

УДК 612.017.1: 616-056.3

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ДОВГОТРИВАЛОЇ БЕЗПЕРЕРВНОЇ ІМУНОМОДУЛЮЮЧОЇ ТЕРАПІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ РЕКОМБІНАНТНОГО ГАММА-ІНТЕРФЕРОНУ У ПАЦІЄНТІВ З КЛІНІЧНО МАНІФЕСТНИМИ ФОРМАМИ ДЕФІЦИТУ МІЕЛОПЕРОКСИДАЗИ НЕЙТРОФІЛІВ***МАЛЬЦЕВ Д.В.*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,  
Інститут імунології та алергології

Препарати рекомбінантного гамма-інтерферону людини наразі застосовуються в клінічній практиці для профілактики інфекційних епізодів при хронічній гранулематозній хворобі [27]. Цей імунотерапевтичний агент також продемонстрував ефективність при деяких інших імунодефіцитних хворобах, пов'язаних з фагоцитарною дисфункцією, а саме – природженому остеопетрозі I типу [21], дефектах шляху ІЛ-12/ІЛ-23 [30, 34] та вибіркового дефіциту гамма-інтерферону [7]. Відповідно до цього, Takeda K. зі спів. нещодавно повідомили, що високодозова терапія за допомогою рекомбінантного гамма-інтерферону виявилася критично важливою для усунення проявів остеомієліту, викликаного вакцинним штамом мікобактерії, у дитини з парціальним автосомно-домінантним дефіцитом рецепторів 1 типу до гамма-інтерферону [33].

Дефіцит мієлопероксидази фагоцитів – поширена фагоцитарна імунодефіцитна хвороба, обумовлена порушенням процесів хлорзалежної окисдації патогенів у нейтрофілах і моноцитах/макрофагах [2]. У країнах Західної Європи і США цей імунодефіцит зустрічається з частотою 1 випадок на 2000-4000 мешканців [26]. Встановлено, що в 50% випадків дефіцит мієлопероксидази має безсимптомний перебіг, однак у половини пацієнтів відзначаються клінічні прояви хвороби, а у 10% осіб ці симптоми набувають ознак важких, загрозливих життю. Імунодефіцит проявляється у вигляді рецидивних бактеріальних і грибкових інфекцій, викликаних умовнопатогенною мікрофлорою, та ряду неінфекційних уражень [16]. Серед бактеріальних збудників особливо знижена резистентність до стрептококів [12]. Важкий, інвазивний кандидоз вважається своєрідною візитівкою цієї імунної дисфункції [10], хоча іноді трапляються особливі випадки, як, наприклад, підгострий інфекційний ендокардит, викликаний *Prototheca wickerhamii* [1].

Наразі інфекційні прояви при дефіциті мієлопероксидази лікують за допомогою антимікробних хіміопрепаратів, однак у разі цієї імунної дисфункції порушені процеси біотрансфор-

мації ліків, що обумовлює погану переносимість хіміотерапії [20]. Виходом із цієї ситуації могло б бути застосування профілактичної імунотерапії подібно до того, як це здійснюється при хронічній гранулематозній хворобі. Повідомлення про клінічні випадки свідчать про очевидну користь від застосування рекомбінантного гамма-інтерферону для попередження і пом'якшення інфекційних епізодів у пацієнтів з клінічно маніфестним дефіцитом мієлопероксидази [3, 4, 5]. Результати нещодавно проведеного невеликого неконтрольованого випробування вказують на суттєве покращання клінічного статусу у осіб з цим імунодефіцитом після призначення довготривалої безперервної терапії за допомогою гамма-інтерферону в дозі 500 тис. – 1 млн. МО [24]. Таким чином, наразі існують підстави для ініціації спеціально спланованого контрольованого випробування, присвяченого оцінці ефективності й безпечності профілактичної імунотерапії гамма-інтерфероном при дефіциті мієлопероксидази у людей.

**Мета дослідження:** оцінити ефективність і безпечність довготривалої безперервної імунотерапії за допомогою рекомбінантного гамма-інтерферону при клінічно маніфестному дефіциті мієлопероксидази нейтрофілів у людей.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Для досягнення поставленої мети нами проведено ретроспективний аналіз результатів застосування довоготривалої безперервної імунотерапії за допомогою рекомбінантного гамма-інтерферону у пацієнтів Інституту імунології та алергології з клінічно маніфестним дефіцитом мієлопероксидази фагоцитів за період з 2009 по 2015 рр. За цей час нам вдалося верифікувати діагноз дефіциту мієлопероксидази фагоцитів у 79 осіб (31 чоловік, 48 жінок). Діагноз підтверджували на підставі вимірювання вмісту мієлопероксидази у нейтрофілах крові методом лазерної проточної цитофлуориметрії на апараті Epics XL (США) (рис. 1).

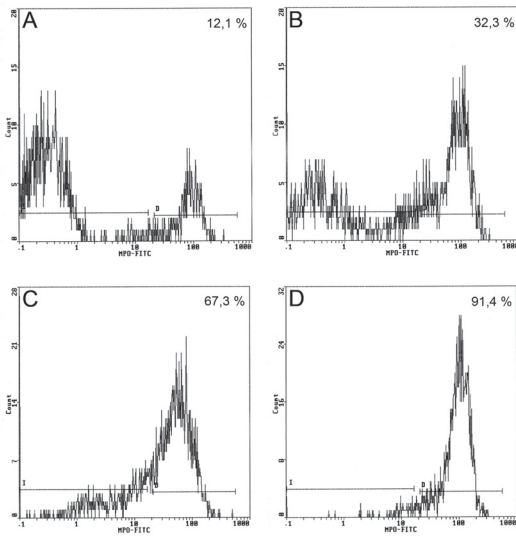


Рис. 1. Протоколи проточної лазерної цитофлуориметрії у пацієнтів з різним вмістом мієлопероксидази нейтрофілів

Застосовували метод непрямой імуофлуоресценції із використанням моноклональних антитіл до мієлопероксидази виробництва Beckman Coulter (США). Ці дослідження проводилися в лабораторії імунодіагностики Інституту імунології та алергології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (N>90%). Активність мієлопероксидази нейтрофілів оцінювали за допомогою цитохімічного методу у відділі нейроімунології Інституту нейрохірургії імені академіка А.П. Ромаданова (N=18-23 у.о.). Діагноз виставляли лише на підставі результатів серійних досліджень протягом кількох місяців з виключенням відомих причин вторинної імуносупресії. Дефіцитом вважали стійке зниження показників принаймні на третину від нижньої межі норми, однак у переважній більшості пацієнтів відзначався набагато глибший імунодефіцит. Майже у половини респондентів (37 осіб) були доступні результати імунологічних досліджень одного або кількох найближчих родичів, які демонстрували аналогічний фенотип, що дозволяло, принаймні, в цих випадках говорити про сімейний характер імунодефіциту.

