

Халтурина Евгения Олеговна

**ИНТЕГРАЦИОННАЯ ПРОГРАММА КОРРЕКЦИИ ИММУННОЙ
СИСТЕМЫ В ЛЕЧЕНИИ ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ
ПАЦИЕНТОВ С АТИПИЧНЫМИ ХРОНИЧЕСКИМИ
ГЕРПЕС-ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

3.2.7 – Иммунология (медицинские науки)

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Москва 2023

Работа выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии имени акад. А.А. Воробьева института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)», Москва, Россия

Научный консультант:

Нестерова Ирина Вадимовна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии ФНМО Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Минобрнауки России

Официальные оппоненты:

Балмасова Ирина Петровна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ ФГБОУ ВО "Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» МЗ РФ

Калинина Наталия Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики НИЦ ФГБУ «Всероссийский Центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России.

Серебряная Наталья Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией общей иммунологии отдела иммунологии ФГБНУ "Институт экспериментальной медицины" Минобрнауки России.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии" Минобрнауки России (630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14)

Защита диссертации состоится «22» декабря 2023 г. в «15:00» часов на заседании РДС 0300.006 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Минобрнауки России по адресу 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Минобрнауки России (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, на сайтах <https://www.rudn.ru/science/dissovet> и <https://vak.minobrnauki.gov.ru>

Автореферат разослан « » _____ 2023 года

Секретарь диссертационного совета РДС 0300.006

Кандидат исторических наук

Лилиана Валерьевна Дробышева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность исследования

Характерной особенностью последнего десятилетия является стремительно прогрессирующее увеличение количества факторов, влияющих на возникновение, развитие, течение и исход инфекционных заболеваний и, в частности, герпесвирусных инфекций как наиболее распространенных инфекций в популяции людей, уступающих пальму первенства лишь возбудителям ОРВИ и гриппа [Викулов Г.Х., 2015; Aria A. 2016; Rathbun M.M. 2021]. По данным Европейского Бюро ВОЗ ежегодный неуклонный рост числа герпесвирусных инфекций принимает характер пандемии [Исаков В.А, 2015; В.М. Jacobs, 2020; Zhu S. 2021]. В настоящее время установлено, что герпесвирусные инфекции относятся к неуправляемым заболеваниям и рассматриваются как системные заболевания – герпетические болезни, инфекции иммунной системы [Халдин А.А, 2010; Викулов Х.Г, 2015]. Весьма тревожной является наблюдаемая тенденция к увеличению количества атипичных, хронических активных форм герпесвирусных инфекций (АХА-ГВИ), а также к развитию коинфицирования [Балмасова И.П., 2018; Соломай Т.В., 2019; Shikova E., 2020]. По информации открытых источников эпидемиологические данные о распространённости и частоте возникновения атипичных хронических активных форм герпес-вирусных инфекций весьма немногочисленны и варьируют в широком диапазоне – 15-75%, причем наблюдаемый разброс частоты встречаемости моно, микст и ко-инфекций у взрослых оказывается гораздо шире (15–75%), чем в подростковом возрасте (9–15%) [Михнева С.А. 2018; Соломай Т.В, 2018; Каира А.Н. 2022]. Основной причиной такого широкого разброса данных является сложность постановки и верификации диагноза АХА-ГВИ в связи с наличием большого количества «клинических масок» течения этих инфекций, выраженной коморбидностью, зачастую сопровождающейся возникновением ко-инфекций, вызывающих поражение барьерных органов и тканей вследствие дисрегуляции иммунной системы в целом и мукозального иммунитета в частности, формируя состояние иммунокомпрометированности [Tyring S.K 1998; Нестерова И.В, 2020, 2021, 2022]. Исследования последних лет показали участие и значительную роль герпесвирусов в развитии нейроиммуновоспаления, лежащего в основе таких клинических синдромов и нозологических форм заболеваний как синдром хронической усталости с явлениями миалгического миелоэнцефалита (СХУ/МЭ), синдром мягкого когнитивного снижения амнестического типа (aMCI), синдром Рамсея Ханта, рассеянный склероз и т.д. [Калинина Н.М., 2011; Fujiwara S., 2020; Nacul L., 2021]. Пациенты с атипичным хроническим активным течением герпес-вирусных инфекций представляют собой достаточно гетерогенную группу, которая требует не только верификации диагноза, но и уточнения причин атипичного течения инфекции, выявления провоцирующих факторов, детализации наследственной предрасположенности и особенностей анамнеза заболевания, клинических проявлений и характера течения, определения дефектов функционирования основных звеньев системы противовирусной иммунной защиты, системы интерферонов, цитокиновой сети [Goodwin C.M 2018; Fujiwara S., 2020; Smith J.V. 2022; Нестерова И.В, 2022]. В связи с вышеизложенным, научный поиск, направленный на выявление и уточнение особенностей функционирования противовирусной иммунной защиты пациентов, страдающих АХА-ГВИ, является чрезвычайно актуальным направлением, которое позволит разработать новые подходы и технологии восстановления адекватного функционирования иммунной системы пациентов с АХА-ГВИ.

Степень разработанности темы исследований

В России зарегистрировано 18-20 млн больных герпес-вирусными инфекциями (ГВИ) [Соломай Т.В, 2021]. Рецидивирующими формами герпетической инфекции страдает от 10 до 30 % населения, а ежегодный прирост равен 15-17% [Ariza M.E, 2021]. Однако структурированная информация о реальных масштабах эпидемического процесса герпесвирусных инфекций отсутствует, что связано не только с многообразием фенотипов вызываемых ими нозологических форм, но и с особенностями регистрации заболеваемости этими инфекциями в Российской Федерации. Официальной регистрации подлежат только манифестные формы генитального герпеса, ветряной оспы и опоясывающего лишая, инфекционного мононуклеоза (при этом более 90% случаев вызваны ВЭБ, остальные – иными герпесвирусами) и цитомегаловирусной инфекции, в то время как большая или даже основная часть случаев инфицирования, протекающих зачастую бессимптомно или латентно, остается неучтенной [Михнева С.А, 2018]. Наибольшую опасность представляют атипичные, хронические активные формы этих инфекций и вызываемые ими осложнения, которые часто возникают в результате длительного активного течения этих инфекций, являются причинами инвалидизации и смертности пациентов [Dayan R.R. 2017; Нестерова И.В. 2022]. Однако, эпидемиологии и изучению этой формы герпесвирусных инфекций уделено незаслуженно мало внимания. Первые упоминания об этой особой форме инфекции, вызываемой герпесвирусами, относятся к 80-90-м годам прошлого столетия [Tyding S.K., 1998]. Дальнейшие исследования этой формы ГВИ показали, что основной проблемой, возникающей при столкновении организма человека с различными представителями этого семейства, а особенно с ВЭБ, является наличие дефектов в системе интерферонов и нарушения в иммунной системе по типу иммунодефицита, которые могут носить как врожденный, генетически обусловленный, так и вторичный — приобретенный характер [Stahlman S., 2019; Rouse V.T. 2022]. Различными авторами описаны нарушения функционирования иммунной системы, дисбаланс цитокиновой сети, системы интерферонов, характерные для пациентов с атипичными хроническими герпесвирусными инфекциями, однако имеющиеся данные разрозненны [Марданлы С.Г., 2017; Нестерова И.В, 2022; Татаурщикова Н.С, 2023]. В настоящее время не существует единого методологического подхода к диагностике, лечению и профилактике этих форм инфекций, отсутствуют четкие критерии и клинико-лабораторные алгоритмы диагностики, эффективные схемы терапии пациентов с АХА-ГВИ. Насущной проблемой является разработка эффективных подходов к профилактике рецидивов АХА-ГВИ, создание технологий коррекции дефектного функционирования системы противовирусной защиты, а также профилактика развития ко-инфицирования, в основе которого лежат иммунопатогенетические механизмы, связанные с особенностями дефектного функционирования системы противовирусной иммунной защиты, а также особенности взаимодействия ко-инфицирующих агентов друг с другом.

Именно поэтому проблема атипичных хронических активных герпес-вирусных ко-инфекций требует разработки иммунопатогенетически обоснованной дифференцированной локальной и системной иммунотерапии, что позволит улучшить эффективность комплексной реабилитации иммунокомпromетированных пациентов с АХА-ГВИ. В связи с этим разработка такой программы является весьма актуальным направлением научных и клинических исследований.

Концепция

На фоне различных нарушений функционирования иммунной системы и системы интерферонов, дисбаланса цитокиновой сети, у пациентов с атипичными хроническими активными герпес-вирусными инфекциями имеют место клинические проявления иммунокомпрометированности, требующие применения иммунопатогенетически обоснованной дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, включенной в программу интеграционной коррекции иммунной системы. Этот подход позволит улучшить эффективность лечения иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ и будет способствовать выходу этих пациентов в длительную клиническую ремиссию на фоне восстановления адекватного функционирования иммунной системы и системы ИФН: регрессу симптомов тяжелого СХУ/МЭ и когнитивных расстройств, восстановлению концентрации внимания, памяти и работоспособности, повышению качества жизни и улучшению социальной адаптации пациентов.

Цель исследования

разработать интеграционную программу коррекции иммунной системы для иммунокомпрометированных пациентов с атипичными хроническими активными герпес-вирусными инфекциями на базе проведения экспериментального и комплексного клинко- иммунологического исследования.

Задачи исследования

1. Провести ретроспективное исследование для выявления особенностей клинических проявлений АХА-ГВИ и на этой основе разработать клинические критерии иммунодефицита, характерные для этого заболевания.

2. Изучить особенности этиологии и частоты встречаемости моно- и микст вариантов герпесвирусных инфекций с выявлением доминирующего вируса у пациентов с АХА-ГВИ.

3. Уточнить особенности иммунопатогенеза АХА-ГВИ на базе изучения нарушений функционирования основных механизмов противовирусной иммунной защиты с последующей характеристикой различных патологических иммунофенотипов.

4. Изучить особенности функционирования системы нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с АХА-ГВИ с оценкой их количества, уточнением фенотипических характеристик, определением плотности экспрессии функционально значимых мембранных рецепторов в сопоставлении с экспрессией ядерного фактора NF-κB.

5. В экспериментальной системе *in vitro* изучить влияние иммуотропных субстанций гексапептида, рекомбинантного интерферона α2b и глюкозаминилмурамилдипептида на негативно трансформированный фенотип нейтрофильных гранулоцитов, количество нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих NF-κB, мембранные рецепторы IFNαβR и IFNγR .

6. Разработать алгоритм клинко-лабораторной диагностики с учетом выявленных клинко-иммунологических особенностей АХА-ГВИ, включающий созданные *de novo* диагностические и прогностические критерии.

7. Создать интеграционную программу коррекции иммунной системы для пациентов, страдающих АХА-ГВИ, с учетом уточненного иммунопатогенеза, особенностей выявленных патологических иммунофенотипов и ассоциированных с ними клинических проявлений, включающую в том числе проведение дифференцированной для каждого патологического иммунофенотипа программу комбинированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии.

8. На базе проведения проспективного когортного исследования оценить клинико-иммунологическую эффективность разработанной интеграционной программы коррекции иммунной системы для пациентов с АХА-ГВИ с учетом влияния дифференцированной для каждого патологического иммунофенотипа и ассоциированных с ним клинических проявлений, таргетной интерферно- и иммуномодулирующей терапии.

9. Разработать тактику проведения интеграционной программы коррекции иммунной системы, включающую применение дифференцированной таргетной интерферно- и иммуномодулирующей терапии, ориентированной на выявленные варианты различных патологических иммунофенотипов и ассоциированных с ними клинических особенностей АХА-ГВИ.

Научная новизна исследования

1. Впервые у пациентов с АХА-ГВИ показаны преобладающие клинические варианты проявлений иммунодефицита и, на этой основе, разработаны новые критериальные клинические признаки иммунокомпromетированности I и II порядка, учитывающие в т.ч. степень тяжести синдрома хронической усталости и комплекс различных когнитивных нарушений.

2. Продемонстрированы впервые ассоциированность АХА-ГВИ с другими иммунозависимыми заболеваниями: инфекционно-воспалительными в 63,5% случаев, аллергическими -50,8%, аутоиммунными – в 8,1 %, а также с дисбиотическими расстройствами – 39,4%. Признаки СХУ/МЭ выявлены у 100 % пациентов с АХА-ГВИ.

3. Получены новые данные об особенностях вариативных нарушений функционирования основных механизмов противовирусной иммунной защиты при АХА-ГВИ: дефицит цитотоксических Т-лимфоцитов, дефицит ЕКК и/или ЕКТ, дефицит сывороточных ИФНа, ИФН γ и дефекты их индуцированной продукции, гиперпродукция сывороточных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α , что позволило уточнить иммунопатогенез заболевания.

4. На основе выявления различных вариантов нарушений противовирусной иммунной защиты впервые при АХА-ГВИ выделены патологические иммунофенотипы с уточнением характерных для каждого иммунофенотипа лабораторных и критериальных признаков I и II порядка.

5. В эксперименте *in vitro* впервые показаны статистически значимые иммуномодулирующие эффекты различных иммунотропных субстанций: глюкозаминилмурамилдипептид, гексапептид и рекомбинантный IFN α 2b на негативно трансформированный фенотип нейтрофильных гранулоцитов пациентов с АХА-ГВИ с оценкой их иммунотерапевтического потенциала.

6. Впервые при проведении экспериментальных исследований *in vitro* показаны особенности экспрессии ядерного фактора NF-kB у пациентов с АХА-ГВИ в сопоставлении с различными нарушениями экспрессии мембранных рецепторов IFN α | β R и IFN γ R нейтрофильных гранулоцитов, продемонстрировано позитивное иммуномодулирующее влияние субстанций гексапептида и рекомбинантного (рекИФН α 2b), на количество нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих NF-kB, мембранные рецепторы IFN α | β R и IFN γ R и уровень их экспрессии.

7. Создана иммунопатогенетически обоснованная интеграционная программа коррекции иммунной системы пациентов, страдающих АХА-ГВИ и различными сопутствующими иммунозависимыми заболеваниями, продемонстрировавшая в проспективном когортном исследовании статистически значимую позитивную клинико-иммунологическую эффективность.

8. С учетом выявленных у пациентов с АХА-ГВИ патологических

иммунофенотипов, ассоциированных с различными вариантами клинических проявлений, впервые разработаны тактические приемы проведения интеграционной программы коррекции иммунной системы и дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, точно направленные на коррекцию различных дефектов функционирования иммунной системы.

9. Разработан новый алгоритм комплексной лабораторной диагностики, в т.ч., иммунодиагностики АХА-ГВИ.

10. Впервые разработан новый алгоритм проведения иммунопатогенетически обоснованной локальной и системной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, включенной в интеграционную программу коррекции иммунной системы, с учетом выявленных клинико-иммунологических вариантов течения АХА-ГВИ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость настоящего исследования заключается в том, что установлены неизвестные ранее особенности иммунопатогенеза АХА-ГВИ у иммунокомпromетированных пациентов. Уточнены моно- или комбинированные нарушения функционирования противовирусной иммунной защиты. С одной стороны выявлен количественный и функциональный дефицит цитотоксических Т-лимфоцитов, естественных киллерных клеток, ЕКК-подобных Т-лимфоцитов, негативная трансформация функционально значимого фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов, дефекты в системе интерферонов: дефицит сывороточного и индуцированного ИФН α и/или дефицит сывороточного и индуцированного ИФН γ . Вышеперечисленные нарушения противовирусной иммунной защиты вариативны и встречаются в различных комбинациях, что позволило выявить три патологических иммунофенотипа.

Показано, что на фоне различных патологических иммунофенотипов у пациентов с АХА-ГВИ присутствует атипичность течения хронических герпесвирусных инфекций: возникают рецидивирующие или упорно рецидивирующие ВПГ1, ВПГ2, рекуррентные ОРВИ, отмечается высокая репликативная активность моно- или микст ВЭБ, ВЧГ6, ЦМВ с доминированием ВЭБ. Постоянная репликативная активность моно- или микст-герпетических инфекций обуславливает дополнительное повреждающее воздействие на состояние противовирусной иммунной защиты. С другой стороны установлено, что у пациентов с АХА-ГВИ имеет место значимое повышение уровней сывороточных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α на фоне дефицита ИФН α и ИФН γ , что ассоциировано с нейроиммуновоспалительными процессами, клинически проявляющимися синдромом хронической усталости, миалгическим энцефаломиелитом (СХУ/МЭ) и когнитивными расстройствами. Уточнена связь между высокими уровнями ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α на фоне дефицита ИФН α и ИФН γ и выраженностью тяжести СХУ/МЭ у пациентов до проведения дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии. После проведения курса таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии наблюдается статистически достоверная регрессия проявлений симптомов СХУ и миалгического энцефаломиелита на фоне статистически значимого снижения уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α и возрастания рецепторного антагониста - ИЛ-1Ra. Кроме того, в ряде случаев у иммунокомпromетированных пациентов с АХА-ГВИ на фоне иммунного дисбаланса и иных нарушений функционирования иммунной системы: высокий уровень сывороточного IgE и различных специфических IgE, нарушений аутоиммунитета (аутоантитела к ганглиозидам, фосфолипидам, ядерным антигенам), имеют место

другие сопутствующие иммунозависимые болезни: аллергические или аутоиммунные заболевания.

Получение новых данных об иммунопатогенезе АХА-ГВИ позволило разработать иммунопатогенетически обоснованную программу интеграционной коррекции иммунной системы с включением дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии оптимальной для пациентов с различными патологическими клинико-лабораторными иммунофенотипами и в результате получить позитивную клинико-иммунологическую эффективность у пациентов с АХА-ГВИ.

Поскольку трансляционная иммунология — это процесс использования иммунологических открытий для разработки практических решений человеческих проблем и в результате для обеспечения высокой эффективности оказания медицинской помощи, то значимость нашего исследования в рамках трансляционной иммунологии следующая: новые данные об иммунопатогенезе АХА-ГВИ послужили основой для создания программы интеграционной коррекции иммунной системы, обладающей высокой клинико-иммунологической эффективностью, и таким образом на базе получения новых научных данных разработано практическое решение актуальной проблемы лечения пациентов с АХА-ГВИ.

Практическая значимость работы заключается в следующем:

- Впервые описаны три патологических клинико-лабораторных иммунофенотипа, характерные для пациентов с АХА-ГВИ, что способствует оптимальному выбору дифференцированной таргетной интерфероно- и иммунотерапии для каждого патологического иммунофенотипа.

