

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР

В.А. Зурочка^{1,2}, О.И. Забков¹, М.А. Добрынина¹, В.А. Гриценко³, Е.В. Давыдова⁴, А.В. Чукичев⁴, Н.А. Забокрицкий¹, А.П. Сарапульцев¹, А.В. Зурочка^{1,2}

¹ ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

² Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский), г. Челябинск, Россия

³ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Россия

Резюме. Сложность лечения хронических вирусных инфекций, сопровождающихся перманентной персистенцией вирусов в целевых эпитопах ротовой полости, кожи, урогенитального тракта состоит в практически полном отсутствии на фармакологическом рынке препаратов, оказывающих сочетанное системное вирулицидное и иммуномодулирующее действие. В работе показана клинико-иммунологическая эффективность комплексной терапии при лечении хронической вирусной инфекции, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). Целью исследования явилась оценка клинико-иммунологической эффективности комплексной этиопатогенетической терапии с использованием косметического средства «Ацеграм» у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ. *Материалы и методы.* Наблюдения проведены на 40 пациентах до лечения и 20 пациентах после комплексной терапией (циклы терапии составляли — валацикловир (Валтрекс) в дозе 500 мкг 2 раза в день в течение 10 дней, глюкозаминилмурамилдипептид (Ликопид) в дозе 10 мг 2 раза в день в течение 10 дней — перорально, пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (Ацеграм-спрей) 3 раза в день орошение слизистых в течение 10 дней — местно. При необходимости курсы лечения повторялись через 20 дней после окончания терапии. Все пациенты до начала лечения и через 30, 60 дней после терапии обследованы на наличие в ротовой жидкости и крови геномов ВЭБ методом качественной и количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием тест-системы ДНК-технология (Россия) на приборе ДТ-Lite; в эти же сроки у больных в сыворотке определялись иммуноглобулины класса G к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, методом иммуноферментного анализа (ИФА) (тест-системы производства ЗАО «Вектор Бест», Россия) и проводилась оценка иммунного статуса (общеклинические методы, метод проточной цитометрии, оценка фагоцитарной активности нейтрофилов, ме-

Адрес для переписки:

Давыдова Евгения Валерьевна
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64,
ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский
университет.
Тел.: 8 908 060-92-06 (моб.).
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Contacts:

Eugeniya V. Davydova
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64,
South Ural State Medical University.
Phone: +7 908 060-92-06 (mobile).
E-mail: dav-zhenya@yandex.ru

Библиографическое описание:

Зурочка В.А., Забков О.И., Добрынина М.А., Гриценко В.А., Давыдова Е.В., Чукичев А.В., Забокрицкий Н.А., Сарапульцев А.П., Зурочка А.В. Иммунологические критерии эффективности комплексной этиопатогенетической терапии у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 338–346. doi: 10.15789/2220-7619-CDC-1141

Citation:

Zurochka V.A., Zabkov O.I., Dobrynina M.A., Gritsenko V.A., Davydov E.V., Chukichev A.V., Zabokritskii N.A., Sarapultsev A.P., Zurochka A.V. Clinical diagnostic criteria of efficiency for combined etiopathogenetic therapy in patients with chronic Epstein–Barr virus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 338–346. doi: 10.15789/2220-7619-CDC-1141

тод ИФА). *Результаты.* Применение комбинации данных препаратов после одного-двух курсов терапии у лиц с полной элиминацией ВЭБ из основного эпитопа его персистенции при хроническом течении заболевания на фоне купирования у них клинических проявлений сопровождается восстановлением баланса иммунной системы (Т-, В-лимфоцитов, Т-хелперов, CD3⁺CD25⁺ лимфоцитов, показателей фагоцитоза). Неинвазивный метод контроля элиминации вируса в ротовой жидкости с помощью метода полимеразной цепной реакции может служить объективным критерием эффективности данного вида терапии.

Ключевые слова: Эпштейна–Барр вирусная инфекция, валацикловир, глюкозаминилмурамилдипептид, косметическое средство «Ацеграм», противовирусная активность, проточная цитометрия, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, лимфоциты, иммунный статус.

