наслідками закритої черепно-мозкової травми. Міжнародний неврологічний журнал. 2012;3(49):145-149.
2. *Поліщук М.Є., Марков О.В., Гайдаєв Ю.О., Комарницький С.В., Полторацький В.Г., Литвиненко А.Л., та ін.* Порівняльна оцінка частоти виявлення черепно-мозкової травми у великих містах України. Укр. нейрохірург. журнал. 2002;4: 44-48.
3. 3. *Хобзей Н.К., Педанченко Е.Г., Голик В.А., Гук А.П., Гондуленко Н.А.* Эпидемиология инвалидности вследствие черепно-мозговой травмы в Украине. Україна. Здоров`я нації. 2011; 3:30-35.
4. *Лісяний М.І., Бєльська Л.М., Паламарьова А.В., Потапова А.Г.* Особливості порушень імунної системи при експериментальній легкій черепно-мозковій травмі у щурів. Імунологія та алергологія. 2020;1:58-63.
5. *Лісяний М.І., Каджая М.В.* Цитокіновий профіль у хворих з різним перебігом легкої повторної ЧМТ. Імунологія та алергологія. 2009;2-3:109-113.
6. *Цимбалюк В.І., Марущенко М.О.* Порівняльний аналіз змін в імунній системі, зумовлених різними видами локальної деструкції структур головного мозку. В: Матеріали IV з’їзду нейрохірургів України; 2008 Трав 27-30; Дніпропетровськ. с. 215.
7. *Гизингер О.А., Полетаева М.А., Максимова Е.В.* Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме. Иммунология. 2009;30(3):180-184.
8. *Лукач В.Н., Калиничев А.Г., Байтугаева Г.А., Мангус А.Э., Вторушина Л.И.* Прогностическое значение определения спектра провоспалительных цтокинов у больных краниоторакальной травмой тяжелой степени. Анестезиология и реаниматология. 2008;1:74-7.
9. Яременко Л.М., Грабовий О.М., Бордонос В.Г. Стан титрів аутоантитіл до тканинних антигенів головного мозку та циркулюючих імунних комплексів при моделюванні порушень кровопостачання головного мозку різного ступеню важкості та його корекція. Імунологія та алергологія. 2009; 2-3:55-59.
10. *Чоп’як В.В., Потьомкіна Г.О., Пукаляк Р.М., Білянська Р.М., Гайдучок І.Г.* Застосування препарату «Імунофан» при лікуванні хворих на імунодефіцити різного генезу. Інформаційний лист № 125-2006, Київ, 4 с.
11. *Tompkins P., Tesiram Y., Lerner M., Gonzalez L.P., Lightfoot S., Rabb C.H., Brackett D.J.* Brain injury: Neuroinflammation, cognitive deficit, and magnetic resonance imaging in a model of blast induced traumatic brain injury. J. Neurotrauma. 2013;30:1888-1897.
12. *Педаченко, Є.Г.,. Гук А.П.,. Каджая Н.В. та ін.* Сучасні принципи діагностики та лікування хворих із невідкладною нейрохірургічною патологією (черепно-мозкова травма). Методичні рекомендації. Київ. 2005.47.
13. *Педаченко Є.Г.* Стандартизація в нейрохірургії. Частина 1. Травматичні ушкодження центральної та периферичної нервової системи. Київ: ДУ “ІНХ НАМНУ”; 2019. 152 с.
14. *Муляр Л.А.* Вплив імунофану на стан клітинного імунітету та систему перекисного окислення ліпідів у хворих на хронічний обструктивний бронхіт. Імунологія та алергологія. 2008;1:75.

РЕЗЮМЕ

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА МОЖЛИВІСТЬ КОРЕКЦІЇ ДЕЯКИХ ПАРАМЕТРІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ХВОРИХ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ

Шаповалова Ю.Ю., Усатов С.А

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Незважаючи на значну розповсюдженість й увагу дослідників до ЧМТ, є потреба вивчення її клінічних і імунологічних особливостей та пошук шляхів раціональної імунокорекції, для якої може бути використаний препарат імунофан.

Мета роботи. Вивчення впливу імунофану на стан цитокінів сироватки крові у пацієнтів із ЧМТ середньої тяжкості в післяопераційному періоді.

Матеріали і методи. В дослідження було включено 47 хворих з ЧМТ середньої тяжкості – забоєм головного мозку середньої тяжкості, ускладненим гематомою різної локалізації і об’єму, яка підлягала оперативному втручанню. Всі пацієнти методом сліпої рандомізації були розподілені на дві групи: пацієнти I групи у післяопераційному періоді отримували лікування згідно затверджених протоколів та рекомендацій. Пацієнтам II групи, яким у післяопераційному періоді додатково вводився препарат імунофан у дозі 1,0 мл 0,005 % розчину внутрішньом’язово 1 раз на день впродовж 10 днів з третьої доби після операції. Сироватку крові хворих досліджували одразу після проведеної операції та через 10 днів лікування. Склад досліджуваних цитокінів сироватки IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6 та γ-IFN вивчали спектрофотоколориметричним методом із використанням наборів реактивів для імуноферментного аналізу.

Результати. У пацієнтів II групи після операційного втручання на тлі проведення комплексного лікування із додаванням до загальноприйнятих засобів

імуноактивного препарату імунофану відбувалось більш суттєве, ніж при лікуванні пацієнтів I групи, зниження всіх вивчених цитокінів та співвідношення IL-1β/IL-4, що відображувало імунологічну активність імунофану при лікуванні пацієнтів із ЧМТ. Проте, збереження всіх прозапальних цитокінів підвищеними свідчить, що в організмі хворих продовжують існувати запальні зміни, наявність яких може слугувати підставою для тривалого відновлювального періоду та до проведення пацієнтам медичної реабілітації у відновлювальному періоді.

Висновки. Перспективним є можливість застосування імуноактивного препарату імунофану у хворих з черепно-мозковою травмою у післяопераційному періоді для запобігання ускладнень та підвищення ефективності терапії.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, імунні показники, імунокорекція.