Серед клінічних проявів переважали рецидивні бактеріальні інфекції, викликані умовно-патогенною мікрофлорою (64 особи, 81% випадків). Найтиповішими збудниками були *S. aureus*, *Str. pneumoniae*, *Str. pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. Рідше ураження викликали *Neisseria* spp., *E. coli*, *S. epidermidis*. Здебільшого виділяли кокову каталаза-негативну мікрофлору, особливо часто – стрептококову, що не відповідає клінічній картині хронічної гранулематозної хвороби, в якій переважають каталаза-позитивні мікроби [27]. Бактеріальні інфекції викликали

здебільшого поверхневі ураження: риніт, синусит, тонзиліфарингіт, гінгівіт, середній отит, уретрит, вульвовагініт, піодермію. Глибокі бактеріальні інфекції, такі як бронхіт, пневмонія, остеомієліт, артрит, абсцес, менінгіт, сепсис, відзначалися лише у 20% випадків.

Грибкові інфекції зустрічалися рідше за бактеріальні (48 осіб, 61% випадків), що не відповідає накопиченим дотепер повідомленням про клінічні випадки, згідно з якими кандидоз є основним проявом цього імунодефіциту [26]. Однак мікози зазвичай були важкими з тенденцією до ураження глибоких тканин і генералізації. Переважним збудником були кандиди, здебільшого - *C. albicans* і рідше - *C. krusei*. Ураження тільки поверхневих органів (дерматит, стоматит, синусит, вульвовагініт) відзначалися не більше, ніж 30% випадків, а майже в 70% випадків мало місце залучення лише глибоких тканин або комбіновані ураження. Були зареєстровані кандидозний ентероколіт, езофагіт, остеомієліт, артрит, кандидоз легень та дисемінована кандидозна інфекція.

Майже у кожного третього пацієнта виявили плісняві мікози, про які раніше майже не повідомляли в контексті дефіциту мієлопероксидази. Ці інфекції формували переважно поверхневі ураження – ринофарингіт, синусит, зовнішній отит, дерматит. Лише в поодиноких випадках зареєстровані плісняві мікози легень, здебільшого – після застосування глюкокортикостероїдів. Переважно виділяли *Penicillium* spp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Alteraria alternata*. Плісняві мікози зазвичай поєднувалися з кандидозом. Загалом, грибкова флора переважала у пацієнтів з анамнезом частого застосування антибіотиків, а в осіб, що зрідка приймали антибіотичні препарати, в клінічній картині домінували бактеріальні ураження.

Схильність до розвитку вірусних інфекцій обумовлена віруцидними властивостями мієлопероксидази, вперше продемонстрованими щодо вірусу імунодефіциту людини [11] та цитомегаловірусу [17]. Вірусні інфекції, діагностовані на підставі результатів ПЛР сироватки крові, виявили у 37 осіб (47% випадків). Відзначалися майже виключно лімфотропні гамма- і бета-герпесвіруси: найчастіше віруси герпесу людини 6 і 7 типів, а рідше – вірус Епштейна-Барр. Найтиповішими проявами були синдром хронічної втоми, хронічний мононуклеоз і мононуклеозоподібний синдром. У 23 із 37 пацієнтів (62% випадків) з хронічною вірусемією були задокументовані органи ураження протягом життя, здебільшого – нейроінфекції. Переважною клінічною формою нейровірусного ураження був моно- або мультифокальний лейкоенцефаліт, що нагадував автоімунні демієлінізуючі хвороби мозку, та лімбічний енцефаліт.

Майже 40% хворих виконували хірургічні операції з приводу інфекційних уражень, причому в 25% випадків мали місце декілька хірургічних втручань протягом життя. Хірургічні втручання не впливали на перебіг і наслідки хвороби.

В 60% випадків відзначалися алергічні прояви імунодефіциту, переважно медикаментозна алергія. Часто зустрічалися атопічний дерматит, риніт, кон'юнктивіт, харчова алергія. Рідше мали місце важкі алергічні ураження – бронхіальна астма, анафілактичний шок (25% випадків). В багатьох випадках епізоди, що інтерпретувалися як алергічні, найбільш ймовірно, мали псевдоалергічний характер. Алергічні прояви зазвичай розвивалися після різного за тривалістю періоду інфекційного синдрому, однак у деяких пацієнтів були першим або єдиними проявом імунодефіциту.

Автоімунні ураження відзначалися майже у 45% пацієнтів. Серед автоімунних ускладнень переважав автоімунний тироїдит, обумовлений продукцією автоантитіл до тироглобуліну та тиропероксидази (більше половини всіх зареєстрованих випадків). Про таку асоціацію ми повідомляли раніше в описі клінічного випадку [3]. Також нерідко мала місце хронічна ревматична лихоманка, що узгоджується з частим виділенням *Str. ruogenes* з ротоглотки (третина всіх зареєстрованих випадків). Рідше мали місце запальні хвороби кишечника, ревматоїдний артрит, розсіяний склероз. Ці дані узгоджуються з попередніми повідомленнями щодо асоціації дефіциту мієлопероксидази з ревматизмом [29], ревматоїдним артритом [9] і розсіяним склерозом [31], однак зв'язок з неспецифічним виразковим колітом описаний нами вперше.

Онкологічні ускладнення зареєстровані не більше, ніж у 10% осіб. Мали місце хронічний мієлолейкоз, промієлоцитарний лейкоз, рак молочної залози, легень і яєчників. У всіх осіб непластичні прояви розвивалися у дитячому або молодому віці. Пацієнти перенесли ці епізоди в минулому, отримали належне лікування у спеціалізованих центрах і перебували під спостереженням в Інституті у фазу стійкої тривалої ремісії з боку онкологічного процесу. Раніше повідомляли про розвиток у пацієнтів з дефіцитом мієлопероксидази гострого мієлоцитарного [18] і промієлоцитарного лейкозу [35], мієлопроліферативних неоплазій [28] і солідних пухлин [23].

Майже всі пацієнти потребували госпіталізації до медичних стаціонарів принаймні 2 рази на рік з приводу інфекційних або неінфекційних (алергічних, автоімунних) уражень, а щонайменше половину пацієнтів госпіталізували більше 3 разів на рік. Третина пацієнтів мала 2 або 3 групи інвалідності на момент звернення до

Інституту, з приводу яких отримувала пенсійне забезпечення.