CLINICAL DIAGNOSTIC CRITERIA OF EFFICIENCY FOR COMBINED ETIOPATHOGENETIC THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC EPSTEIN–BARR VIRUS INFECTION

Zurochka V.A.^{a,b}, Zabkov O.I.^a, Dobrynina M.A.^a, Gritsenko V.A.^c, Davydov E.V.^d, Chukichev A.V.^d, Zabokritskii N.A.^a, Sarapultsev A.P.^a, Zurochka A.V.^{a,b}

^a Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation

^b South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

^c Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russian Federation

^d South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Treatment of chronic viral infections accompanied by permanent virus persistence in the target epitopes of the oral cavity, skin, urogenital tract is complicated by virtual lack of available drugs exerting combined systemic virulicidal and immunomodulatory effects. Here we demonstrate clinical and immunological efficacy of combined therapy in treatment of Epstein–Barr virus (EBV)-associated chronic infections. The aim of the study was to evaluate the clinical and immunological efficacy of combined etiopathogenetic therapy using the Acegram cosmetic product in patients with EBV-associated chronic infections. *Materials and methods.* There were enrolled 40 patients monitored before treatment as well as 20 patients followed up after combination therapy (cycle therapy consisted of oral valaciclovir (Valtrex) applied at dose of 500 µg twice a day for 10 days, glucosaminylmuramyl dipeptide (Licopid) — 10 mg 2 twice a day for 10 days, topical irrigation for mucous membranes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor active center-derived peptide (Acegram-spray) — 3 times a day for 10 days. If necessary, treatment courses were repeated 20 days after the onset. All patients were examined for the presence of EBV genomes in the oral fluid and blood using the qualitative and quantitative polymerase chain reaction (PCR) using the DNA technology test system (Russia) on a DT-Lite device prior treatment and 30, 60 days post-therapy time points. In addition, serum samples were analyzed for level of class G immunoglobulins specific to the EBV nuclear and capsid antigens by using enzyme immunoassay (test systems manufactured by CJSC Vector Best, Russia) as well as immune status (clinical methods, enu flow cytometry evaluation of the phagocytic activity of neutrophils, ELISA method). *Results.* Use of single or two course combination therapy in subjects with fully eradicated EBV carriage associated with reversed clinical symptoms was accompanied by recovered immune system status (T and B cells, T-helper cells, CD3⁺CD25⁺ cells, phagocytosis parameters). A non-invasive approach proposed for controlling virus elimination in the oral fluid by using polymerase chain reaction method may serve as to objectively monitor therapeutic efficacy.

Key words: Epstein–Barr virus infection, valacyclovir, glucosaminylmuramyl dipeptide, cosmetic “Acegram”, antiviral activity, flow cytometry, enzyme-linked immunosorbent assay, polymerase chain reaction, lymphocytes, immune status.

Введение

Несмотря на значительные успехи противовирусной терапии различных заболеваний, лечение хронических вирусных инфекций остается сложной задачей вирусологической инфектологии. Не является исключением и терапия хронической вирусной инфекции, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) [14, 15]. Сложность лечения данного заболевания обусловлена персистенцией вируса в эпителии и эндотелии ротовой полости, кожи, уrogenитального тракта. Системное применение противовирусных и иммуностимулирующих препаратов зачастую оказывается малоэффективным и не ведет к элиминации вируса, а, напротив, приводит к персистенции последнего в эпитопах его преимущественного размножения (слизистая

оболочка ротоглотки и уrogenитального тракта), что выражается в хронизации патологического процесса. Данная ситуация связана прежде всего с тем, что на фармацевтическом рынке практически отсутствуют препараты для системного и местного применения, обладающие прямой вирулицидной активностью, а при местном использовании противовирусных препаратов не удается создать в слизистых оболочках и на коже достаточной концентрации, необходимой для элиминации вирусов [14]. Указанные обстоятельства позволили нам предложить новую концепцию комбинированной терапии, которая предполагает использование как местных, так и системных препаратов с противовирусной и иммуностимулирующей активностью, что этиопатогенетически более обосновано, чем только системное или местное лечение.

В этом плане определенный интерес вызывает возможность применения в комплексной терапии вирусных инфекций синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) — ZP2, поскольку в недавнем цикле работ показано, что указанный пептид, помимо иммуностропных и репаративного эффектов, обладает антибактериальной и противовирусной активностью [4, 5]. Наличие у данного синтетического пептида ZP2 уникальной комбинации иммунобиологических свойств позволило создать на его основе новое косметическое средство «Ацеграм», выпускаемое в виде спрея и геля [1, 2, 7, 8]. Однако его клиническая, в том числе иммуностропная, эффективность в комплексной терапии герпесвирусных инфекций не тестировалась.

Целью настоящего исследования явилась оценка иммунологической эффективности комплексной этиопатогенетической терапии с использованием косметического средства «Ацеграм» хронической вирусной инфекции, вызванной ВЭБ.