РЕЗЮМЕ

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ БОЛЬНЫХ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

Шаповалова Ю.Ю., Усатов С.А.

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

Несмотря на значительное распространение и внимание исследователей к ЧМТ, существует необходимость изучения ее клинических и иммунологических особенностей и поиск путей рациональной иммунокоррекции, для которой может быть использован препарат иммунофан.

Цель работы. Изучение влияния иммунофана на состояние цитокинов сыворотки крови у пациентов с ЧМТ средней тяжести в послеоперационном периоде.

Материалы и методы. В исследование было включено 47 больных с ЧМТ средней тяжести – ушибом головного мозга средней тяжести, осложненным гематомой различной локализации и объема, которая подлежала оперативному вмешательству. Все пациенты методом слепой рандомизации были разделены на две группы: пациенты I группы в послеоперационном периоде получали лечение, согласно утвержденных протоколов и рекомендаций. Пациентам II группы, которым в послеоперационном периоде дополнительно вводился препарат иммунофан в дозе 1,0 мл 0,005 % раствора внутримышечно 1 раз в день в течение 10 дней с третьих суток после операции. Сыворотку крови больных исследовали сразу после проведенной операции и через 10 дней лечения. Состав исследуемых цитокинов сыворотки IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6 и γ-IFN изучали спектрофотоколориметрическим методом с использованием наборов реактивов для иммуноферментного анализа.

Результаты. У пациентов II группы после операционного вмешательства на фоне проведения комплексного лечения с добавлением к общепринятым средствам иммуноактивного препарата иммунофана происходило более существенное, чем при лечении пациентов I группы, снижение всех изученных цитокинов и соотношения IL-1β/IL-4, что отображало иммунологическую активность иммунофана при лечении пациентов с ЧМТ. Однако, сохранение всех провоспалительных цитокинов повышенными свидетельствует, что в организме больных продолжают существовать воспалительные изменения, наличие которых может служить основанием для длительного восстановительного периода и к проведению пациентам медицинской реабилитации в восстановительном периоде.

Выводы. Перспективным является возможность применения иммуноактивного препарата иммунофана у больных с черепно-мозговой травмой в послеоперационном периоде для предотвращения осложнений и повышения эффективности терапии.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, иммунные показатели, иммунокоррекция.

SUMMARY

THE MODERN VIEW ON THE POSSIBILITY OF CORRECTION SOME PARAMETERS OF THE PATIENT’S IMMUNE SYSTEM WITH BRAIN INJURY

Shapovalova Yu., Usatov S.

SI «Lugansk state medical university»

Despite the significant prevalence and attention of researchers to trauma, there is a need to study its clinical and immunological features and find ways of rational immunocorrection, for which the drug immunofan can be used.

The aim of the study. Study of the immunofan effect on the state of serum cytokines in patients with moderate trauma in the postoperative period.

Materials and methods. The study included 47 patients with moderate traumatic brain injury – moderate brain contusion, complicated by hematoma of various localization and volume, which was subject to surgery. All patients by blind randomization were divided into two groups: patients of group I in the postoperative period received treatment according to approved protocols and recommendations. Group II patients who received additional immunofan in the postoperative period at a dose of 1.0 ml of 0.005 % solution intramuscularly once a day for 10 days from the third day after surgery. Patients’ serum was examined immediately after surgery and after 10 days of treatment. The composition of the studied serum cytokines IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6 and γ-IFN was studied spectrophotocolorimetrically using sets of reagents for enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. In patients of group II after surgery on the background of complex treatment with the addition of conventional immunoactive drug immunofan was more significant than in patients of group I, a decrease in all studied cytokines and the ratio of IL-1β/IL-4, reflecting the immunological activity of immunofan in the treatment of patients with trauma. However, the preservation of all elevated proinflammatory cytokines indicates that inflammatory changes continue to exist in the body of patients, the presence of which may be the basis for a

long recovery period and for patients to undergo medical rehabilitation in the recovery period.

Conclusions. The possibility of using the immunoactive drug immunofan in patients with traumatic brain injury in the postoperative period to prevent complications and increase the effectiveness of therapy is promising.

Key words: traumatic brain injury, immune parameters, immunocorrection.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• **Шаповалова Юлія Юріївна**
асистент кафедри фармакології, клінічної фармакології та клінічної фармації ДЗ «Луганський державний медичний університет»
Адреса: вул. Будівельників, 32, м. Рубіжне, Україна, 93012
моб.: +38 050-039-38-17
E-mail: yuliashap17@ukr.net

• **Шаповалова Юлия Юрьевна**
ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и клинической фармации ГУ «Луганский государственный медицинский университет»
Адрес: ул. Строителей, 32, г. Рубежное, Украина, 93012
моб.: +38 050-039-38-17
E-mail: yuliashap17@ukr.net

• **Shapovalova Yulia**
Assistant of the Department of Pharmacology, clinical Pharmacology and Clinical pharmacy SI “Lugansk State Medical University”
Address: St. Budivelnykiv, 32, Rubizhne, Ukraine, 93012
mob.: +38 050-039-38-17
E-mail: yuliashap17@ukr.net

• **Усатов Сергій Андрійович**
доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри нейрохірургії, травматології та ортопедії з ЛФК, ДЗ «Луганський державний медичний університет»
Адреса: вул. Будівельників, 32, м. Рубіжне, Україна, 93012
моб.: +38 050-626-64-72
E-mail: dmu.neuro@gmail.com

• **Усатов Сергей Андреевич**
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нейрохирургии, травматологии и ортопедии с ЛФК, ГУ «Луганский государственный медицинский университет»
Адрес: ул. Строителей, 32, г. Рубежное, Украина, 93012
моб.: +38 050-626-64-72
E-mail: ldmu.neuro@gmail.com

• **Usatov Serhii**
Head of the Department of Neurosurgery, Traumatology and Orthopedics with Physiotherapy SI «Lugansk State Medical University».
mob.: +38 050-626-64-72
Address: St. Budivelnykiv, 32, Rubizhne, Ukraine, 93012
E-mail: ldmu.neuro@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 27.03.2021 р.