Імунологічне дослідження включало вивчення показників загального аналізу крові, субпопуляційного складу лімфоцитів із застосуванням лазерної проточної цитофлуориметрії (цитофлуориметр Epics XI, США) і методу непрямой імуофлуоресценції з моноклональними антитілами до CD-маркерів з двома або трьома мітками (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3–CD19+, CD3–CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+) (реактиви Beckman Coulter, США). Фагоцитоз оцінювали за даними латекс-тесту з визначенням показника фагоцитозу, фагоцитарного індексу, кількості активних фагоцитів і фагоцитарної ємності крові. Сироваткові концентрації імуноглобулінів основних класів (M, G, A) визначали за результатами простої радіальної імунодифузії за Манчіні. Концентрацію класів IgE, IgD та субкласів IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сироватці крові вимірювали за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу (ВекторБЕСТ, РФ). НСТ-тест неодноразово виконувався як в Інституті мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного, так і в відділі нейроімунології Інституту нейрохірургії АМН України. Отримували нормальні значення, що важливо в диференційній діагностиці з хронічною гранулематозною хворобою.

Пацієнтам призначали довготривалу безперервну імунотерапію за допомогою рекомбінантного гамма-інтерферону людини в дозі 500 тис МО – 1 млн МО п/шк або в/м через день або 1 раз на 3 дні на ніч 5-7 місяців поспіль. 32 із 79 хворих відмовилися від запропонованої імунотерапії через фінансові перепони або відсутність підтримки з боку інших лікарів. Вони склали контрольну групу. Інші 47 осіб пройшли призначений курс гамма-інтерферону (досліджувана група). Отже, проводили порівняння впливу імунотерапії і природного перебігу імунодефіциту. Досліджувана і контрольна групи відповідали одна одній за віковим і гендерним складом, глибиною імунодефіциту і клінічними проявами. Кінцевими точками слугували кількісні і якісні показники мієлопероксидази, кількість інфекційних і неінфекційних епізодів, пов'язаних з імунодефіцитом, потреба в антимікробних ліках, кількість госпіталізацій і хірургічних втручань.

Статистичний аналіз отриманої інформації проводився шляхом здійснення структурного та порівняльного аналізу з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel. Отримані дані оброблені із застосуванням методу варіаційної статистики за t-критерієм Стьюдента з розрахунком коефіцієнту довірчої ймовірності  $p$  (параметричний критерій) та числа знаків  $Z$  за Урбахом Ю.В (непараметричний критерій). Вірогідною вважали різницю, коли  $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Активність мієлопероксидази нейтрофілів за період спостереження вірогідно зросла у 45 із 47 пацієнтів досліджуваної групи і лише у 12 із 32 осіб контрольної ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Повна тимчасова нормалізація активності мієлопероксидази досягнута у 24 пацієнтів, а стійке відновлення нормальної активності ферменту, під яким розуміли збереження компенсованого стану принаймні протягом 3 місяців після припинення імунотерапії, мало місце у 21 особи. В контрольній групі такі феномени траплялися у 5 і 3 осіб відповідно ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Чим меншою глибини було зниження активності мієлопероксидази на момент включення пацієнта у дослідження, тим швидшим і повнішим було її відновлення під впливом імунотерапії. Активність мієлопероксидази зазвичай досягала максимуму вже протягом 2-4 місяця імунотерапії.

Вміст мієлопероксидази в нейтрофілах вірогідно зріс у 41 із 47 пацієнтів досліджуваної групи і лише у 11 із 32 осіб контрольної ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Повне тимчасове відновлення цього показника досягнули у 25 пацієнтів, а стійка компенсація мала місце в 16 випадках. В контрольній групі такі результати відзначалися в 3 і 4 випадках відповідно ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Кількісний показник досягав максимуму лише наприкінці курсу імунотерапії – на 5-7 місяць прийому гамма-інтерферону. Принаймні у третини пацієнтів досліджуваної групи кількісних змін зовсім не відзначалося в перші 2-3 місяці лікування. Подібної залежності між глибиною і швидкістю відновлення імунodefіциту під впливом імунотерапії не було зареєстровано. Отримані дані вказують на виразний позитивний вплив рекомбінантного гамма-інтерферону як на якісні, так і кількісні показники мієлопероксидази нейтрофілів. В доступній медичній науковій літературі ми не знайшли аналогічних повідомлень.

Покращання імунного статусу було асоційовано з драматичним зменшенням кількості інфекційних і алергічних проявів імунodefіциту. Зокрема, продемонстровано зниження кількості інфекційних епізодів на 75% і алергічних ускладнень на 51% в досліджуваній групі в той час як в контрольній кількісність інфекційних епізодів зросла на 4%, а алергічних ускладнень зменшилася на 7% ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Якщо позитивний вплив на інфекційний синдром проявлявся вже з 2 місяця лікування, то покращання з боку алергічних проявів ставало очевидним лише наприкінці курсу імунотерапії.

Якщо говорити про відмінності у чутливості до імунотерапії з боку різних форм інфекційного синдрому, то можна вказати на таку градацію: плісняві мікози > бактеріальні інфекції > кандидоз > реактивовані інфекції, викликані лімфотропними герпесвірусами.

Плісняві мікози виявилися найчутливішими до проведеної імунотерапії, оскільки досягнутий контроль над інфекційним процесом в усіх зареєстрованих випадках вже протягом перших 3-4 місяців лікування. Пацієнти, що отримували гамма-інтерферон, більше не потребували прийому антимікотиків з приводу плісняви. Рецидиви плісняви протягом перших 6 місяців після завершення курсу імунотерапії відзначені лише у 3 пацієнтів з важкою формою імунodefіциту. В контрольній групі не відзначалося зазначеної позитивної динаміки.

Контроль над кандидозом також був досягнутий в більшості випадків. В досліджуваній групі вдалося усунути епізоди важкого, інвазивного або генералізованого кандидозу вже протягом перших 2-3 місяців лікування. Клінічні прояви поверхневих форм кандидозу перестали реєструватися принаймні в 70% випадків. Мікробіологічні дослідження виявляли кандид не більше, ніж в 40% випадків, серед пацієнтів з повною компенсацією клінічних симптомів кандидозу. Тим не менше, майже у кожного третього пацієнта з кандидозом персистували симптоми стоматиту або вульвовагініту, однак переважно їх важкість було знижено під впливом імунотерапії. Більшість пацієнтів не потребували прийому флуконазолу та інших антимікотиків з приводу кандидозу. В контрольній групі не відзначено спонтанної позитивної динаміки кандидозної інфекції, однак зареєстровано щонайменше 11 нових випадків індукції резистентності до антиімкотиів. Нам відомо, як мінімум, про 26 побічних ефектів антигрибкових препаратів серед пацієнтів контрольної групи, принаймні 9 із яких були важкими, а в 3 – загрожували життю.