Материалы и методы

Клиническое наблюдение проведено на 40 пациентах с хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ до начала терапии и 20 пациентах получавших комплексную противовирусную и иммуномодулирующую терапию циклами, которая включала: пероральный прием валацикловира (Валтрекс) в дозе 500 мкг 2 раза в день в течение 10 дней и глюкозаминилмурамилдипептид (Ликопид) в дозе 10 мг 2 раза в день в течение 10 дней, а также местное орошение слизистых оболочек в течение 10 дней 3 раза в день «Ацеграм-спреем» (пептид активного центра ГМ-КСФ) [сертификат соответствия РОСС RU.АВ66.Н00840 (№ 1467581)]. При необходимости курсы лечения повторялись через 20 дней по-

сле окончания терапии. Все пациенты до начала лечения и через 30 и 60 дней после терапии обследованы на наличие в ротовой жидкости и крови геномов ВЭБ методом качественной и количественной ПЦР (тест-системы производства «ДНК-технология», Россия) на приборе ДТ-Lite; в эти же сроки у больных в сыворотке определялись иммуноглобулины класса G (IgG) к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, методом иммуноферментного анализа (ИФА) (тест-системы производства ЗАО «Вектор Бест», Россия). Взятие ротовой жидкости для исследования производили утром, натощак, самотеком, через 30 мин после полоскания ротовой полости водой. Также проводился общий анализ крови на гематологическом анализаторе Medonic M20 (Швеция). Оценку иммунного статуса проводили методом проточной цитометрии на цитофлюориметре «Navios» (Beckman Coulter, США) с использованием моноклональных антител CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD3⁺CD19⁺, CD45⁺, CD3⁺CD25⁺, CD3⁺HLA-DR⁺ (BeckmanCoulter, США). Абсолютное количество клеток в перечисленных субпопуляциях периферической крови подсчитывали с использованием счетных частиц Flow-Count (Beckman Coulter, США) [10] и пересчитывали с учетом общего анализа крови, оценивали фагоцитарную и НСТ-активность нейтрофилов, уровни IgA, IgM, IgG, С1-ингибитора, С3а и С5а компонентов комплекса по стандартным методикам (ИФА).

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики [10, 11].

Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что в исследованиях *in vitro* и наблюдениях *in vivo* косметическое средство «Ацеграм» обладает выраженным иммуностропным, антибактериальным, противовирусным и репаративным эффектами [3, 4, 5, 6, 7, 8]. Опираясь на эти данные, указанный

Таблица 1. Определение IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ у больных до и после проведения комплексной терапии

Table 1. Definition of IgG for nuclear and capsid antigens of EBV in patients before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
IgG к ядерному антигену ВЭБ (коэффициент позитивности), усл.ед. IgG to the EBV nuclear antigen (coefficient positivity), RU	M±m M _{min} -M _{max}	17,48±1,91 (5,9-38,0)	20,76±0,89 (13,3-24,3)
IgG к капсидному антигену ВЭБ (коэффициент позитивности), усл.ед. IgG to EBV capsid antigen (coefficient positivity), RU	M±m M _{min} -M _{max}	17,66±0,42 (4,9-24,8)	19,11±2,29 (3,0-31,2)

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при p < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