НАУКОВО-ПРАКТИЧНА ОНЛАЙН-КОНФЕРЕНЦІЯ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ПРИКЛАДНОЇ ІМУНОЛОГІЇ ТА АЛЕРГОЛОГІЇ»

24-25 березня 2021 року

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ

Дріянська В.Є., Шіфріс І.М., Дудар І.О., Петрина О.П., Холод В.В., Порошина Т.В.

ІЛ-10 ЯК ПРОТИЗАПАЛЬНА ЛАНКА У ХВОРИХ НА ХХН VД, ЩО ЛІКУЮТЬСЯ МЕТОДАМИ ГЕМО- І ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДІАЛІЗУ.

Державна установа «Інститут нефрології НАМН» України, 04050, Київ

Вступ. Існує ряд регуляторних механізмів, що забезпечують тонкий баланс між ефективною імунною відповіддю і появою патології. Один з таких механізмів обумовлений протизапальним ІЛ-10, який є членом сімейства цитокінів, до якого можна віднести ІЛ-19, -22, -24, -26, - 28А, -28В і -29. Участь ІЛ-10 у багатьох патологічних станах продемонстрована як на моделях тварин, так і на людях з мутаціями в осі ІЛ-10/ІЛ-10R. Однак, незважаючи на значну кількість отриманих даних щодо ІЛ-10, все ще існують перспективи його дослідження в різних галузях медицини, в тому числі нефрології.

Метою роботи було визначити середні рівні ІЛ-10 в крові хворих на хронічну хворобу нирок VД стадії (ХХН VД) і особливості у разі використання гемо- (ГД) та перитонеального (ПД) діалізу.

Матеріали і методи. Особливості рівнів протизапального цитокіну ІЛ-10 у сироватці крові визначали у 55 хворих на ХХН VД, що лікувалися за допомогою діалізних методів – ГД (1 гр - 41 хворий) та ПД (2 гр – 14 хворих). Дослідження проводили за допомогою ІФА («SunRise TouchScreen»), використовували тест-системи "Вектор Бест" (РФ). Межі нормальних значень (референтний діапазон) були отримані на основі результатів дослідження 20 умовно здорових осіб. Отримані дані оброблені статистично на персональному комп'ютері за допомогою пакета програм "SPSS for Windows. Версія 11" та "MedStat".

Результати. Дослідження ІЛ-10 показали тенденцію до зниження його середніх сироваткових показників у хворих на ХХН VД – 23,4 [15,6; 109,4] проти 97,7 [31,3; 143,2] пг/мл у здорових донорів (p=0,059). Середній рівень цього протизапального медіатора у ПД-хворих – 23,4 [15,6; 70,3] – достовірно нижче норми (p=0,034), тоді як у ГД – 27,3 [15,6; 117,2] спостерігалась тенденція до зниження порівняно із здоровими (p=0,089). При цьому не відмічено достовірних відмін за середніми показниками ІЛ-10 залежно від модальності терапії - p=0,255.

Виявлено зворотні кореляційні зв»язки між сироватковими рівнями ІЛ-10 з ІЛ-6 (Tau=-0,271, p=0,01) у ГД-, а з ІЛ-8 (Tau=-0,556, p=0,01) у ПД-пацієнтів, що підтверджує контраверсійність цього протизапального та прозапальних (ІЛ-6 та ІЛ-8) медіаторів імунітету.

Висновок. Діалізна терапія у хворих на ХХН супроводжується зниженням рівнів ІЛ-10 (більш вираженим у ПД-пацієнтів) на фоні тривалої дії високої активності клітин імунної системи по продукції прозапальних цитокінів і, відповідно, хронічного запалення зі зниженням компенсаторних можливостей Т-регуляторних лімфоцитів і макрофагів по секреції ІЛ-10 як протизапального медіатора у відповідь на цей стан.

Дріянська В.Є., Багдасарова І.В., Лавренчук О.В., Фоміна С.П., Петрина О.П.

ОСОБЛИВОСТІ СИРОВАТКОВИХ РІВНІВ ФНП-α І ТФР-β У ДІТЕЙ, ЩО ПЕРЕНЕСЛИ ГОСТРЕ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», 04050, Київ, Україна

Актуальність. Виявлення факторів ризику розвитку і прогресування патології нирок важливо для прийняття клінічних рішень та створення стратегій попередження і лікування хронічної хвороби нирок (ХХН) у дітей. Важливою його причиною може бути гостре пошкодження нирок (ГПН). Ця патологія виникає внаслідок дії різноманітних факторів – це специфічні захворювання нирок (гострий інтерстиціальний нефрит, гострі гломерулярні і судинні ураження нирок), неспецифічні стани (ішемія, токсичні ураження), екстраренальні порушення (пренальна азотемія і гостра постренальна обструктивна нефропатія).

Мета роботи – визначити особливості середніх рівнів прозапального цитокіну ФНП-α та протизапального ТФР-β в сироватці крові дітей, які перенесли ГПН.

Матеріали і методи. В дослідження були включені діти віком від 8 міс. до 9 років, які перенесли гостре пошкодження нирок (ГПН) і спостерігалися протягом 2010-2020 років у відділені дитячої нефрології ДУ «Інститут нефрології НАМН України» (клінічна база – відділення нефрології ДКЛ №7 м. Києва).

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові визначали у 50 дітей, які перенесли ГПН, та 10 здорових дітей (референтна група) за допомогою ІФА («SunRise TouchScreen») та тест систем IBL International (Німеччина). Отримані дані оброблені статистично на персональному комп'ютері за допомогою пакета програм "SPSS for Windows. Версія 11" та "MedStat".

