

ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ
з дисципліни «Нове в імунopatології, її діагностиці та лікуванні»
для аспірантів очної (денна, вечірня) форми навчання
за спеціальністю 222 Медицина

№	Назва теми	Годин
1	2	2
1.	Види та властивості антигенів і алергенів, методи визначення їх молекулярної структури	2
2.	Будова та функції основних класів та підкласів імуноглобулінів. Кріогобуліни, макроглобуліни, парапротеїни	2
3.	Онкомаркери та імунологічний моніторинг онкологічних хворих	2
4.	Імунологічні, імуногенетичні та молекулярно-генетичні методи діагностики у трансплантології, репродуктології тощо	2
5.	Нові лабораторні методи діагностики гострого та хронічного відторгнення, сучасні підходи до попередження відторгнення трансплантату	2
6.	Сучасна діагностика лікування, профілактика імунологічних конфліктів «мати-плід», «мати-батько».	2
7.	Первинні та набуті імунодефіцити: нове в діагностиці, лікуванні та профілактиці	2
8.	Імунодіагностика та імунотропне лікування вірусної інфекції COVID-19.	2
9.	Сучасні лабораторні імунологічні критерії предикторної діагностики та оцінки прогнозу перебігу аутоімунних хвороб	2
10.	Моноклональні технології у лікуванні аутоімунних хвороб	2
11.	Алергічні риніт, кон'юнктивіт, бронхіальна астма, дерматити: сучасна молекулярна імунодіагностика та імунотерапія	2
12.	Сучасні підходи до діагностики та ведення пацієнтів з гострими алергічними станами	2
13.	Сучасна класифікація імунотропних препаратів, їх ефективність та безпека	2
14.	Застосування сучасних вакцин в клінічній практиці	2
	Разом:	28

Тема практичного заняття №1 «Види та властивості антигенів та антигенів, методи визначення їх молекулярної структури» - 2 год.

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасні знання про антигени, гаптени, алергени.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів застосовувати знання про антигени, гаптени, алергени та їх властивості на практиці.

Навчальні питання.

1. Основні властивості антигенів, їх характеристика.
2. Вплив чужорідності, хімічного складу і молекулярної маси речовини на її імуногенність.
3. Поняття про афінитет, авідність.
4. Види антигенної специфічності.
5. Тимусзалежні і тимуснезалежні антигени.

Короткий зміст теми заняття:

Антигени – це субстанції, які мають наступні властивості:

- *імуногенність*- здатність викликати проти себе специфічну імунну відповідь, ступінь вираженості якої залежить від: 1) чужорідності; 2) хімічного складу; 3) молекулярної маси або розміру молекули), антигена;
- *антигенність* - здатність до специфічного з'єднання з імуноглобулінами (як вільними, так і тими, котрі є рецепторами В-лімфоцитів) та рецепторами Т-лімфоцитів.

Характеризуючи *антигенність* варто розглянути поняття:

- *афінність (афінитет)*- ступінь відповідності, що визначає міцність зв'язку між епітопом і антигенною детермінантою.
- *авідність*- сумарна сила, з якою зв'язані складні антигенні молекули з усією популяцією антитіл, вироблених на всі епітопи антигену.

Антиген, який володіє тільки антигенністю, називається *гаптен*ом. Гаптенами найчастіше є хімічні речовини, наприклад глюкоза чи тринітрофенол. За рахунок невеликих розмірів гаптени не зумовлюють імунну відповідь. Таким чином, антиген, який володіє тільки антигенністю, називається гаптеном. Імуногенність вони набувають тільки після з'єднання з носієм, яким може бути, наприклад, молекула білка (альбумін, глобулін, синтетичні пептиди). Хімічну субстанцію такого гаптени/антигену розпізнає В-лімфоцит, а Т-лімфоцит розпізнає його білкову частину. У межах одного антигену може бути багато фрагментів, які зв'язуються антитілами, BCR та TCR. Це – так звані *епітопи*, або антигенні детермінанти. Епітопи на антигенах бувають лінійними або конформаційними. Антиген, який містить багато епітопів, називається *полівалентним*.

Алергени - це речовини, які при потраплянні в організм викликають реакцію зі сторони імунної системи, що супроводжується продукцією специфічних антитіл (імуноглобулінів класу E). Алергенами можна також вважати різні сполуки: від простих хімічних речовин (бром, хром, йод) до складних (білки, полісахариди), а також їх поєднання. Якщо алерген потрапляє зовні - тоді його називають екзогенним, а якщо ж він утворюється в організмі - тоді він має ендогенне походження. у свою чергу екзогенні алергени можна поділити на неінфекційного походження (побутовий пил, шерсть тварин, лікарські препарати, пилок рослин, продукти харчування та інші) та інфекційного походження (бактерії, віруси та інші). Потрапляючи в організм різними шляхами, алергізуючі агенти можуть викликати ураження різних органів і систем.

Антигени є специфічними, тобто мають особливості, якими відрізняються один від одного. Є різні види *антигенної специфічності*: *видова, групова, органа, органоїдна, стадіоспецифічна*. Розрізняють: а) *гетерогенні або перехресно реагуючі антигени*, які за своєю специфічністю спільні для різних видів організмів; б) *проміжні (або комплексні)*, які виникають внаслідок інтеграції вірусного геному у геном клітини-мішені з наступною експресією такого антигену на клітинній мембрані.

Антигени, які індукують синтез антитіл, можна поділити на тимусзалежні та тимуснезалежні. *Тимусзалежні* – у формуванні імунної відповіді беруть участь Т-лімфоцити-хелпери. *Тимуснезалежних* антигенів є менше. При формуванні імунної відповіді на ці алергени не беруть участі Т-хелпери. Найвідоміші з них – ліпополісахариди бактеріальних стінок, декстран та очищений препарат туберкуліну. Тимуснезалежні антигени можна теж поділити на дві групи: 1) антигени, які мають риси поліклональних активаторів В-лімфоцитів (Thymus independent –1, (ТІ-1)); 2) антигени, які діють опосередковано через цитокіни, синтезовані під їх впливом, наприклад НК-клітинами (Thymus independent – 2, ТІ-2).

Для підтвердження діагнозу і встановлення причинного антигену чи алергену застосовуються спеціальні лабораторні та інструментальні методів дослідження. До специфічних методів діагностики належать: мікроскопічний, мікробіологічний, біологічний, імунологічний, алергологічний, молекулярно-біологічний. Необхідно пам'ятати, що медичний персонал при заборі матеріалу повинен дотримуватися заходів профілактики інфікування: 1) при маніпуляціях, які супроводжуються порушенням цілісності шкіри і слизових оболонок, слід користуватися засобами індивідуального захисту; 2) не можна використовувати для взяття крові та інших біорідин скляні предмети з відбитими краями; 3) будь-

які ємкості з кров'ю та іншими біорідинами, біоматеріалом відразу необхідно щільно закривати гумовими або пластмасовими корками.

Антигени можна визначати опосередковано, встановлюючи концентрацію специфічних антитіл до них. В останні десятиріччя ХХ ст. на основі реакцій "антиген – антитіло" були розроблені нові, дуже специфічні і чутливі методи, такі як: 1) імуноелектрофорез; 2) імуноблотинг; 3) імуноафінна хроматографія; 4) реакції імунофлюоресценції (РІФ) у прямому та непрямому варіантах; 5) імуноферментний аналіз (ІФА); 6) радіоіммунний аналіз (РІМ); 7) методи з використанням моноклональних антитіл.

Серологічні імунні реакції. В процесі розвитку імунної відповіді вмикаються різні реакції клітинного та гуморального імунітету, але дуже значне навантаження по знешкодженню антигенів беруть на себе антитіла. В залежності від природи антигена імуноглобуліни можуть спричиняти різні ефекти. Основою застосування серологічних імунологічних методів є специфічність утворення пар "антиген – антитіло", а саме, маючи один з компонентів такого імунного комплексу, можна виявити інший. Так, для виявлення у клінічному матеріалі мікробних антигенів, алергенів або аутоантигенів використовують діагностичні імунні сироватки, і навпроти, для ідентифікації антитіл у сироватках хворого застосовують стандартні антигени (діагностикуми).

Методи *експрес-діагностики* дозволяють швидко виявити збудника в різному біоматеріалі. Одним з найкращих є метод флюоресцентних антитіл (МФА) чи люмінесцентно-серологічний з використанням люмінесцентних барвників або флуорохромів (родамін, флуоресцин), ковалентно з'єднаних з молекулами глобулінів. Утворений комплекс "антиген-антитіло" легко виявляють за характерним світінням у синьо-фіолетових проміннях люмінесцентного мікроскопа. *Алергологічний метод* ґрунтується на виявленні підвищеної чутливості (алергія, гіперсенсibiliзація) при введенні в організм специфічних алергенів (ентерально, парентерально, на шкіру тощо). *Молекулярно-біологічний метод* є надзвичайно чутливим і високо специфічним. Полягає у виявленні в досліджуваному матеріалі генетичного матеріалу збудника – ДНК чи РНК. Найчастіше застосовують полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), яка дозволяє як констатувати присутність збудника в мізерній кількості, так і встановити його концентрацію. *Визначення алергенів* проводять методом *шкірних алергічних проб*: шкірних (крапельні, аплікаційні), скарифікаційних, тест-уколом (рік-тест), внутрішньошкірних з різними групами алергенів. *Специфічні ІgЕ-антитіла до різних алергенів* виявляють методом імуноферментного аналізу (ІФА), в *RAST (радіоалергосорбентному) та RIST (радіоімуносорбентному) тестах*, з використанням методу імуноблоту.