Таблица 2. Показатели общего анализа крови у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 2. Indicators of the general blood test in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after the complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
Количество лейкоцитов крови, 10 ⁹ /л The number of blood leukocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} -M _{max}	6,04±0,58 3,9-13,5	5,67±0,56 2,9-9,8
Количество эритроцитов крови, 10 ¹² /л The number of red blood cells, 10 ¹² /l	M±m M _{min} -M _{max}	4,87±0,14 3,81-6,08	4,68±0,1 4,03-5,27
Концентрация гемоглобина, г/л Hemoglobin concentration, g/l	M±m M _{min} -M _{max}	138,06±6,25 70-175	135,6±3,65 114-159
Гематокрит, % Hematocrit, %	M±m M _{min} -M _{max}	40,34±1,19 31,8-51,9	39,96±1,08 33,7-47,1
Средний корпускулярный объем (СКО), fL Average corpuscular volume (RMS), fL	M±m M _{min} -M _{max}	82,89±2,76 56,4-102,8	85,39±0,5 76,1-91,5
Средний корпускулярный объем гемоглобина, пг The average corpuscular volume of hemoglobin, pg	M±m M _{min} -M _{max}	28,4±1,16 17,4-37,0	29±0,43 25,8-31,2
Средняя концентрация корпускулярного Hb, г/л The average concentration of corpuscular Hb, g/l	M±m M _{min} -M _{max}	342,29±2,97 309-359	339,3±0,81 337-347
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л The number of platelets, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} -M _{max}	238,16±19,6 111-343	217,4±15,2 97-284
Процент лимфоцитов, % The percentage of lymphocytes, %	M±m M _{min} -M _{max} p	34,48±1,96 21-54	41,5±2,03 33-58 < 0,05
Процент моноцитов, % The percentage of monocytes, %	M±m M _{min} -M _{max}	7,65±0,89 3-18	6,8±0,73 1-10
Процент сегментоядерных нейтрофилов, % The percentage of segmented neutrophils, %	M±m M _{min} -M _{max} p	52,54±1,96 35-68	47,9±1,7 35-56 < 0,05
Процент палочкоядерных нейтрофилов, % The percentage of band neutrophils, %	M±m M _{min} -M _{max} p	2,22±0,29 0-5	1,2±0,24 0-3 < 0,05
Процент эозинофилов, % The percentage of eosinophils, %	M±m M _{min} -M _{max}	2,97±0,59 0-10	2,4±0,41 0-5
Процент базофилов, % The percentage of basophils, %	M±m M _{min} -M _{max}	0,12±0,06 0-1	0,2±0,08 0-1
Процент юных нейтрофилов, % The percentage of young neutrophils, %	M±m M _{min} -M _{max}	0±0 0±0	0±0 0±0
Абсолютное количество лимфоцитов, 10 ⁹ /л The absolute number of lymphocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} -M _{max}	2,06±0,26 1,08-6,02	2,34±0,25 0,96-4,02
Абсолютное количество моноцитов, 10 ⁹ /л The absolute number of monocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} -M _{max}	0,46±0,08 0,14-1,46	0,44±0,07 0,08-0,98
Абсолютное количество гранулоцитов, 10 ⁹ /л The absolute number of granulocytes, 10 ⁹ /l	M±m M _{min} -M _{max} p	3,52±0,3 1,68-6,74	2,95±0,25 1,7-4,8 < 0,05
Ширина распределения клеток красной крови, % CV Red blood cell distribution width, % CV	M±m M _{min} -M _{max} p	13,82±0,14 10,3-16,7	14,63±0,20 12,5-16 < 0,05
Тромбоцитокрит, % Platelet, %	M±m M _{min} -M _{max}	0,19±0,02 0,08-0,473	0,17±0,01 0,07-0,24
Средний объем тромбоцита, fL Average platelet volume, fL	M±m M _{min} -M _{max}	8,32±0,28 6,6-11,3	7,98±0,18 6,7-8,9
Ширина распределения тромбоцита, % Platelet distribution width, %	M±m M _{min} -M _{max}	12,12±0,40 9,9-16,7	11,6±0,21 10-12,6

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при p < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

препарат был включен в комплексное лечение пациентов с хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, в качестве средства для местной терапии.

Под нашим наблюдением находились 40 пациентов с клинической картиной фарингита/тонзиллита и синдрома хронической усталости, ассоциированных с ВЭБ. Клинически у всех пациентов выявлялись энантемы и экзантемы, имелись в наличии рыхлые миндалины и воспаление задней стенки ротоглотки; все пациенты предъявляли жалобы на повышенную утомляемость, снижение работоспособности, слабость при незначительной физической нагрузке, апатию и резкие перемены настроения; у них выявлялась субфебрильная температура. Средняя длительность заболевания составляла три с половиной года. При первичном обращении пациента проводилось комплексное обследование, включавшее: сбор анамнеза и жалоб, физикальный осмотр, термометрию, и на основании полученных данных назначались следующие исследования: ПЦР ротовой жидкости и крови на ВЭБ (качественно), а при положительном результате — его количественное определение, исследование уровней IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, иммунологическое исследование (расширенная иммунограмма). Критериями отбора пациентов с ВЭБ-ассоциированной инфекцией являлись: клиническая картина заболевания (характерный симптомокомплекс) и наличие специфических IgG к антигенам ВЭБ.

Итоговые исследования проводились только тем пациентам, у которых по прошествии 20 дней после окончания последнего курса комплексной терапии не определялся ВЭБ методом ПЦР и отсутствовали клинические признаки заболевания.

Одним из эффективных диагностических методов, по данным различных авторов [1, 3, 13], является определение IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ, уровень которых считается одним из диагностических критериев при оценке стадии заболевания. Поэтому мы сочли необходимым определить динамику уровней IgG к ядерному и капсидному антигенам ВЭБ у данной группы пациентов (табл. 1).