Результати. Аналіз досліджених цитокінів показав відсутність достовірної різниці середніх рівнів прозапального ФНП-α у дітей, що перенесли ГПН, і здорових дітей – відповідно, 1,94 [1,61; 2,78] (від 0,64 до 7,95) та 1,96 [1,88; 3,93] (від 1,71 до 6,63) пг/мл (p=0,484). В той же час, середній рівень протизапального ТФР-β у пацієнтів достовірно перевищував такий в референтній групі – 32,40 [18,50; 38,50] (від 8,50 до 139,90) проти 13,40 [12,90; 21,30] (від 11,80 до 31,20) пг/мл (p=0,004).

Індивідуальний аналіз показав, що після перенесеного ГПН у 14% дітей відмічається високий рівень ФНП-α, а у 44% – ТФР-β. Через 1 рік та більше обстеження виявило високі сироваткові рівні цих цитокінів, відповідно, у 18% (ФНП-α) и 54% (ТФР-β) пацієнтів. Різниця відносного числа хворих з високим рівнем обох цитокінів в динаміці недостовірна (p>0,05), хоча і спорстерігалась тенденція до високих показників ТФР-β у дітей з подальшою ХХН 2-3 ст.

Висновок. Виявлено підвищення середніх рівнів протизапального ТФР-β в сироватці крові дітей, які перенесли ГПН, достовірної різниці показників ФНП-α з нормою не було. Найбільші показники ТФР-β спостерігались у пацієнтів при прогресуванні ХХН, що можна пояснювати просклеротичними властивостями цього фактору росту.

Дріянська В.Є., Степанова Н.М., Калініна Н.М., Савченко В.С., Петрина О.П., Лебідь Л.О.

ПРОЗАПАЛЬНІ МЕДІАТОРИ ІМУНІТЕТУ В КРОВІ ТА ДІАЛІЗАТІ ХВОРИХ НА ХХН VД З ПОРУШЕННЯМИ ОБМІНУ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ, Україна

Актуальність. На місцевому та загальному рівні цитокіни відповідальні за всі послідовні етапи розвитку адекватної відповіді на патогени, запалення, відновлення ушкодженої структури тканин, розвиток атеросклеротичних уражень та ін. Погіршення ниркових функцій підвищує стан хронічного запалення у пацієнтів з хронічною хворобою нирок (ХХН) через ряд факторів, в тому числі прозапальні цитокіни.

Мета роботи – визначити середні рівні прозапальних цитокінів в сироватці крові та діалізаті хворих на ХХН VД, що лікуються за допомогою перитонеального діалізу (ПД), особливості у пацієнтів з гіперурікемією.

Матеріали і методи. Особливості рівнів у сироватці крові та діалізаті визначали у 32 ПД-хворих на ХХН VД за допомогою ІФА («SunRise TouchScreen»). Для визначення рівня прозапальних цитокінів – фактору некрозу пухлин альфа (TNF-α), інтерлейкіну 6 (IL-6) і моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1) – використовували тест-системи „Вектор Бест" (РФ).

Результати. Середні рівні досліджених цитокінів крові у пацієнтів, які лікувались з використанням ПД, перевищували показники референтної групи здорових донорів (20) – 2,8 [0,9; 3,9] проти 0,2 [0; 0,8] (p=0,012) для TNF-α, 2,1 [1,0; 4,9] проти 1,0 [0,6; 1,0] (p=0,002) для IL-6 та 419,2±34, проти 153,7±23,2 пкг/мл (p<0,001) для MCP-1. За коефіцієнтом рангової кореляції Кендалла (кК), у ПД-хворих існують позитивні зв'язки сироваткових рівнів TNF-α з IL-6 (0,397) і MCP-1 (0,292), а також IL-6 і МХП-1 (0,271). Показники цитокінів в діалізаті корелюють наступним чином – рівні IL-6 мають достовірний зв»язок з MCP-1 як в крові (0,260), так і діалізаті (0,524); виявлено пряму кореляцію між показниками MCP-1 в крові та діалізаті (0,404).

Проведено аналіз ПД-хворих з наявністю гіперурікемії (11) – більш високий середній рівень сечової кислоти порівняно з пацієнтами без цього порушення (23 хворих), відповідно, 445,3±23,1 та 293,1±9,9 (p<0,001). Виявлено достовірне зниження середніх сироваткових рівнів TNF-α – 0,7 [0,5; 1,9] проти 3,6 [2,5; 4,3] пг/мл (p=0,007). Достовірної різниці за показниками IL-6 та MCP-1 залежно від наявності/відсутності гіперурікемії не виявлено (p=0,265 та 0,218), так само як і за показниками TNF-α, IL-6 та MCP-1 в діалізаті (p=0,756; 0,506 та 0,418).

У хворих на ХХН VД з високим рівнем сечової кислоти показана наявність кореляційних зв»язків лише показників діалізату – MCP-1 з TNF-α (кК=0,751) і ІЛ-6 (кК=0,900); у інших ПД-пацієнтів зберігається позитивна кореляція не тільки за даними TNF-α і IL-6 діалізату (кК=0,493), але й між сироватковими рівнями TNF-α і IL-6 (кК=0,575).

Висновок. Показано достовірне підвищення сироваткових рівнів прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-6, MCP-1) в сироватці крові ПД-пацієнтів зі зниженням показників TNF-α при

наявності гіперурікемії, можливо, внаслідок тривалого виснаження функціональної активності клітин по його продукції на тлі метаболічних порушень. Про більші порушення функціональної активності клітин імунної системи у хворих з вираженою урікемією може свідчити наявність в цій групі кореляційних зв’язків між рівнями MCP-1 та TNF-α лише діалізату, а не крові.

Дячук О.І.