- Разработаны *de novo* клинические критерии иммунокомпрометированности I и II порядка, научно обоснована необходимость их использования для интегральной оценки состояния иммунной системы пациентов с АХА-ГВИ, статистическими методами подтверждена их высокая диагностическая значимость для пациентов, страдающих данным заболеванием.

- Создана шкала оценки степени выраженности клинических критериальных признаков иммунокомпрометированности для пациентов с АХА-ГВИ, которая позволяет выявлять основные патогномоничные признаки СХУ/МЭ, когнитивные дисфункции, количественно оценивать степень их выраженности до, во время и после проведения терапии, то есть оценивать клиническую эффективность проводимой терапии.

- Уточненные особенности иммунопатогенеза позволили разработать интеграционную программу коррекции иммунной системы у пациентов с АХА-ГВИ, включающую в себя наряду с другими терапевтически воздействиями, программы дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, что позволяет реставрировать выявленные нарушения в системе противовирусной иммунной защиты и системе интерферонов и достигать позитивной клинической эффективности.

- Созданы алгоритмы клинической и лабораторной диагностики для выявления признаков иммунокомпрометированности I и II порядка у пациентов, страдающих АХА-ГВИ, использование которых позволяет клиницистам заподозрить нарушение функционирования иммунной системы.

- Разработан для внедрения в клиническую практику интегральный индекс оценки прогноза эффективности иммунотропной терапии у пациентов с АХА-ГВИ.

- Созданы и охарактеризованы три клинико-математические модели, которые позволяют с определенной прогностической точностью оценить: наличие клинических

признаков иммунокомпрометированности, оценить принадлежность к группе с АХА-ГВИ, рассчитать прогноз эффективности иммулотропной терапии для пациентов с АХА-ГВИ. Разработаны компьютерные программы «Иммуно-скрин», «Прогноз эффективности иммулотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями» и «Скрининг атипичного, активного течения хронических герпесвирусных инфекций» как методы математического моделирования с целью решения практических задач здравоохранения: предиктивной диагностики и создания прогноза эффективности иммулотропной терапии у пациентов с АХА-ГВИ.

- Создана методология выявления и ведения пациентов с АХА-ГВИ с использованием разработанных алгоритмов диагностики и интеграционной программы коррекции иммунной системы с целью профилактики рецидивирования герпесвирусных инфекций, рекуррентных ОРВИ, аутовоспалительных, лимфопролиферативных процессов, контроля над аллергическими и дисбиотическими нарушениями, предотвращения дебюта приобретенного иммунодефицита, что позволит сохранить личный и социальный потенциал этих пациентов и приведет к восстановлению качества жизни, работоспособности, снижению процента инвалидизации.

- Получены классификационные уравнения, использованные для создания программ для ЭВМ:

- «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол «Иммуно-скрин» для скрининговой диагностики клинических признаков иммунокомпрометированности у пациентов с разными нозологическими фенотипами заболеваний. Получено авторское свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол Иммуно-скрин»; Уровень внедрения – федеральный)

- «Скрининг атипичного, активного течения хронических герпесвирусных инфекций» для скрининговой диагностики атипичного активного течения хронической герпесвирусной инфекции у пациентов, страдающих часто рецидивирующими формами хронических герпесвирусных инфекций в моно- или микст варианте. Получено авторское свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол Иммуно-скрин»; Уровень внедрения – федеральный)

- «Прогноз эффективности иммулотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями» для расчета индекса биомаркеров ИЛ-1ra/ИЛ-1 β , на основании которого определяется прогноз эффективности иммулотропной терапии для пациентов, страдающих атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями. Получено авторское свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Прогноз эффективности иммулотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями»; Уровень внедрения – федеральный)

- Полученные результаты экспериментальных исследований продемонстрировали возможность коррекции трансформированного фенотипа субпопуляций НГ при использовании таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, которая входит в интеграционную программу коррекции иммунной системы иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ.

- Разработана интеграционная программа коррекции иммунной системы у пациентов с АХА-ГВИ, включающая в себя наряду с другими терапевтически воздействиями, программы таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии,

что позволяет реставрировать выявленные нарушения в системе противовирусной иммунной защиты организма и системе интерферонов.

- Разработаны оптимизированные программы дифференцированной таргетной интерферно- и иммуномодулирующей терапии для пациентов с АХА-ГВИ, имеющих различные дисрегуляторные нарушения в иммунной системе и системе интерферонов.

Положения, выносимые на защиту

1. Пациенты, страдающие атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями, имеют клинические признаки иммунокомпрометированности и ассоциированные с ними клинические проявления СХУ/МЭ и других иммунозависимых заболеваний, в основе иммунопатогенеза которых лежит дефектное функционирование противовирусной иммунной защиты и системы интерферонов.

2. У пациентов с АХА-ГВИ имеется вариативность нарушений противовирусной иммунной защиты с различным профилем повреждений и преобладанием дефектов в системе интерферонов, нейтрофильных гранулоцитов и дефиците цитотоксических Т-лимфоцитов, ЕКК и ЕКТ, что позволило выделить три преобладающих патологических иммунофенотипа.

3. Созданная иммунопатогенетически обоснованная интеграционная программа коррекции иммунной системы пациентов, страдающих АХА-ГВИ и различными сопутствующими иммунозависимыми заболеваниями, ориентированная на разработанный алгоритм клинико-лабораторной диагностики и включающая, в т.ч., дифференцированную таргетную локальную и системную интерфероно- и иммуномодулирующую терапию, продемонстрировала позитивную клинико-иммунологическую эффективность.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Высокий уровень достоверности результатов диссертационной работы, а также обоснованность выводов определяются достаточным числом наблюдений, продуманным методическим и методологическим дизайном исследования, использованием современных иммунологических и лабораторных методов исследования, позволяющих решить поставленные задачи, а также использованием адекватных методов статистического анализа. Выводы сформулированы на основании анализа полученных автором результатов и соответствуют цели и задачам исследования. Материалы диссертации доложены и обсуждены на: Congress of Immunology (ICI) (Мельбурн, Австралия, 2016); 5th European Congress of Immunology - ECI 2018 (Amsterdam, The Netherlands, 2-5 September 2018); Sechenov international biomedical summit 2018 (Moscow, 21-23 May 2018), III конгрессе "Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания" (Москва, 16-17 ноября 2018 г); European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress (Lisbon, Portugal 01–05 June 2019), XII World Asthma, Allergy and COPD Forum. II International Conference on molecular allergology and immunology (St Peterburg, Russia June 29–July 2, 2019), Второй Московской конференции по молекулярной аллергологии (ММАМ-2019) (Москва, Россия 19 ноября, 2019), Объединённом иммунологическом форуме (г. Новосибирск, 2019); European Academy of Allergy and Clinical Immunology Digital Congress (06–08 June 2020); Smart and Sustainable Cities Online Conference (SSC-2020), (July 8 - July 10, 2020); First Molecular Allergology Congress MAC-2020 (Moscow, Russia December 1-2, 2020), VII научно-практическая школа-конференция «Аллергология и клиническая иммунология» (Сочи, Россия 01-07 октября, 2020), Втором международном конгрессе по молекулярной иммунологии и аллергологии (ИМАС 2021) (онлайн формат, 02-03 декабря 2021); World Congress of Infectious Diseases (WCID 2021) (on-line, September 09-10, 2021); Втором

международном конгрессе по молекулярной иммунологии и аллергологии (IMAC 2022) (Москва, Россия, 01-02 декабря 2021); в рамках Научного проекта по иммунологии при поддержке Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России под руководством Нестеровой И.В. «COVID 19 – болезнь-загадка 21 века: острые проблемы диагностики, профилактики и лечения» (он-лайн, 30 ноября, 2022)

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. академика А.А. Воробьева ИОЗ им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Публикации по теме исследования. По материалам диссертации опубликовано 35 печатных работ, из них 11 статей в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень журналов рекомендованных ВАК и РUDN, 15 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и Web of Science. Опубликовано 3 главы в монографиях, из которых 1 входит в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science. Получены 3 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ.

Личный вклад автора в получение результатов

Личный вклад автора состоит в разработке и непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: постановка цели, формулировка задач диссертационного исследования, определение общей концепции исследования, разработка дизайна и методологии диагностического и терапевтического этапов исследования, анализ и систематизация данных литературы, статистическая обработка результатов исследования, обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, подготовка научных публикаций и докладов, написание и оформление рукописи. Автор лично проводила сбор, обработку и анализ архивной и статистической медицинской документации, обследование, назначение терапевтических программ и наблюдение за пациентами групп исследования в амбулаторно-поликлиническом отделении клинко-диагностического центра МЕДСИ на Белорусской (г. Москва). Степень участия автора составляла 100%. Часть исследований, включающая обследование и лечение коморбидных пациентов, проводилась автором совместно с врачами клинко-диагностического центра МЕДСИ на Белорусской (г. Москва). Часть лабораторной работы была выполнена совместно с сотрудниками ФНЦ ФГБУН Институт биоорганической химии им. Ак. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории углеводов Хайдуков С.В.) и Научно-исследовательский медико-стоматологический институт Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова (д.м.н, профессор Нелюбин В. Н.). Результаты диссертационного исследования представлялись в виде докладов на научных конференциях автором лично.

Внедрение результатов исследования в практику

Материалы диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Разработанная интеграционная программа коррекции иммунной системы в комплексном лечении

иммунокомпрометированных пациентов, страдающих АХА-ГВИ, с включением персонализированных программ таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии внедрена в работу лечебно-профилактических учреждений: клинко-диагностический центр «Медси на Белорусской» (г. Москва), санаторно-курортный комплекс «ДиЛУЧ» (г. Анапа), ГБУЗ РА «ЦРБ Майкопского района» (г. Майкоп).

По материалам диссертации получены три свидетельства о регистрации программ для ЭВМ: «Прогноз эффективности иммунотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023618400 от 24.04.2023); «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол «Иммуно-скрин» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2023661138 от 29.05.2023 года) и «Скрининг атипичного, активного течения хронических герпесвирусных инфекций» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2023618650 от 27.04.2023).

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 431 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», пяти глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 437 библиографических ссылок, из них 136 отечественных и 301 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 75 рисунками, представлено 64 таблицы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн исследования

Исследования проведены в период с 2013 по 2022 год на базе клинко-диагностического центра «Медси на Белорусской» г. Москва, 123056, Грузинский переулок, д 3а. В диссертационной работе применялось как когортное ретроспективное, так и когортное проспективное исследования.

Для решения поставленных задач в исследование включено 756 взрослых пациентов, страдающих АХА-ГВИ, 150 пациентов с ХГВИ типичного течения, 250 условно здоровых взрослых людей (Таблица 1).

Таблица 1. Характеристика клинических групп пациентов, проведенных исследований и изучаемых явлений

Группа	Кол-во пациен-тов	Возраст	Раздел исследования и изучаемые явления		
			Материалы/ методы исследования	Кол-во исследо-ваний	
Архивная группа	300	18-70 лет	Амбулаторные карты: анализ спектра заболеваний, гемограмм, данных иммунного, цитокинового и ИФН статусов, определение критериев иммунокомпрометированности и преобладающих синдромов, установление частоты и длительности рецидивов герпес-вирусных ко-инфекций, частоты и длительности	300	
Проспектив-ные группы:	756	18-70 лет		Пациенты с АХА-ГВИ	756
Пациенты с					

ХГВИ		лет	рекуррентных ОРВИ и обострений сопутствующих заболеваний.	
Пациенты с АХА ГВИ и ХГВИ Перспективное исследование	456	18-70 лет	До и после лечения проведено: Имунофенотипирование лимфоцитов: CD3 ⁺ CD19 ⁻ CD3 ⁺ CD4 ⁺ , CD3 ⁺ CD8 ⁺ , CD3 ⁺ CD19 ⁺ , CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ ;	1212
			Определение IgA, M, G в крови	1212
			Определение цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1β, ИЛ-1ra, ИЛ-17A, ФНОα, ИФНγ, ИФНα	1062
			Гемограмма	1974
			Серодиагностика герпес-вирусных инфекций (IgM и IgG к VCA, EBNA, EA ВЭБ, IgM и IgG к ЦМВ, IgM и IgG к ВПГ ½)	10 944
			Детекция генома герпес-вирусов в биоматериалах (кровь, слюна, соскоб с миндалин/задней стенке глотки, моча)	1668
			Исследование состояния субпопуляций НГ с уточнением уровня экспрессии функционально значимых мембранных рецепторов TLR4 ⁺ IFNα/βR ⁺ IFNγ ⁺ НГ.	1212
			Определение уровня экспрессии ядерного фактора NF-kB НГ	150
			Детекция аутоантител Ig M/G к ганглиозидам (GM1-4; GD1a,b; GD2,3; GT1a,b; GQ1b; сульфатидам), фосфолипидам (кардиолипину, фосфатидным кислотам и пр), нуклеарным и цитоплазматическим антигенам (dsDNA, нуклеосомам, Sm, рибосомам, гистонам RNP, SS-A 60 kD, SS-A 52 kD, SS-B, Scl-70, CENP-B, Jo-1), ИФН α	5760
Условно-здоровые взрослые	250	18-70 лет	Детекция генома герпес-вирусов в биоматериалах (кровь, слюна, соскоб с миндалин/задней стенки глотки)	250
			Гемограмма	250
			Определение цитокинов ИЛ-6, ИЛ-1β, ИЛ-1ra, ФНОα, ИЛ-17A, ИФНγ, ИФНα	1750
			Имунофенотипирование лимфоцитов: CD3 ⁺ CD19 ⁻ , CD3 ⁺ CD4 ⁺ , CD3 ⁺ CD8 ⁺ , CD3 ⁺ CD19 ⁺ , CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ ;	250
			Содержание Ig A, M, G в крови	250
			Исследование субпопуляций НГ с уточнением уровня экспрессии	1200

		функционально значимых рецепторов TLR4 ⁺ IFN α / β R ⁺ IFN γ ⁺ НГ.	
		Определение уровня экспрессии ядерного фактора NF-kB НГ	30
		Детекция аутоантител Ig M/G к ганглиозидам (GM1-4; GD1a, b; GD2,3; GT1a,b; GQ1b; сульфатидам), фосфолипидам (кардиолипину, фосфатидным кислотам и пр.), нуклеарным и цитоплазматическим антигенам (dsDNA, нуклеосомам, Sm, рибосомам, гистонам RNP, SS-A 60 kD, SS-A 52 kD, SS-B, Scl-70, CENP-B, Jo-1), ИФН α	960
ИТОГО	1156		30 134

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании;
2. Возраст старше 18 лет и младше 70 лет;
3. Взрослые пациенты с атипичными хроническими активными герпес-вирусными инфекциями (моно и микст варианты), ассоциированные с частыми повторными ОРВИ (более 7 эпизодов в год), частыми бактериально-вирусными заболеваниями ЛОР - органов, органов мочеполового тракта;
4. Взрослые пациенты с острыми и хроническими вирусными и бактериальными заболеваниями с частотой эпизодов более 7 раз в год;
5. Иммунокомпрометированные взрослые пациенты с атипичными хроническими активными герпес-вирусными инфекциями.

Критерии невключения пациентов в исследование:

1. Возраст младше 18 лет и старше 70 лет;
2. Беременность и лактация;
3. Наличие сопутствующей патологии:
 - печеночная и/или почечная недостаточность (в стадии декомпенсации или субкомпенсации);
 - болезни крови (коагулопатии, анемии неясной этиологии, гемобластозы);
 - тяжелые заболевания эндокринной системы, пищеварительной системы, сердечно-сосудистой системы в стадии суб- и декомпенсации;
 - хронические заболевания в стадии обострения (за исключением заболеваний верхних и средних дыхательных путей, ЛОР - органов микст-этиологии: хр. тонзиллит, хр. фарингит, хр. синусит, хр. бронхит);
4. Курсы иммуномодулирующей терапии в анамнезе (последний курс не менее, чем за 6 мес до включения в исследование);
5. Низкая комплаентность пациента;
6. Острая продуктивная психическая симптоматика;
7. ВИЧ/СПИД, парентеральные вирусные гепатиты;
8. Наличие онкологических заболеваний на момент включения в исследование или в анамнезе.

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании.
2. Беременность.

При проведении исследования были строго соблюдены требования Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). Перед проведением исследования получено одобрение локального этического комитета ФГАОУ ВО Первого МГМУ им И. М. Сеченова МЗ РФ. Получено информированное согласие на сбор и обработку персональных данных, проведение физикального осмотра и обследования, забор биологических материалов, проведение лабораторных исследований, лечебно-профилактических мероприятий у пациентов, включенных в исследование.

Работа выполнена в соответствии с дизайном диссертационного исследования, который состоит 4 этапов, включающих разделы: диагностический (I и II этапы исследования); терапевтический (III этап исследования) и аналитический (IV этап исследования).

На I этапе исследования проведен ретроспективный анализ 300 амбулаторных карт и архивных материалов пациентов с АХА-ГВИ: протоколы осмотра и лечения, результаты лабораторных исследований с целью уточнения клинических признаков вторичного иммунодефицита и выявления сопутствующих ему синдромов, а также с целью оценки эффективности проводимого традиционного лечения, произведена систематизация катамнестических данных. Диагноз вторичного иммунодефицита устанавливался на основе классификации Нестеровой И.В (1992, 2018).

I этап – ретроспективное исследование: анализ амбулаторных карт пациентов с АХА-ГВИ с целью уточнения клинических признаков иммунодефицита и выявления сопутствующих ему синдромов, а также оценки эффективности проводимого традиционного лечения

На II этапе исследования при проведении ретроспективного анализа пациенты исследуемой группы оценивались по 109 наиболее значимым клинко-анамнестическим и лабораторным параметрам и критериям, отобранным в ходе анализа литературных данных и настоящих исследований, как наиболее показательные для диагностики атипичного хронического активного течения ГВИ, ассоциированного с развитием СХУ/МЭ и когнитивными нарушениями. Для этого использовались амбулаторные карты и разработанная «Анкета – опросник пациента с хроническими герпесвирусными инфекциями». На основании разработанной нами «Карты-опросника пациента с хроническими герпес-вирусными инфекциями» были созданы программы для ЭВМ: «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол «Иммуно-скрин» (свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 202366113 от 29 мая 2023 года) и «Скрининг атипичного, активного течения хронических герпесвирусных инфекций» (свидетельство о гос регистрации программы для ЭВМ № 2023618650 от 27.04.2023 г). На этом этапе проведено клинко-иммунологическое обследование состояния ИС пациентов с АХА-ГВИ, имеющих критериальные признаки вторичной иммунной недостаточности с выявлением клинических и лабораторных критериев иммунокомпрометированности I и II порядка с использованием разработанной de novo 5-бальной шкалы оценки критериальных признаков/симптомов СХУ/МЭ и когнитивных нарушений. Выявлены основные диагностически значимые критерии атипичного хронического активного течения

ГВИ. В экспериментальной системе *in vitro* изучены особенности нарушений экспрессии NF- κ B НГ в сопоставлении с различными нарушениями экспрессии IFN α / β R и IFN γ R НГ. Оценены потенциальные терапевтические возможности иммуностропных субстанций (ГП, ГМДП) и рекИФН α 2b, а именно: влияние на количество НГ, экспрессирующих NF- κ B, IFN α / β R и IFN γ R и уровень их экспрессии, а также на негативно трансформированный фенотип функционально значимой субпопуляции IFN α / β R⁺IFN γ R⁺TLR4⁺ НГ.