Контрольні питання:

1. Дайте визначення поняттю антиген.

2. Імуногенність та антигенність, як основні характеристики антигену.
3. Характеристика гаптенів. Поняття про епітоп.
4. Антигенна специфічність, її види.
5. Поділ антигенів залежно від індукції синтезу антитіл.
6. Найпоширеніші методи лабораторного визначення антигенів та алергенів.

Тема практичного заняття №2 «Будова та функції основних класів та підкласів імуноглобулінів. Кріоглобуліни, макроглобуліни, парапротеїни» - 2 год.

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасні знання про класи та підкласи імуноглобулінів, кріоглобуліни, макроглобуліни та парапротеїни.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів застосовувати знання про класи та підкласи імуноглобулінів, кріоглобуліни, макроглобуліни та парапротеїни на практиці.

Навчальні питання.

1. Будова та основні властивості імуноглобулінів різних класів.
2. Функції підкласів імуноглобулінів різних класів.
3. Визначення та функції кріоглобулінів
4. Визначення та функції макроглобулінів
5. Визначення та функції парапротеїнів

Короткий зміст теми заняття:

Антитіла (імуноглобуліни) – одні з найважливіших гуморальних факторів набутого імунітету. Молекула імуноглобуліну складається з двох фрагментів: Fab (F antigen binding) – будуючого (взаємодіє з антигеном) та Fc-кристалічного (взаємодіє з компонентами комплементу та відповідними рецепторами). Кожний з цих фрагментів складаються з двох ідентичних важких ланцюгів (**H** - heavy) та двох ідентичних легких ланцюгів (**L** - light). Легкі ланцюги можуть бути двох типів: лямбда (λ) та каппа (κ), а важкі – 5 типів: альфа (α), мію (μ), гама (γ), дельта (δ), епсилон (ϵ). Важкі ланцюги визначають клас імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG, IgE, IgD). Легкі і важкі ланцюги зв'язані між собою дисульфідними (ковалентними) і нековалентними зв'язками. Кожна молекула імуноглобуліну має варіабельну зону, яка змінюється відповідно до структури антигену та константну зону, яка стабільна протягом життя і характерна для кожної особи (рисунок 3). Відповідно до кількості та структури важких ланцюгів імуноглобуліни поділяються на підкласи: IgG – IgG1, IgG2,

IgG3, IgG4; IgM – IgM1, IgM2; IgA – IgA1, IgA2. Найбільш специфічні антитіла – це антитіла класу IgG, найменш специфічні – IgM.

Специфічність антитіл забезпечується просторовою конфігурацією змінних фрагментів важких та легких ланцюгів, яку визначає послідовність амінокислот у цих частинах ланцюгів. Змінні частини, які входять в склад Fab антитіла, є різними у антитіл, які зв'язують різні епітопи, Стабільні частини є ідентичними в антитіл одного класу і підкласу.

B-лімфоцити синтезують імуноглобуліни, котрі вбудовуються своїм C-кінцевим фрагментом в їх мембрану і стають рецепторами, зв'язуючими антиген (B cell receptor – BCR) та вільні, або циркулюючі імуноглобуліни. Вільні імуноглобуліни можуть продукуватися навіть без попереднього контакту з антигеном (натуральні). Всі молекули імуноглобулінів містять вуглеводні ланцюги. Є три різновидності імуноглобулінів: 1) ізотипові – маючи певні принципові відмінності будови тяжких та легких ланцюгів, надаються до поділу на класи та підкласи; 2) алотипові – мають невеликі відмінності між собою, обумовлені різними варіантами послідовностей амінокислот у стабільних частинах важких та легких ланцюгів внаслідок поліморфічних змін кодуючих їх генів; 3) ізотипові - відмінності між собою обумовлені також різними варіантами послідовностей амінокислот, але у змінних частинах важких та легких ланцюгів.

Авідність (ступінь відповідності будови антитіла структурі антигену, завдяки якій воно здатне зв'язати максимальну кількість його епітопів) та **афінність** (сила зв'язування антитіла з антигеном) – це **властивості** імуноглобулінів, від яких залежить їх здатність зв'язуватися з антигенами. У залежності від характеристик об'єкту (антигену), антитіла (імуноглобуліни) проявляють такі **функції**: 1) зв'язують розчинні антигени у нативній формі, антигени на поверхні клітин, зокрема інфікованих вірусами чи пухлинних, та знищують їх, індукуючи активацію комплементу, імунофагоцитоз, антитілозалежну цитотоксичність; 2) зв'язують антигени на поверхні мікроорганізмів, спричиняючи аглютинацію та перешкоджаючи їх проникненню у тканини; токсини, блокуючи їх дію; проявляють ензиматичні властивості (абзими) щодо антигенів.

Відмінності у будові важких ланцюгів є підставою для поділу антитіл на класи та підкласи (таблиця 1).

№ п/п	Властивості	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
1.	Форма	мономер	Мономер, димер	пентамер	мономер	мономер
2.	Підкласи	IgG1- IgG4	IgA1, IgA2	-	-	-
3.	Інші ланцюги	-	J - секреторний фрагмент	J	-	-

4.	Період піврозпаду (дні)	23	5,8	5,1	2,8	2,5
5.	Синтез (мг/кг маси/день)	34-44	65-66	7,9	0,4	0,016
6.	Концентрація в сироватці крові (мг/мл)	8-16	1,4-4	0,5-2	0,04	0,00002-0,0005
7.	Активація комплекменту (класичний шлях)	+*	-	+	-	-
8.	Перехід через плаценту	+	-	-	-	-
9.	Зв'язування з тучними клітинами	-*	-	-	-	+
10.	Молекулярна маса ($\times 10^3$) кДа	150	160 (мономер)	970	185	190
11.	Відсоток від інших імуноглобулінів сироватки	80	13	6	0,001	0,000003
12.	Відсоток вуглеводнів у фрагменті Fc	2-3	7-11	12	9-14	12

Таблиця 1.

Базові властивості імуноглобулінів різних класів та підкласів (Golab J. et al., 2017). Примітка: * - за винятком IgG4

Крім вищеперіченої у таблиці інформації, різні класи та підкласи антитіл мають ще свої особливості. Антитіла класу **IgM** синтезуються спочатку імунної відповіді. В процесі первинної імунної відповіді афінність IgM до антигену є малою. Але, маючи аж 10 фрагментів Fab, пентамери IgM високоавідно з'єднуються з антигеном, який має багато епітопів. Після зв'язування антигенних епітопів Fab-фрагментами зростає експозиція Fc-фрагментів, що сприяє активації системи комплекменту (зі всіх імуноглобулінів IgM робить це найактивніше), фіксації до FcR на гранулоцитах та фагоцитозу.

Імуноглобулін **IgG** у людини перебуває у вигляді 4-ох підкласів, або ізотипів IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Багато клітин має рецептори до фрагменту Fc антитіл класу IgG (FcγR), завдяки яким власне цим класом антитіл запускається імунофагоцитоз та антитілозалежна цитотоксичність. Щодо підкласів, то IgG3 має найдовший змінний регіон, тому після зв'язування з антигенами утворює гексаметричну структуру, яка найкраще активує комплемент. Імуноглобуліни IgG1, IgG2 та IgG4 здатні до розпізнавання та започаткування знищення

мікроорганізмів, пухлинних клітин та вірусів. Fc-фрагмент IgG1, IgG2 та IgG4 зв'язується з основними антигенами патогенних мікроорганізмів - білком А стафілококів, білком G паличковидних бактерій і таким чином захищає їх від знищення антитілозалежними механізмами.

IgA існує у двох формах – сироватковій та секреторній. У сироватці чи плазмі крові IgA знаходиться на 80-95% у формі мономеру. У секретах, таких як слюзи, піт, виділення із залоз травного, респіраторного та сечо-статевого трактів, IgA знаходиться у формі димерів, з'єднаних ще додатково зв'язуючим ланцюгом J, який через дисульфідні мостики фіксується на «хвостовій» частині IgA. Разом вони формують секреторний IgA, або SIgA (secretory IgA). SIgA становить 5-10% полімерних IgA у сироватці крові, вони діляться на підкласи IgA1 та IgA2. IgA1 має видовжений змінний регіон (20 амінокислот), а IgA2 – короткий (7 амінокислот). У сироватці крові міститься 80-90% підкласу IgA1 і дуже мало IgA2, у секретах ця пропорція є іншою, бо суттєво переважає IgA2. Короткий змінний регіон робить IgA2 невразливими до дії бактерійних протеаз, які, проте, здатні «перерізати» і зробити нефункціональними молекули IgA1.

IgE, подібно до IgM, містять чотири домени в стабільних фрагментах важких ланцюгів, але не мають змінного регіону. IgE, зв'язуючись з відповідними рецепторами FcR на тучних клітинах, викликають їх дегрануляцію після приєднання алергену. Імуноглобуліни класу E найактивніше працюють у протипаразитарному захисті та у реалізації алергічних реакцій I-го типу.