ВПЛИВ ПЕРЕМІННИХ ФАКТОРІВ СЕРЕДОВИЩА НА АКТИВНІСТЬ ЛІПОКСИГЕНАЗИ ЛІМФОЦИТІВ СЕЛЕЗІНКИ ТА ТИМУСУ ЩУРІВ

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна

Актуальність проблеми. У виникненні та розвитку обструктивного захворювання легень велику роль відіграють так звані «маркери запалення», зокрема, цитокіни, тромбоксани, лейкотрієни тощо. Достатньо відомі імуномодулюючі властивості лейкотрієнів. Так, показано, що посилення метаболізму арахідонової кислоти по ліпоксигеназному шляху викликає підвищення секреції інтерлейкінів. Лейкотрієн В4 значно стимулює процес проліферації в мітоген-стимульованих Т-супресорах і пригнічує його в Т-хелперах, посилює експресію Fc-рецептора В-лімфоцитів. Надмірне продукування ліпоксигеназних метаболітів призводить до запальних, ішемічних процесів, канцерогенезу, алергічних реакцій, хвороби Альцгеймера тощо.

Мета дослідження – вибір оптимальних умов проведення ліпоксигеназної реакції in vitro та визначення впливу перемінних факторів, а саме температури та кислотності середовища, концентрації ферментного препарату на активність 5-ліпоксигенази лімфоцитів селезінки та тимусу.

Методи дослідження. Досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 150-180 г різної статі. Клітинну суспензію отримували протиранням органів через чотири шари нейлонової сітки. Фракцію лімфоїдних клітин, яка складалась в основному із малих і середніх лімфоцитів, виділяли із надосадової рідини центрифугуванням. Супернатант використовували як джерело ферменту, активність якого визначали спектрофотометричним методом. Як субстрат використовували солюбілізовану лінолеву кислоту. Статистичну обробку результатів досліджень проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами досліджень, максимальний рівень активності 5-ліпоксигенази досягався при наявності 45 мкг білка ферментативного препарату як для лімфоцитів селезінки, так і тимусу. Початкова швидкість реакції була в 1,5 рази вища для 5-ліпоксигенази лімфоцитів селезінки в порівнянні з 5-ліпоксигеназою тимусу щурів. Очевидно, що і абсолютна активність ферменту, яка залежить від початкової швидкості реакції, в різних досліджуваних популяцій лімфоцитів буде відмінною. Встановлено, що pH оптимум реакції відповідає значенню 6,4 для лімфоцитів селезінки та тимусу щурів. Дещо відмінним є температурний оптимум протікання ліпоксигеназної реакції – 350 С для лімфоцитів селезінки та 400 С для лімфоцитів тимусу щурів. При визначенні залежності активності 5-ліпоксигенази від концентрації субстрату показано, що активність ферменту зростає з підвищенням концентрації субстрату, досягаючи максимуму при 2-2,3 х 10-4 моль/л як для лімфоцитів селезінки, так і тимусу.

Висновки. Активність ліпоксигенази значною мірою залежить від приналежності до певного субпопуляційного типу, кожний з яких характеризується своїм спектром продуктів метаболізму арахідонової кислоти, здатних контролювати активність ферменту. Можливо, що нижча активність ферменту у лімфоцитах тимусу обумовлена вмістом продуктів циклооксигеназної реакції, так як доведено, що в культурі клітин тимусу постійно і спонтанно продукуються простагландини, які є ліпідним медіатором запального процесу у початковій фазі імунної відповіді при розвитку обструктивних захворювань легень.

Мальцев Д.В.

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ІЗОПРИНОЗИНУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ РЕАКТИВОВАНІЙ TTV-ІНФЕКЦІЇ У ЛЮДЕЙ

Інститут експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця

Вступ. Хронічна реактивована TTV-інфекція може бути причиною синдрому хронічної втоми, органних уражень та автоімунних ускладнень в імуноскомпрометованих пацієнтів. Наразі бракує ефективних і доступних антивірусних ліків при цій інфекції. Ізопринозин є відносно дешевим і добре відомим антивірусним препаратом із широким спектром противірусної активності. Видається доцільним апробація цього препарату при клінічно маніфестних формах хронічної реактивованої TTV-інфекції у людей.

Матеріали і методи. За період з 2018 по 2021 роки ізопринозин отримало 58 осіб з клінічно маніфестними формами хронічної реактивованої TTV-інфекції (досліджувана група). Пацієнти були віком від 19 до 57 років, 39 жінок і 19 чоловіків. Діагноз хронічної реактивованої TTV-інфекції виставляли за результатами ПЛР лейкоцитів крові (відділ нейробіохімії Інституту нейрохірургії імені Ромоданова). Ізопринозин призначали в дозі 3000 мг/добу

(по 2 табл. по 500 мг тричі на добу з рівномірними інтервалами часу) протягом 1 місяця поспіль. Контрольну групу склали 21 особа подібного вікового і гендерного розподілу з хронічною реактивованою TTV-інфекцією, які не приймали противірусного лікування. Отже, порівнювали ефект ізопринозину на вірусну активність з природнім перебігом інфекції. Статистичну обробку матеріалу здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики з розрахунком Т-критерію Ст’юдента (параметричний критерій) та числа знаків Z за Урбахом (непарамеричний критерій).

Результати та їх обговорення. В досліджуваній групі усунути ДНК TTV з лейкоцитів крові в кінці курсу терапії за даними ПЛР вдалося лише в 3 осіб, а знизити кількість вірусних часток у пробі принаймні на третину – ще у 7 осіб. В інших пацієнтів (48 осіб) вірус або зберігав свою активність, або навіть відзначалося деяке підвищення вірусного навантаження, сформованого TTV. В контрольній групі зникнення ДНК TTV з лейкоцитів крові в кінці курсу спостереження за даними ПЛР відзначалося лише у 1 випадку, а вірогідне зниження вірусної активності – ще у 6 пацієнтів. У 14 інших осіб контрольної групи не відзначено позитивної динаміки результатів ПЛР лейкоцитів крові. Отже, в даному контрольованому дослідженні не отримано вірогідних відмінностей в результатах ПЛР лейкоцитів крові в досліджуваній і контрольній групах в кінці періоду спостереження за даними як параметричного, так і непараметричного критеріїв ($p<0,05$; $Z<Z0,05$).