Кількість епізодів бактеріальних інфекцій зменшилася майже на 80%, однак контрольні мікробіологічні дослідження вказували на збереження умовно-патогенної флори у ротоглотці і сечовивідних шляхах принаймні в 50% випадків, незважаючи на усунення або пом'якшення клінічних симптомів хвороби. В жодному випадку не зареєстровано епізодів важких, інвазивних або генералізованих бактеріальних інфекцій на фоні імунотерапії. Потреба у антибактеріальних препаратах знизилася втричі порівняно з аналогічним періодом до лікування і в чотири рази у порівнянні з контрольною групою. В контрольній групі мало місце лише незначне зменшення кількості епізодів бактеріальних інфекцій на тлі зростання кількості епізодів мікозів. Ми вважаємо це наслідком частого застосування антибактеріальних препаратів.

Епізоди вірусемії виявилися найменш чутливими до імунотерапії з-поміж провів інфекційного синдрому. EBV був усунутий з сироватки крові в 90% випадків, однак здебільшого – лише на 4-5 місяць безперервної імунотерапії.

Ефективність санації крові при реактивованій HHV-6-інфекції досягала 60% випадків, тоді як HHV-7 виявляв резистентність до імунотерапії принаймні у половини пацієнтів, і такі хворі потребували повторних курсів протівірусного лікування. Кількість епізодів вірусемії в контрольній групі не змінилася ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Не відзначено жодного епізоду органного ураження герпесвірусної етіології протягом курсу

імунотерапії, однак у контрольній групі нам відомо щонайменше про 7 таких випадків, з них 5 – уражень нервової системи (4 – лейкоенцефаліт, 1 – мієліт), 1 – печінки (гепатит) і 1 – легень (інтерстиційний пневмоніт). Крім того, у деяких пацієнтів досліджуваної групи відзначалася позитивна динаміка з боку неврологічного ураження (рис. 2).

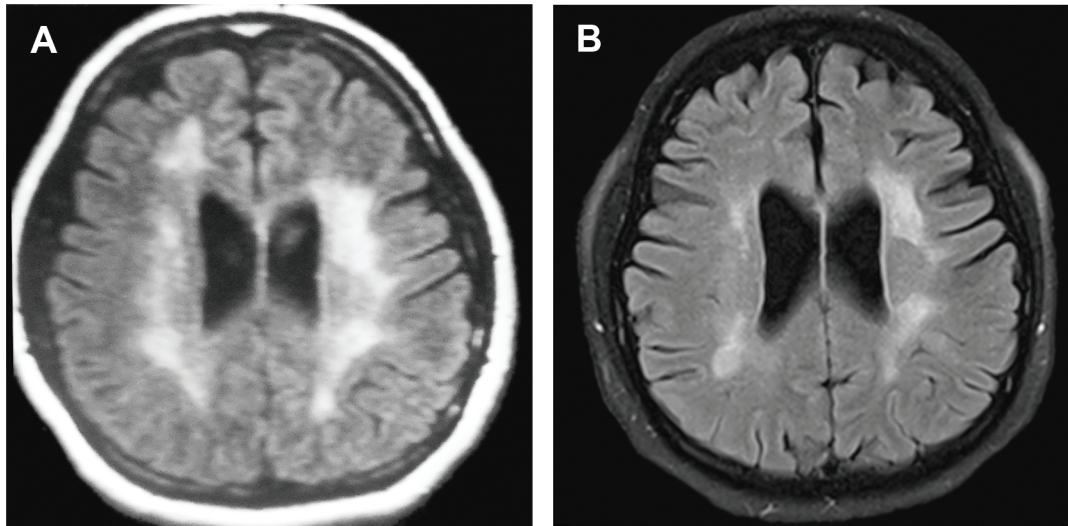


Рис. 3. Позитивна МР-динаміка мультифокального лейкоенцефаліту у пацієнтки з дефіцитом мієлопероксидази на тлі прийому рекомбінантного гамма-інтерферону (власне спостереження)

Якщо говорити, про вплив імунотерапії на алергічний синдром, то найбільш виразним він був щодо бронхіальної астми, яка була компенсована у всіх респондентів, що становило різочий контраст з контрольною групою ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Після припинення імунотерапії напади астми не відновлювалися. Покращання з боку харчової алергії вдалося досягнути в двох третинах випадків, а при медикаментозній алергії – щонайменше у половини учасників (рис. 3). Тим не менше, суттєва позитивна динаміка атопічного дерматиту була зареєстрована лише в третині випадків. Однак дерматит здебільшого не був важким і в більшості випадків критично не погіршував якість життя пацієнтів. Відзначалася тенденція – чим важчим був алергічний синдром, тим кращої клінічної динаміки було досягнуто. Зниження сироваткової концентрації IgE не відзначалося в переважній більшості випадків, незважаючи на усунення або пом'якшення клінічних симптомів алергії, що свідчить про реалізацію додаткових компенсаторних механізмів. Раніше було продемонстровано позитивний вплив гамма-інтерферону на перебіг алергії у людей, однак також засвідчували незмінність вмісту IgE під час імунотерапії [32].

Не відзначено ні позитивного, ні негативного впливу гамма-інтерферону на перебіг аутоімунного тироїдиту, однак це ускладнення здебільшого було легким, а переважна більшість пацієнтів не потребували прийому L-тироксину. Ці дані узгоджуються з результатами попередніх досліджень про відсутність негативного впливу з боку препаратів гамма-інтерферону на метаболізм тироїдних гормонів [14] і продукцію антитіл до антигенів щитовидної залози [22]. Натомість мало місце значне покращання з боку ревматоїдного артриту і неспецифічного виразкового коліту, однак остаточні висновки зробити не можливо через малу кількість спостережень. Існують повідомлення щодо користі від застосування гамма-інтерферону при ревматоїдному артриті [13], хоча препарат не увійшов в діючі протоколи лікування. В то самий час, у пацієнтів досліджуваної групи відзначено вірогідний позитивний вплив гамма-інтерферону на хронічну ревматичну лихоманку ( $Z < Z_{0,05}$ ), про що не повідомляли раніше в періодичній науковій літературі.