Функція імуноглобулінів **IgD** є до кінця недослідженою. IgD разом з IgM у великій кількості фіксовано знаходяться на поверхні «наївних» В-лімфоцитів, виконуючи функцію їх імуноглобулінових рецепторів. Циркулюючих у біологічних рідинах IgD є досить мало.

Різноманітність специфічностей антитіл є генетично детермінованою. Антитілопродукуючі клітини (плазмоцити) здатні продукувати біля 10 біліонів антитіл різних структур. У зв'язку з тим, що кожне антитіло має унікальну амінокислотну послідовність, воно повинно бути кодованим іншим геном. Однак, гіпотеза “один ген – одне антитіло” не є коректною тому, що людина має від 50 000 до 100 000 генів. **Механізми переключення синтезу одного класу імуноглобуліну на інший.** Індукція специфічної імунної відповіді проти алергену чи антигену розпочинається у лімфовузлі. Кожен В-лімфоцит спочатку синтезує антитіла класу IgM, після його активації синтез переключається на інший клас імуноглобуліну без зміни антигенної специфічності. В-лімфоцит для цього повинен отримати певні сигнали: 1) зв'язування антигену (алергену) поверхневими імуноглобуліновими рецепторами, які формують В-клітинний рецептор (B cell receptor – BCR); 2) синтез цитокінів Т-лімфоцитами, котрі «приймають рішення» про початок синтезу амінокислот стабільного фрагменту визначеного класу імуноглобуліну: лімфоцити T_H2 продукують ІЛ-4 або ІЛ-13, котрі активують у В-лімфоциті транскрипційний фактор STAT6, що стимулює

переключення синтезу IgE В-лімфоцитом, а також IL-5, який індукує синтез IgA; лімфоцити Th1 синтезують IFN- γ , котрий впливає на запуск синтезу IgG1.

Здавалося би, імуноглобуліни – одні з найкраще вивчених гуморальних факторів імунної відповіді. Проте потрібно згадати ще і патологічні форми імуноглобулінів, вивчення котрих продовжується – кріоглобулінів та парапротеїнів.

Термін «**кріоглобулін**» був запроваджений Lerner у 1947 році і стосувався він преципітуючих на холоді сироваткових імуноглобулінів. Через 20 років Meltzer першим описав кореляцію між кріоглобулінемією та тріадою клінічних симптомів: пурпурою, артралгіями та астеною. Отож, кріоглобулінемія означає присутність в сироватці одного (**моноклональна кріоімуноглобулінемія**) або кількох (**змішана кріоглобулінемія (МС)**) імуноглобулінів, які преципітують при температурі нижче 37°C і розчиняються при нагріванні. Це - феномен *in vitro*. Механізми кріопреципітації залишаються невідомими – вона може бути результатом особливих властивостей компонентів моно- і поліклональних імуноглобулінів або відбуватися внаслідок взаємодії окремих компонентів кріопреципітату. **Класифікація кріоглобулінемії** ґрунтується на складових частинах кріопреципітату та будові імуноглобулінів, які в нього входять. **Тип 1** становить 10-15% від всіх кріоглобулінів, містить один моноклональний імуноглобулін (парапротеїн IgM, рідше IgG) і визначається у пацієнтів з моноклональною В-клітинною проліферацією, включно з **множинною мієломою, макроглобулінемією Вальденстрема, лімфомою, і, рідко, хворобою Шегрена**. **Тип 2** становить 50-60% від всіх кріоглобулінів і містить суміш моноклонального Ig M kappa імуноглобуліну та поліклональні IgG kappa та Ig G lambda імуноглобуліни. Комплекс формується на холоді, бо моноклональний Ig M kappa має активність ревматоїдного фактора і спричинює зв'язування Ig M до Fc-фрагмента поліклонального IgG. Комплекс Ig M-Ig G є дуже нерозчинним та преципітує на холоді. В комплексах таких пацієнтів комплемент є активований, і тому компоненти комплементу можна знайти в преципітаті. Кріоглобуліни 2-го типу можна знайти у пацієнтів з **хронічними гепатитами (С чи В-вірусного генезу), а також у пацієнтів з есенціальною змішаною кріоглобулінемією**. **Тип 3** становить 25-30% від всіх кріоглобулінів, містить суміш поліклональних Ig G, Ig M, Ig A імуноглобулінів та компонентів комплементу, формує кріопреципітати як великий комплекс антиген-антитіло, що є нерозчинним на холоді. Поліклональні імуноглобуліни також мають активність ревматоїдного фактору. Тип 3 кріоглобулінів можна знайти при різних **автоімунних (системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, синдром Шегрена, васкуліти, гломерулонефрити, хронічний автоімунний гепатит, хронічний вірусний гепатит), інфекційних хворобах (вірусних - гепатит С,**

вірус цитомегалії, вірус Епштейна-Барр, бактерійних, паразитарних) та інфекції вірусом імунодефіциту людини.

Парапротеїн – це білок аномальної будови, який належить до класу IgM. Наявність парапротеїнів може бути зв'язане з розвитком злоякісної пухлини, зокрема селезінки, печінки, кісткового мозку і т.д. До парапротеїнів належать глобуліни мієломи, білок БенсДжонса и макроглобулін. Маючи «неправильну» будову і, відповідно, змінену молекулярну масу, при електрофорезі білків сироватки крові такі білки утворюють на електрофореграмі окрему фракцію, яка є важливим фактором підтвердження діагнозу. **Макроглобуліни** також відносяться до парапротеїнів. Їх наявність є діагностичним критерієм хвороби Вальденстрема. Це захворювання крові, яке характеризується пухлинною проліферацією лімфоїдних клітин, у першу чергу попередників В-лімфоцитів. Через патологічні зміни вони переживають неповноцінне дозрівання і стають дефективними, тому і продукують патологічно змінені молекули IgM.

Контрольні питання:

1. Функції імуноглобулінів різних класів.
2. Функції підкласів імуноглобулінів різних класів.
3. Генетичне підґрунтя різноманітності специфічностей антитіл
4. Патогенетична роль кріоглобулінів та парапротеїнів.

Тема практичного заняття №3 «Онкомаркери та імунологічний моніторинг онкологічних хвороб» - 2 год.

Навчальна мета заняття: дати аспірантам сучасні знання про алгоритм імунологічного обстеження онкохворих та потребу їх спостереження лікарем-клінічним імунологом.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів інтерпретувати дані лабораторних обстежень онкохворих та використовувати ці знання на практиці.

Навчальні питання:

1. Імунологічний моніторинг осіб з ризиком утворення пухлин та онкохворих
2. Поняття про пухлинні антигени
3. Методи лабораторного виявлення стану протипухлинного імунітету
4. Цитокіни в протипухлинній відповіді, методи їх визначення
5. Можливості імунологічної діагностики у прогнозуванні рецидивів онкопатології.

Короткий зміст теми заняття:

Виникнення пухлини – це багатоступеневий процес. Канцерогенні фактори, діючи на наш організм, переважно не викликають утворення пухлини безпосередньо, але стимулюють утворення посередніх ендогенних чинників (вільні кисневі радикали та окислені ними зв'язки), які можуть пошкоджувати ДНК і викликати точкові або хромосомні мутації. Деякі з цих мутацій приводять до пухлинної трансформації клітин. Завданням здорової імунної системи є негайне знищення таких клітин. Тому в полі зору фахівця- імунолога повинні перебувати такі групи пацієнтів: 1) особи, які постійно знаходяться під дією радіаційних, ксенобіотичних, хімічних, фармацевтичних (імуносупресори) факторів і мають сформований імунодефіцит; 2) пацієнти онкологічних клінік, які проходять післяопераційну радіо- чи хіміотерапію; 3) особи дитячого, юнацького та старечого віку, у яких протипухлинні механізми працюють слабо.

Пухлинні антигени – це патологічно змінені (під впливом фізичних, хімічних, вірусних та інших факторів) аутоантигени організму людини. Вони діляться на такі групи: *антигени*, які присутні і на пухлинних, і на нормальних незмінених клітинах; *«диференційовані» антигени*, які присутні на пухлинних клітинах та на нормальних клітинах, з яких походить пухлина; *«спільні» антигени*, які присутні на пухлинах кількох типів; *антигени, специфічні до пухлин*; *онкофетальні антигени*; *пухлинно-специфічні трансплантаційні антигени*; антигени, присутні в пухлинах, в патогенезі яких задіяні *віруси* (вірус гепатиту В, вірус Епштейн-Барра, віруси папіломи типів 5, 6, 16, 18, рідше 33, 52, людський Т-лімфоцитотропний ретровірус). Визначення пухлинних антигенів проводиться або в тканинних зрізах за допомогою імуногістохімічних методів, або у біологічних рідних методом полімеразної ланцюгової реакції, якщо відомі: ген, яким кодується даний антиген (наприклад MAGE-1), чим він презентується (наприклад HLA-A1) та його епітоп (наприклад EADPTGHSY).