Висновки. Ізопринозин – неефективний засіб в лікуванні хронічної реактивованої TTV-інфекції у людей, оскільки не змінює природній перебіг інфекції. Можливо, має місце індивідуальна позитивна реакція на препарат в окремих пацієнтів, однак ці досягнення не можна екстраполювати на загальну групу, що не дозволяє рекомендувати ізопринозин до рутинного призначення в клінічній практиці за вказаним показом.

НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

ТРЕТІЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ФОРУМ ІМУНОЛОГІВ, АЛЕРГОЛОГІВ, МІКРОБІОЛОГІВ ТА СПЕЦІАЛІСТІВ КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ, ПРИСВЯЧЕНИЙ 135-РІЧЧЮ ДУ «ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

20-21 травня 2021 року
м. Харків

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ

[1]Понятовський В.А., [2]Лясковський Т.М., [3]Лютко О.Б., [1]Широбоков В.П.

ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІОФАГІВ ПРИ ІНФЕКЦІЯХ ОПОРНО-РУХОВОГО АПАРАТУ

[1]Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

[2]Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ, Україна

[3] ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ, Україна

Антибіотикорезистентні бактерії становлять головну медичну проблему, яка призводить до важких випадків захворюваності, смертності та значних економічних витрат. Інфекційні ускладнення – це одна з найбільш вагомих проблем, з якою стикаються сьогодні вчені та клініцисти в ортопедичній галузі. Їх рівень після ортопедичних операцій неухильно зростає, що пов'язано з рядом причин: збільшення кількості планових операцій з заміщення суглобів та кількості оперативно пролікованих переломів, важкі травми з відкритими переломами, збільшення частоти появи антибіотикорезистентних штамів, що виділені від хворих ортопедо-травматологічного профілю, наявність непоодиноких випадків внутрішньо-лікарняних інфекцій, що призводить до обтяження лікування та ін. Досить гостро постає питання розвитку біоплівкоутворюючої інфекції, яка пов'язана із застосуванням різних імплантів.

Фаготерапія – використання вірусів бактерій для специфічного лікування інфекційних хвороб, що практикується у світі більше 100 років. Застосування фагів з лікувальною метою в багатьох випадках використовується для терапії хронічних бактеріальних інфекцій, які найчастіше є толерантними до антибіотикотерапії. В умовах in vitro та *in vivo* було показано, що бактеріофаги ефективні у відношенні мульти-, екстремально- та панрезистентних бактерій, також вони активні у відношенні біоплівкоутворюючих штамів мікроорганізмів.

Нами було досліджено спектр збудників, що викликали інфекційні ускладнення у пацієнтів з травмами та патологією опорно-рухового апарату. Матеріалом для дослідження слугували вміст нориць, ран, операційний матеріал та пунктат з суглобів. Всього було проаналізовано 73 клінічні штами мікроорганізмів. З них: 57 штамів – *Staphylococcus aureus* (78%), 1 – *Klebsiella aerogenes* (1,8%), 2 штами – *Klebsiella pneumoniae* (3,5 %), 1 – *Klebsiella oxytoca* (1,8%), 8 – *P. aeruginosa* (14,0%) та 4 – E.coli (7,0%).

При визначенні чутливості ізольованих клінічних штамів мікроорганізмів до антибіотиків дискодуфузійним методом та аналізі отриманих результатів було встановлено, що 1 з дослідженої групи штамів був резистентний до всіх використаних антибактеріальних засобів, 4 штами – резистентні до 5 груп антибіотиків, 2 штами – до чотирьох груп, 1 штам – до 3 груп, 14 штамів – до 2 груп та 16 штамів – до представників однієї групи антибіотиків. 6 із 57 штамів *Staphylococcus aureus* (10,5%) за фенотиповими властивостями були віднесені в групу метицилінрезистентних (MRSA).

Ізоляцію бактеріофагів проводили з використанням класичних мікробіологічних методів. Матеріалом для дослідження виступали стічні води. Було виділено, очищено та накопичено 30 штамів бактеріофагів, які проявляли специфічну активність у відношенні до раніше виділених бактерій. 16 штамів бактеріофагів були активні у відношенні *Staphylococcus aureus*, 7 лізували *P. aeruginosa*, 2 штами – *Klebsiella pneumoniae*, по одному штаму до *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella aerogenes* та 3 штами – *E.coli*. Приготовлені коктейлі на основі виділених бактеріофагів активно лізували всі бактерії, включаючи антибіотикорезистентні штами. Спостерігалася специфічна активність

у відношенні MRSA та панрезистентного штаму *P. aeruginosa*. Не була зафіксована перехресна резистентність у мікроорганізмів між антибактеріальними засобами та бактеріофагами, що дозволяє їх використовувати як поодинці, так і в необхідних комбінаціях.

Проведені попередні експериментальні дослідження дозволяють зробити висновок, що препарати на основі бактеріофагів мають значну перспективу для використання їх в ортопедії та травматології з метою лікування інфекційних ускладнень, що викликані резистентними мікроорганізмами.

Осолодченко Т.П., Андреєва І.Д., Завада Н.П., Рябова І.С.

РЕЗУЛЬТАТИ ПЕРВИННОГО МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГУ ЕКСТРАКТІВ РОСЛИННИХ ПОЛІФЕНОЛІВ ТА ЇХ МОДИФІКОВАНИХ ПОХІДНИХ