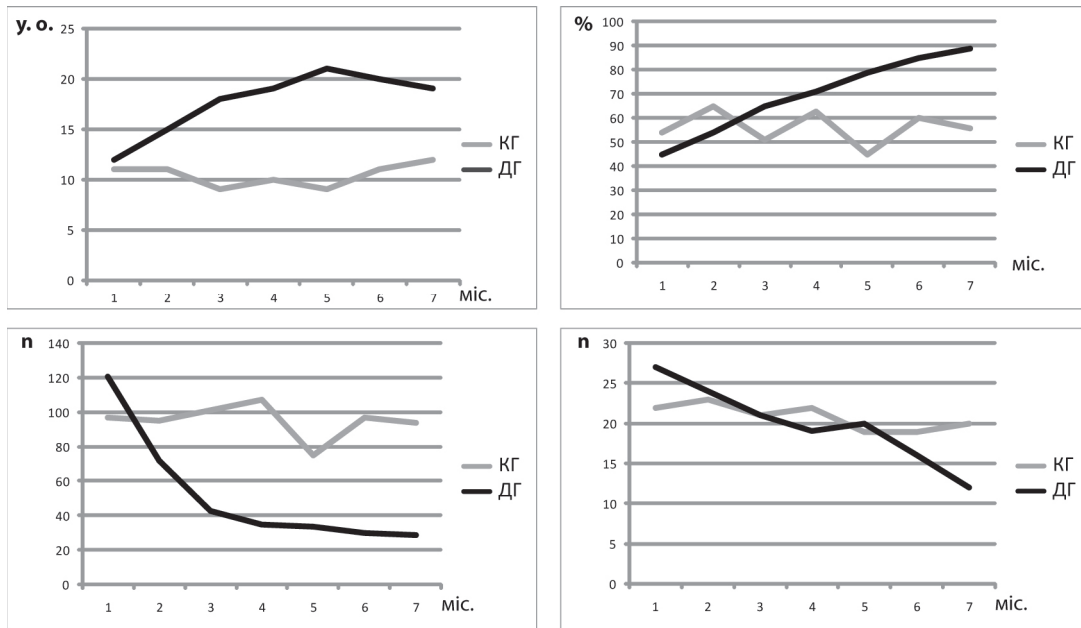


Рис. 3. Динаміка кінцевих точок дослідження протягом курсу імунотерапії за допомогою рекомбінантного гамма-інтерферону

**Коментар до рис.** В лівому верхньому куті – динаміка активності мієлопероксидази нейтрофілів; в правому верхньому – динаміка вмісту мієлопероксидази нейтрофілів; в нижньому лівому – частота інфекційних епізодів, в правому нижньому – частота алергічних епізодів.

Жодному пацієнту досліджуваної групи не виконали хірургічних втручань з приводу проявів імунodefіциту, тоді як здійснення операцій потребували принаймні 9 пацієнтів контрольної ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Так само, пацієнти, що приймали гамма-інтерферон, не отримували стаціонарного лікування ні протягом імунотерапії, на в перші 6 місяців після завершення курсу лікування, тоді як до госпіталізації за той самий період вдалися щонайменше 17 пацієнтів досліджуваної групи ( $p < 0,05$  і  $Z < Z_{0,05}$ ). Один пацієнт із контрольної групи помер від міжкишкового абсцесу і пов'язаного з цим бактеріального перитоніту після необгрунтованого призначення стероїдів у стаціонарі за місцем проживання. Нам вдалося встановити, що щонайменше 7 пацієнтів контрольної групи отримували лікування у відділеннях реанімації, і їх життя вдалося врятувати завдяки суттєвим зусиллям спеціалістів з інтенсивної терапії. Таких випадків не спостерігалось серед пацієнтів досліджуваної групи. Гамма-інтерферон призводив до редукції інфекційного і алергічного синдромів і пов'язаного з цим зменшення важкості стану хворих.

Позитивна клінічна динаміка відзначалася майже виключно у тих пацієнтів, у яких мало місце покращання з боку показників мієлопероксидази фагоцитів. Всі 6 пацієнтів, у яких не вдалося вплинути на мікробіцидний фермент при імунотерапії, не демонстрували позитивної динаміки з боку інфекційного синдрому. Ін-

ді клінічний ефект випереджав лабораторний, особливо – при мікозах, що ми пов'язуємо з прямими протиінфекційними ефектами гамма-інтерферону, продемонстрованими в кількох нещодавніх контрольованих випробуваннях [8, 19] і повідомленні про серію клінічних випадків [15], а також з відомим впливом цього цитокіну на НАДФ-оксидазу фагоцитів. Так само, відзначалося запізнення початку клінічних проявів в середньому на 3 місяці після реєстрації негативної лабораторної динаміки в період після завершення курсу імунотерапії. Добре відомо, що гамма-інтерферон потенціює респіраторний вибух, що пов'язано з впливом на мікробіцидну систему НАДФ-оксидази [27], та продукцію оксиду азоту у моноцитах/макрофагах [25]. Ahlin A. зі спів. показали здатність гамма-інтерферону впливати на НАДФ-залежну мікробіцидну систему нейтрофілів [6]. Однак існує обмаль інформації щодо впливу цього цитокіну на додаткову систему мікробіцидності фагоцитів, опосередковану мієлопероксидазою. Зокрема, Wolf D.N. в експериментальному дослідженні продемонстрував, що активність мієлопероксидази була вищою у диких мишей у порівнянні з тваринами з первинним дефіцитом гамма-інтерферону, викликаному нокаутом відповідного гену, під час легеневої інфекції, зумовленої *B. pertussis* [36] (рис. 4). Отримані нами клінічні дані опосередковано з узгоджуються з результатами зазначеної експериментальної роботи.

Переносимість імунотерапії була гарною. Легкий транзиторний грипоподібний синдром зареєстрували лише у 11 із 47 пацієнтів, оскільки застосовували малі дози гамма-інтерферону. Місцеві алергічні прояви відзначалися у кожного третього пацієнта, здебільшого – починаючи з 2-3 місяця імунотерапії. Рекомендували змінювати місця ін'єкцій препарату. В жодному випадку легкі місцеві прояви алергії не стали перешкодою для продовження терапії. Системних алергічних реакцій не відзначено.

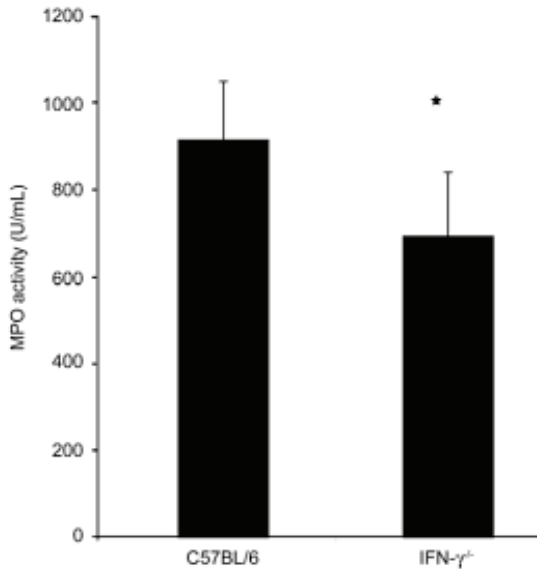


Рис. 4. Зниження активності мієлопероксидази у мишей з нокаутом гену гамма-інтерферону (за Wolf D.N.)