Пацієнтам з груп ризику пропонується **базовий імунологічний лабораторний алгоритм обстеження:**

1. *Фенотипування лімфоцитів* (загальна панель CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺25⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺). Крім цього, при підозрі на В-клітинну лімфому потрібно визначити антигени В-клітинних лімфом CD19⁺, CD20⁺, CD21⁺, CD22⁺, CD37⁺; плазмоцитомі – CD 5⁺/20⁺/22⁺, «плащевидній лімфомі» - FMC 7/19, CD23⁺/19⁺, CD43⁺/19⁺, лейкемії CD10⁺/19⁺, CD38⁺, CD 10⁺/19⁺, CD20⁺, CD 22⁺.
2. *визначення активності апоптозу* (CD 95⁺, аглютинаційний лектиновий тест, електрофорез ДНК, визначення фази клітинного циклу клітини методом проточної цитофлуориметрії)
3. *визначення рівня імунних комплексів* в сироватці крові.

Інші рекомендовані імунологічні обстеження включають:

- a. Імуноферментні (цитокіни, пухлинні антигени – онкомаркери).
- b. Імуногенетичні (HLA-антигени, асоційовані з онкопроцесами).
- c. Біохімічні (гормони наприклад, β -хоріонічний гонадотропін при хоріономах, пухлинах матки, яєчок), ферменти (наприклад, ЛДГ), глікопротеїни (напр.. альфафетопротеїн при гепатоцелюлярному раку), ліпіди, білки (напр. гострофазові – лактоферин при хворобі Ходжкіна, лімфосаркомах, СРБ – при всіх пухлинах), метаболіти.
- d. Культуральні (визначення простагландинів типу E2, α -2-макроглобуліну, С-реактивного протеїну в супернатантах культури моноцитів та лімфоцитів онкохворих).

Цитокіни грають значну роль в реалізації протипухлинної функції імунної системи, а саме:

- i. сприяють синтезу специфічних протипухлинних антитіл В-лімфоцитами (IL-4,5,6,);
- ii. активують цитотоксичну функцію макрофагів (IFN- γ);
- iii. активують НК-клітини, сприяють диференціації та активації Т-цитотоксичних (IL-2);
- iv. безпосередньо вбивають пухлинні клітини або гальмують їх проліферацію (TNF α та β);
- v. збільшують інфільтрацію пухлини нейтрофілами, моноцитами та лімфоцитами (хемокіни), гальмують ангіогенез в пухлині (хемокіни IP-10, MIG, PF-4).

Низка цитокінів мають стимулюючу дію при пухлинному процесі: 1) хемотактичні фактори для моноцитів та макрофагів (MCP) сприяють виділенню ними ростових факторів, котрі пришвидшують ріст пухлини (M-CSF, MG-CSF, EGF, PDGF); 2) трансформуючий фактор росту бета (TGF- β) та IL-10 гальмують протипухлинну активність імунної системи.

Прогнозування рецидивів онкопатології можна здійснювати, призначаючи та оцінюючи результати імунологічних лабораторних досліджень в динаміці протипухлинного лікування та після його закінчення. Існує ще сучасніший спосіб моніторингу – по канцероембріональному антигену (CEA). Його визначення не є ефективним у виявленні ранніх етапів розвитку раку, але добре служить при моніторингу ефекту терапії. Серійні виміри CEA в сироватці крові за допомогою відповідних моноклональних антитіл до терапії і після неї дозволяють ствердити, чи пухлина є повністю усуненою, чи немає метастазування. Загалом імунологічне моніторування онкохворих повинне складатися із трьох груп аналізів – загальноклінічних, імунологічних і визначення пухлинних антигенів – онкомаркерів.

Контрольні питання:

1. Суть імунологічного моніторингу осіб з ризиком онкопатології та онкохворих.
2. Визначення пухлинних антигенів, їх види.
3. Базовий лабораторний рівень обстеження хворих на онкопатологію.
4. Сучасні методи лабораторного дослідження стану протипухлинного імунітету.
5. Протибластомні та пробластомні функції цитокінів.
6. Роль імунологічного обстеження в оцінці віддалених результатів лікування онкохворого.

Тема практичного заняття №4 «Імунологічні, імуногенетичні та молекулярно-генетичні методи діагностики у трансплантології, репродуктології» - 2 год.

Навчальна мета заняття: дати аспірантам сучасні знання про будову і функції головного комплексу гістосумісності та генетично детерміновані репродуктивні втрати

Професійно-орієнтована мета заняття: навчити аспірантів визначати покази для імуногенетичного та молекулярно-генетичного дослідження біологічного матеріалу пацієнтів.

Навчальні питання:

1. Доцільність знань з генетики та імуногенетики для трансплантолога та репродуктолога.
2. Будова головного комплексу гістосумісності, роль молекул МНС I-го, II-го класів у трансплантології та репродуктології.
3. Суть трансплантаційної селекції донор-реципієнт.
4. Взаємозв'язок між індексом гістосумісності між донором та реципієнтом та тривалістю функціонування трансплантату.
5. Генетичні основи репродуктивних втрат.

Короткий зміст теми заняття:

Імуногенетика - це розділ імунології, який вивчає чотири основні проблеми: 1) генетичні основи гістосумісності; 2) генетичний контроль синтезу імуноглобулінів, цитокінів та їх рецепторів, антигенів головного комплексу гістосумісності; 3) генетичний контроль сили імунологічної відповіді; 4) генетичну детермінацію будови і структури антигенів. Саме тому імунна система відрізняє “свої” антигени від “чужих”.

Головний комплекс гістосумісності (МНС – Major Histocompatibility Complex) – це група, яка складається з мінімум 80 генів, які знаходяться в 4-Мб регіоні короткого плеча 6 хромосоми. МНС є синонімом HLA –системи (human

leukocyte antigen), бо антигени цієї системи вперше були відкриті на мембранах лейкоцитів. Однак, на теперішній час вони виявлені на мембранах багатьох інших клітин. HLA складається з трьох частин або ділянок, які названі класами - I, II, III клас. Визначення окремого HLA-антигену (наприклад, HLA-B12) включає три компоненти: 1) аббревіатура всієї системи - HLA; 2) локус, який містить дану специфічність - B (відноситься до I класу HLA); 3) порядковий номер антигену - 12.

Молекули HLA I-го класу складаються з одного важкого глікопротеїнового ланцюга та одного легкого ланцюга, який носить назву - β 2-мікроглобуліну. Цей протеїн кодується геном, який розташований на 15 хромосомі. Найбільш важливими локусами I-го класу є локуси A, B та C. Ступінь експресії молекул HLA цього класу індивідуальний для кожної людини. Так, експресія молекул HLA-C в 10 разів менша, ніж експресія молекул HLA-A та HLA-B. Більшість з локусів A, B та C мають велику кількість алелей, в результаті чого формується велика різноманітність генів HLA I-го класу в різних індивідуумів. Клас I HLA-системи має 1,8 Mb і містить 20 генів, але інші гени в цьому регіоні є менш поліморфними, ніж A, B та C гени і відіграють скромнішу роль у розпізнаванні їх T-клітинним рецептором. Молекули I-го класу HLA-системи людини поділяються на класичні - які належать до підкласу Ia (HLA-A,-B,-C) та некласичні, які належать до підкласу Ib (HLA-E, -F, -G та гени MICA і MICB). Експресія HLA-E та HLA-G присутня на клітинах плаценти зародкових тканин і є вирішальною щодо визначення імунологічних взаємин мати-плід, бо молекули HLA-G оберігають тканини плода, гальмуючи функцію NK-клітин і T-цитотоксичних лімфоцитів матері.

Молекули HLA II-го класу виявлені тільки на поверхні антигенпрезентуючих клітин (B-лімфоцитів, макрофагів, дендритних клітин, клітин Лангерганса тощо). При запаленні молекули HLA II-го класу під впливом IFN- γ можуть з'являтися на T-лімфоцитах, ендотеліоцитах, клітинах щитоподібної, підшлункової залози. Молекули HLA II-го класу є гетеродимерами, які містять α - або β -ланцюг, кожен з яких кодується різними генами, які розташовані на 6 хромосомі. Молекули HLA I класу синтезуються в цитозолі клітини, де до появи відповідного пептиду знаходяться в зв'язку з тирозинкалретикуліновим комплексом. Високий рівень поліморфізму генів є результатом природної селекції алельної різноманітності. Особи, клітини яких експресують велику різноманітність молекул HLA, мають більше шансів ефективно відповісти на різні антигени. Наприклад, якщо особа є гомозиготною за локусами першого класу HLA (A, B або C), тоді на її клітинах будуть експресуватися тільки 3 молекули HLA I класу. *Регіон III-го класу HLA - системи* має 680 kb, містить біля 36 генів. Найвідомішими генами цього регіону є гени, які кодують синтез компонентів комплементу C2, C4 та фактору B.

Основні функції HLA-системи:

- 1) Зв'язування та презентація антигенів певній субпопуляції T-лімфоцитів (T-цитотоксичним лімфоцитам – через молекули HLA I класу та T-хелперам – через молекули HLA II класу) з наступним визначенням типу імунної відповіді – клітинної або гуморальної.

2) Визначення HLA-комплекту конкретної особи, що забезпечує її імунологічну індивідуальність (це має вирішальне значення в трансплантології та репродуктології).

3) Ідентифікація окремих HLA-антигенів, які зв'язані з підвищеним ризиком розвитку певної хвороби з діагностичною та лікувальною метою.

Генетична різниця між донором та реципієнтом призводить до *розпізнавання антигенів донора імунною системою реципієнта як чужих* та включення реакцій відторгнення, які знищують трансплантат.