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

Проведено первинний мікробіологічний скринінг 81 екстракту рослинних поліфенолів та 315 екстрактів модифікованих похідних кверцетину. Поліфенольні сполуки були екстраговані з деревини, навколоплідників та сухих плодів абрикосу звичайного, лози та листя винограду культурного, деревини, листя та плодів малини звичайної, слані лишайнику, деревини та листя смородини чорної, деревини та листя вишні звичайної, гілок з бруньками верби прутовидної, деревини та плодів шипшини собачої, листя шпинату городнього, листя евкаліпту прутовидного. Екстракцію фенольних сполук проведено за допомогою етанолу різних концентрацій, води або хлористого метилену. Кверцетин екстраговано з навколоплідників абрикосу звичайного, з листя та лози винограду культурного, з деревини та листя вишні звичайної, малини звичайної та смородини чорної. Екстрагування природного кверцетину проведено 96% етанолом. Вивчалися зразки з вмістом кверцетину 1,0%, 2,0% та 5,0% у сухому залишку. Досліджено вплив на ступінь протимікробної активності модифікації кверцетину, а саме його формалювання та сукцилювання різного ступеню. Частину зразків модифікованого кверцетину піддавали додатковій модифікації шляхом з’єднання з амінокислотами лізином та аргініном. Визначення вмісту екстрактивних речовин у витяжках проведено спектрофотометричним методом. Для мікробіологічних досліджень використані тест-штами *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. vulgaris* ATCC 4636, *C. albicans* ATCC 885-653. Антимікробну активність досліджуваних зразків визначали дифузійним методом «колодязів» з вимірюванням діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів.

За результатами первинного мікробіологічного скринінгу 81 зразка екстрактів поліфенолів, вилучених з рослинної сировини, доведено їх переважно помірний протимікробний ефект стосовно досліджених тест-штамів мікроорганізмів. Найактивнішими виявились екстракти з навколоплідників абрикосу звичайного (екстрагенти 70,0% та 96,0% етанолу в комбінації з соляною кислотою); екстракти лишайників після другої екстракції (екстрагенти етанол різних концентрацій, вода та хлористий метилен); екстракти з деревини та листя малини (екстрагент вода з твіном-80); цілісні екстракти з лози та листя винограду, з листя евкаліпту прутовидного, з гілок з бруньками верби прутовидної, з деревини та листя смородини чорної, деревини та листя вишні звичайної (екстрагент етанол 96,0%). За результатами первинного мікробіологічного скринінгу 315 зразків кверцетину та його модифікованих похідних встановлено переважно помірну чутливість досліджених тест-штамів мікроорганізмів стосовно немодифікованого, формальованого та сукцильованого кверцетину різних концентрацій. Найактивнішими за протимікробною дією виявились різновиди модифікованого кверцетину, додатково модифіковані амінокислотами. Переважна більшість з них проявили високу протимікробну активність стосовно тест-штамів грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus* ATCC 25923, B. subtilis ATCC 6633). Стосовно грамнегативних мікроорганізмів найактивнішими виявились сукцильовані екстракти кверцетину, модифіковані амінокислотами, вилучені з листя та лози винограду культурного, деревини малини звичайної (*E. coli* ATCC 25922), з деревини вишні звичайної і смородини чорної (*E. coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853) та листя смородини чорної (E. coli ATCC 25922, *P. vulgaris* ATCC 4636, *P.aeruginosa* ATCC 27853). Антикандидозна активність усіх зразків кверцетину та його модифікованих похідних виявилася помірною.

Результати первинного мікробіологічного скринінгу рослинних поліфенолів та їх модифікованих похідних доводять доцільність поглибленого вивчення спектру та ступеню протимікробної активності найактивніших речовин з метою розробки на їх основі нових протимікробних засобів.

АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ

Редакція журналу «Імунологія та алергологія» закликає авторів до активної творчої співпраці.
Ми просимо уважно вивчити всі наведені нижче типові положення. Ретельне дотримання цих вимог значно скоротить правку авторського тексту у всіх його елементах, полегшить Вашу і нашу роботу, прискорить публікацію Ваших матеріалів. Наші вимоги поступово будуть наближатись до міжнародних відповідних рекомендацій.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Всі статті повинні бути оригінальними, а рукописи узгоджені з усіма авторами. Попередня публікація наданих матеріалів в будь-якому виданні, як в цілому, так і частково, за виключенням оформлення у вигляді тез, не допускається. Також ці матеріали не повинні подаватися до друку в інші видання і передруковуватися в цілому або частково без письмового дозволу видавництва.

Якщо в роботі використовуються ілюстрації, таблиці та інші матеріали, що були опубліковані іншими дослідниками, автору необхідно подати дозвіл на їх публікацію.

Матеріал, надісланий для публікації, повинен мати експертне заключення. Мова статей українська, російська або англійська.

Рукописи будуть прийматись на розгляд рецензентами та видавниками. Рукописи, які мають потребу в значних змінах в процесі рецензування, будуть повернені авторам для доробки.

Редакція не несе відповідальності за допущені авторами помилки.

Якщо редакція вважає, що в статті є прихована реклама, вона залишає за собою право скласти з автором угоду на додаткову оплату. Обсяг статей необмежений, але редакція залишає за собою право на скорочення матеріалу при обсязі більше 20 сторінок машинопису чи його вміщення в кількох номерах журналу.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

Стаття до редакції подається у 2-х примірниках з 2 наборами ілюстрацій, з текстом, надрукованим через 2 інтервали на одному боці стандартного листа А4 (210х 197 мм) з полями по 3 см з усіх боків. Нумерувати всі сторінки рукопису необхідно послідовно, починаючи з титульного аркуша.

1. Титульний аркуш.

Назва (великими літерами), повне ім'я (імена) авторів, назва установи, де виконана робота, та її точна поштова адреса, повна адреса автора, якому буде надсилатись кореспонденція. При бажанні — телефон/факс для спілкування.

*Якщо Ви готуєте матеріал на комп'ютері, просимо робити це на CD-диску, вказавши назву та версію текстового редактора (бажано **Win Word 2000** та **XP**). Ілюстрації, розроблені на комп'ютері, приймаються в TIFF форматі з роздільною здатністю 300 dpi. Додатково до CD-диску повинен обов'язково надсилатись друкований матеріал статті.*

2.УДК

***3. Резюме.** Кожна стаття повинна мати резюме, яке складається з наступних розділів - Мета роботи, Матеріали і методи, Результати, Висновки. Рукописи супроводжуються резюме українською, російською та англійською мовами. Всі резюме повинні мати переклад назви статті, прізвища автора (авторів), назви установи.*

***4. Текст статті**, враховуючи міжнародні вимоги оформлення (для коротких повідомлень (менше 5 стор.) - необов'язково) повинен мати наступну схему викладення:*

Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Література.