## ВИСНОВКИ

Результати цього контрольованого випробування вказують на очевидну користь від безперервної довготривалої імунотерапії рекомбінантним гамма-інтерфероном людини у пацієнтів з клінічно маніфестним дефіцитом мієлопероксидази нейтрофілів. У переважній більшості учасників вдалося відновити якісні і кількісні показники мієлопероксидази нейтрофілів протягом курсу лікування, що було асоційовано зі зменшенням кількості епізодів бактеріальних, грибкових і герпесвірусних інфекцій, послабленням алергічних проявів, в тому числі – бронхіальної астми, харчової і медикаментозної алергії, і хронічної ревматичної лихоманки, скороченням потреби у антимікробних хіміопрепаратах, госпіталізаціях до стаціонарів і хірургічних втручаннях. Гамма-інтерферон суттєвим чином модифікує природній перебіг хвороби, сприяючи компенсації імунодефіциту, на що вказують результати порівняння з контрольною групою.

Запропонована імунотерапія може забезпечити не тільки медичний, однак і соціально-економічний ефект, зважаючи на високу частоту імунодефіциту в сучасній популяції.

Результати даної роботи дозволяють вважати, що рекомбінантний гамма-інтерферон людини може бути ефективною і безпечною стратегією профілактичної терапії при дефіциті мієлопероксидази фагоцитів поряд з хронічною гранулематозною хворобою, природженим остеопетрозом 1 типу і дефектах шляху ІЛ-12/ІЛ-23. Необхідним є проведенням додаткових досліджень в окресленому напрямку з більшою кількістю учасників і досконалішим дизайном.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вахляев А.В., Катков Л.И., Каткова Л.Н. и др. Подострый инфекционный эндокардит необычной этиологии: особенности диагностики и лечения // Клиническая медицина. – 2011. – №4. – С. 69–76.
2. Мальцев Д.В. Дефіцит мієлопероксидази фагоцитів // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 4(102). – С. 94–105.
3. Мальцев Д.В. Клінічний випадок дефіциту мієлопероксидази // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 5(103). – С. 184–191.
4. Мальцев Д.В. Прогресуюча мультифокальна лейкоенцефалопатія, асоційована з вірусом герпесу людини 6-го типу // Укр. мед. часопис. – 2012. – № 1(87). – С. 136–142.
5. Мальцев Д.В., Климчук В.В. Випадок ятрогенного аспергільозу ретробульбарної клітковини і лімбічного герпесвірусного енцефаліту у пацієнтки з дефіцитом мієлопероксидази фагоцитів // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 1(81). – С. 118–120.
6. Ahlin A., Elinder G., Palmblad J. Dose-dependent enhancements by interferon-gamma on functional responses of neutrophils from chronic granulomatous disease patients // Blood. – 1997. – Vol. 89(9). – P. 3396–3401.
7. Andersson J., Isberg B., Christensson B. et al. Interferon gamma (IFN-gamma) deficiency in generalized Epstein-Barr virus infection with interstitial lymphoid and granulomatous pneumonia, focal cerebral lesions, and genital ulcers: remission following IFN-gamma substitution therapy // Clin. Infect. Dis. – 1999. Vol. 28(5). – P. 1036–1042.
8. Armstrong-James D., Teo I.A., Shrivastava S. et al. Exogenous interferon-gamma immunotherapy for invasive fungal infections in kidney transplant patients // Am. J. Transplant. – 2010. – Vol. 10(8). – P. 1796–1803.

9. Bell A.L., Markey G.M., Alexander H.D. et al. Myeloperoxidase deficiency in a patient with rheumatoid arthritis: oxygenation and radical activity by phagocytic cells // *Br. J. Rheumatol.* – 1993. – Vol. 32(2). – P. 162–165.
10. Chiang A.K., Chan G.C., Ma S.K. et al. Disseminated fungal infection associated with myeloperoxidase deficiency in a premature neonate // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2000. – Vol. 19(10). – P. 1027–1029.
11. Chochola J., Yamaguchi Y., Moguilevsky N. et al. Virucidal effect of myeloperoxidase on human immunodeficiency virus type 1-infected T cells // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1994. – Vol. 38(5). – P. 969–972.
12. Cocchi P., Mori S., Ravina A. Myeloperoxidase-deficient leucocytes in streptococcal infections // *Helv. Paediatr. Acta.* – 1973. – Vol. 28(1). – P. 79–85.
13. Coto C., Varela G., Hernandez V. et al. Use of recombinant interferon gamma in pediatric patients with advanced juvenile chronic arthritis // *Biotherapy.* – 1998. – Vol. 11(1). – P. 15–20.
14. de Metz J., Romijn J.A., Gouma D.J. et al. Interferon-gamma administration does not affect human thyroid hormone metabolism in the post-surgical euthyroid sick syndrome // *J. Endocrinol. Invest.* – 2002. – Vol. 25(4). – P. 315–320.
15. Delsing C.E., Gresnigt M.S., Leentjens J. et al. Interferon-gamma as adjunctive immunotherapy for invasive fungal infections: a case series // *BMC Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 14. – P. 166.
16. Dinauer M.C. Disorders of neutrophil function: an overview. *Methods Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 1124. – P. 501–515.
17. El Messaoudi K., Verheyden A.M., Thiry L. et al. Human recombinant myeloperoxidase antiviral activity on cytomegalovirus // *J. Med. Virol.* – 2002. – Vol. 66(2). – P. 218–223.
18. Hunh D., Belohradsky B.H., Haas R. Familial peroxidase-deficiency and acute myeloid leukemia // *Acta Haematol.* – 1978. – Vol. 59(3). – P. 129–143.
19. Jarvis J.N., Meintjes G., Rebe K. et al. Adjunctive interferon- $\gamma$  immunotherapy for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomized controlled trial // *AIDS* – 2012. – Vol. 26(9). – P. 1105–1113.
20. Kettle A.J., Winterbourn C.C. Superoxide-dependent hydroxylation by myeloperoxidase // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269(25). – P. 17146–17151.
21. Key L.L. Jr., Rodriguiz R.M., Willi S.M. et al. Long-term treatment of osteopetrosis with recombinant human interferon gamma // *N. Engl. J. Med.* – 1995. – Vol. 332(24). – P. 1594–1599.
22. Kung A.W., Jones B.M., Lai C.L. Effects of interferon-gamma therapy on thyroid function, T-lymphocyte subpopulations and induction of autoantibodies // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1990. – Vol. 71(5). – P. 1230–1234.
23. Lanza F., Giuliani A.L., Amelotti F. et al. Depressed neutrophil-mediated tumor cell cytotoxicity in subjects affected by hereditary myeloperoxidase deficiency and secondary neoplasia // *Haematologica.* – 1988. – Vol. 73(5). – P. 355–358.
24. Maltsev D.V., Kazmirchuk V.E. Herpesvirus neuroinfections in immunocompromised patients: diagnosis and preventive treatment. *Allergy, asthma and immunopathology: from basic science to clinical management.* 2013. – London, April 27–30. – P. 105–107.
25. Naderi beni F., Fattahi F., Mirshafiey A. et al. Increased production of nitric oxide by neutrophils from patients with chronic granulomatous disease on interferon-gamma treatment // *Int. Immunopharmacol.* – 2012. – Vol. 12(4). – P. 689–693.
26. Nauseef W.M. Diagnostic assays for myeloperoxidase and myeloperoxidase deficiency // *Methods Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 1124. – P. 537–546.
27. Nunoi H., Ishibashi F., Mizukami T., Hidaka F. Clinical evaluation of interferon-gamma treatment to chronic granulomatous disease patients with splice site mutations // *Jpn. J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 57(5). – P. S25–26.
28. Ohno H. Association of primary myeloperoxidase deficiency and myeloproliferative neoplasm // *Intern. Med.* – 2010. – Vol. 49(22). – P. 2527–2528.
29. Patırođlu T., Gungör H.E., Belohradsky J.S. et al. Myeloperoxidase deficiency: the secret under the flag of unstained cell // *Turk. J. Haematol.* – 2013. – Vol. 30(2). – P. 232–233.
30. Pedraza-Sánchez S., Herrera-Barríos M.T., Aldana-Vergara R. et al. Bacille Calmette-Guérin infection and disease with fatal outcome associated with a point mutation in the interleukin-12/interleukin-23 receptor beta-1 chain in two Mexican families // *Int. J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 14(3). – P. e256–60.
31. Ramsaransing G., Teelken A., Prokopenko V.M. Low leucocyte myeloperoxidase activity in patients with multiple sclerosis // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2003. – Vol. 74. – P. 953–955.
32. Stevens S.R., Hanifin J.M., Hamilton T. et al. Long-term effectiveness and safety of recombinant human interferon gamma therapy for atopic dermatitis despite unchanged serum IgE levels // *Arch. Dermatol.* – 1998. – Vol. 134(7). – P. 799–804.