Исследования показали, что специфические иммуноглобулины G у больных с хронической формой ВЭБ имеют лишь тенденцию к повышению и не могут служить критерием эффективности проводимой противовирусной и иммунотропной терапии.

В связи с этим мы провели оценку состояния иммунного статуса у больных с данной патологией.

При анализе общего анализа периферической крови (табл. 2), обращает на себя внимание выраженный разброс показателей у больных ВЭБ; на фоне терапии разбросы показателей периферической крови значительно уменьшаются. Достоверные различия выявлены только по показателям «белой» крови, а именно, после лечения у больных ВЭБ-ассоциированной

Таблица 3. Характеристика показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 3. Characteristics of neutrophilic phagocytic activity in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
Активность фагоцитоза нейтрофилов, % The activity of phagocytosis of neutrophils, %	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$	41,51±5,1 5–91	37,8±3,9 11–59
Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, усл.ед. The intensity of phagocytosis of neutrophils, RU	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$	1,57±0,58 0,09–10	0,83±0,11 0,18–1,6
Фагоцитарное число нейтрофилов, усл.ед. Phagocytic number of neutrophils, RU	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$ p	3,2±0,57 1,3–11	2,09±0,16 1,3–3,3 < 0,05
НСТ спонтанная активность, % NBT spontaneous activity, %	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$	27,82±4,2 7–79	24,4±4,3 8–61
Индекс спонтанной НСТ активности, усл.ед. Index of spontaneous NST activity, RU	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$	0,39±0,09 0,09–1,07	0,31±0,04 0,11–0,72
НСТ индуцированная активность, % NBT-induced activity, %	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$	55,34±4,3 21–94	56,1±5,04 21–83
НСТ индуцированная активность, усл.ед. NBT induced activity, RU	$M \pm m$ $M_{min} - M_{max}$	0,83±0,07 0,31–1,54	0,77±0,07 0,42–1,26

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при $p < 0,05$.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when $p < 0.05$.

инфекцией повышалось относительное количество лимфоцитов, снижалось относительное и абсолютное количество нейтрофилов и их палочкоядерных форм. При этом имелись и некоторые особенности со стороны «красной» крови, например, имело место повышение показателя ширины распределения клеток красной крови

у больных после проведенной терапии. Эти данные косвенно свидетельствуют о том, что хроническая вирусная инфекция может приводить и к частичному повреждению эритроидного ростка кроветворения, нарушению его функций. При этом, у части пациентов до лечения наблюдался очень высокий, либо очень низкий

Таблица 4. Характеристика лимфоцитарного звена иммунитета (уровни CD-маркеров лимфоцитов) у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии

Table 4. Characteristics of the lymphocytic immunity (levels of CD markers of lymphocytes) in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻), % T-lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻), %	M±m M _{min} –M _{max}	74,29±2,43 47,9–88,8	74,4±1,14 68,9–83,0
Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻), абс. T-lymphocytes (CD3 ⁺ CD19 ⁻), abs.	M±m M _{min} –M _{max} p	1426,63±65,7 784–1877	1746,7±138,3 861–2931 < 0,05
Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺), % T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺), %	M±m M _{min} –M _{max}	46,65±2,29 21,3–59,8	48,61±2,16 36,2–62,8
Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺), абс. T-helpers (CD3 ⁺ CD4 ⁺), abs.	M±m M _{min} –M _{max} p	896,7±72,4,7 352–1566	1167±131,5,4 375–2239 < 0,05
Т-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺), % T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺), %	M±m M _{min} –M _{max}	25,32±1,43 14,6–38,7	23,89±1,82 15,1–37,7
Т-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺), абс. T-cytotoxic (CD3 ⁺ CD8 ⁺), abs.	M±m M _{min} –M _{max}	486,53±46,4 158–938	538,9±50,1 277–892
Соотношение CD4⁺/CD8⁺, абс. Ratio CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , abs.	M±m M _{min} –M _{max}	1,95±0,16 0,96–3,8	2,27±0,19 0,96–3,4
Т-НК лимфоциты, % T-NK lymphocytes, %	M±m M _{min} –M _{max}	6,59±1,38 1,4–24,6	6,59±1,2 1–15,4
Т-НК лимфоциты, абс. T-NK lymphocytes, abs.	M±m M _{min} –M _{max}	127,1±29,5 30–527	125,5±20,3 18–268
НК лимфоциты, % NK lymphocytes, %	M±m M _{min} –M _{max}	12,85±1,53 2,5–28,3	10,15±1,63 0,8–21,7
НК лимфоциты, абс. NK lymphocytes, abs.	M±m M _{min} –M _{max}	240,57±44,3 45–590	223,7±38,9 20–499
В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺), % B lymphocytes (CD3 ⁻ CD19 ⁺), %	M±m M _{min} –M _{max} p	10,5±1,5 1,8–27,2	13,1±1,22 4,7–19,8 < 0,05
В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺), абс. B lymphocytes (CD3 ⁻ CD19 ⁺), abs.	M±m M _{min} –M _{max} p	203,3±31,6 31–562	316,86±39,4 45–567 < 0,05
CD25⁺ лимфоциты, % CD25 ⁺ lymphocytes, %	M±m M _{min} –M _{max}	9,26±0,42 7–14,1	9,58±0,65 7,6–15,6
CD25⁺ лимфоциты, абс. CD25 ⁺ lymphocytes, abs.	M±m M _{min} –M _{max} p	178,37±12,3 86–293	202±12,7 150–306 < 0,05
HLA-DR⁺ лимфоциты, % HLA-DR ⁺ lymphocytes, %	M±m M _{min} –M _{max} p	3,67±0,2 2–5,4	2,84±0,33 1,9–5,0 < 0,05
HLA-DR⁺ лимфоциты, абс. HLA-DR ⁺ lymphocytes, abs.	M±m M _{min} –M _{max}	71,53±6,1 22–126	64,9±7,4 18–109