На III этапе, учитывая выявленные дефекты функционирования противовирусной иммунной защиты и системы интерферонов (патологические иммунофенотипы), особенности клинического статуса пациентов с АХА-ГВИ, разработана и проведена ИПКИС с включением трех дифференцированных для каждого патологического иммунофенотипа программ таргетной интерфероно- иммуномодулирующей терапии. Разработан алгоритм клиничко-иммунологического обследования иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ.

III этап – разработка интеграционной программы коррекции иммунной системы для лечения иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ с учетом различных вариантов иммунопатогенеза (патологических иммунофенотипов)

IV этап – анализ и оценка клиничко-иммунологической эффективности дифференцированных программ таргетной интерфероно- иммунотерапии у иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ с использованием клиничко-иммунологических критериев эффективности проводимой терапии.

Необходимо отметить, что клиничко-иммунологическое обследование пациентов проводилось вне периода рецидива ГВИ, вне течения ОРВИ, вне периода обострения хронической инфекционной или неинфекционной соматической патологии различной локализации, а также в периоды до начала терапии и через 6 месяцев от момента ее инициации.

Методы проведенных исследований включали:

1. Методы сбора клиничко-anamнестических данных: сбор жалоб и данных иммунологического и общеклинического анамнеза при помощи разработанной de novo карты-опросника пациента с ХГВИ, оценка объективного статуса;

2. Методы оценки когнитивного функционирования пациентов с АХА-ГВИ: с использованием шкал CGI, MMSE, «Шкалы оценки критериальных признаков/симптомов СХУ/МЭ и когнитивных расстройств»;
3. Функциональные методы исследования по показаниям (ЭКГ, ФВД, УЗИ и др)
4. Общеклинические лабораторные методы исследования (гемограмма и пр)
5. Молекулярно-генетические методы исследования (ПЦР-РВ)
6. Серологические методы исследования (ИФА)
7. Иммунологические методы исследования (Таблица 2)

Таблица 2. Иммунологические методы исследования

Параметры	Метод исследования
Т-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁻ , CD3 ⁺ CD4 ⁺ , CD3 ⁺ CD8 ⁺ , CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺) ЕКК (CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺); В-лимфоциты (CD3 ⁺ CD19 ⁺)	Проточная цитометрия (СУТОМИКСFC500, Beckman Coulter, США) с использованием конъюгатов МКАТ (Beckman Coulter International S.A.), Франция)
Гуморальный иммунитет (сывороточные IgA, IgM, IgG)	Иммуноферментный анализ (ИФА) (Labsystems Multiskan Ascent, Финляндия) с использованием тест- систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия)
Нейтрофильные гранулоциты (НГ): НГэкспрессирующие CD284 ⁺ , CD119 ⁺ , IFNα βR1+	Проточная цитометрия (СУТОМИКСFC500, Beckman Coulter, США) с использованием конъюгатов МКАТ(Beckman Coulter International S.A.), Франция)
Система цитокинов (сывороточные ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α, ИЛ-1rA, ИЛ-17A)	ИФА (Labsystems Multiskan Ascent, Финляндия) с использованием тест-систем ЗАО «Ветор-Бест» (г.Новосибирск) и ЗАО « Цитокин» (г. Санкт-Петербург)
ИФН-статус (сывороточные ИФНα и ИФНγ; спонтанная и индуц-ная продукция ИФНα и ИФНγ,)	ИФА (Labsystems Multiskan Ascent, Финляндия) с использованием тест-систем ЗАО «Ветор-Бест» (г.Новосибирск)
Детекция герпес-вирусов	-ПЦР-РВ («ДНК-технология» (РФ) -ИФА (Labsystems Multiskan Ascent, Финляндия) с использованием тест-систем ЗАО «Ветор-Бест» (г.Новосибирск)
Исследование профиля аутоантител	ИФА (Immunodot- точечный твердофазный ИФА), Medipan GMBH, (Германия). Использованы тесты: Anti-Phospholipid 10 Dot, позволяющий выявлять антитела Ig M/G к фосфолипидам и β2-гликопротеину; ANA 12 Line Dot для выявления антител IgG к нуклеарным и цитоплазматическим антигенам; Anti-Gangliosid Dot для детекции антиганглиозидных антител к широкому спектру ганглиозидов; антитела к ИФНα (ЗАО «Цитокин» (г. Санкт- Петербург)
Исследование факторов внутриклеточного сигналинга-ядерного фактора NF-kB	Проточная цитометрия (СУТОМИКС FC500 «Beckman Coulter», США) с использованием набора Amnis® NF-kB Translocation Kit (Luminex Corporation, USA), а также конъюгатов моноклональных антител (RD Systems, USA)

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel 2016 и StatPlus 2010, Statistica 8.0. Использовали методы простой описательной статистики, а также математическое моделирование с использованием бинарного классификатора (ROC-анализ) и линейного дискриминантного анализа. В качестве средства математического моделирования использовали линейный дискриминантный анализ изучаемых параметров гемограмм, иммунограмм, показателей оценки цитокинового профиля, системы интерферонов, аутоиммунного профиля, клинических критериальных признаков иммунокомпрометированности и пр.

Соответствие выборки исследуемых значений нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для нормального распределения значений использовали t-критерий Стьюдента для связанных или несвязанных выборок. При отсутствии нормального распределения, или для порядкового и номинального типа переменных, использовали непараметрическую статистику: U-критерий Манна-Уитни - для несвязанных выборок, и W-критерий Уилкоксона - для связанных выборок. Пороговый уровень статистической значимости - $p < 0,05$. Сравнение частот встречаемости результатов исследований между изучаемыми группами проводили с использованием критерия согласия Пирсона (критерий Хи-квадрат, $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ особенностей этиологической структуры и частоты встречаемости хронических герпесвирусных инфекций продемонстрировал существенные различия в группах пациентов с АХА-ГВИ и ХГВИ. Показано, что частота встречаемости моноинфекций в группе пациентов с АХА-ГВИ и ХГВИ практически не отличается и составляет 26,6% и 23,1% соответственно, в то время как в структуре ГВИ имеются существенные межгрупповые различия с преобладанием ВЭБ-инфекции (в 35,4%) у пациентов с АХА-ГВИ и ВПГ 1 типа (в 35,4%) в группе ХГВИ. В этиологической структуре хронических микст-герпесвирусных инфекций также установлены значительные межгрупповые различия. Так, сочетание ВПГ1+ВПГ2 при ХГВИ регистрировалось в 1,7 раза чаще, а сочетание ВПГ1+ВЭБ – в 5,2 раза чаще чем при АХА-ГВИ (Рисунок 1)

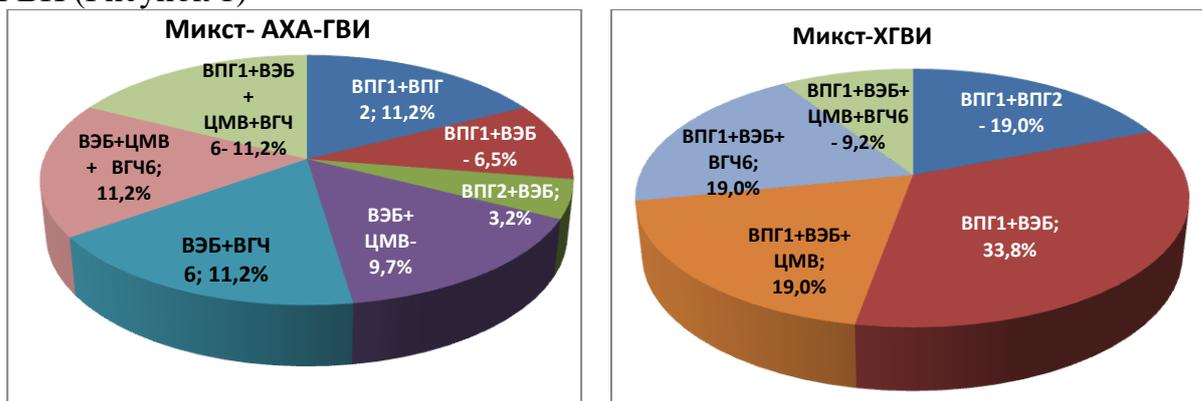
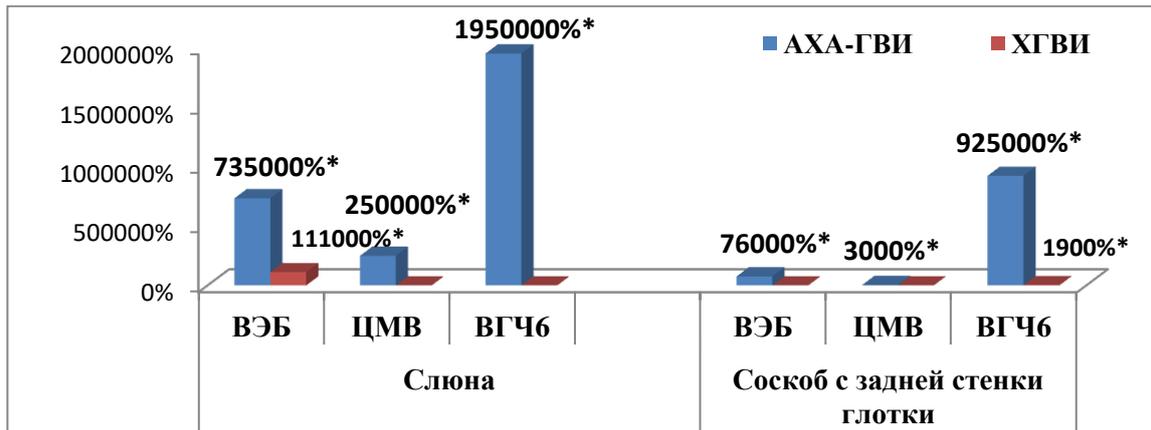


Рис. 1. Этиологическая структура хронических герпесвирусных микст-инфекций

Таким образом, у пациентов с АХА-ГВИ выявлена более высокая частота встречаемости ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ6 как при моно, так и при микст формах инфекции, и большее разнообразие сочетаний герпесвирусов разных видов, чем при ХГВИ (Рисунок 1).

Количественная оценка репликативной активности герпесвирусов продемонстрировала существенные различия между группами пациентов с АХА-ГВИ и ХГВИ, при этом доминирующее положение ВЭБ было продемонстрировано для обеих групп пациентов. У пациентов с АХА-ГВИ по уровню вирусной нагрузки ВЭБ проявлял высокую информативность как в слюне, так и в соскобах с миндалин и задней стенки глотки, в то время как при ХГВИ геном ВЭБ детектирован только в слюне, где содержание этого вируса было более чем в тысячу раз ниже, чем при АХА-ГВИ. Для ЦМВ показана статистически значимая вирусная нагрузка только в слюне и только в группе пациентов с АХА-ГВИ. ВГЧ6 показал самый высокий статистически значимый уровень вирусной нагрузки как в слюне, так и в соскобах с миндалин в обеих группах пациентов, но намного более высокий у пациентов с АХА-ГВИ (Рисунок 2).



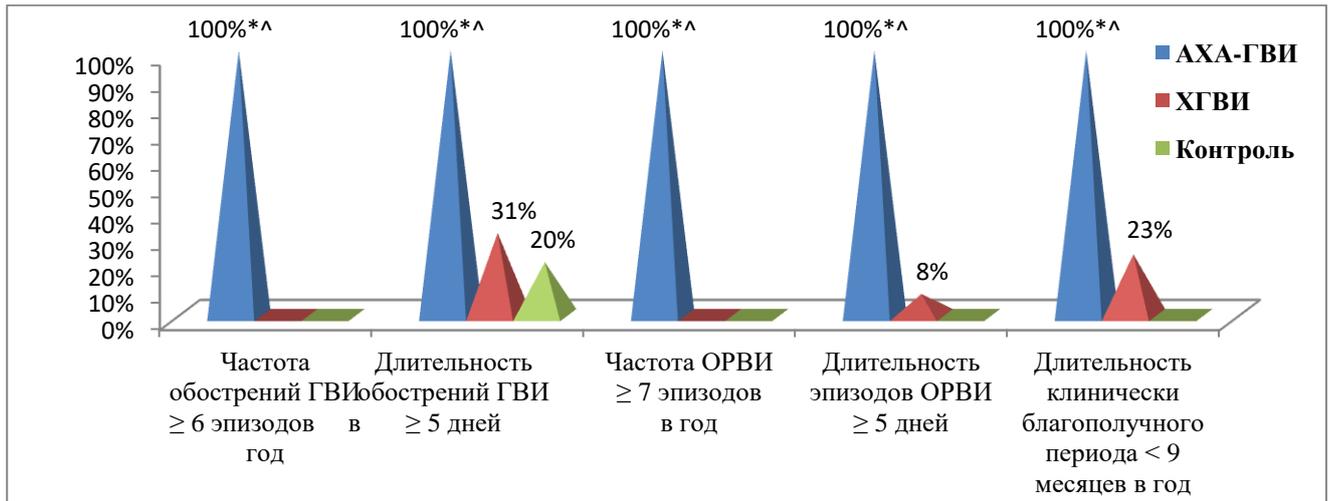
Примечание: * статистически значимые различия по отношению к группе сравнения ($p < 0,05$)

Рис. 2. Проценты отклонения от контроля вирусной нагрузки разных видов герпесвирусов в биологических материалах пациентов с АХА-ГВИ и ХГВИ

Полученные нами данные по количественной оценке активности герпесвирусов прежде всего имеют дифференциальное значение и могут быть использованы в качестве одного из критериев при отборе пациентов в когорту с АХА-ГВИ. Так, для ВЭБ таким критерием может служить вирусная нагрузка в слюне выше 10^5 копий/мл, для ЦМВ – сам факт наличия вирусной нагрузки, а для ВГЧ6 типа – количество копий ДНК выше 10^4 копий/мл. Следует подчеркнуть, что эти данные позволяют оценить одну из важных особенностей патогенеза герпесвирусной инфекции при АХА-ГВИ – активную репликацию ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ6, которая продолжается даже в период отсутствия клинических проявлений инфекционного процесса.

При изучении клинических особенностей пациентов, страдающих АХА-ГВИ, было использовано несколько методических подходов: метод анкетирования для сбора и анализа клиничко-анамнестических данных пациентов и метод критериального оценивания, позволяющий разработать и количественно оценить клинические/критериальные признаки иммунокомпрометированности у пациентов с АХА-ГВИ. Так, к разработанным нами *de novo* клиническим критериям I порядка относились: частота эпизодов обострения ГВИ, их длительность, частота и длительность рекуррентных ОРВИ, продолжительность межрецидивного периода. При их изучении было установлено, что пациенты с АХА-ГВИ имели частоту рецидивов ГВИ – более 6 эпизодов в год, а частоту рекуррентных ОРВИ – более 7 эпизодов в год, в то время как при ХГВИ типичного течения эти показатели имели более низкие значения (Рисунок 3). Клинически у пациентов исследуемой группы рецидивы ГВИ носили преимущественно неосложненный характер, но имели длительное течение,

трудно поддающееся стандартной терапии. Отмечено, что возникающие в течение года рекуррентные ОРВИ имели длительное, затяжное течение (более 5 дней) и зачастую осложнялись присоединением бактериальных инфекций: острые заболевания верхних и нижних дыхательных путей (острый бронхит, ларингит, фарингит, пневмония) и ЛОР-органов (острый синусит, острый ринит, острый тонзиллит, острый гнойный аденоидит). Продолжительность периода острых клинических проявлений ОРВИ составляла от 5 до 14 дней, а длительность клинически благополучного периода не превышала 9 месяцев в год (в среднем около 6 месяцев). При хронической ГВИ типичного течения подобные признаки тоже регистрировались, но с гораздо меньшей частотой, не превышавшей 31%.