Визначення HLA-фенотипу донора і реципієнта (*трансплантаційна селекція*) проводиться за антигенами локусів HLA I-го класу – A, B, C (класичні або трансплантаційні антигени) та HLA II-го класу – D (DR, DP, DQ). Кожна людина володіє індивідуальним набором антигенів HLA. В основному, ці антигени відносяться до I класу (локуси A,B,C) та II класу - локусD: DR (>400 алельних варіантів), DP(>25 алельних варіантів), DQ(>57 алельних варіантів). Набір HLA-антигенів людини визначають шляхом фенотипування. Вірогідність знайти донора, повністю сумісного за системою HLA-антигенів, складає від 1:1 000 до 1:1 000 000.

Практика показала, що найбільше значення для пересаженого органу має сумісність за антигенами трьох локусів - DR, B і A. Антигени інших локусів HLA системи набагато менше впливають та ефективність приживлення органу. Для успішної трансплантації необхідно підібрати максимально гістосуміснототожний фенотип клітин донора і реципієнта. Для оцінки ступеня гістосумісності запропонований *індекс гістосумісності*. Кількість HLA-антигенів у кожного є іншою – від 8-ми до 12-ти. При наявності четвертої частини з комплекту однакових HLA-антигенів у донора і реципієнта – індекс гістосумісності буде складати – 25%; при наявності половини ідентичних антигенів у донора і реципієнта – індекс гістосумісності буде складати – 50% і так далі. Деякі антигени системи HLA відповідно до своєї будови є певною мірою гомологічними, виявляючи сильні і слабкі перехресні реакції. Ці антигени склали кілька груп. *За локусом A:* A1, 3, 11; A2, 28; A23, 24; A25, 26; A 30,31; *за локусом B:* B5,35; B7, 22, 27; B8, 14; B12, 21; B13, 40; B15; 17; B38, 39. Встановлено, що наявність у донора антигенів HLA з сильними перехресними реакціями підвищує індекс гістосумісності на 20%, з слабкими перехресними реакціями – на 10%. Наприклад, фенотип донора наступний: **A15, A23, B2, B13, B15, DR 10**; фенотип реципієнта:**A15, A24, B 27, B13, B17, DR 12**. У цьому випадку індекс гістосумісності = 90%.

У клінічній практиці за результатами підбору пари донор-реципієнт за HLA-антигенами прогнозують ефективність пересадки та тривалість функціонування трансплантату. Найкращий результат для приживлення трансплантату дає сумісність в локусах HLA-B (I-й клас MHC) та HLA-DR (II-й клас MHC), у меншій мірі HLA-A (I-й клас MHC).

Незважаючи на зростання рівня знань про генетичні причини непліддя, поступ в його діагностиці та лікуванні залишається відносно незначним. Одиначні дефекти генів можуть спричинювати непліддя, однак це буває рідко. Частіше комплекс генетичних та неспадкових змін приводить до хвороби.

Виконанню генетичних досліджень повинен передувати аналіз родоводу, тобто генеалогічний метод. Генетичні діагностичні методи включають: аналіз хромосом, оцінку одиничних дефектів генів та вивчення безладу в геномі – число копій генів чи мутацій, які важливі для постановки діагнозу. Найчастіше генетичні причини стосуються хромосомної патології та викиднів; одиничних мутацій генів, зв'язаних з непліддям; оцінки, наскільки комплекс генетичних механізмів може впливати на частоту виникнення полікістозу яйників (polycystic ovary syndrome – PCOS), ендометріозу та фіброзу; згрупування генетичних факторів, які відобразять ризик звичних викиднів.

Аналіз хромосом – виявлення транслокації. Робертсонівські транслокації – це структурні хромосомні аберації, які виникають в результаті злиття центром ер аероцентричних хромосом. Це може відбутися між гомологічними та не гомологічними хромосомами. У людській популяції вони зустрічаються з частотою 0,1%. Такі транслокації знайдено у 1,1% пар із звичними викиднями та 2-3% у неплідних чоловіків. Найчастіше у Робертсонівській транслокації є задіяні хромосоми 13 та 14 (der (13;14)(q10;10)) – це понад 75% від всіх Робертсонівських транслокацій. Носії балансованих Робертсонівських транслокацій є фенотипічно нормальними, але мають ризик непліддя, звичних викиднів та нащадків із незбалансованим каріотипом. Тому вченими з Бельгії рекомендовано проводити преімплантаційну генетичну діагностику (PGD) ембріона перед трансфером до матки жінки.

Багато чоловічих факторів непліддя мають ідентифікований генетичний ґрунт. Найчастіше це мікрodelеції Y-хромосоми (AZFc – мікрodelеції), аномалії каріотипу (синдром Klinefelter) чи мутації обидвох алелей трансмембранного гену-модулятора провідності (CFTR) – від них залежить етіологія порушень репродукції.

Мозіцизм – це присутність в тому самому організмі двох або більше клітинних ліній, які походять із однієї стовбурової клітини, але мають різну хромосомну конституцію. Фенотип мозіцизму 45,X/46, XY краще діагностується у жінок з дисгенезією гонад, синдромом Turner, у чоловіків із змішаною дисгенезією гонад, чоловічому псевдогермафродитизмі, та часом у здорових чоловіків. Ізольовані повідомлення про здорових жінок та чоловіків із цим порушенням свідчать, що вони мають сумнівні геніталії та коротку статуру. Вчені з Туреччини доводять, що допоміжні репродуктивні технології та PGD у пацієнтів із 45,X/46, XY може засвідчити про наявність нормальної вагітності. Загалом найбільшим ризиком для плідності чоловіків є азооспермія та різні види олігозооспермії, про що можна взнати, провівши каріотипування та аналіз мікрodelецій Y-хромосоми, якщо вони при цьому мають нормальний фенотип. Чоловіки із 45,X/46, XY мають збільшений ризик неоплазії яєчок. Хромосомна патологія та втрата вагітності – патологія 45X, трисомія, поліплоїдія чи тетраплоїдія, структурна перебудова. **Трисомія** є результатом нероз'єднання при першому чи другому мейотичному поділі, частіше зустрічається у жінок. Найчастіше це відбувається в хромосомах X, 16, 13, 18, 21. Якщо трисомія зустрічається у молодій мамі (має два чи більше викиднів з трисомією), то трисомія зустрічається в однакових хромосомах. У жінки це проявляється як

гонадна мозаїка, яка підвищує ризик продукції ооцитів з переносом на додаткову копію трисомічної хромосоми. **Одиничними генами**, які спричинюють непліддя, є такі: гіпогонадотропний гіпогонадизм (специфічний генетичний дефект, переважно стосується гіпоталамуса, а не гіпофіза) та синдром Кальмана (інактивуюча мутація гену KAL-1, який є адгезивним білком, задіяним в синаптогенезі). **Вроджена відсутність матки та вагіни** – це синдром Mayer – Rokitansky – Kúster – Hauser, це втрата розвитку похідних – вагіни та частин мюлерівської протоки, які були призначені статі маткою. Цей синдром має два типи – тип перший – повна аплазія вагіни та матки з двома рудиментарними рогами та нормальними фаллопієвими трубами. Тип 2 – вагінальна аплазія з одним із двох – суметричною гіпоплазією матки або аплазією одного рогу, трубною вадою розвитку або іншими асоційованими вадами. У цій хворобі винні кілька генів: 1) мутація гену WNT4 (гену розвитку); 2) аномалії Мюлерівської протоки також описані в асоціації з дозріванням на початку ювенільного діабету (MODY) з приводу мутацій TCF2/HNF1 β гену (MODY5, OMIM 189907). **Ген фолатного метаболізму і плідність**. Висока концентрація гомоцистеїну є асоційованою із втратою вагітності та високі концентрації фолієвої кислоти можуть бути асоційовані із збільшенням числа близнят. Дефіцит ферменту метилтетрагідрофолат редуктази (MTHFR), який є центральним у шляху метиляції, спричиняє гіпометиляцію ДНК і може залишати слід у вигляді генетичних порушень.

Контрольні питання:

1. Функції HLA-системи. Основні властивості HLA-антигенів.
2. Індекс гістосумісності між донором та реципієнтом: спосіб обрахунку, діагностичне значення.
3. «
4. Генетичні методи обстеження пар з репродуктивними невдачами.
5. Значення пре-імплантаційної генетичної діагностики ембріона перед трансфером у матку для успішного репродуктивного процесу.

ь

н

Тема практичного заняття №5 «Нові лабораторні методи діагностики гострого та хронічного відторгнення, сучасні підходи до попередження відторгнення трансплантату» - 2 год.

т

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасне уявлення про види та механізми імунологічного відторгнення трансплантату.

«

Професійно-орієнтована мета заняття: навчити аспірантів визначати види та механізми імунологічного відторгнення трансплантату .

а

Навчальні питання:

і

1. Надгостре відторгнення трансплантату.
HLA-антигени, їх значення.

2. Пришвидшене гостре відторгнення трансплантату.
3. Види гострого відторгнення в залежності від ведучого імунопатологічного механізму
4. Хронічне відторгнення трансплантату.