33. Takeda K., Kawai T., Nakazawa Y. et al. Augmentation of antitubercular therapy with IFN $\gamma$  in a patient with dominant partial IFN $\gamma$  receptor 1 deficiency // Clin. Immunol. – 2014. – Vol. 151(1). – P. 25–28.
34. Ulrichs T., Fieschi C., Nevicka E. et al. Variable outcome of experimental interferon-gamma therapy of disseminated Bacillus Calmette-Guerin infection in two unrelated interleukin-12Rbeta1-deficient Slovakian children // Eur. J. Pediatr. – 2005. – Vol. 164(3). – P. 166–172.
35. Weil S.C., Rosner G.L., Reid M.S. et al. Translocation and rearrangement of myeloperoxidase gene in acute promyelocytic leukemia // Science. – 1988. – Vol. 240(4853). – P. 790–792.
36. Wolf D.N. Interactions between endemic Bordetella species and host immunity // THE PENNSYLVANIA STATE UNIVERSITY. – 2007. – 196 p.

### РЕЗЮМЕ

#### ЕФЕКТИВНІСТЬ ДОВГОТРИВАЛОЇ БЕЗПЕРЕРВНОЇ ІМУНОМОДУЛЮЮЧОЇ ТЕРАПІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ РЕКОМБІНАНТНОГО ГАММА-ІНТЕРФЕРОНУ У ПАЦІЄНТІВ З КЛІНІЧНО МАНІФЕСТНИМИ ФОРМАМИ ДЕФІЦИТУ МІЕЛОПЕРОКСИДАЗИ НЕЙТРОФІЛІВ

Мальцев Д.В.

Інститут імунології та алергології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України

Наразі препарати рекомбінантного гамма-інтерферону використовуються для профілактики інфекційних епізодів при ряді фагоцитарних імунодефіцитів, включаючи хронічну гранулематозну хворобу, аутосомно-домінантний остеопетроз 1 типу і дефекти шляху ІЛ-12/ІЛ23/гамма-інтерферон.

Мета дослідження: оцінити ефективність і безпечність довготривалої безперервної імунотерапії за допомогою рекомбінантного гамма-інтерферону при іншому фагоцитарному імунодефіциті: клінічно маніфестному дефіциті мієлопероксидази нейтрофілів.

**Матеріали і методи.** Проведено ретроспективний аналіз досвіду застосування гамма-інтерферону в дозі 500 тис. МО – 1 млн. МО через день на ніч протягом 5-7 місяців поспіль. Діагноз підтверджували на підставі серії кількісних (проточна лазерна цитофлуориметрія) і якісних (цитохімічний метод) вимірювань з виключенням причин вторинної імуносупресії. Контрольну групу склали 32 осіб з дефіцитом мієлопероксидази, які відмовилися від терапії, а досліджувану – 47 аналогічних пацієнтів, що пройшли повний курс імунотерапії. Отримані дані оброблені із застосуванням методу варіаційної статистики за t-критерієм Стьюдента з розрахунком коефіцієнту довірчої ймовірності p (параметричний критерій) та числа знаків Z за Урбахом Ю.В (непараметричний критерій).

**Результати і обговорення.** Активність мієлопероксидази нейтрофілів вірогідно зросла у 45 із 47 пацієнтів досліджуваної групи і лише у 12 із 32 осіб контрольної (p<0,05; Z< Z<sub>0,05</sub>). Вміст мієлопероксидази в нейтрофілах вірогідно зріс у 41 із 47 пацієнтів досліджуваної групи і лише у 11 із 32 осіб контрольної (p<0,05; Z<Z<sub>0,05</sub>). В досліджуваній групі досягнуто скорочення кількості інфекційних епізодів на 75%, а алергічних – на 51% (p < 0,05 і Z< Z<sub>0,05</sub>). Відзначалося драматичне зменшення потреби у антимікробних хіміопрепаратах, госпіталізаціях до стаціонарів і виконанні хірургічних втручань (p<0,05; Z<Z<sub>0,05</sub>).