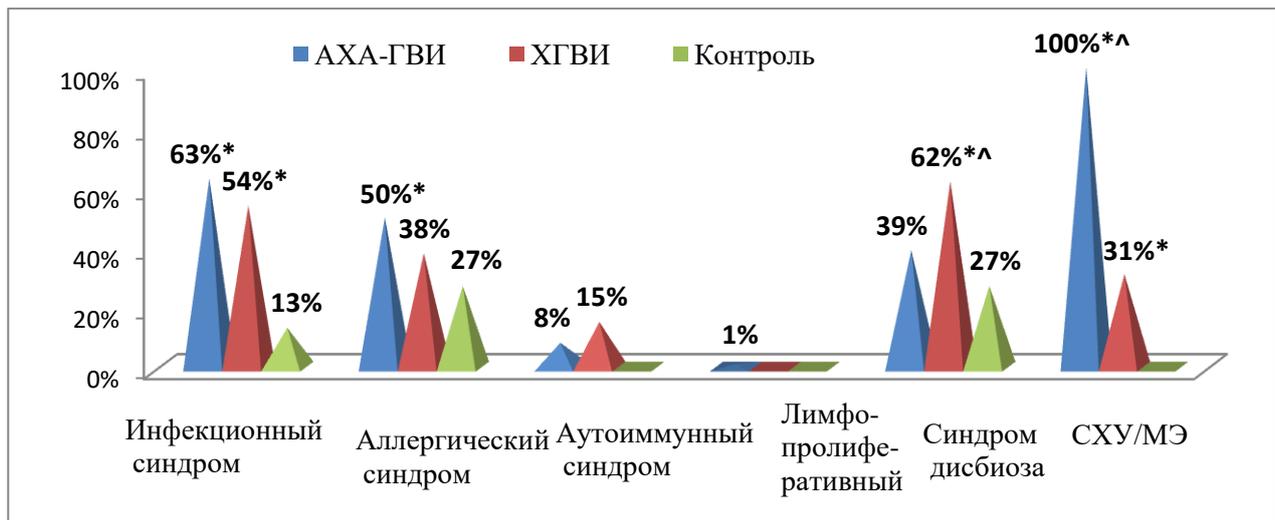
Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения; ^ - статистически значимые различия между группами АХА-ГВИ и ХГВИ ($p < 0,05$)

Рис. 3. Частота встречаемости клинических признаков иммунокомпromетированности I порядка у пациентов исследуемых групп

Клинические критерии II порядка включали в себя оценку клинических признаков/симптомов СХУ/МЭ и когнитивных расстройств с использованием разработанной нами пяти-бальной «Шкалы оценки критериальных признаков/симптомов СХУ/МЭ» от 0 до 65 баллов. Данный подход к клинической характеристике пациентов с АХА-ГВИ был применен нами впервые и не имеет аналогов в доступных источниках литературы. Установлено, что у пациентов с ХГВИ сумма баллов по этой шкале составляла 8 [0; 31], а при АХА-ГВИ - 53,5 [45; 61,5] балла. Показано, что у пациентов с микст-ГВИ выраженность симптомов достоверно превышала выраженность симптомов пациентов с моно-ГВИ и составляла 53,5 [46,5; 60,5] и 40,0 [33,5; 46,5] баллов соответственно ($p \geq 0,05$). У пациентов с АХА-ГВИ регистрировались все без исключения изучаемые признаки с частотой от 43% до 100%, в отличие от пациентов с ХГВИ, при котором частота встречаемости признаков варьировала от 15% до 46%. Также было установлено, что диапазон балльной оценки детектируемых признаков у пациентов с АХА-ГВИ колебался в пределах от 3,5 до 5 баллов (при ХГВИ – от 0 до 3 баллов), а к наиболее часто регистрируемым признакам относятся хроническая усталость, непереносимость адекватной физической нагрузки, длительный субфебрилитет, боль и дискомфорт в горле, повышенная утомляемость, регионарная лимфаденопатия.

При оценке когнитивного функционирования установлено, что у пациентов с АХА-ГВИ частота встречаемости нарушений составила 68,3 %. При этом у пациентов с микст-АХА-ГВИ частота детекции аМСІ была достаточно высокой и составила – 87,4%, в то время как у пациентов с моно- АХА-ГВИ - только 38, 8%.

Установлено, что основными клиническими проявлениями состояния иммунокомпromетированности у пациентов с АХА-ГВИ являются: комплекс клинических синдромов, таких как синдром хронической усталости (СХУ), инфекционный, аллергический, аутоиммунный, лимфопролиферативный, синдром дисбиотических нарушений (синдром дисбиоза) (Рисунок 4).



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения; ^ - статистически значимые различия между группами АХА-ГВИ и ХГВИ ($p < 0,05$)

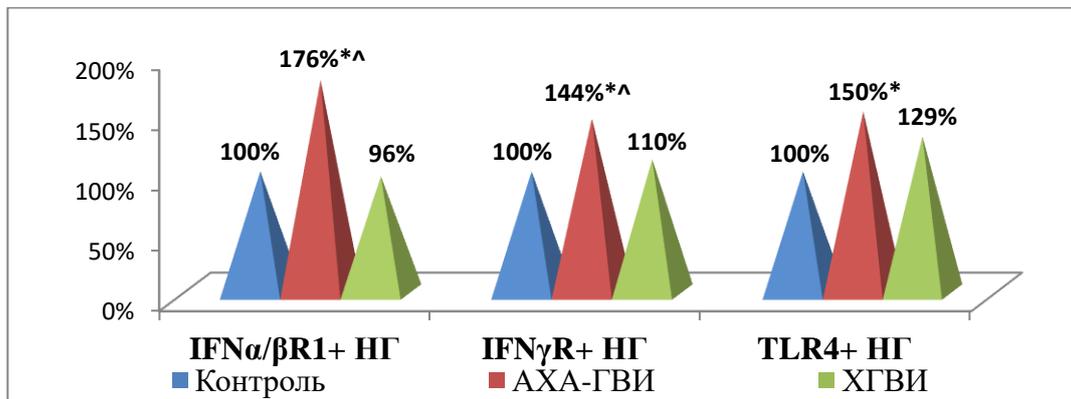
Рис. 4. Частота встречаемости синдромов, ассоциированных с состоянием иммунокомпromетированности, у пациентов исследуемых групп в сравнении с группой контроля.

Доминирующим синдромом, регистрируемым у 100% пациентов с АХА-ГВИ, является СХУ/МЭ, при этом его встречаемость в 3,2 раза выше, чем в группе пациентов с ХГВИ. Структура второго по частоте встречаемости инфекционного синдрома характеризуется преобладанием нозологических форм инфекций, ассоциированных с бактериальными и вирусными патогенами как в форме моноинфекций, так и в различных сочетаниях, что соответствует данным современной литературы [Балмасова И.П., 2018; Татаурщикова Н.С. и др., 2023].

В структуре аллергического синдрома, детектируемого у 50% пациентов с АХА-ГВИ, преобладают топические проявления со стороны верхних и нижних дыхательных путей (аллергические риниты, аллергические фарингиты, аллергические синуситы, бронхиальная астма), аллергические заболевания кожи (атопический дерматит, хроническая крапивница, контактный дерматит), гастроинтестинальные проявления на фоне пищевой аллергии. В структуре установленной сенсibilизации бытовая группа аллергенов составила 35,3%, грибковая - 29,4%, пыльцевая - 25,5%, сенсibilизация к эпидермальным аллергенам животных детектирована у 9,8% пациентов.

Учитывая столь значимую роль состояния иммунокомпromетированности в развитии АХА-ГВИ, нами было проведено изучение основных параметров функционирования системы противовирусной иммунной защиты на различных уровнях.

При анализе гемограмм пациентов с АХА-ГВИ выявлено снижение уровня НГ (нейтропения), которое является единственным достоверным отличием лейкоцитарной формулы крови этих пациентов по сравнению с контрольной группой и группой пациентов с ХГВИ. У пациентов с АХА-ГВИ были выявлены дефекты со стороны механизмов функциональной активности этих клеток, наиболее значимыми среди которых являются: увеличение числа НГ, экспрессирующих рецепторы к интерферонам α , β , γ и TLR4, количество которых у пациентов с АХА-ГВИ было выше как по сравнению с группой контроля, так и с группой пациентов ХГВИ, а также снижение плотности экспрессии ядерного фактора НК-кВ – одного из главных факторов, отвечающих за транскрипцию генов цитокинов и других компонентов противовирусных реакций врожденного иммунитета. При этом у пациентов с ХГВИ отмечена противоположная тенденция: плотность экспрессии ядерного фактора NF-кВ достоверно выше (в 1,2 раза) по сравнению с группой контроля (Рисунок 5, таблица 3).



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения; ^ - статистически значимые различия между группами АХА-ГВИ и ХГВИ ($p < 0,05$)

Рис. 5. Проценты отклонения от контроля относительного содержания в крови нейтрофильных гранулоцитов (НГ) в группе пациентов с АХА-ГВИ по сравнению с группой контроля

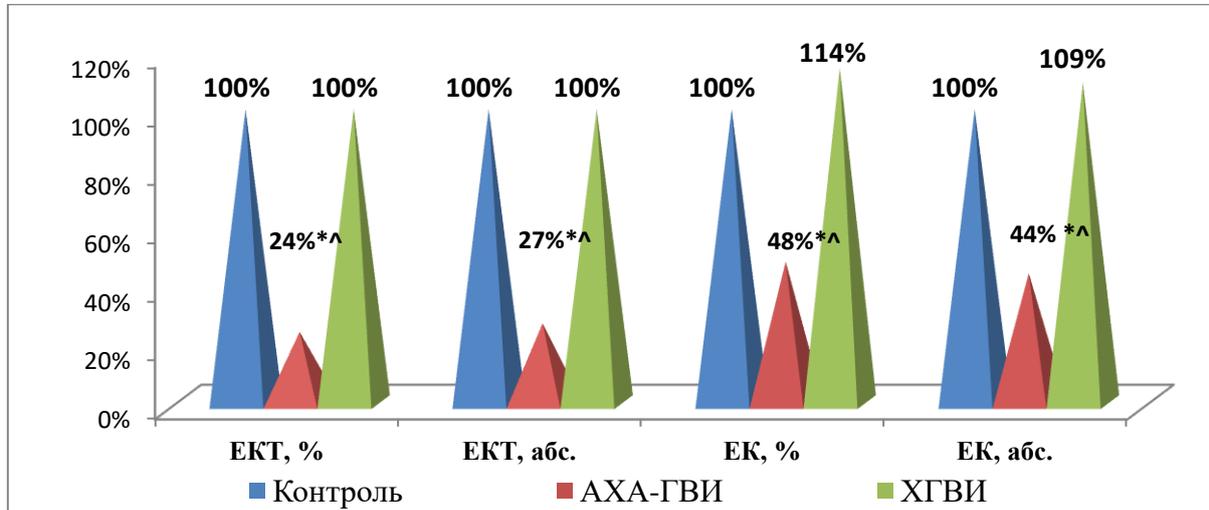
Таблица 3. Сравнительная оценка содержания в крови нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих ядерный фактор NF-кВ, у пациентов с АХА-ГВИ, ХГВИ в сравнении с группой контроля

Экспрессируемый НГ рецептор		Медиана [минимум; максимум]			P1 P2 P3
		АХА-ГВИ	ХГВИ	Контроль	
NF-кВ	%	100%	100%	100%	1,000
	MFI	6,3 [4,8; 7,5]	10,2 [9,1; 12,4]	9,0 [8,7; 10,1]	$p < 0,001^*$ $p < 0,010^*$ $p < 0,001^*$

Примечание: p1 – вероятность различий в группах АХА-ГВИ и контроле; p2 – вероятность различий в группах ХГВИ и контроле; p3 – вероятность различий в группах АХА-ГВИ и ХГВИ; * - достоверность различий по критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$

При изучении особенностей фенотипического состава лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с АХА-ГВИ выявлен дисбаланс в работе клеточного звена как врожденного, так и адаптивного звена иммунной системы этих пациентов. В наибольшей степени выявленные изменения касались лимфоцитов,

способных к цитотоксическому воздействию на инфицированные вирусом клетки – ЦТЛ, ЕКК, ЕКТ. Так, при АХА-ГВИ наблюдалось снижение этих показателей в 1,5 раза, а при ХГВИ – в 1,2 раза. С учётом детектированного снижения цитотоксического потенциала противовирусной иммунной защиты за счет трех основных его эффекторов можно констатировать истинное падение активности цитотоксического звена иммунной системы (Рисунок 6).



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения; ^ - статистически значимые различия между группами АХА-ГВИ и ХГВИ ($p < 0,05$)

Рис. 6. Проценты отклонения от контроля относительного и абсолютного содержания в крови лимфоцитов врожденного иммунитета в группе АХА-ГВИ по сравнению с группой ХГВИ и контрольной группой

При изучении молекулярных факторов иммунной защиты у пациентов с АХА-ГВИ была выявлена дисиммуноглобулинемия: повышение уровня IgM в 1,65 раза по отношению к ХГВИ и группе контроля и снижение уровней сывороточных IgG и IgA в 1,2 раза и в 1,6 раз соответственно по отношению к показателям группы контроля.

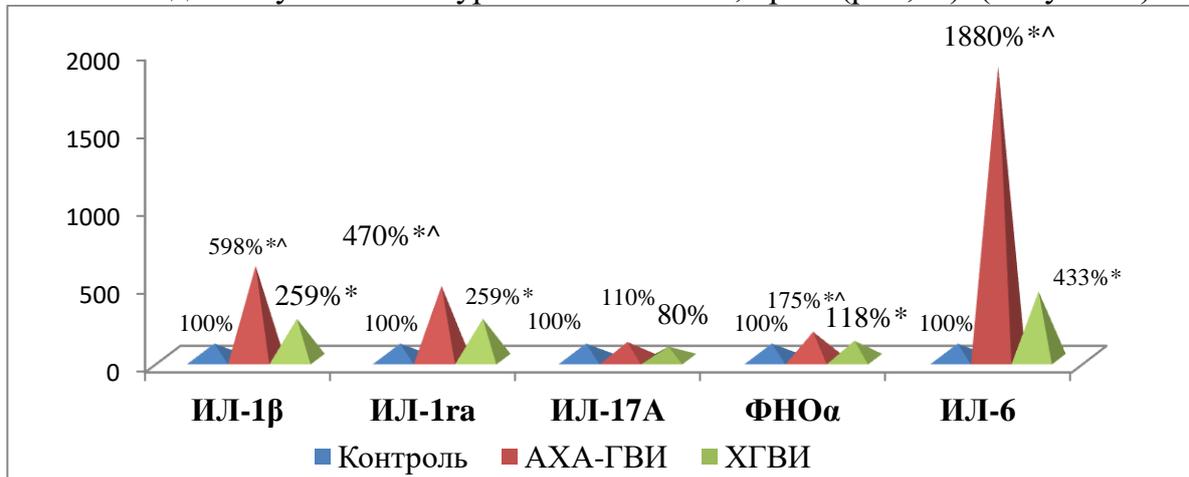
Изучение интерферонового статуса выявило значительное снижение уровней сывороточных ИФН α и ИФН γ у пациентов с АХА-ГВИ и ХГВИ. Сравнительная оценка уровня сывороточных ИФН α продемонстрировала достоверные различия между двумя группами (с типичным и атипичным течением ГВИ), при этом в обеих группах снижение было очень выраженным – примерно в 10 и в 5 раз соответственно. В то время как для ИФН γ степень снижения была гораздо меньшей – в 2 и в 2,6 раза соответственно.

Изучение особенностей индуцированной продукции ИФН α и γ выявило снижение продукции индуцированного ИФН α у 100,0% пациентов с АХА-ГВИ, в то время как снижение индуцированной продукции ИФН γ было зафиксировано только у 48,0% пациентов этой группы. Полученные результаты демонстрируют, что у пациентов с АХА-ГВИ уровень индуцированной продукции ИФН α и ИФН γ достоверно отличается от показателей как в группе контроля, так и в группе пациентов с ХГВИ, при этом между двумя последними группами также выявлены значительные различия на статистически значимом уровне.

При изучении аутоиммунного профиля было установлено, что у пациентов с АХА-ГВИ в сыворотке крови присутствуют аутоантитела различной специфичности в 100% случаев, в то время как в группе пациентов с ХГВИ аутоантитела детектировались в 20% наблюдений. Показано, у 60% пациентов с АХА-ГВИ аутоантитела были специфичны к широкому спектру ганглиозидов: GM1 -в 80%; GM3

– 45%; GD 2,3- 20,0%; сульфатидам- 30%. Следует отметить, что уровни детектируемых аутоантител варьировали в широком диапазоне от низкого (30 Ед) до высокого (100 Ед) и коррелировали с активностью вирусного процесса и клинической симптоматикой. Известно, что аутоантитела, направленные против ганглиозида GM1, инициируют повреждение аксолеммы, блокируют потенциалзависимые кальциевые каналы, являясь основой развития нейроиммуновоспаления, клинические признаки которого фиксируются у пациентов с АХА-ГВИ. Необходимо отметить, что зачастую в крови пациентов с различными клиническими формами аутоиммунного синдрома удается выявить несколько видов аутоантител к различным видам ганглиозидов, что может быть расценено как активное течение нейроиммуновоспаления с вовлечением в него тканевых и молекулярных структур центральной и периферической нервной системы. В группе пациентов с ХГВИ антиганглиозидные аутоантитела к антигенам GM1 и GM3 были определены в 30% исследуемых образцов сыворотки крови этих пациентов, однако уровень их не превышал 30 Ед и был расценен нами как низкий. Интересным представляется тот факт, что в сыворотке крови пациентов, страдающих АХА-ГВИ, уровень антител к ИФНа был критически низким и достоверно не отличался от уровня антиинтерфероновых антител пациентов группы сравнения с типичным течением ХГВИ, а также группы контроля.

Произведено изучение спектра основных провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-17А, ИЛ-6 и ФНО α) и противовоспалительных (ИЛ-1ra) цитокинов в сыворотке крови пациентов с АХА-ГВИ, ХГВИ и у здоровых людей, что позволило выявить дисбаланс цитокиновой сети с преобладанием провоспалительной триады цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО α в обеих группах пациентов со значительной поляризацией в сторону ИЛ-6 и ИЛ-1 β , уровни которых в сыворотке крови пациентов с АХА-ГВИ почти в 18 и в 6 раз соответственно превышают контрольные значения. Установлен однонаправленный характер изменений уровня ИЛ-1ra в группах пациентов с АХА-ГВИ и ХГВИ, а именно: наблюдается увеличение уровня ИЛ-1ra в 4,7 раза ($p < 0,05$). (Рисунок 7)



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения;
^ - статистически значимые различия между группами АХА-ГВИ и ХГВИ ($p < 0,05$)

Рис. 7. Проценты отклонения от контроля цитокинового профиля крови пациентов с АХА-ГВИ по сравнению с группой сравнения и группой контроля

Таким образом, при изучении показателей, характеризующих состояние иммунной системы пациентов с АХА-ГВИ, выявлены различные дефекты функционирования противовирусной иммунной защиты, которые позволили уточнить особенности иммунопатогенеза этой инфекции, а именно: дефицит ИФНа, ИФН γ с нарушением их индуцированной продукции и снижением концентрации в сыворотке

крови, дефицит ЕКК, ЦТЛ, дисиммуноглобулинемия, гиперцитокинемия провоспалительных цитокинов. Среди отмеченных информативных признаков были показатели, имеющие, по данным ROC-анализа, довольно высокое диагностическое значение (9 показателей: IFN γ R+НГ; NF-кВ+НГ MFI; ЕКК; концентрация ИФН α , ИФН γ , ИЛ-17А, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α). Эти показатели в определенном диагностически значимом диапазоне величин могут служить критериями наличия у пациентов АХА-ГВИ, а также использоваться для контроля эффективности проводимой терапии.

Таким образом, у пациентов с АХА-ГВИ были выявлены различные нарушения функционирования ИС, которые имели целый ряд отличительных особенностей и, по данным ROC-анализа, высокое диагностическое значение. Эти показатели в определенном диагностически значимом диапазоне величин могут служить критериями наличия у пациентов активных хронических атипичных герпесвирусных инфекций, а также использоваться для контроля эффективности проводимой терапии (Таблица 4).