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при p < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

Таблица 5. Характеристика показателей гуморального иммунитета у больных с хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, до и после проведения комплексной терапии
 Table 5. Characteristics of humoral immunity in patients with chronic viral infection associated with EBV before and after complex therapy

Наименование показателя Name of the indicator	Обозначение Designation	Название группы/Group name	
		Пациенты до терапии Patients before therapy n = 40	Пациенты после терапии Patients after therapy n = 40
IgA, г/л IgA, g/l	M±m M _{min} -M _{max}	1,52±0,1 0,77-2,5	1,45±0,08 0,88-1,92
IgM, г/л IgM, g/l	M±m M _{min} -M _{max}	1,13±0,17 0,15-3,01	1,07±0,16 0,24-2,16
IgG, г/л IgG, g/l	M±m M _{min} -M _{max}	12,06±1,02 5,89-23,05	11,35±0,62 7,29-15,0
C1 ингибитор, мкг/мл C1 inhibitor, µg/ml	M±m M _{min} -M _{max}	285,25±18,3 152,9-460,5	296,74±34,5 150,1-698,4
C3a компонент комплемента, нг/мл C3a complement component, ng/ml	M±m M _{min} -M _{max}	122,89±12,08 62,04-259,2	117,92±14,8 65,9-246,5
C5a компонент комплемента, нг/мл C5a complement component, ng/ml	M±m M _{min} -M _{max}	17,57±2,9 2,93-51,73	18,32±2,5 0,46-31,11

Примечание. p — достоверность различий показателей между группами пациентов до и после терапии рассчитана согласно непараметрического критерия Вилкоксона, различия считаются достоверными и статистически значимыми при p < 0,05.

Note. p — significance of differences in indicators between groups of patients before and after therapy is calculated according to the non-parametric Wilcoxon test, the differences are considered reliable and statistically significant when p < 0.05.

гемоглобин, в отличие от группы пролеченных пациентов, где показатели гемоглобина регистрировались в диапазоне средних величин.

Учитывая полученные нами данные об изменении качественного и количественно состава белой крови до и после проведенного терапевтического вмешательства, важно было определить состояние основных звеньев иммунной системы.

Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов (табл. 3) показало достоверное снижение показателя фагоцитарного числа после проведенной терапии на фоне четкой тенденции к снижению остальных показателей, значения которых сложно интерпретировать вследствие их десятикратного разброса (M_{min}-M_{max}). Можно предположить, что при увеличении числа обследованных лиц данные различия показателей могут быть нивелированы.