Короткий зміст теми заняття:

Ефекторна фаза імунної відповіді на алогенний трансплантат проявляється у процесі відторгнення, який є специфічною імунологічною реакцією. Розрізняють надгостре, пришвидшене гостре, гостре та хронічне відторгнення. Різні види відторгнення відрізняються між собою за імунологічними механізмами та морфологічними змінами у трансплантованому органі. Найчастіше трапляється гостре та хронічне відторгнення. Найпоширеніша клінічна класифікація морфологічних змін у аллотрансплантаті називається Banff (за назвою міста в Канаді, у якому була створена), вона щороку доопрацьовується, але не втратила своєї актуальності і донині. Ключовим у класифікації видів відторгнення є час, за який воно розвивається.

Види реакцій відторгнення:

1) *Надгостре відторгнення* – розвивається при несумісності за АВО групою крові або наявністю попередньо існуючих антитіл до інших антигенів донора. Клітини пересаженого органу атакуються існуючими антитілами – реакція починається негайно (за судинним спазмом настає оклюзія судин пересаженого органу з наступним його відторгненням). Передіснуючі антитіла в сироватці крові реципієнта не виявляються, тоді як перед операцією вони ідентифікувалися. Це пов'язано з тим, що ці антитіла фіксуються в тканинах (виявляються за допомогою електронної мікроскопії чи імунофлюоресцентним методом). Пошкоджуючий вплив передіснуючих антитіл базується на фіксації комплексу антиген-антитіло на ендотелії капілярів з наступною активацією компонентів комплементу. Надалі розвивається комплементзалежний лізис, імунне запалення з явищами гемокоагуляції, відкладанням фібрину, утворенням тромбів дрібних судин і капілярів, порушенням кровоплину в органі-мішені з наступним порушенням його функції.

2) *Пришвидшене гостре відторгнення* є важкою формою гострого відторгнення, при цьому морфологічні зміни є схожими до надгострого відторгнення, але зміни відбуваються більше у великих аретріях, ніж у малих. Пришвидшене гостре відторгнення реалізується через специфічні Т-лімфоцити та преформовані передіснуючі антитіла у низьких концентраціях. З'являються клінічні ознаки агресії проти трансплантату, які відносяться до класичних проявів клітинно-опосередкованої імунної відповіді з наступною деструкцією трансплантованої тканини чи органу.

У зв'язку з широким впровадженням у лабораторну практику цитотоксичного тесту cross-match між сироваткою реципієнта та лімфоцитами донора дедалі рідше можна спостерігати випадки надгострого та прискішеного гострого відторгнення.

3) *Гостре відторгнення* має дві морфологічні форми – залежну від Т-лімофітів (клітинну) та залежну від антитіл (гуморальну або судинну).

А. При клітинній формі домінуючою ознакою є інфільтрати, у яких ідентифікували лімфоцити та макрофаги, розташовані в основному у міжклітинній стромі. В процесі гострого відторгнення незворотно змінюються стінки судин, відбувається їх склероз, виникають вогнища некрозу. У інфільтратах виявлено переважно Т-лімфоцити з експресованими маркерами активації CD25⁺, CD69⁺, CD HLA-DR⁺, макрофаги, В-лімфоцити, НК-клітини. Зростає кількість Т-лімфоцитів пам'яті CD45RO. Цитотоксичні Т-лімфоцити CD8⁺ мають провідну ефекторну роль у процесі гострого відторгнення. Знищення клітин-мішеней відбувається сериновими протеазами перфориною та гранзимами, або внаслідок взаємодії Fas-FasL. Принцип гострої кризи відторгнення базується на розпізнаванні імунною системою реципієнта антигенів чужих клітин (трансплантату донора) з наступною взаємодією антигенспецифічних Т-цитотоксичних лімфоцитів з клітинами-мішенями трансплантату. Т-лімфоцити-хелпери CD4⁺ також можуть викликати цитотоксичне ураження клітин трансплантату вже описаними механізмами, але якщо клітини трансплантату будуть експресувати HLA-антигени II-го класу донора (пряма презентація), така експресія може бути індукована цитокином IFN- γ . При презентації антигенів опосередкованим шляхом завдяки CD4⁺-лімфоцитам I-го порядку, які виділяють ІЛ-2, активуються Т-лімфоцити-цитотоксичні CD8⁺; а завдяки CD4⁺-лімфоцитам II-го порядку - ІЛ-4 і ІЛ-5. які стимулюють гуморальну імунну відповідь і продукцію аллоантитіл; також індукується цитотоксична дія макрофагів. За деяких умов в гострому клітинному відторгненні беруть участь НК-клітини, які мають на своїй поверхні KIR-рецептори гальмуючого типу щодо власних антигенів. Якщо на клітинах трансплантату присутні чужорідні антигени, тоді відміняється гальмування і цитотоксичність працює проти нього. Гостре клітинне відторгнення може розвинути в термін від кількох днів до кількох місяців після трансплантації.

Б. При гуморальному виді гострого відторгненні домінуючу роль відіграє активність аллоантитіл, скерованих проти HLA-антигенів донора, їх часто називають антитілами, специфічними до донора DSA (donor-specific antibodies). DSA можуть брати участь у реакції відторгнення трансплантату таким чином: 1) активувати систему комплементу, яка буде пошкоджувати клітини; 2) викликати реакцію антитілозалежної цитотоксичності; 3) посилювати запальний стан, індукуючи формування активованих компонентів комплементу C3a та C5a; 4) запускати систему згортання крові. Найважливішими морфологічними ознаками гуморального виду гострого відторгнення є депозити фрагментів комплементу в тканині трансплантату. Для діагностики найважливішим є визначення C4b компоненту комплементу, присутність якого є підтвердженням саме цього виду відторгнення. Зміни відбуваються в основному в стінках дрібних судин, хоча при важких формах змінюються і інші структури трансплантованого органу. У інфільтратах та

лімфовузлах реципієнта виявляються В-лімфоцити та плазматичні клітини, здатні продукувати антитіла, які будуть зв'язувати антигени трансплантату. Гостре відторгнення зазвичай піддається лікуванню великими дозами глюкокортикостероїдів або антилімфоцитарними антитілами. Додатково, гуморальний вид відторгнення можна призупинити подачею моноклональних анти-CD20⁺ антитіл (індукують знищення В-лімфоцитів), а також інгібітором протеасоми – бортезومیбу (bortezomib).

4. Хронічне відторгнення є наслідком пошкодження трансплантованого органу імунологічними та неімунологічними факторами. Щоби підкреслити тільки часткову участь імунної системи у цій проблемі, ця патологія ще називають хронічною недостатністю трансплантату. Проте реакція імунної системи є такою основною причиною неуспіху трансплантації. Типовою морфологічною зміною є перебудова артерій середнього калібру (атеросклероз) та артерій малого калібру (артеріолосклероз), включно із розшаруванням внутрішньої мембрани артерій (neointima), проліферацією та міграцією міоцитів, фіброblastів. Просвіт судин значно звужується, внаслідок чого орган недостатньо постачається кров'ю і проростає сполучною тканиною. До імунологічних факторів ризику хронічного відторгнення у реципієнта відносяться: 1) епізоди гострого відторгнення в минулому; 2) невисока кількість сумісних з донором HLA-антигенів; 3) погано підібрана імуносупресія; 4) гетерологічна імунна відповідь. Серед *імунологічних причин* можна виділити клітинний компонент (активація Т-лімфоцитів-хелперів 1-го, 2-го типів та Т-лімфоцитів-цитотоксичних) та гуморальний (цитолітична активність аллоантитіл). Хронічне відторгнення відбувається як за рахунок клітинних, так і гуморальних факторів, але найчастіше – за участю обидвох. Характерним явищем хронічного відторгнення, залежного від Т-лімфоцитів, є утворення в судинах neointima, а відторгнення гуморального – присутність депозитів C4d і потовщення основи мембран дрібних судин.

До *не-імунологічних факторів* ризику хронічного відторгнення у реципієнта відносяться: 1) токсична дія імуносупресивних ліків; 2) походження трансплантованого органу (найкраще, щоби він був від живого родинного донора); 3) пошкодження органу внаслідок ішемії/реперфузії у залежності від часу зберігання органу перед трансплантацією (середньостатистично нирки залишаються придатними для трансплантації 12 год, печінка — 8 год, а серце — 3 год); 4) носійство цитомегаловірусної інфекції; 5) старший вік реципієнта та/або донора; 6) непропорційно мала маса нирки стосовно маси тіла реципієнта; 7) хвороби або шкідливі звички реципієнта (у першу чергу гіпертонія, гуперліпідемія, тютюнопаління). Важливим фактором, ініціюючим відторгнення трансплантату, є пошкодження ендотелію судин. Серез неімунологічних факторів найбільш вагомим є пошкодження органу внаслідок ішемії/реперфузії при заборі органу від донора. Хронічне відторгнення неухильно призводить до втрати трансплантованого органу, хоча цей процес часом триває роками.

Встановлено чітку залежність між епізодами гострого відторгнення в анамнезі та виникненням хронічних змін, тому вважається, що ризик розвитку хронічного відторгнення буде меншим, якщо імуносупресія буде застосована якнайшвидше після трансплантації. У реальності немає ефективної імунотерапії, яка

загальмувала би хронічне відторгнення. Парадоксально, але деякі стандартні ліки (наприклад, інгібітори кальційневрину) мають нефротоксичну дію, і після тривалого застосування у реципієнтів нирки спричинюють зміни, характерні для хронічного відторгнення. Тому останніми роками існує тренд, який полягає у мінімізації застосування підтримуючої імуносупресії.