Таблица 4 . Перечень диагностически значимых лабораторных критериев АХА-ГВИ

Лабораторные критерии АХА-ГВИ	Диагностически значимый
IFN γ R+ нейтрофильные гранулоциты	Выше 26%
NF-кВ+ нейтрофильные гранулоциты (MFI)	Ниже 8%
Естественные киллеры (ЕКК) среди лимфоцитов крови	Ниже 11%
Уровень интерферона α в сыворотке крови	Ниже 23,5 пг/мл
Уровень интерферона γ в сыворотке крови	Ниже 37 пг/мл
Уровень интерлейкина-1 β в сыворотке крови	Выше 50 пг/мл
Уровень интерлейкина-17А в сыворотке крови	Ниже 2 пг/мл
Уровень фактора некроза опухолей α в сыворотке крови	Выше 29 пг/мл
Уровень интерлейкина 6 в сыворотке крови	Выше 2,3 пг/мл

Полученная информация об особенностях функционирования клеточных и гуморальных звеньев системы противовирусной иммунной защиты у пациентов с АХА-ГВИ позволила выделить имеющиеся у них приоритетные нарушения в иммунной системе или их сочетания, в соответствии с которыми методом кластерной рандомизации (cluster randomized trial) были выделены три кластера (произведена рандомизация пациентов на 3 группы- ГИ1, ГИ2 и ГИ3), в которые вошли пациенты, имеющие ряд разнонаправленных изменений параметров ИС, уточняющих особенности иммунопатогенеза этой инфекции, в соответствии с которыми были определены три доминирующих патологических иммунофенотипа (ПИФ) и созданы интегральные формулы, описывающие эти нарушения.

Характеристика вариантов клинико-иммунологических патологических иммунофенотипов

Для ПИФ1 (ГИ1) интегральная формула нарушений в системе противовирусной иммунной защиты выглядит следующим образом: НГ \downarrow +индуц. ИФН α /ИФН γ \downarrow + ЦТЛ \downarrow +ЕКК \downarrow + IgM \uparrow + гиперцитокинемия (ИЛ-1 β \uparrow +ИЛ-6 \uparrow +ФНО α \uparrow). Клиническими особенностями пациентов, оцениваемых с помощью критериев иммунокомпрометированности I порядка, являлись: частота рецидивов ГВИ- 10,0 (9,5;12,5) случаев в год; продолжительность рецидивов ГВИ - 8,0 (6,5;10,5) дней, длительность периода клинического благополучия- 6,5 (4,5;8,5) мес.; частота ОРВИ-

11,0 (8,5; 13,5) случаев в год; длительность ОРВИ –7,5 (6,5; 9,5) дней. При оценке клинических критериальных признаков иммунокомпрометированности II порядка по «Шкале оценки клинических критериев/признаков СХУ/МЭ и когнитивных расстройств» количество набранных баллов соответствовало 54,5[46,75; 62,25], при максимальной оценке - 65,0 баллов.

Интегральная формула, описывающая нарушения в ИС для ПИФ2 (ГИ2): $\text{НГ}\downarrow + \text{индуц.ИФН}\alpha/\text{ИФН}\gamma\downarrow + \text{ЕКК}\downarrow + \text{IgG}\downarrow + \text{гиперцитокинемия (ИЛ-1}\beta\uparrow + \text{ИЛ-6}\uparrow + \text{ФНО}\alpha\uparrow)$. Клиническими особенностями пациентов ГИ2 по критериям иммунокомпрометированности I порядка являлись: частота рецидивов ГВИ 10,0 (8,0;14,5) случаев в год; продолжительность рецидивов ГВИ - 8,0 (6,5;10,5) дней, длительность периода клинического благополучия 6,5 (4,5;8,5) мес; частота ОРВИ- 11, 5 (10,5; 14,5) случаев в год; длительность ОРВИ –7,5 (6,5; 10,5) дней. Клинические признаки иммунокомпрометированности II порядка -46,0 [33,0;55,5] баллов.

Для ПИФ3 (ГИ3) интегральная формула нарушений в ИС: $\text{НГ}\downarrow + \text{индуц.ИФН}\alpha/\text{ИФН}\gamma\downarrow + \text{гиперцитокинемия (ИЛ-1}\beta\uparrow + \text{ИЛ-6}\uparrow + \text{ФНО}\alpha\uparrow)$. Клиническими особенностями пациентов ГИ3 в соответствии с критериями иммунокомпрометированности I порядка являлись: частота рецидивов ГВИ 12,0 (10,5;14,5) случаев в год; продолжительность рецидивов ГВИ - 9,5 (7,5;12,5) дней, длительность периода клинического благополучия 3,0 (2,5;5,5) мес; частота ОРВИ- 12, 5 (10,5; 14,5) случаев в год; длительность ОРВИ –8,5 (5,5; 10,5) дней. Клинические признаки иммунокомпрометированности II порядка -52,5 [45,0;50,5] баллов.

Таким образом, нами были выявлены разнохарактерные, в том числе и в отношении отдельных показателей, значительные нарушения в работе иммунной системы пациентов с АХА-ГВИ, которые обуславливают необходимость включения дифференцированной таргетной, иммуотропной/иммунокорректирующей терапии, наряду с этиопатогенетическим лечением, в интеграционную программу коррекции иммунной системы этих пациентов.

Экспериментальное обоснование потенциальной эффективности иммуотропных субстанций в лечении пациентов с АХА-ГВИ

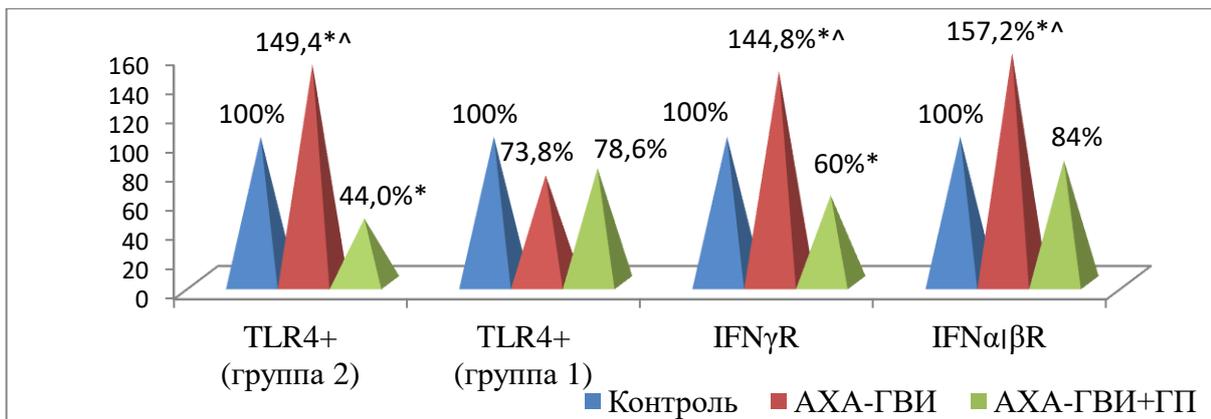
Учитывая отсутствие в настоящее время научно обоснованных клинических рекомендаций и/или схем терапии лечения пациентов с АХА-ГВИ и принимая во внимание насущную потребность в наличии критериев выбора иммуотропных препаратов, используемых для таргетной иммунотерапии, нами была проведена серия экспериментальных исследований в системе *in vitro*, которая позволила оценить терапевтический потенциал влияния ряда исследуемых иммуотропных субстанций на уровень экспрессии ядерного фактора NF-кВ и на функциональные характеристики нейтрофильных гранулоцитов - представителей клеточного звена врожденного иммунитета, подвергающихся наибольшему количественным и фенотипическим (функциональным) изменениям у преобладающего большинства пациентов, страдающих АХА-ГВИ.

В экспериментальном исследовании *in vitro* изучено влияние рекИФН α 2 β на экспрессию ядерного фактора NF-кВ и экспрессию мембранных рецепторов IFN α / β , IFN γ НГ пациентов, страдающих АХА-ГВИ, продемонстрировавшее неоднозначные вариативные эффекты этого цитокина: у 52,0% пациентов АХА-ГВИ (ГИ1) уровень экспрессии NF-кВ достоверно не изменился, при этом наблюдалось достоверное увеличение уровня экспрессии мембранных рецепторов IFN α / β R НГ, не достигающее однако уровня условно здоровых лиц. При этом имелось достоверное увеличение экспрессии рецепторов IFN γ R ($p \leq 0,05$). Предположительно, у пациентов ГИ1

нарушения экспрессии NF-κB имеют врожденный характер, поскольку воздействие рекИФН α 2b не повлияло на уровень экспрессии NF-κB. У 48.0% пациентов АХА-ГВИ (ГИ2) произошло восстановление уровня экспрессии NF-κB до уровня такового у условно-здоровых лиц, что, по-видимому, свидетельствует о том, что нарушения экспрессии NF-κB, носят приобретенный – вторичный характер. Параллельно зафиксировано достоверное увеличение уровня экспрессии IFN γ R НГ, при этом уровень экспрессии рецепторов IFN α /βR НГ не изменился.

Полученные в настоящем исследовании результаты позволяют обосновать необходимость проведения интерферонотерапии у пациентов с АХА-ГВИ и разработать в дальнейшем дифференцированные терапевтические стратегии проведения интерферонотерапии у данной категории пациентов с врожденными или приобретенными дефектами системы интерферонов.

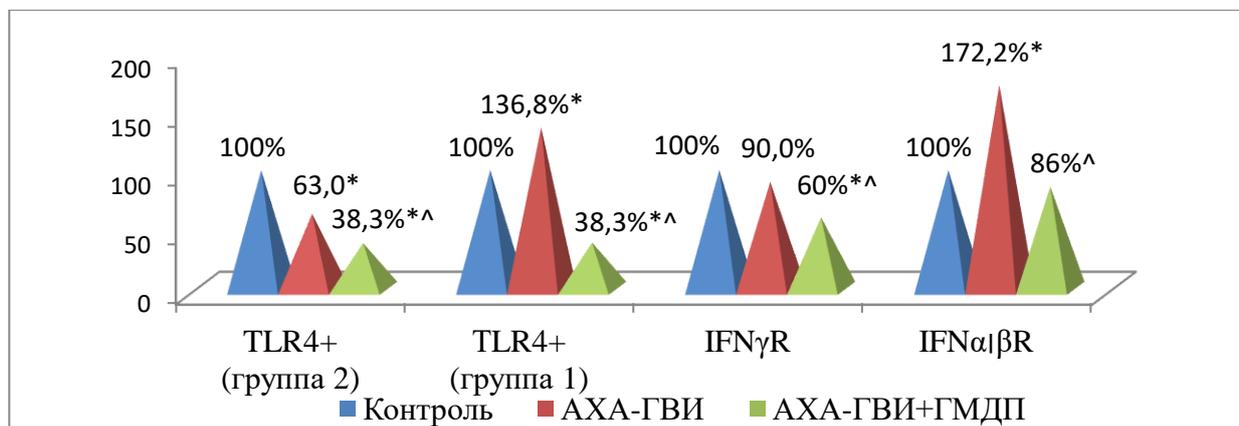
В ходе экспериментального исследования выявлен и описан модулирующий эффект влияния ГП на трансформированный фенотип субпопуляции TLR4⁺IFN α /βR1⁺CD119⁺НГ пациентов с АХА-ГВИ. Показано снижение количества НГ, экспрессирующих на своей поверхности рецепторы IFN α /βR1 и CD119. Установлено снижение числа TLR4⁺НГ в группе пациентов с АХА-ГВИ с изначально более высоким содержанием этих клеток, при этом количество TLR4⁺НГ в группе пациентов с изначально их более низким уровнем осталось неизменным. Показано позитивное влияние ГП на плотность экспрессии IFN α /βR1⁺ на мембране НГ, которая достоверно возросла, с параллельным снижением плотности экспрессии по MFI рецептора IFN γ R, приблизив ее к значению группы контроля (Рисунок 8).



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения;
[^]-статистически значимые различия показателя до и после воздействия ГП ($p < 0,05$)

Рис. 8. Проценты отклонения от контроля количества нейтрофильных гранулоцитов (НГ) субпопуляции TLR4⁺IFN α /βR1⁺CD119⁺ под воздействием модулирующего эффекта ГП у пациентов с АХА-ГВИ по сравнению с группой контроля

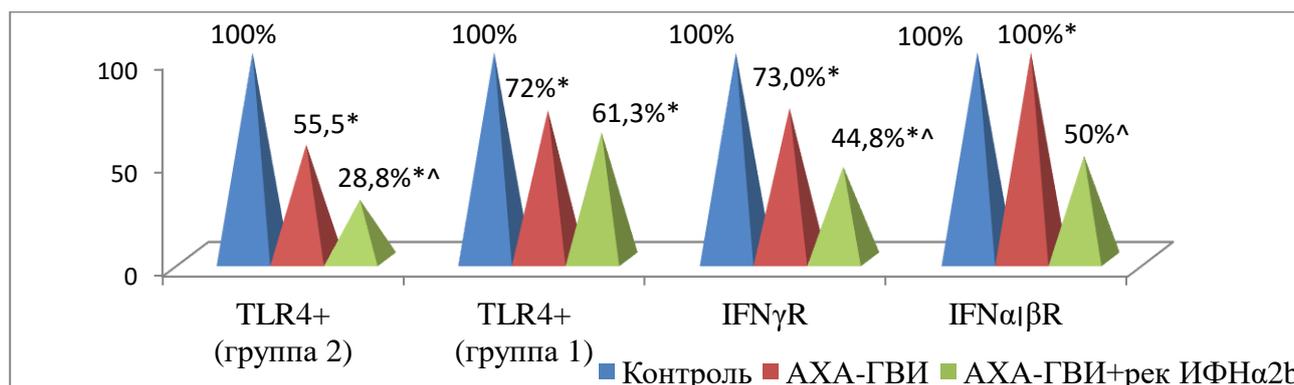
Продемонстрировано позитивное иммуномодулирующее воздействие ГМДП на трансформированный фенотип TLR4⁺IFN α /βR1⁺CD119⁺ субпопуляции НГ пациентов с АХА-ГВИ, которое проявляется в увеличении числа НГ, экспрессирующих на своей поверхности рецепторы к IFN α /βR1 и IFN γ R, а также в снижении числа нейтрофилов, экспрессирующих TLR4, у пациентов с изначально различными количественными характеристиками этих рецепторов на мембране НГ (Рисунок 9).



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения; ^-статистически значимые различия показателя до и после воздействия ГМДП ($p < 0,05$)

Рис. 9. Проценты отклонения от контроля количества нейтрофильных гранулоцитов (НГ) субпопуляции TLR4⁺ IFN α/β R1⁺CD119⁺ под воздействием ГМДП у пациентов с АХА-ГВИ по сравнению с группой контроля

На основании иммуномодулирующих свойств рекомбинантного ИФН α 2b, которые он продемонстрировал в системе «in vitro», выявлена его способность к реставрации трансформированного фенотипа субпопуляции TLR4⁺IFN α/β R1⁺CD119⁺ нейтрофильных гранулоцитов пациентов, страдающих АХА-ГВИ (Рисунок 10).



Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к группе сравнения; ^-статистически значимые различия показателя до и после воздействия рек ИФН α 2b ($p < 0,05$)

Рис. 10. Проценты отклонения от контроля количества нейтрофильных гранулоцитов субпопуляции TLR4⁺IFN α/β R1⁺CD119⁺ под воздействием рекИФН α 2b у пациентов с АХА-ГВИ по сравнению с группой контроля

Полученные экспериментальные данные продемонстрировали особенности трансформации фенотипа субпопуляции TLR4⁺IFN α/β R1⁺CD119⁺ НГ у пациентов с АХА-ГВИ под влиянием различных иммуотропных субстанций, что позволило оценить их иммунотерапевтический потенциал с целью последующего включения в интеграционную программу коррекции иммунной системы с применением программ таргетной, персонализированной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии.

Алгоритм клиничко- иммунологического обследования иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ

Важной составляющей для выявления иммунокомпрометированности у пациентов с АХА-ГВИ, определения вариативных нарушений механизмов противовирусной защиты в иммунопатогенезе различных вариантов

иммунодефицитов и выбора терапевтических подходов является создание алгоритма комплексной клинико-anamnestической и лабораторной диагностики дефектного функционирования иммунной системы пациентов с АХА-ГВИ, включающего в себя:

1. Жалобы пациента;
2. Сбор клинико-иммунологического анамнеза:
 - 2а. Изучение и оценка клинических критериев иммунокомпрометированности I порядка (частота и длительность рецидивов ВПГ 1 типа и ВПГ 2 типа; частота и длительность рекуррентных ОРВИ, продолжительность межрецидивного периода)
 - 2б. Изучение и оценка клинических критериев иммунокомпрометированности II порядка с использованием «Шкалы оценки критериальных признаков/симптомов СХУ/МЭ и когнитивных расстройств» в баллах;
3. Клиническое обследование;
4. Инструментальная и функциональная диагностика;
5. Серологическая диагностика герпесвирусных инфекций - определение титров антител классов IgM и IgG к VCA ВЭБ, IgG EBNA, IgG ВЧГ6, IgM и IgG к ЦМВ, IgM и IgG к ВПГ1/2 типов;
6. Иммунологическое обследование:
 - исследование клеточного звена адаптивного иммунитета (CD19⁺, CD20⁺, CD3⁺CD8⁺, CD8⁺CD25⁺; CD4⁺CD8⁺, CD8⁺HLADR⁺ CD3⁻CD16⁺CD56⁺; CD3⁻CD16⁺CD56⁻, CD4⁺HLADR⁺, Treg и пр);
 - интерфероновый статус (индуцированная и спонтанная продукция ИФН α и ИФН γ , уровень сывороточных ИФН α и ИФН γ);
 - исследования уровня сывороточных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1 β ФНО α , ИЛ-1ra, ИЛ-17A);
 - гуморальное звено иммунитета (сывороточные IgA, IgM, IgG);
 - количество и функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов.
7. Молекулярно- генетические исследования:

ПЦР диагностика в режиме реального времени для количественной детекции копий ДНК герпесвирусов в различных биоматериалах: слюна, моча, кровь, соскоб с миндалин и задней стенке глотки.