Изучение клеточной составляющей иммунного статуса (табл. 4) показало, что у больных хронической вирусной инфекцией, ассоциированной с ВЭБ, достоверно снижены показатели Т-лимфоцитов, преимущественно за счет Т-хелперных лимфоцитов, В-лимфоцитов и лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25⁺). В то же время хочется обратить внимание на тот факт, что разбросы изучаемых параметров клеточного (лимфоцитарного) звена иммунной системы также значительны от очень низких цифр (ниже нормативных показателей), до превышающих нормальные показатели клеток [10] (это относится, в первую очередь, к показателям цитотоксических клеток, натуральных киллеров, Т-НК-клеток). Подобные выраженные девиации количественного состава клеток могут быть связаны как с разной степенью тяжести заболева-

ния, так и с разными фазами воспалительного процесса (степень выраженности ответа на хроническое воспаление). Возможно, будет необходимо более тщательно проанализировать группу до лечения по степени тяжести и характеру ответа иммунной системы (в сторону супрессии и в сторону активации показателей).

Исследование гуморального звена иммунной системы не выявило значительных изменений изучаемых параметров иммунной системы (табл. 5), что, в общем, согласуется с данными, полученными нами при изучении специфических иммуноглобулинов (см. табл. 1). Хотя в целом проявляется та же тенденция, что и в других исследованиях, а именно снижение разброса показателей в группе пролеченных пациентов по сравнению с показателями до начала терапии.

Заключение

Проблема повышения эффективности элиминационной противовирусной терапии и поиска надежных критериев ее оценки при хронических вирусных инфекциях остается одной из сложных в современной клинической практике [6]. В частности, это касается и инфекций, ассоциированных с ВЭБ. Проведенное нами исследование показало, что наиболее информативным критерием этиопатогенетической эффективности проводимой противовирусной терапии является качественное и количественное определение наличия генома ВЭБ методом ПЦР в целевых эпитопах. Определение уровней специфических IgG в динамике терапевтического процесса не может служить достаточным и объективным критерием эффективности терапии

в силу большого разброса показателей и отсутствия достоверных различий между группами пациентов до и после лечения в условиях полной элиминации вируса. В то же время оценка иммунного статуса отражает восстановление баланса клеточного компартамента иммунной системы, касающегося нормализации количественных показателей Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, активированных лимфоцитов (CD25⁺), фагоцитоза нейтрофилов (фагоцитарное число), с уменьшением степени разброса ($M_{\min}-M_{\max}$) показателей практически по всем изучаемым параметрам расширенной иммунограммы. Полученные нами данные в целом свидетельствуют о наличии этиопатогенетичес-

кой и иммунологической эффективности комплексной схемы терапии хронической вирусной инфекции, ассоциированной с ВЭБ, а неинвазивная ПЦР-диагностика наличия вирусного генома в ротовой жидкости может служить надежным критерием элиминации вируса.

Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФ УрО РАН «Фармакологическая коррекция нарушенных физиологических функций № Гос. регистрации АААА-А18-118020690020-1 и по теме из Плана НИР ИКВС УрО РАН «Эндогенные бактериальные инфекции: возбудители, факторы риска, биомаркеры, разработка алгоритмов диагностики, лечения и профилактики; № Гос. регистрации 116021510075.

Список литературы/References

1. Забков О.И., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Гриценко В.А., Зурочка А.В. Клинико-диагностические критерии эффективности комплексной этиопатогенетической терапии хронической Эпштейна–Барр вирусной инфекции // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2018. № 3. 13 с. [Zabkov O.I., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Gritsenko V.A., Zurochka A.V. Clinical-diagnostic criteria of efficiency of complex etiopatogenetic therapy chronic Epstein–Barr of a viral infection. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center UB RAS*, 2018, no. 3, 13 p. doi: 10.24411/2304-9081-2018-13012 (In Russ.)]
2. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Забков О.И., Зуева Е.Б., Фомина Л.О., Файзуллина А.И., Гриценко В.А. Спектр иммунобиологической активности и потенциал практического применения синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Российский иммунологический журнал. 2018. Т. 12 (21), № 4. С. 665–669. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Zabkov O.I., Zueva E.B., Fomina L.O., Fayzullina A.I., Gritsenko V.A. The spectrum of immunobiological activity and the potential of practical application of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, vol. 12 (21), no. 4, pp. 665–669. (In Russ.)]
3. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. № 2. 30 с. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Gritsenko V.A., Tyapaeva Ya.V., Chereshev V.A. The phenomenon of the presence of a unique combination of immunobiological properties of the synthetic analogue of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center UB RAS*, 2016, no. 2, 30 p. (In Russ.)]
4. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Гриценко В.А. Исследование спектра иммунобиологической активности синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для расширения возможностей создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 3. С. 377–380. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Lavrentyeva I.N., Sukhobaevskaya L.P., Gritsenko V.A. The study of the spectrum of the immunobiological activity of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for expanding the possibilities of creating cosmetics of the new generation with combined effects. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, vol. 11 (20), no. 3, pp. 377–380. (In Russ.)]
5. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукардт В.В., Лаврентьева И.Н., Сухобаевская А.П., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), спектр его иммунобиологической активности и практическое применение // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20), № 2. С. 137–140. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Dukardt V.V., Lavrentyeva I.N., Sukhobaevskaya A.P., Gritsenko V.A. Synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), the spectrum of its immunobiological activity and practical application. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, vol. 11 (20), no. 2, pp. 137–140. (In Russ.)]
6. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Забков О.И., Зуева Е.Б., Забокрицкий Н.А. Исследование влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в комбинированной терапии инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Российский иммунологический журнал. 2018. Т. 12 (21), № 4. С. 670–673. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Zabkov O.I., Zueva E.B., Zabokritsky N.A. Investigation of the effect of the synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in the combination therapy of infection caused by Epstein–Barr virus. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, vol. 12 (21), no. 4, pp. 670–673. (In Russ.)]
7. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами — Ацеграм-гель и Ацеграм-спрей // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19), № 3. С. 269–272. [Zurochka A.V., Zurochka V.A.,

- Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. The synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for the creation of a new generation of cosmetic products with combined effects — Acecgram-gel and Acecgram-spray. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, vol. 10 (19), no. 3, pp. 269–272. (In Russ.)
8. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукардт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания лекарств нового поколения с комбинированными эффектами // Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19), № 2 (1). С. 433–435. [Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gritsenko V.A. The synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as the basis for the creation of a new generation of drugs with combined effects. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, vol. 10 (19), no. 2 (1), pp. 433–435. (In Russ.)]
 9. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Haydukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshevnev V.A. A flowing cytometry in biomedical researches. *Yekaterinburg: RIO URB RAS*, 2018. 720 p. (In Russ.)]
 10. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с [Lakin G.F. Biometrics. *Moscow: Higher School*, 1990. 352 p. (In Russ.)]
 11. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2012. 384 с. [Trukhacheva N.V. Mathematical statistics in biomedical research using Statistica package. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2012. 384 p. (In Russ.)]
 12. Cui J., Yan W., Xu S., Wang Q., Zhang W., Liu W., Ni A. Anti-Epstein–Barr virus antibodies in Beijing during 2013–2017: what we have found in the different patients. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 3: e0193171. doi: 10.1371/journal.pone.0193171
 13. Kostadinova T., Ivanova L., Hristov I., Todorova T., Stoykova Z., Tsaneva D. The role of anti-EBNA1 IgG determination in EBV diagnostics. *J. IMAB*, 2018, vol. 24, no. 3, pp. 2181–2185. doi: 10.5272/jimab.2018243.2181
 14. Santos L., Azevedo K., Silva L., Oliveira L. Epstein–Barr virus in oral mucosa from human immunodeficiency virus positive patients. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 2014, vol. 60, no. 3, pp. 262–269. doi: 10.1590/1806-9282.60.03.016
 15. Smatti M., Al-Sadeq D., Ali N., Pintus G., Abou-Saleh H., Gheyath K., Nasrallah G. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.*, 2018, vol. 8: 211. doi: 10.3389/fonc.2018.00211

Авторы:

Зурочка В.А., д.м.н., профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;
Забков О.И., аспирант Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;
Добрынина М.А., научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;
Гриценко В.А., д.м.н., профессор, зав. лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург, Россия;
Давыдова Е.В., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Южно-Уральский медицинский университет, г. Челябинск, Россия;
Чукичев А.В., д.м.н., профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО Южно-Уральский медицинский университет, г. Челябинск, Россия;
Забокрицкий Н.А., д.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;
Сарапульцев А.П., д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии Института иммунологии и физиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия;
Зурочка А.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия; ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Authors:

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation; Senior Researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;
Zabkov O.I., PhD Student, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;
Dobrynina M.A., Researcher, Laboratory of Immunology of the Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;
Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Regional Branch of the RAS, Orenburg, Russian Federation;
Davydova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation;
Chukichev A.V., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation;
Zabokritsky N.A. PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Senior Researcher, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;
Sarapultsev A.P., PhD, MD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;
Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Food Technology and Biotechnology, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation; Leading Researcher, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.02.2019
 Отправлена на доработку 18.12.2019
 Принята к печати 13.01.2020

Received 06.02.2019
 Revision received 18.12.2019
 Accepted 13.01.2020