1. **Повторне відторгнення** спостерігається після повторної трансплантації; клінічно нагадує надгостре відторгнення трансплантату; базується на цитотоксичній дії передіснуючих антитіл.

Клінічні прояви відторгнення трансплантату: системні – гарячка, часто з ознобом, анорексія, головний біль тощо; *місцеві* – наприклад, при трансплантації нирки – біль у поперековій ділянці, олігоанурія тощо; *загальноклінічні лабораторні*: лейкоцитоз з еозинофілією, збільшення ШОЕ, при нефротрансплантації – наростання рівня креатиніну і сечовини.

Контрольні питання:

1. Методи попередження відторгнення трансплантатів.
2. Імунологічні причини гострого відторгнення трансплантату.
3. Лабораторний моніторинг пацієнта з гострим відторгненням.
4. Клінічні прояви хронічного відторгнення трансплантату.
5. Сучасні терапевтичні підходи до ведення пацієнта з ризиком хронічного відторгнення.

Тема практичного заняття №6 «Сучасна діагностика лікування, профілактика імунологічних конфліктів «мати-плід», «мати-батько» - 2 год.

Навчальна мета заняття: дати аспірантам сучасні знання про діагностику, лікування та профілактику імунологічних конфліктів «мати-плід», «мати-батько»

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів виявляти імунологічні конфлікти «мати-плід», «мати-батько» і давати рекомендації щодо їх лікування та профілактики.

Навчальні питання:

1. Групові антигени системи АВО людини.
2. Міжгруповий конфлікт «мати-плід».
3. Природа та характер Rh-антигену та антитіл до нього.
4. Діагностика Rh-конфлікту.
5. Тромбоцитопенія новонароджених.
6. Імунологічний конфлікт «мати-батько»

Короткий зміст теми заняття:

Групові антигени системи АВО були виявлені Ландштайнером в 1900-1901 рр. Чеський вчений Янський створив класифікацію груп крові людей згідно групових антигенів А та В-0(I), А(II), В(III), АВ(IV). Починаючи з 9 тижня внутрішньоутробного розвитку еритроцити плоду можуть потрапляти в кровотоки матері в зв'язку з можливим змішуванням крові в лакунах трофобласта, що формується у випадку несумісності по АВО. Еритроцити плоду, імунізуючи матір, ініціюють продукцію антигрупових антитіл. Ці антитіла відносяться до Ig G, вони транспортуються через плаценту, і, будучи цитотоксичними, пошкоджують клітини крові зародка, приводячи до гемолітичної хвороби плоду та новонародженого. Найчастіше *міжгруповий конфлікт* спостерігається в тому випадку, коли у матері група крові 0(I), а у плоду – А(II). Міжгруповий конфлікт спостерігається після 8-10 тижнів вагітності і клінічно проявляється загрозою викидня. При лікуванні прибігають до вливання матері різних розчинів (реосорбілак, поліглюкін, реополіглюкін) з метою зниження титру альфа-ізоантитіл до антигену А. Враховуються титри вище 1:10.

У 85% людей на еритроцитах експресується *резус-антиген*. Він формує цілу систему, з якої найбільш імуногенним є антиген D. Саме він використовується для визначення Rh-позитивних осіб. Природних антитіл до нього немає. Їх синтез Rh-від'ємним суб'єктом можливий при переливанні крові від Rh+позитивного донора та імунізації під час вагітності Rh-позитивним плодом. Залежно від кількості D-антитіл можливий викидень, народження мертвого плоду або живого з вродженою гемолітичною хворобою. Діагностика Rh-конфлікту здійснюється через збір анамнезу та виявлення анти-D-антитіл після пологів та під час наступної вагітності. Титр 1:16 вважається діагностично значимим. Специфічна профілактика резус-конфлікту здійснюється людським антирезусним IgG. Не пізніше, ніж через 72 години (краще в перші 2 доби) після пологів матері вводиться людський анти-D-IgG, механізм дії якого заключається в приєднанні цих антитіл до еритроцитів D-плода, внаслідок чого мати не імунізується цим антигеном.

У рідкісних випадках відбувається формування антитіл до тромбоцитів. У результаті трансмембранного переносу спостерігається імунна тромбоцитопенія плоду. Якщо у породіллі діти гинули від тромбоцитопенічної пурпури, жінці до пологів призначають кортикостероїди, проводять вливання різних розчинів для розведення титрів антитіл.

Формування антиспермального імунітету в жінок може привести до *конфлікту «чоловік-жінка»*. Виділяють наступні *фактори ризику*, які викликають реакцію на сперматозоїди в жіночій статевій системі: 1) місцеві інфекції статевої системи жінки; 2) хвороби шийки матки (ерозія, новоутвір) або

хронічна тріщина. Досліджені наступні *механізми впливу антиспермальних антитіл*: 1) перехресно зв'язують антигенні детермінанти на поверхні сперматозоїда, створюючи великі агрегати клітин (аглотинація) або активуючи систему комплементу, яка може знищити сперматозоїди; 2) сперматозоїди, вкриті антитілами, можуть загущувати шийковий слиз, що унеможливує їх рух та проникнення (кругові рухи переважають над поступальними); 3) антиспермальні антитіла, фіксовані до голівки сперматозоїда, унеможливають його зв'язування і/або проникнення в яйцеклітину.

Антиспермальні антитіла (АСА) у жінок можна визначати в різних біологічних рідинах: периферичній крові, рідині з фалопієвих труб, шийковому слизу. У двох останніх випадках вони виникають внаслідок місцевої імунної відповіді і належать до класу IgA. Існує кілька шляхів сенсibiliзації жіночого організму еякулятом: генетично обумовлена схильність; сексуальна активність в другій фазі менструального циклу (відсутність слизу в каналі шийки матки, строма ендометрію розрихлена), що полегшує проникнення сперматозоїдів в субепітеліальний шар і забезпечує їх контакт з імунокомпетентними клітинами; наявність інфекції (перехресне реагування, зниження вмісту інгібіторів імунної відповіді в сім'яній плазмі).

Конфлікт «чоловік-жінка» є небезпечним для жінки, бо може спричинити тривале неплоддя. Хоча антигенний склад сперматозоїдів не є однаковим у всіх чоловіків, однак у 60% випадків виявляються спільні антигени. Тому, якщо у жінки є високим титр АСА у сироватці периферичної крові, вона не буде вагітніти від жодного чоловіка.

Антиспермальні антитіла (АСА) та неплоддя. Найбільше до розвитку неплоддя причетні ті АСА, які знайдені в обидвох партнерів і представлені системно (у крові) та місцево (у сім'яній рідині та цервікальному слизі). У чоловіків їх присутність є доказом порушення бар'єру кров-яєчко (анатомічні вади, травма, інфекція, операція вазектомії тощо). У жінок їх продукція розпочинається після тривалої експозиції та розвитку ізоімунної відповіді. Присутність антитіл проти хвостика сперматозоїда впливає на рухливість сперматозоїда та його здатність пенетрувати слиз у цервіксі. Антитіла проти антигенів на голівці сперматозоїда пошкоджують його фертилізаційний потенціал та розвиток ембріона.

Хоча роль антиспермальних антитіл (АСА) у неплодді не підлягає сумніву, є декілька питань, які вимагають відповіді: який метод визначення АСА є найкращим; які ізотипи (в основному IgM, IgA, а може IgG) є більш важливими для неплоддя; які рівні АСА є небезпечними; яка локалізація АСА на сперматозоїді є важливою і який метод лікування можна використати для АСА-асоційованого неплоддя?

Всесвітня організація охорони здоров'я ще в 1992 році встановила, що переважно зв'язування IgG чи IgA більше, ніж 50% всіх сперматозоїдів є клінічно підтвердженим неплоддям. Але це не є головною причиною повного неплоддя. Високий титр антиспермальних антитіл є небезпечним для фертильності. Клас IgA антиспермальних антитіл інгібує міграцію сперматозоїда до ооцита; для антитіл обидвох класів IgA та IgG властива

здатність пошкоджувати взаємодію сперматозоїд-ооцит, проте жоден із цих механізмів не викликає стерильності. Досі невідомо, у який спосіб АСА можуть скорочувати IVF-фертилізаційний потенціал.

Лікування – відмивання сперматозоїдів (з/без ензиматичної обробки) для відкидання АСА; кортикостероїдна терапія для супресії продукції АСА; внутрішньоматкова інсемінація; IVF; IVF із внутрішньоцитоплазматичним введенням сперматозоїда. Залишається дві проблеми: обмежений набір імунологічних тестів, здатних передбачити фертилізаційний потенціал сперматозоїдів та відсутність клінічного консенсусу щодо ведення пацієнтів із АСА. Глюкокортикостероїдна терапія (для зниження рівня АСА) негативно впливає і на підтримку фізіологічної вагітності та на вагітність, яка наступила після застосування допоміжних репродуктивних технологій. Існує наступна точка зору: застосування глюкокортикостероїдів субфертильним пацієнтам може більш інтенсивно скорочувати їх фертильність. У практиці лікування непліддя успішно застосовується утилізація із еякуляту сперматозоїдів, вкритих АСА. Таким еякулятом можна проводити внутрішньоматкову інсемінацію, проводити звичайний цикл IVF або цикл IVF з інтрацитоплазматичним введенням сперматозоїда.