Разработанный нами диагностический алгоритм позволяет установить корректный диагноз АХА-ГВИ на основании совокупности жалоб, клинико-анамнестических данных, данных объективного физикального и инструментального обследования, а также результатов серологического и молекулярно-генетического исследований, позволяющих изучить серологический профиль при данной вирусной инфекции и детектировать геном вирусов в различных биоматериалах (слюна, соскоб из рото- и носоглотки, кровь, моча, синовиальная жидкость и пр); выявить дефекты функционирования иммунной системы и интерферонового статуса, которые проявляются в виде нарушения индуцированной продукции ИФН α и ИФН γ , дефиците цитотоксических Т лимфоцитов, естественных киллерных клеток, в т.ч. ЕКТ, и/или неадекватном отсутствии их активации, нейтропении.

В целом, выявленные клинико-диагностические и иммунопатогенетические особенности течения АХА-ГВИ, а также разработанный на их основе диагностический алгоритм позволили использовать его для создания концепции индивидуализированной/персонифицированной, комплексной этио- и иммунопатогенетической, таргентной терапии этой нетипично протекающей, зачастую инвалидизирующей инфекции. Разработка методов коррекции системы

противовирусной иммунной защиты организма и системы ИФН приведет к значительному снижению или полному подавлению репликативной активности герпесвирусов и позволит восстановить контроль иммунной системы, а также системы интерферонов над возбудителями герпес-вирусных инфекций.

Интеграционная программа коррекции иммунной системы в лечении иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ

Принимая во внимание результаты собственных экспериментальных исследований, изученные и описанные клинические особенности пациентов с АХА-ГВИ, а также определенный в ходе клинко-иммунологического обследования один из трех доминирующих патологических иммунофенотипов, определяющихся характером и степенью выраженности нарушений в иммунной системе и в системе ИФН, нами была разработана интеграционная программа коррекции иммунной системы (ИПКИС) для лечения иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ, включающая, наряду со стандартными методами коррекции выявленных нарушений, три созданные de novo персонифицированные программы дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, ориентированные на патологические клинко-иммунологические иммунофенотипы (Таблицы 5,6), реализация которых подразумевает следующие последовательные этапы:

1. Диагностический этап: детекция клинических и лабораторных критериев иммунокомпрометированности;
2. Терапевтический этап: проведение ИПКИС, включающей наряду с использованием традиционной этиопатогенетической терапии, применение иммуномодулирующих субстанций: рекИФН α 2b, ГП, ГМДП.
3. Аналитико-синтетический этап: мониторинг состояния иммунной системы пациентов с АХА-ГВИ после проведения ИПКИС с целью оценки клинической и иммунологической эффективности иммуотропной терапии.

Таблица 5. Интеграционная программа коррекции иммунной системы для иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • базисная этиотропная терапия основного заболевания (противовирусная терапия) • терапия сопутствующих заболеваний (патологии ЖКТ, ССС и пр); • восстановление микробиома открытых систем и закрытых систем с использованием пробиотических препаратов; • сбалансированное питание (по белкам, жирам, углеводам, витаминам и микроэлементам); • режим ограниченной антигенной нагрузки: <ul style="list-style-type: none"> -ограничение контактов с антигенами микробного и немикробного происхождения; -отмена вакцинации на время проведения реабилитации; -режим аллергенного щажения (гипоаллергенная диета; энтеросорбция, ферментотерапия); -санация хронических очагов инфекции; -проведение десенсибилизации (фармакотерапия, АСИТ) • стабилизация мембран клеток - мембранопротекторы • антиоксидантная терапия (витамины А, Е, С) и витаминотерапия. • иммуотропная терапия – таргетная интерферонотерапия или комбинированная интерфероно- и иммуноотерапия. |
|---|

Таблица 6. Программы дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, включенные в интеграционную программу коррекции иммунной системы иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ.

Молекулярные и клеточные механизмы терапии	Программа		
	1	2	3
Системная интерферонотерапия: для восстановления уровня индуцированной продукции ИФН α и ИФН γ , количества ЕКК: рекИФН α 2b в комбинации с антиоксидантами – препарат «Виферон®» в форме суппозиторий по схеме: 3 млн МЕ в день в течении -1 месяц, далее 2 млн МЕ в день – 1 месяц, далее 1 млн МЕ- 1месяц, далее 1 млн МЕ в режиме 3 раза в неделю в течении 2-х недель; далее в дозе 1 млн МЕ дважды в неделю в течении 2-х недель. Общий курс составил – 4 месяца.	+	+	+
Локальная интерферонотерапия: «Виферон®» гель в виде аппликаций на слизистую оболочку носовых ходов, заднюю стенку глотки и дужки миндалин	+	+	+
Иммуномодулирующая терапия: для восстановления ЦТЛ и ЕКТ - препарат «Имунофан®» 45 мкг/мл -1 раз в день, в/м. Три десятидневных курса с перерывом в 20 дней в течении 3 мес. Курсы препаратов Имунофан и Изопринозин чередовали с перерывом 5 дней между курсами.	+	-	-
для восстановления НГ и ЕКК - глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) «Ликопид» - 3мг/сут - три 10-дневных курса ежемесячно в течении 3 месяцев с перерывом в 20 дней. Курсы препаратов Ликопид® и Изопринозин чередовали с перерывом 5 дней между курсами.	-	+	-
Противовирусная терапия: Фамцикловир (препарат Фамвир®) 1500 мг/сут - 10 дней- 1 раз в месяц или Ацикловир/Валцикловир в дозе 1500 мг в день, курсом 10 дней при инфекции, вызванной ВПГ1/2. А также Инозин пранобекс («Изопринозин») 1500 мг/сут, ежедневно в течение 10-14 дней с повторением 2-3 курсов с интервалом в 20 дней. Длительность терапии 3 мес.	+	+	+

Введение в ИПКИС, помимо базисной этиопатогенетической терапии, терапию сопутствующих заболеваний, разных видов сорбции, коррекцию дисбиоза слизистых оболочек, антиоксидантную терапию, мембраностабилизаторы играет важную роль для эффективности проведения иммуотропной терапии и способствует не только выраженности, но и длительности закрепления позитивных клинико-иммунологических эффектов у большей части пациентов с АХА-ГВИ.

Эффективность интеграционной программы коррекции иммунной системы в лечении иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ

Клинико-иммунологическая эффективность ИПКИС с включением разработанных программ интерфероно- и иммуномодулирующей терапии оценивалась с помощью разработанных нами клинических критериальных признаков иммунокомпрометированности I и II порядка и оценки динамики диагностически значимых лабораторно-иммунологических критериев.

Для сравнительной оценки клинической эффективности программ дифференцированной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии проводился анализ динамики клинических критериальных признаков I и II до и после проведения ИПКИС с включением дифференцированных для каждого патологического клинико-иммунологического иммунофенотипа программ таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии (Таблица 7).

Таблица 7. Сравнительная клиническая эффективность программ таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, включенных в состав ИПКИС, иммунокомпрометированных пациентов с АХА-ГВИ

Критериальный признак		Медиана [минимум; максимум]		
		Программа 1 (n = 156)	Программа 2 (n = 100)	Программа 3 (n = 79)
Частота рецидивов ГВИ (в год)	до лечения	10,0 [8,5;14,5]	10,5 [8,0;14,5]	12,0 [10,5;14,5]
	после лечения	4,5 [2,5;6,5] *	3,5 [2,5;5,5]*	7,5 [5,5;9,5]*^
Длительность рецидива ГВИ (в днях)	до лечения	8,0[6,5;10,5]	8,0 [6,5;10,5]	9,5[7,5;12,5]
	после лечения	4,5 [3,5; 6,5]*	5,5 [4,5; 6,5]*	5,5 [3,5; 7,5]*
Частота ОРВИ (в год)	до лечения	11,0 [9,5; 12,0]	11,5[10,0; 12,0]	12,5[11,0;13,5]
	после лечения	5,5 [4,0; 6,5]*	6,0 [4,5;7,0]*	7,5 [6,0;8,0]*
Длительность ОРВИ (в днях)	до лечения	7,5 [6,0;8,5]	7,5[6,0;8,5]	8,5[7,0;9,5]
	после лечения	4,5 [4,0;5,5]*	3,5 [3,0;4,5]*	5,5 [5,0;7,0]*^
Длительность периода клин благополучия (в мес.)	до лечения	6,5 [4,5;8,5]	6,5 [4,5;8,5]	3,0 [2,5;5,5]
	после лечения	10,0 [9,5;12,5]*	9,5 [8,5; 11,5]*	6,0 [5,0; 7,5]*^
Суммарный балл по Шкале	до лечения	54,5 [46,8;62,3]	46,0 [33,0;55,5]	52,5 [45,0; 0,5]
	после лечения	30,5[23,0;33,5]*	21,5[14,0;28,0]*	31,5[30,5;43,5]*
Примечание: *-достоверность отличий значений до и после проведения терапии (p<0.05)				
^ - достоверность различий между показателями разных программ после проведения терапии				

Полученные данные продемонстрировали высокую клиническую эффективность ИПКИС, включающую применение всех трех программ дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии, у 100 % пациентов.

Для пациентов ГИ1 была характерна наиболее выраженная позитивная клиническая эффективность, оцениваемая согласно клиническим критериальным признакам I и II порядка, среди которых доминирующими были: снижение длительности рецидивов герпесвирусных инфекций (ГВИ) в 1,8 раза, и снижение частоты ОРВИ в 2 раза по отношению к аналогичным показателям до терапии; снижение выраженности клинических проявлений СХУ/МЭ в 1,7 раз, что в количественном выражении составляет снижение с 54,5[46,75; 62,25] до 30,5[23,0; 23,5] баллов (p<0,05). Необходимо отметить, что после проведенной терапии не только уменьшилось количество и длительность рецидивов ГВИ, но и изменился характер клинической картины обострений, а именно: рецидивы ГВИ стали протекать в более легкой форме с вовлечением в патологических процесс меньших объемов тканей, пораженных герпесвирусами, что выражалось в сокращении размеров локусов привычных высыпаний, в изменении характера первичных элементов с тенденцией к регрессу везикулярных элементов; сокращением длительности периода продромы или

полным его регрессом, уменьшением симптомов интоксикации, более быстрым и полным ответом на проводимую специфическую противовирусную терапию.

Как следует из результатов оценки динамики обнаружения вирусной ДНК до и после терапии в различных биоматериалах от пациентов, страдающих АХА-ГВИ, зафиксировано статистически значимое снижение частоты детекции копий генома ВЭБ, ВЧГ6 и ЦМВ преимущественно в слюне этих пациентов в 5,0, 2,3 и 3,4 раза соответственно. Аналогичная тенденция наблюдалась в отношении числа копий ДНК герпесвирусов до и после терапии и в других биоматериалах: соскоб с миндалин, кровь, моча (Таблица 8).

Таблица 8. Частота обнаружения генома герпесвирусов в разных биоматериалах у пациентов с АХА-ГВИ до и после проведения ИПКИС *Программа1* (ПЦР-РВ, в %).

Вид биоматериала	ВЭБ		ВЧГ6 тип		ЦМВ	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
Слюна	76,3	15,3*	76,1	33,4*	45,2	13,3*
Кровь	12,4	1,2*	1,5	0	1,8	0
Соскоб с миндалин	63,8	23,8*	89,5	32,7*	35,2	12,8*
Моча	18,3	5,2*	5,6	2,1*	1,8	0

Примечание: *-статистически значимое различие показателя до и после терапии ($p < 0,05$)

Исходя из этого можно заключить, что ликвидация репликативной активности герпес-вирусов на фоне восстановления адекватного функционирования иммунной системы и системы ИФН привела к позитивной клинической динамике - регрессу клинических проявлений СХУ/МЭ и выраженных когнитивных расстройств, фибромиалгий и артралгий и иных клинических симптомов нейроиммуновоспаления.

Установлено, что после проведения терапии у пациентов ГИ2 в динамике критериальных признаков I порядка доминировали: снижение частоты рецидивов ГВИ (в 2.9 раза), длительности ОРВИ (в 2.1 раз) наряду с максимальным регрессом критериальных признаков II порядка (в 2.2 раза по сравнению с показателями до терапии), а именно снижение выраженности специфических симптомов, характерных для развития СХУ/МЭ, что в числовом выражении соответствовало снижению с 46,0 [33,0;55,5] до 21,5 [14,0;28,0] баллов при ($p < 0,05$). Отмечалось восстановление работоспособности, переносимости адекватной физической нагрузки, нормализация формулы сна, восстановилась память, значительно улучшилось настроение и качество жизни пациентов. Наряду с описанными позитивными клиническими изменениями зафиксировано снижение вирусной нагрузки, что свидетельствует о прекращении репликативной активности герпес-вирусов (Таблица 9)

Таблица 9. Частота обнаружения генома герпесвирусов в разных биоматериалах при АХА-ГВИ до и после проведения ИПКИС *Программа2* (метод ПЦР-РВ, в %).

Вид биоматериала	ВЭБ		ВЧГ6 тип		ЦМВ	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
Слюна	89,1	35,3*	76,1	33,4*	45,2	13,3*
Кровь	2,6	0,8*	1,1	0	1,2	0
Соскоб с миндалин	71,2	21,6*	73,8	32,7*	56,2	22,3*
Моча	12,3	2,2*	2,8	0,3*	1,1	0

Примечание: *- статистически значимое различие показателя до и после терапии ($p < 0,05$)

Для пациентов ГИЗ доминирующим клиническим эффектом было увеличение длительности периода клинического благополучия (в 2.1 раза). Показано достоверное снижение степени выраженности критериальных клинических признаков/симптомов СХУ/МЭ и когнитивных расстройств в 1,7 раз, что в количественном выражении соответствует снижению суммарного балла по используемой шкале с 52,5 [45,0;50,5] до 31,5 [30,5;43,5] при ($p<0,05$).

После проведения терапии зафиксировано снижение вирусной нагрузки, что свидетельствует о прекращении репликативной активности герпес-вирусов (Табл. 10).

Таблица 10. Частота обнаружения генома герпесвирусов в разных биоматериалах при АХА-ГВИ до и после проведения ИПКИС с включением Программы 3 (метод ПЦР-РВ, в %).

Вид биоматериала	ВЭБ		ВЧГ6 тип		ЦМВ	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
Слюна	66,5	25,3*	86,3	23,7*	21,4	13,1*
Кровь	0	0	0	0	0	0
Соскоб с миндалин	63,8	23,8*	89,5	32,7*	35,2	12,8*
Моча	3,4	2,2	0	0	1,2	0

Примечание: *-статистически значимое различие показателя до и после терапии ($p<0,05$)

Таким образом, во всех группах пациентов, страдающих АХА-ГВИ, показана высокая клиническая эффективность применяемых программ дифференцированной таргетной интерферено- и иммуномодулирующей терапии, ориентированных на выявленные патологические иммунофенотипы и ассоциированные с ними клинические проявления. У 100% пациентов, включенных в исследование, был отмечен выраженный в разной степени регресс клинических признаков синдрома хронической усталости и когнитивных дисфункций, в основе развития которых лежит нейроимуновоспаление.

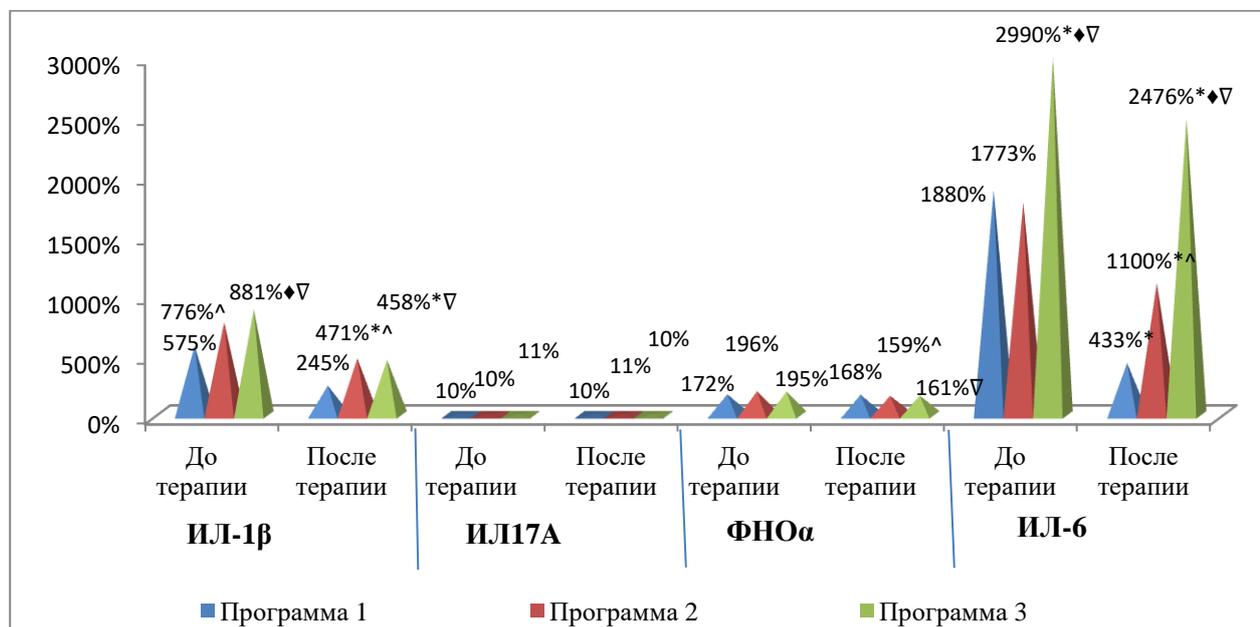
Позитивные клинические эффекты проводимой терапии сопровождались реставрацией или тенденцией к восстановлению дефектного функционирования различных параметров ИС. Иммунологическая эффективность каждой разработанной программы оценивалась с помощью предложенных нами ранее диагностически значимых иммунологических критериев – определения в сыворотке крови уровней ИЛ-1 β , ИЛ-17А, ФНО α , ИЛ-6, сывороточных ИФН α , ИФН γ , процентного содержания естественных киллерных клеток (CD16⁺CD56⁺) среди лимфоцитов периферической крови пациентов с АХА-ГВИ (Таблица 11).