**Висновки.** Рекомбінантний гамма-інтерферон людини може бути ефективною і безпечною стратегією профілактичної терапії при дефіциті мієлопероксидази фагоцитів. Необхідним є проведенням додаткових досліджень з більшою кількістю учасників і досконалішим дизайном.

**Ключові слова:** дефіцит мієлопероксидази, гамма-інтерферон, імунотерапія.

### РЕЗЮМЕ

#### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЛИТЕЛЬНОЙ НЕПРЕРЫВНОЙ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА У ПАЦИЕНТОВ С КЛИНИЧЕСКИ МАНИФЕСТНЫМИ ФОРМАМИ ДЕФИЦИТА МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ НЕЙТРОФИЛОВ

Мальцев Д.В.

Институт иммунологии и алергологии Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца МЗ Украины

Ныне препараты рекомбинантного гамма-интерферона используются для профилактики инфекционных эпизодов при ряде фагоцитарных иммунодефицитов, включая хроническую гранулематозную болезнь, аутосомно-доминантный остеопетроз 1 типа и дефекты пути ИЛ-12 / ИЛ23 / гамма-интерферон.

**Цель исследования:** оценить эффективность и безопасность длительной непрерывной иммунотерапии с помощью рекомбинантного гамма-интерферона при другом фагоцитарном иммунодефиците: клинически манифестном дефиците миєлопероксидазы нейтрофилов.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ опыта применения гамма-интерферона в дозе 500 тыс. МЕ - 1 млн. МЕ через день на ночь в течение 5-7 месяцев. Диагноз подтверждали на основании серии количественных (проточная лазерная цитофлуориметрии) и качественных (цитохимический метод) измерений с исключением причин вторичной иммуносупрессии. Контрольную группу составили 32 человек с дефицитом миєлопероксидазы, которые отказались от терапии, а исследуемую - 47 аналогичных пациентов, прошедших полный курс иммунотерапии. Полученные данные обработаны с применением метода вариационной статистики по t-критерию Стьюдента с расчетом коэффициента доверительной вероятности p (параметрический критерий) и числа знаков Z по Урбаху Ю.В (непараметрический критерий).

**Результаты и обсуждение.** Активность миелопероксидазы нейтрофилов достоверно возросла у 45 из 47 пациентов исследуемой группы и только у 12 из 32 человек контрольной ( $p < 0,05$  и  $Z < Z_{0,05}$ ). Содержание миелопероксидазы в нейтрофилах достоверно увеличилось у 41 из 47 пациентов исследуемой группы и только у 11 из 32 контрольной ( $p < 0,05$  и  $Z < Z_{0,05}$ ). В исследуемой группе достигнуто сокращение количества инфекционных эпизодов на 75%, а аллергических - на 51% ( $p < 0,05$  и  $Z < Z_{0,05}$ ). Отмечалось драматическое уменьшение потребности в антимикробных химиопрепаратах, госпитализациях в стационары и выполнении хирургических вмешательств ( $p < 0,05$  и  $Z < Z_{0,05}$ ).

**Выводы.** Рекомбинантный гамма-интерферон человека может быть эффективной и безопасной стратегией профилактической терапии при дефиците миелопероксидазы фагоцитов. Необходимо проведение дополнительных исследований с большим количеством участников и более совершенным дизайном.

**Ключевые слова:** дефицит миелопероксидазы, гамма-интерферон, иммунотерапия.

## SUMMARY

### THE EFFECTIVENESS OF LONG-TERM CONTINUOUS IMMUNOTHERAPY USING RECOMBINANT GAMMA INTERFERON IN PATIENTS WITH CLINICALLY MANIFEST FORMS MYELOPEROXIDASE DEFICIENCY

*Maltsev D.V.*

Institute of Immunology and Allergology at the O'Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine

Currently, recombinant gamma interferon used for the prevention of infectious episodes in a number of phagocytic immunodeficiencies, including chronic granulomatous disease, autosomal dominant osteopetrosis type 1 and defects of way IL12 / IL23 / gamma interferon.

**The objective:** to evaluate the efficacy and safety of long-term continuous immunotherapy using recombinant interferon-gamma in other phagocytic immunodeficiency: a clinically manifest deficiency of neutrophil myeloperoxidase.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of the experience of using gamma interferon at a dose of 500 thousand – 1 million IU every other day at night for 5-7 months. The diagnosis was confirmed on the basis of a series of quantitative (laser flow cytometry assay) and qualitative (cytochemical method) measurements excluding causes of secondary immunosuppression. The control group consisted of 32 individuals with myeloperoxidase deficiency who have refused treatment and investigated – 47 similar patients who completed a full course of immunotherapy. The data are processed using the method of variation statistics by Student t-test with the calculation of confidence coefficient  $p$  (parametric test) and  $Z$  number of sings for Urbach U.V. (nonparametric test).

**Results and discussion.** The activity of myeloperoxidase neutrophils significantly increased in 45 of 47 patients of the study group and only 12 of the 32 control individuals ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ). The content of myeloperoxidase in neutrophils significantly increased in 41 of 47 patients of the study group and only 11 of the 32 control individuals ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ). In the treatment group achieved reduction of infectious episodes by 75%, and allergic - 51% ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ). Noted a dramatic reduction in the need for antimicrobial chemotherapy, re-admission to hospitals and performing surgery interventions ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ).

**Conclusions.** Recombinant human interferon gamma may be effective and safe strategy for preventive therapy for myeloperoxidase deficiency of phagocytes. It is necessary to conduct additional studies with more participants and perfect design.

**Key words:** myeloperoxidase deficiency, interferon gamma, immunotherapy.

УДК 618.145:612.017.1]:618.177-037

## ИММУННЫЕ КЛЕТКИ ЭНДОМЕТРИЯ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ БЕСПЛОДИЯ У ЖЕНЩИН С ЭНДОМЕТРИОЗОМ

*КОВАЛЬ Г.Д., ЧОПЯК В.В., КУРЧЕНКО А.И., НАГОРНЫЙ А.Е.*

Буковинский государственный медицинский университет

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

ГУ «Институт урологии» НАМН Украины

Иммунная система женского репродуктивного тракта представлена как врожденными так и адаптивными механизмами [1, 2] и имеет две основные, но разнонаправленные функции. С одной стороны, образуя первую линию защиты и входя в систему иммунитета, свя-

занную со слизистыми оболочками - mucosa-associated-lymfoid tissue – MALT, реализует функцию борьбы с микробами, что является весьма биологически обоснованным, учитывая пограничность расположения и высокую степень контактов с микроорганизмами нижних от-