Вступ — *повинен відображати суть дослідження і пояснювати його актуальність.*

Матеріали та методи — *містять суттєві деталі, в тому числі опис проведеного експериментального дослідження, методи статистичного обчислювання результатів.*

Результати — *в них треба відобразити основні дані, що були отримані в результаті проведеного дослідження. Результати не повинні містити обговорення отриманих даних.*

Обговорення та висновки — *не повинно бути повторення розділу Результати, а представити отримані дані в більш широкому вигляді з використанням робіт інших авторів на цю тему.*

Література — *всі джерела літератури, на які робляться посилання в тексті статті (повинні бути надруковані в [ ] дужках), мають бути надані в списку літератури послідовно, як вони зустрічаються в тексті статті. Приклади оформлення списку літератури наводимо нижче згідно вимог ВАКу (див. Бюлетень ВАК України. 2008. №3).*

Список літератури:

Приклади оформлення

Монографії (один, два або три автори)

Суберляк О. В. Технологія переробки композиційних матеріалів: підруч. [для студ. вищ. навч. закл.] / О. В. Суберляк, П. І. Баштан. - Львів : Растр-7, 2007. - 375 с.

П'ять та більше авторів

Формування здорового способу життя: навч.-метод. посіб. для працівників соц.служб/ [Т. В. Бондар, О. Г. Карпенко, та ін.].- К.: Укр. ін-т соц. дослідж., 2005.- 115 с. - (Серія «Здоровий спосіб життя»: у 14 кн., кн. 13).

Колективний автор

Проблеми типологічної та квантитативної лексикології: [зб. наук.праць / наук. ред. Каліущенко В. та ін.]. - Чернівці: Рута, 2007. - 310 с.

Багатотомні видання

Кучерявенко Н.П.Курс налогового права: Особенная часть: в 6 Т./Н.П. Кучерявенко.-Х.: Право, 2002. - Т.4: Косвенные налоги.- 2007.-534с.

Перекладні видання

Акофф Р. Л. Идеализированное проектирование/ Акофф Р.Л.,; пер.с англ. Ф.П.Тарасенко. — Днепропетровск: Баланс Бизнес Букс, 2007. — XLIII, 265 с.

Стандарти

Якість води.Словник термінів:ДСТУ ISO 6107-1:2004-ДСТУ ISO 6107-9:2004.- [Чинний від 2005-04-01].-К.:Держспоживстанд арт України,2006.-IV,231 с.-(Національний стандарт України).

Збірки наукових праць

Социологическое исследование малых групп населения / В. И. Иванов [и др.] ; М-во образования Рос. Федерации, Финансовая академия. – М., 2002. – 110 с. – Деп. в ВИНИТИ 13.06.02, № 145432.

Складові частини книги

Козіна Ж. Л. Теоретичні основи практичного застосу-вання системного аналізу в наукових дослідженнях в області спортивних ігор / Ж. Л. Козіна // Теорія та методика фізичного виховання. — 2007. — № 6. — С.15-18.

Тези доповідей

Оцінка ресурсу елементів конструкцій: праці конф., 6-9 черв. 2000 р., Київ. Т. 2 / відп. Ред. В. Т. Трощенко. — К. : НАН України, Ін-т пробл. міцності, 2000. — С. 559-956, XIII, [2] с. — (Ресурс 2000).

Таблиці та ілюстрації

Нумеруються арабськими цифрами і виконуються на окремих листках. Таблиці повинні мати заголовок, а графіки, малюнки і мікрофотокартки — підписи, виконані на окремому аркуші (аркушах), які чітко відображують суть ілюстрації. Якщо в тексті приведено збільшення об'єкта, то його необхідно приводити в дужках, наприклад (х500), а в кінці напису — «...волокна х 46000». Для передрукування мікрофотокарток необхідні оригінальні, хорошої якості фотокартки; негативи та фотокопії не використовуються. На звороті кожної ілюстрації вкажіть її номер, імена авторів і верхній та нижній край. Графіки та малюнки повинні бути надані у вигляді чітких глянцевих фотокарток або виконані на окремому аркуші. Розміщення в тексті відповідної ілюстрації вкажіть на лівому полі в квадраті з номером ілюстрації.

Хімічні формули

Всі хімічні формули та схеми з них вписують від руки пастою чорного кольору. Хімічні формули публікації (крім найпростіших, типу HCl, H2504) і схеми реакцій нумерують арабськими цифрами в дужках і подають після кінця абзацу з посиланням на них. Порядкові номери одиничних формул проставляють під формулою, номери схем — на правому краї формату.

Статті, оформлення яких не відповідає вказаним правилам, повертатимуться авторам без розгляду редакції.

СТАТТІ НАДСИЛАТИ ЗА АДРЕСОЮ:
04053, м. Київ, вул. В.Винниченка, 9^{А},
Інститут урології АМН України проф. Дранніку Г. М.
info@immunology.org.ua

Підписано до друку 21.05.2021. Формат 60х84$^{1}/_{8}$. Папір офсетний. Друк офсетний.
Ум. арк. 8,40. Наклад 500. Замовл. № 210521.

НОТАТКИ

НОТАТКИ

Трансфер Фактор –
УЛУЧШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Центр 4Life Трансфер Фактор UA:
Киев, ул. Терещенковская, 13, оф.22,
Тел.: 097-, 095-, -063, - 113-14-15.
www.transferfactor.in.ua

ALEX² АЛЕРГОЛОГІЧНИЙ ПАСПОРТ ПАЦІЄНТА

1 крапля крові > **48** годин перевірка > на **295** відомих алергенів

Офіційний представник в Україні
АЛЕКС діагностика
macroarraydx.com.ua
+38 (044) 334 51 03

ALEX² ALLERGY EXPLORER