Таблица 11. Сравнительная иммунологическая эффективность программ таргетной интерферено- и иммуномодулирующей терапии

Критериальный Показатель		Медиана [минимум; максимум]			p ₁ p ₂ p ₃
		Программа 1 (n = 156)	Программа 2 (n = 100)	Программа 3 (n = 79)	
ИЛ-1 β , пг/мл	до лечения	69,0 [34,2; 100,8]	86,9 [68,3; 127,3]	96,2 [65,2; 165,8]	- -
	после лечения	39,5 [21,7; 73,3]	59,7 [34,7; 87,4]	58,6 [14,7; 87,4]	<0,001* <0,001* <0,001*

	% эффектив- ности	79,2%	25%	87,5%	<0,001* 0,009* 0,226
ИЛ-6 пг/мл	до лечения	5,64 [4,53;7,3]	5,32 [4,83;8,32]	8,7 [5,45;7,34]	0,224 <0,001* 0,687
	после лечения	1,3 [0,6;1,8]	3,3 [2,92;3,98]	7,43 [4,3;9,45]	<0,001* <0,001* <0,001*
	% эффектив- ности	83%	78,5%	100%	1,000 1,000 1,000
ИЛ-17А, пг/мл	до лечения	0,60 [0,44; 0,69]	0,58 [0,45; 0,69]	0,64 [0,20; 0,91]	- - -
	после лечения	0,56 [0,39; 0,71]	0,63 [0,40; 0,71]	0,61 [0,21; 0,75]	0,204 0,052 0,223
	% эффектив- ности	100%	100%	100%	1,000 1,000 1,000
ФНО α , пг/мл	до лечения	29,3 [16,1; 48,7]	27,6 [16,1; 48,7]	28,1 [13,3; 48,7]	- - -
	после лечения	29,9 [13,9; 39,5]	34,0 [19,5; 48,7]	34,0 [20,3; 48,7]	0,726 0,065 0,149
	% эффектив- ности	41,7%	20,8%	25%	0,123 0,226 0,734
ИФН α , пг/мл	до лечения	17,8 [10,2; 26,7]	20,2 [14,1; 25,4]	13,4 [2,1; 48,6]	- - -
	после лечения	34,1 [23,9; 56,2]	26,8 [12,5; 45,4]	18,6 [7,1; 45,2]	<0,001* 0,004* 0,190
	% эффектив- ности	100%	54,2%	37,5%	<0,001* <0,001* 0,252
ИФН γ , пг/мл	до лечения	29,8 [15,8; 46,1]	25,0 [18,4; 32,4]	36,6 [10,8; 45,9]	- - -
	после лечения	62,5 [33,2; 101,2]	43,2 [39,4; 49,7]	43,3 [23,5; 49,7]	<0,001* <0,001* <0,001*
	% эффектив- ности	87,5%	100%	91,7%	0,077 0,640 0,153
Естествен- ные киллеры, %	до лечения	8,0 [5,2; 21,2]	5,1 [2,0; 11,0]	12,2 [9,2; 20,0]	- - -
	после лечения	10,2 [4,8; 16,5]	6,8 [3,1; 12,6]	13,0 [9,3; 20,0]	0,224 <0,001* 0,687
	баллы эффектив- ности	54,2%	33,3%	83,3%	0,150 0,031* 0,001*

Примечание: n – число обследованных лиц в каждой группе; p_1 – вероятность различий в группах с программами лечения 1 и 2; p_2 – вероятность различий в группах с программами лечения 1 и 3; p_3 – вероятность различий в группах с программами лечения 2 и 3; * – достоверность различий по критерию Манна-Уитни для абсолютных величин и по критерию χ^2 для относительных величин при $p < 0,05$.



Примечание: *статистически значимое различие показателя до и после терапии; ^- статистически значимые различия между Программами 1 и 2; ♦-статистически значимые различия между Программами 2 и 3; ▽-статистически значимые различия между программами 1 и 3 ($p < 0,05$)

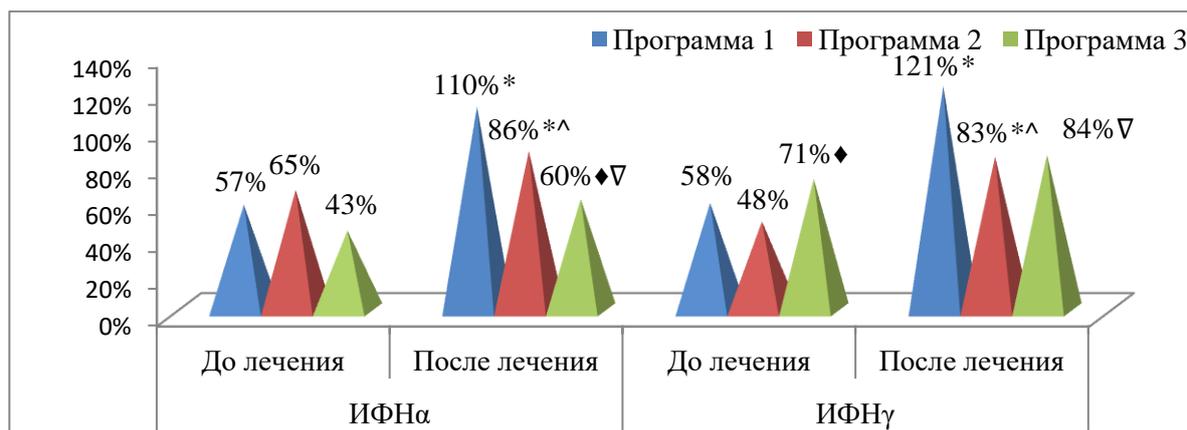
Рис. 11. Проценты отклонения от контроля уровней провоспалительных цитокинов в крови пациентов с АХА-ГВИ до и после терапии

При изучении уровней провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-17А и ФНОα) периферической крови пациентов с АХА-ГВИ было установлено достоверное их повышение во всех группах пациентов - гиперцитокинемия. Показано, что проведение ИПКИС с включением трех дифференцированных программ таргетной интерферона- и иммуномодулирующей терапии имело неоднозначное влияние на концентрации цитокинов «провоспалительной триады» (Рисунок 11, таблица 11). Так, концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-1β, участие которых в иммунопатогенезе герпесвирусной инфекции, в том числе в развитии нейроиммуновоспаления, является наиболее выраженным, были достоверно высокими в крови пациентов с АХА-ГВИ и значительно отличались от показателей группы сравнения ($p \leq 0,05$) (таб.11, рис.11). После проведения ИПКИС, независимо от используемой программы терапии, уровень обоих цитокинов достоверно снижался во всех трех группах пациентов, однако так и не достигал референсных значений и оставался на достоверно высоком уровне. При анализе концентрации провоспалительного ФНОα было выявлено достоверное его повышение до начала терапии у пациентов всех групп, однако проведение ИПКИС с включением трех программ иммуномодулирующей терапии достоверно не сказалось на динамике этого показателя.

Показано, что концентрация ИЛ-17А, продуцируемого Т-хелперами-17, у пациентов с АХА-ГВИ не имела достоверной динамики при использовании любой из предлагаемых программ лечения.

Необходимо отметить значительное и статистически значимое повышение концентрации провоспалительного ИЛ-1 α у пациентов ГИ1, ГИ2 и ГИ3 после проведения ИПКИС, что в сочетании со снижением уровня его реципрокного антагониста ИЛ-1 β и позитивной клинической динамикой, позволяет расценивать этот факт в качестве благоприятного прогностического маркера иммунологической эффективности проводимой терапии.

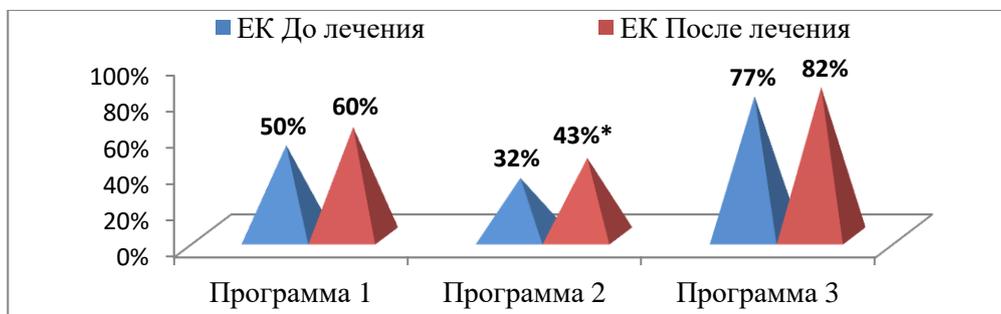
Установленное до начала терапии снижение концентрации сывороточных ИФН α и ИФН γ у пациентов с АХА-ГВИ после проведения ИПКИС достоверно возросло в ответ на проведение Программ 1 и 2 в отношении ИФН α и в ответ на все три программы – в отношении ИФН γ (Рисунок 12).



Примечание: статистически значимое различие показателя до и после терапии; ^-статистически значимые различия между Программами 1 и 2; ♦-статистически значимые различия между Программами 2 и 3; ▽-статистически значимые различия между программами 1 и 3 ($p < 0,05$)

Рис. 12. Проценты отклонения от контроля уровней интерферонов в крови пациентов с АХА-ГВИ до и после проведения терапии

При оценке динамики относительного количества естественных киллерных клеток (ЕКК), которые при АХА-ГВИ в той или иной степени были достоверно снижены в ГИ1 и ГИ2 по сравнению с группой контроля, показано, что проведение терапии с включением Программы 2 привело к достоверному увеличению количества ЕКК по сравнению с их уровнем до начала терапии, однако оставалось в диапазоне низких значений (Рисунок 13).



Примечание: *статистически значимое различие показателя (при $p < 0,05$)

Рис. 13. Проценты отклонения от контроля содержания ЕКК в крови пациентов с АХА-ГВИ до и после проведения терапии.

Таким образом, применение трех программ дифференцированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии в соответствии с выявленным

преобладающим иммунофенотипом оказывало истинное модулирующее воздействие на все звенья иммунопатогенеза при АХА-ГВИ, которое в наибольшей степени проявлялось в виде коррекции дисбаланса в системе ИФН (увеличение индуцированной продукции ИФНа и γ и их концентрации в сыворотке), а также снижением уровня провоспалительного ИЛ-1 β наряду с увеличением количества ЕКК.

Для сравнительной оценки эффективности программ терапии нами была применена методика оценки тенденции изменения показателя на основе сравнения его значения с исходным значением до терапии. Позитивная тенденция в изменении каждого из изучаемых показателей крови пациента с АХА-ГВИ в процессе лечения оценивалась в 1 балл.

Исходя из этих предпосылок, дальнейшему анализу были подвергнуты следующие величины: 1) значения каждого показателя до и после лечения в абсолютных величинах и статистическая оценка этих сдвигов по критерию Манна-Уитни 2) процент позитивных сдвигов (% эффективности) каждого показателя в процессе лечения и статистическое сравнение результатов лечения при использовании разных программ по критерию χ^2 ; 3) проценты отклонения от контроля величины сдвига каждого показателя до и после лечения при этом контрольные значения рассчитывались ранее для каждого показателя; 4) суммарная оценка в баллах сдвигов всех 6 показателей для каждой программы лечения и сопоставление 95% доверительных интервалов этой суммарной оценки по каждой программе с построением ROC-кривых их диагностической значимости (Рисунок 14).

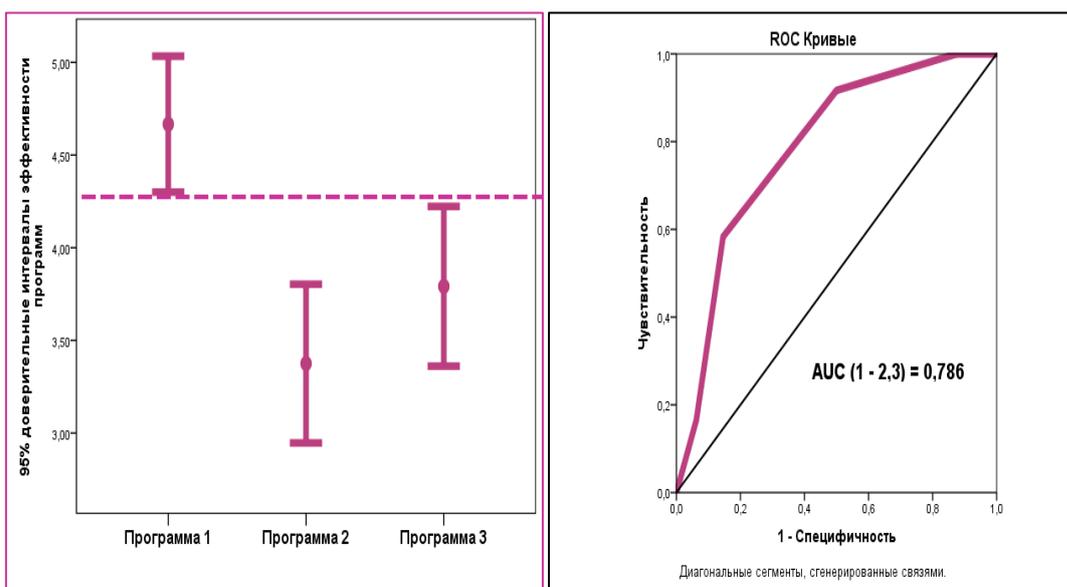


Рис 14. 95% доверительные интервалы суммарной оценки эффективности терапии по каждой из предложенных программ и ROC-кривые их диагностической значимости

Показано, что при анализе степени наблюдаемых модулирующих воздействий разных программ были выявлены различия, а именно: суммарный балл эффективности лечения в случае *Программы 1* составлял 5,0 [3,0; 6,0] при максимальном возможном значении, равном 6 баллам. *Программе 2* соответствовал суммарный балл 3,0 [2,0; 6,0], Суммарный балл эффективности лечения для *Программы 3* составлял 4,0 [2,0; 6,0]. Таким образом, эффективность *Программы 1* наиболее высока, а значения суммарного балла выше 4,25 являются ее характерным признаком. *Программы 2 и 3* оцениваются в более низком диапазоне суммарного балла. *Программы 1* довольно высока и по

величине AUC (1-2,3), отражающей сравнение этой программы с двумя другими программами, составляет 0,786.

В последнее десятилетие ведется активный поиск неинвазивных методов исследования и биомаркеров для ранней доклинической диагностики нейроиммуновоспаления и персонализации лечения иммунокомпromетированных пациентов с АХА-ГВИ. Интересным представляется факт возможности использования в качестве такого биомаркера интегрального показателя, описывающего реципрокные взаимоотношения двух выявленных нами прогностически важных биомаркеров: ИЛ-1 β и ИЛ-1ra. В качестве такого показателя нами предложен индекс ИЛ-1ra/ИЛ-1 β .

В рамках настоящего исследования нами была проведена оценка динамики биомаркеров сыворотки крови иммунокомпromетированных пациентов с АХА-ГВИ, продемонстрировавших наиболее значимые и достоверные изменения после проведенной терапии, а также по сравнению с аналогичными показателями условно здоровых лиц, с целью изучения их диагностической эффективности и прогностической значимости. Показано, позитивное влияние проведенной терапии на снижение концентрации сывороточного ИЛ-1 β , которое находится в обратной (отрицательной) корреляционной взаимосвязи с уровнем сывороточного ИЛ-1ra. На основании этих результатов нами был предложен расчет индекса ИЛ-1ra/ИЛ-1 β с последующей оценкой его прогностической способности с использованием ROC-анализа, которая показала, что индекс ИЛ-1ra/ ИЛ-1 β имеет высокую предиктивную возможность прогноза эффективности планируемой терапии и может быть использован в качестве критерия стратификации пациентов, оценки эффективности, контроля и исхода терапии при АХА-ГВИ.

Обобщая полученные данные можно заключить, что нами была убедительно доказана возможность использования сывороточных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-1ra в качестве биомаркеров, характеризующих уровень системного воспаления и нейроиммуновоспаления, а также его регрессию при микст- АХА-ГВИ. Определение предложенного нами оригинального индекса ИЛ-1ra/ ИЛ-1 β , основанного на выявленном в ходе исследования негативном влиянии повышения уровня ИЛ-1ra на уровень ИЛ-1 β , позволяет рекомендовать его использование в качестве прогностического биомаркера иммунологической эффективности терапии. Опираясь на результаты полученных исследований, для автоматического расчета индекса ИЛ-1ra/ИЛ-1 β и получения оценки его прогностической значимости нами была разработана и зарегистрирована в ФИПС программа для ЭВМ «Прогноз эффективности иммунотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями» (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023618400 от 24.04.2023).

Подводя итог настоящим исследованиям следует заключить, что чрезвычайно важным для определения стратегии и тактики лечебных мероприятий, направленных на коррекцию дисфункций иммунной системы, является понимание причин формирования дефектного функционирования иммунной системы. В данной работе прослежена связь между особенностями иммунопатогенеза и разработкой персонализированных программ таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии. Доказана целесообразность и клинико-иммунологическая эффективность проведения интеграционной программы коррекции иммунной системы иммунокомпromетированных пациентов с АХА-ГВИ в целях реставрации выявленных нарушений иммунной системы, восстановления качества жизни и социальной адаптации этих пациентов.

Таким образом, разработанная ИПКИС в лечении иммунокомпromетированных

пациентов с АХА-ГВИ с включением одной из трех дифференцированных программ таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии продемонстрировала свою высокую клинико-иммунологическую эффективность и безопасность, что позволяет рекомендовать ее к использованию в практическом здравоохранении.

ВЫВОДЫ

1. Ретроспективное исследование выявило наличие клинических признаков иммунокомпрометированности у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями (АХА-ГВИ), которые были ранжированы на клинические критерии иммунокомпрометированности I и II порядка.
2. У пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями определена частота встречаемости ассоциированных с ними гнойно-воспалительных (63%), аллергических (50%), аутоиммунных заболеваний (8%), клинических проявлений тяжелого СХУ/МЭ и когнитивных/мнестических расстройств (100%).
3. Частота встречаемости различных герпесвирусных инфекций, выявляемых методом ПЦР-РВ в статистически значимых концентрациях в слюне и соскобе с миндалин пациентов с АХА-ГВИ, составляет: моно-инфекции- 26,6% с доминированием ВЭБ в 35,4% случаев и микст-герпесвирусные инфекции - 73,4 % с доминированием ВЭБ в 81,0 % случаев.
4. У пациентов с АХА-ГВИ выявлены различные дефекты функционирования противовирусной иммунной защиты, уточняющие особенности иммунопатогенеза: дефицит сывороточных ИФНа, ИФН γ с нарушением их индуцированной продукции, дефицит ЕКК, ЦТЛ, дисиммуноглобулинемия, гиперцитокинемия провоспалительных цитокинов; уточнена вариативность различных комбинаций нарушений, что позволило выделить 3 патологических иммунофенотипа.
5. Уточнены нарушения механизмов реализации противовирусной активности нейтрофильных гранулоцитов: негативная трансформация фенотипа $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$ субпопуляции нейтрофильных гранулоцитов, ассоциированная с нарушением экспрессии функционально значимых мембранных рецепторов в сопоставлении с различными изменениями экспрессии ядерного фактора NF- κ B у пациентов с АХА-ГВИ.
6. Данные, полученные в экспериментальной системе *in vitro*, свидетельствуют о преобладающем позитивном влиянии таких иммуотропных субстанций, как рекомбинантный интерферон $\alpha 2b$, гексапептид, глюкозаминилмурамилдипептид на количество и негативно трансформированный фенотип субпопуляции $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4$ нейтрофильных гранулоцитов; на экспрессию ядерного фактора NF- κ B, ассоциированную с уровнем экспрессии мембранных рецепторов $IFN\alpha/\beta R$ и $IFN\gamma R$, что послужило в дальнейшем предпосылкой для разработки таргетной коррекции дисрегуляторных процессов в системе противовирусной иммунной защиты и системе интерферонов у пациентов с АХА-ГВИ.
7. Алгоритм клинико-лабораторной диагностики АХА-ГВИ, разработанный с учетом выявленных критериев иммунокомпрометированности I и II порядка, лабораторных особенностей, включающих созданные *de novo* 9 информативных диагностических критериев ($IFN\gamma R$ +ИГ; MFI NF- κ B+ИГ; ЕКК; сывороточные ИФНа, ИФН γ , ИЛ-17А, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α) и прогностический индекс (ИЛ-1ra/ИЛ-1 β), позволяет оптимально диагностировать как тяжесть проявлений иммунодефицита и признаки выраженности нейроиммуновоспаления, так и дефекты функционирования противовирусной иммунной защиты с уточнением патологических иммунофенотипов.

8. Создана интеграционная программа коррекции иммунной системы для пациентов, страдающих АХА-ГВИ, органично включающая разработанную для каждого патологического иммунофенотипа дифференцированную таргетную интерферно- и иммуномодулирующую терапию, и учитывает новые данные об иммунопатогенезе АХА-ГВИ, комбинации дефектов функционирования противовирусной иммунной защиты, особенности различных патологических иммунофенотипов, признаки имеющегося нейроиммуновоспаления и ассоциированных с ними клинических проявлений.

9. Разработанная тактика применения интеграционной программы коррекции иммунной системы у пациентов с АХА-ГВИ, наряду с применением дифференцированной таргетной интерферно- и иммуномодулирующей терапии, ориентированной на различные патологические иммунофенотипы, включала обязательный комплекс разнообразных лечебных мероприятий: проведение адекватной противовирусной терапии, санацию очагов хронической инфекции, антиоксидантную терапию, восстановление микробиоценоза слизистых оболочек и кожи, терапию аллергических и аутоиммунных заболеваний, что позволило достичь позитивной клинической эффективности у 100,0 % пациентов.

10. Проспективное когортное исследование, в котором у пациентов с АХА-ГВИ оценивалась эффективность интеграционной программы коррекции иммунной системы, включающей таргетную интерферно- и иммунотерапию дифференцированную для каждого патологического иммунофенотипа, продемонстрировало позитивные клинко-иммунологические эффекты: статистически значимое снижение частоты и длительности обострений ВПГ1/ВПГ2, частоты ОРВИ и длительности ОРВИ, достоверное снижение выраженности симптомов СХУ/МЭ и когнитивных расстройств на фоне статистически значимого восстановления системы интерферонов, клеточных и гуморальных противовирусных механизмов иммунной защиты, с параллельным статистически значимым снижением уровня провоспалительных цитокинов, что способствует регрессу нейроиммуновоспаления.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовать к использованию в клинической практике терапевтов, инфекционистов, оториноларингологов, неврологов, гинекологов, аллергологов-иммунологов разработанные нами диагностически значимые клинические критерии иммунокомпрометированности I и II порядка для пациентов, страдающих АХА-ГВИ, учитывающие: частоту рецидивов герпесвирусных инфекций свыше 5 раз в год, частоту и длительность рекуррентных ОРВИ, осложняющихся вторичной бактериальной инфекцией респираторного тракта и ЛОР-органов; резистентностью к традиционной терапии, критериальные признаки СХУ/МЭ и когнитивных расстройств.

2. Рекомендовать использовать в повседневной клинической практике терапевтов, неврологов, инфекционистов, оториноларингологов, гинекологов, аллергологов - иммунологов разработанную «Карту - опросник пациента с хроническими герпес-вирусными инфекциями» и шкалу оценки выраженности критериев/симптомов СХУ и когнитивных расстройств с целью выявления у пациентов клинических критериев иммунокомпрометированности и оценки их тяжести, а также для оценки клинической эффективности проводимой терапии.

3. При выявлении клинических критериев иммунокомпрометированности у пациентов с АХА-ГВИ врачам терапевтического профиля, неврологам, инфекционистам, отоларингологам рекомендовано направлять пациентов на

консультацию к аллергологу – иммунологу для дальнейшего клинико-лабораторного обследования пациентов с АХА-ГВИ с целью выявления различных клинических вариантов течения ГВИ, трудно поддающихся лечению традиционными способами, с дальнейшим использованием алгоритма комплексной клинико-anamnestической и лабораторной диагностики, включающей в том числе и иммунодиагностику, диагностику состояния интерферонового статуса и цитокинового профиля, системы нейтрофильных гранулоцитов. Для подтверждения наличия ГВИ применять методы ИФА и ПЦР –РВ.

4. При подтверждении диагноза и уточнении клинико-иммунологических патологических фенотипов АХА-ГВИ врачу аллергологу- иммунологу рекомендовать использовать для лечения интеграционную программу коррекции иммунной системы с использованием принципов персонифицированной таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии с учетом выявленных нарушений функционирования иммунной системы и системы интерферонов.

5. Рекомендовать врачам аллергологам-иммунологам с целью оптимизации лечения иммунокомпromетированных пациентов с АХА-ГВИ использовать 3 различные программы коррекции нарушений в иммунной системе, включающие дифференцированную таргетную интерфероно- и иммуномодулирующую терапию и только при необходимости использовать различные синтетические противоверпетические препараты короткими 10-ти дневными курсами.

6. Рекомендовать к использованию в повседневной клинической практике врачам терапевтам, инфекционистам, оториноларингологам, неврологам, аллергологам-иммунологам разработанные нами программ для ЭВМ:

- «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол «Иммуно-скрин» для скрининговой диагностики клинических признаков иммунокомпromетированности у пациентов с разными нозологическими фенотипами заболеваний. «Скрининг атипичного, активного течения хронических герпесвирусных инфекций» для скрининговой диагностики атипичного активного течения хронической герпесвирусной инфекции у пациентов, страдающих часто рецидивирующими формами хронических герпесвирусных инфекций в моно- или микст варианте. «Прогноз эффективности иммунотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями» для расчета индекса биомаркеров ИЛ-1ra/ИЛ-1β, на основании которого определяется прогноз эффективности иммунотропной терапии для пациентов, страдающих атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями.

Список научных трудов по теме диссертации

Список статей, входящих в международные системы цитирования

1. Etiological Structure of Morbidity and Functioning Features of the Antiviral Protection System in Patients with Herpesvirus Infections /**E.O. Khalturina** //Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovative Technologies. Filodiritto international proceedings, Bologna (Italy). – 2018. – Vol. 10. – P. 233-241
2. Clinico-immunological and Laboratory Markers in the Substantiation of the Algorithm for Diagnosis of Atypical Chronic Active Mono and Mixed-herpesvirus Infections /I.V. Nesterova, **E.O. Khalturina** //Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovative Technologies. Filodiritto international proceedings, Bologna (Italy). – 2018. – Vol. 10. – P. 249-259
3. Phenotypical Transformations of IFN alpha/beta R1(+)IFN gamma R(+)TLR4(+) Subpopulation of Neutrophilic Granulocytes in Chronic Herpes-Viral Infections and their

- Experimental Modulation by Recombinant IFN alpha 2b /I.V. Nesterova, T.D.L. Nguyen, **E.O. Khalturina**, V.V. Malinovskaya. //Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovative Technologies. Filodiritto international proceedings, Bologna (Italy). – 2018. – Vol. 10. – P. 277-284
4. Positive Clinical and Immunological Effects of Combine Interferon- and Immunomodulatory Therapy in Patients with Atypical Chronic Viral-Bacterial Co-infections /Nesterova I.V., **Khalturina E.O.**, Malinovskaya V.V. //Allergy, European Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2019. – Vol. 74, (Suppl. 106). – P. 518-519.
5. Early diagnostics of autoinflammatory disorders associated with post-viral chronic fatigue syndrome and cognitive impairments in chronic mixed herpes viral infections /Nesterova I.V., **Khalturina E.O.** //Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23(4). – С. 975-980.
6. Unfavorable impact of the urbanization on the immune antiviral protection in children: the relationship with recurrent respiratory infections /Nesterova I. V., Kovaleva S.V., Chudilova G. A., **Khalturina E.O.**, Malinovskaya V.V. //Springer geography. – 2021. – P. 171-184.
7. Evaluation of the effects in the in vitro system of synthetic thymic hexapeptide on the expression levels of NF-Kb, IFN α/β r and CD119 neutrophilic granulocytes in patients with chronic herpes viral co-infections Nesterova I.V., **Khalturina E.O.**, Nelubin V.N., [et al]// Russian Journal of Infection and Immunity. – 2022. – Т. 12, № 5. – С. 850-858.
8. Controversial role of neutrophilic granulocytes in the immunopathogenesis of COVID-19: correlation with imbalance of pro-inflammatory neutrophil-associated cytokines and interferon alpha deficiency /Нестерова И.В., Городин В.Н., Матушкина В.А., Чудилова Г.А., Чапурина В.Н., **Халтурина Е.О.**, [и др]// Инфекционные болезни. – 2022. – Т. 20, № 4. – С. 12-24.
9. Efficacy of pharmacological therapy in patients with atypical chronic herpes virus infections /**Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В. //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 2. – С. 8-13.
10. Алгоритм клинико-иммунологической диагностики вариантов патологических иммунофенотипов, ассоциированных с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями /**Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В., Малиновская В.В. //Инфекционные болезни. – 2023. – Т. 21, № 1.– С. 96-103.
11. Интерференопатии при атипичных хронических активных герпесвирусных инфекциях: тактика проведения коррекции дефицита интерферонов /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**, Малиновская В.В. //Инфекционные болезни. – 2023. – Т. 21, №1. – С. 104-113.
12. Особенности профиля сывороточных цитокинов у иммунокомпрометированных пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями /**Халтурина Е.О.**, Миронов А.Ю. //Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – Т. 68, № 2. – С. 88-94.
13. Клиническая лабораторная диагностика интерференопатий у иммунокомпрометированных пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями /**Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В., Миронов А.Ю. //Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – Т. 68, № 5. – С. 266-271.
14. Диагностическая эффективность и прогностическая значимость биомаркёров при атипичных хронических активных герпесвирусных инфекциях /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**, Миронов А.Ю.// Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – Т. 68, № 5. – С. 272-279.

15. Peculiarities of post-viral chronic fatigue syndrome associated with mild cognitive decline in patients with typical chronic active herpesvirus infections /**Khalturina E.O.**, Nesterova I.V. //Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, № 5. – С. 1241-1246.

Список статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК

16. Программа реабилитации иммунной системы пациентов с круглогодичным аллергическим ринитом, ассоциированным с повторными острыми респираторными и хроническими герпес-вирусными инфекциями /Гарскова Н.В., **Халтурина Е.О.**, Маркова Т.П. //Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18, № 12. – С. 52-57.

17. Оптимизированная программа таргетной комбинированной интерфероно- и иммунотерапии в лечении атипичных хронических активных герпесвирусных коинфекций /**Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В., Маркова Т.П. //Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18, № 12. – С. 58-63.

18. Круглогодичный аллергический ринит, ассоциированный с рекуррентными ОРВИ и рецидивирующими хроническими герпесвирусными инфекциями: клиническая эффективность таргетной интерфероно- и иммуномодулирующей терапии /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**, Гарскова Н.В.// Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18, № 37. – С. 24-29.

19. Клинико-иммунологическая эффективность интеграционной программы реабилитации иммунной системы у пациентов с атипичной хронической активной герпесвирусной коинфекцией до и во время COVID-19, а также в постковидном периоде /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**, Малиновская В.В. //Эффективная фармакотерапия. – 2022. – Т. 18, № 37. – С. 30-41.

20. Особенности функционирования иммунной системы у пациентов с моно- и микст-герпесвирусными инфекциями /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.** //Аллергология и иммунология. – 2017. – Т. 18, №4. – С. 231-235.

21. Новые подходы к таргетной иммунопатогенетической терапии атипичной хронической активной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**, Малиновская В.В.// Аллергология и иммунология. – 2018. – Т.19, № 2. – С 99-104.

22. Моно- микст герпесвирусные инфекции: ассоциированность с клиническими синдромами иммунодефицита /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**//Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2018. – Т. 22, №2. – С. 226-234.

23. Негативно трансформированный фенотип субпопуляции $IFN\alpha/\beta R1+IFN\gamma R+TLR4+$ нейтрофильных гранулоцитов при хронических герпес-вирусных инфекциях и его ремоделирование *in vitro* под влиянием регуляторного гексапептида /Нестерова И.В., Нгуен Т.З.Л., **Халтурина Е.О.**, Хайдуков С.В., Малиновская В.В. //Цитокины и воспаление. – 2018. – Т.17,N 1-4. – С. 56-62.

24. The main clinical syndromes associated with active cronic atypical epsteine-barr virus infection: created algorithm of clinical and laboratory diagnostic /Nesterova I.V., **Khalturina E.O.** //RUDN Journal of Medicine. – 2019. – Т. 23, №1. – С. 70-78.

Список публикаций в рецензируемых журналах, рекомендованных РУДН для докторских диссертаций

25. Эффективность иммунопатогенетически обоснованной программы системной и локальной интерферонотерапии у иммунокомпromетированных детей раннего возраста /Нестерова И.В., Ковалева С.В., **Халтурина Е.О.**, Чудилова Г.А.//Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2020. – Т. 24, №4. –С. 354–367.

26. Атипичные хронические активные герпесвирусные инфекции: этиологическая структура, распространённость, клинические синдромы, ассоциированные с ними/ **Халтурина Е.О.**, Миронов А.Ю., Суранова Т.Г. //Эпидемиология и инфекционные болезни. –2023. – Т. 28, №1. – С. 34-43.
27. Post-viral Chronic Fatigue and Immune Dysfunction Syndrome Associated with Amnesic Mild Cognitive Impairment /Nesterova I.V., **Khalturina E.O.** //Allergy, Asthma, Copd, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovayive Technologies. Filodiritto, International Proceedings. –2019. – P.281-289
28. Epstein-Barr Virus DNA In Human Specimens as a Marker of Activity of Viral Process in Atypical Chronic Active Epstein-Barr Viral Infection /**Khalturina Evgeniya**, Ter-Levonian Artur, Nesterova I.V.//Allergy, Asthma, Copd, Immunophysiology &Immunorehabilitology: Innovative Technologies. Filodiritto international proceedings. – 2019. – P. 289-295.
29. Модулирующие эффекты глюкозаминилмурамилди-пептида на трансформированный фенотип субпопуляций $IFN\alpha/\beta R1+IFN\gamma R+TLR4+$ нейтрофильных гранулоцитов пациентов с хроническими герпес-вирусными инфекциями в эксперименте *in vitro* /Нестерова И.В., Нгуен Т.З., **Халтурина Е.О.**, Хайдуков С.В., Гурьянова С.В.// Российский иммунологический журнал. – 2018. – Т. 12(21), № 3. – С. 379-384.
30. Алгоритм клинико-иммунологической и лабораторной диагностики атипичной хронической активной Эпштейн-Барр герпесвирусной инфекции /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.** //Российский иммунологический журнал. – 2018. – Т. 12(21), № 2. – С. 170-177.

Монографии

31. Врожденные и приобретенные интерференопатии, ассоциированные с нетипично протекающими вирусными инфекциями и с COVID-19 /Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., **Халтурина Е.О.**, Малиновская В.В. //Иммунотерапия в практике ЛОР-врача и терапевта/ под редакцией А.С. Симбирцева, Г.В. Лавреновой. – Санкт-Петербург: Диалог, 2022. –С.234-270. (глава в монографии)
32. Дифференцированная интерферено- и иммунотерапия в интеграционной программе коррекции иммунной системы при атипичных хронических активных герпес-вирусных инфекциях /Нестерова И.В., **Халтурина Е.О.**// Иммунотерапия в практике ЛОР-врача и терапевта/ под редакцией А.С. Симбирцева, Г.В. Лавреновой. – Санкт-Петербург: Диалог, 2022. –С.299-330. (глава в монографии)

Патенты, программы ЭВМ и базы данных

1. Программа для ЭВМ «Прогноз эффективности иммулотропной терапии у пациентов с атипичными хроническими активными герпесвирусными инфекциями» Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2023618400 от 24.04.2023 г. Бюл.№5 / **Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В.
2. Программа для ЭВМ «Скрининг атипичного, активного течения хронических герпесвирусных инфекций» Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2023618650 от 27.04.2023 г. Бюл.№5 / **Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В.
3. Программа для ЭВМ «Программа скрининговой оценки состояния иммунной системы. Протокол «Иммуно-скрин» Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2023661138 от 29.05.2023. Бюл.№6/ **Халтурина Е.О.**, Нестерова И.В.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CD – кластер дифференцировки (cluster of differentiation)

MFI – средний индекс флюоресценции (middle index of fluorescence)

NET – нейтрофильные экстрацеллюлярные сети (neutrophil extracellular traps)

АГ – антиген

ГВИ – герпесвирусная инфекция

АХА-ГВИ – атипичные хронические активные герпесвирусные инфекции

ГМДП – глюкозаминилмурамилдипептид

ГП – гексапептид

ИДС – иммунодефицитное состояние

ИС – иммунная система

МКАТ – моноклональные антитела

НГ – нейтрофильные гранулоциты

ОРВИ – острая респираторная вирусная

инфекция

рекИФН α 2b – рекомбинантный интерферон α 2b

ИФН/IFN- интерфероны

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ЦМВ – цитомегаловирус

ВЧГ6 – вирус человеческого герпеса

ВПГ1/ 2 – вирус простого герпеса типа 1/ 2

ВОЛ – вирус опоясывающего лишая

Г-КСФ/ G-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор/ granulocyte-colony stimulating factor

ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор/ granulocyte myeloid-colony stimulating factor

ИЛ – интерлейкин

ИФН/IFN-интерферон

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

TLRs – толл-подобные рецепторы

NF- κ B – ядерный фактор каппа В

IRF – интерферон-регулирующий фактор /interferon regulatory factor