Контрольні питання:

1. Імунологічний зміст конфліктів “мати-плід” по системі АВО та Rh.
2. Підходи до діагностики та лікування конфліктів по АВО.
3. Діагностика та лікування конфлікту по Rh-фактору.
4. Профілактика конфліктів “мати-плід”
5. Діагностика та ведення пар з репродуктивними проблемами, викликаними конфліктом «мати-батько»

Тема практичного заняття №7 «Первинні імунodefіцити: нове в діагностиці, лікуванні та профілактиці» - 2 год

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасні знання про клініко-лабораторну діагностику первинних імунodefіцитів і принципи лікування.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів застосовувати знання про первинні імунodefіцити та методи їх діагностики на практиці.

Навчальні питання:

1. Особливості індивідуального та сімейного анамнезу у пацієнтів з ПД.
2. Особливості перебігу інфекційного синдрому у хворих з ПД.
3. Методи обстеження імунної системи.
4. Принципи лікування первинних імунodefіцитів.

Короткий зміст теми заняття:

Первинні імунодефіцити (ПІД) - це генетично детерміновані дефекти імунної відповіді. Найчастіше перші прояви хвороби з'являються у другій половині першого року життя (в 5–9 місяців), коли з крові дитини зникають материнські IgG антитіла. Первинні імунодефіцити Т-клітин можуть проявлятися через 3–4 місяці після народження. Як виняток, початок клінічних проявів первинного імунодефіциту може спостерігатися навіть у дорослому віці. Основним і, як правило, обов'язковим клінічним проявом імунодефіциту є інфекційний синдром. Тому при аналізі захворюваності пацієнта необхідно враховувати особливості перебігу інфекційних процесів, нетиповий характер збудників, важкий і/або часто рецидивуючий перебіг, резистентність до терапії.

Підозра на імунодефіцит може виникнути при зборі індивідуального та сімейного анамнезу, об'єктивному огляді дитини, аналізі додаткових даних.

Національний інститут здоров'я США виділяє *10 насторожуючих ознак*, що дають підстави підозрювати у пацієнта імунодефіцит:

- більше 8 випадків інфекційних захворювань за останній рік;
- більше 2-х рецидивів синуситу за останній рік;
- більше 2-х місяців лікування інфекції антибіотиками з незначним ефектом;
- більше 2-х пневмоній за останній рік;
- відставання у фізичному розвитку;
- рецидивуючі глибокі абсцеси шкіри або внутрішніх органів;
- персистуючий афтозний стоматит;
- необхідність доведеного введення антибіотиків для ерадикації інфекційного агента;
- два і більше епізодів таких важких інфекцій, як менінгіт, остеомієліт, целюліт або сепсис;
- наявність у сім'ї хворих з первинними імунодефіцитами.

При наявності двох і більше вказаних ознак, діагноз імунодефіциту ймовірний!

Особливої уваги потребує визначення показників імунної системи під час лабораторного обстеження, яке має бути проведено для ідентифікації конкретного порушення певної ланки імунітету та підтвердження клінічного діагнозу ПІД. Початкове лабораторне обстеження має включати мінімальний набір тестів, які можуть бути виконані в будь-якій клініко-діагностичній лабораторії. Такий скринінг має включати визначення абсолютної кількості лімфоцитів та визначення концентрації імуноглобулінів класів G, M та A в сироватці крові.

Подальший поглиблений аналіз може бути проведено лише висококваліфікованими спеціалістами в спеціалізованих лабораторіях з клінічної імунології, які мають належне сучасне обладнання. Вибір подальшого обсягу імунологічних обстежень залежить від клінічної картини хвороби та попереднього діагнозу первинного імунодефіциту:

- кількісне визначення підкласів IgG та IgA;
- визначення популяцій і субпопуляцій лімфоцитів;
- оцінка функціональної активності Т-клітин: проведення шкірних тестів (з туберкуліном, антигенами *Candida*, Multitest merieux); визначення проліферативної відповіді на мітогени та алогенні клітини; виявлення продукції цитокінів; РБТЛ;
- оцінка функціональної активності В-клітин (натуральні або поствакцинальні антитіла після активної імунізації проти дифтерії, правцю, кашлюку та поліомієліту, пневмокока, *Haemophilus influenzae* типу b);
- визначення функціональної активності НК- клітин (цитотоксичність);
- визначення концентрацій компонентів комплементу, функції фагоцитів (НСТ-тест);
- визначення дефекту гена чи молекули.

Лікувально-тактичні питання ведення хворих з первинними імунодефіцитами завжди мають значні складнощі. Як відомо з численних досліджень, пацієнти з первинними імунодефіцитами характеризуються цілою низкою супутніх захворювань і потребують надання комплексної медичної допомоги. Медичний супровід цих хворих передбачає лікування і профілактику інфекцій, ревматичних та інших хронічних запальних захворювань, онкопатології, підтримку загального стану здоров'я та адекватного харчування.

При лікуванні вроджених комбінованих імунодефіцитів необхідно враховувати факт, що виздоровлення можливе лише після алогенної трансплантації імунокомпетентних стовбурових клітин або, в деяких випадках, генної терапії. Показом до трансплантації є лише ті захворювання, які значно зменшують тривалість життя або виразно знижують його якість.

Покази до трансплантації стовбурових клітин:

Дефект В-лімфоцитів: Гіпер-IgM синдром X-зчеплений лімфопроліферативний синдром, X-зчеплений лімфопроліферативний синдром.

Дефект Т-лімфоцитів: синдром Віскота-Олдріча, дефект рецептора до IL-2, дефіцит IL-2, хронічний шкірно-слизовий кандидоз.

Комбінований дефект: важкий комбінований імунодефіцит (γ -SCID), дефіцит JAK3, важкий комбінований імунодефіцит з відсутністю В-клітин, дефіцит аденозин дезамінази, дефіцит пуриннуклеозидфосфорилази, дефіцит МНС класу II, порушення трансдукції сигналу, дефіцит ZAP70, синдром Омена, гіпер-IgM синдром, X-зчеплений варіант;

Дефект фагоцитозу: хвороба Костмана, дефіцит адгезії лейкоцитів-1, хронічна гранулематозна хвороба, синдром Чедіака-Хігаші, дефект рецептора до γ -інтерферону, сімейний еритрофагоцитарний лімфогістіоцитоз.

При всіх захворюваннях з відомим моногенним дефектом можна розглядати теоретичну можливість генної терапії. Генна терапія вроджених імунодефіцитів знаходиться на стадії розвитку. Сьогодні в світі існує клінічний досвід у лікуванні дефіциту аденозиндезамінази та важкого комбінованого імунодефіциту, сцепленого з X-хромосомою з наявними В-лімфоцитами. На стадії дослідження знаходиться генна терапія дефіциту ZAP-70, дефіциту пуриннуклеозидфосфорилази, порушення адгезії лейкоцитів, хронічної гранулематозної хвороби, зчепленої з X-хромосомою (дефіцит $gp95^{phox}$) і хронічної гранулематозної хвороби з аутомним успадкуванням (дефіцит $gp47^{phox}$), синдрому Віскота-Олдріча. У найближчому майбутньому генна терапія розвиватиметься і у напрямку лікування інших імунодефіцитів.

У більшості випадків при дефіцитах антитілоутворення добрий ефект дає позитивна замісна терапія довенними імуноглобулінами (ДВІГ), однак часто ці пацієнти потребують й інших терапевтичних втручань (тривала антибіотикотерапія тощо). Для комбінованих форм імунодефіцитів, окрім замісної терапії імуноглобулінами, застосовується профілактичний прийом антибактерійних та інших протиінфекційних середників (безперервно позитивно або переривистими курсами, відмінняють після радикальної корекції дефекту). Основний механізм дії ДВІГ — заміщення антитіл, продукція яких відсутня або суттєво порушена у хворих на ПД.

Останнім часом у багатьох країнах Європи у пацієнтів з дефіцитами антитілоутворення починають застосовувати альтернативний метод замісної терапії — введення імуноглобуліну підшкірно. Перевагами даного методу вважають можливість введення препарату в домашніх умовах, заміну ДВІГ при виникненні побічних ефектів, а також при обмеженому венозному доступі, зокрема, у дітей.

Лікування інфекційних ускладнень при імунодефіцитах проводиться після встановлення причини інфекції. Як гострі, так і хронічні інфекції, є основними клінічними проявами ПД. Гострі інфекції можуть виникати навіть на тлі

замісної терапії препаратами імуноглобулінів і потребують негайного проведення лікування антибіотиками чи іншими протиінфекційними препаратами з урахуванням спектру дії, у максимальних дозах і подовженими курсами, порівняно з імунокомпетентними пацієнтами. В певних ситуаціях виникає необхідність профілактичного призначення антибактерійних, протигрибкових чи інших препаратів з метою запобігання розвитку та прогресування інфекційного синдрому.

При деяких первинних імунодефіцитах застосовуються цитокіни, наприклад гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (G-CSF) при важких вроджених нейтропеніях чи інтерферон- γ при дефіциті рецептора до IL-12.

Контрольні питання:

1. Дайте визначення поняттю первинний імунодефіцит.
2. Вкажіть 10 ознак, що дають підстави підозрювати імунодефіцит у хворого.
3. Оцінка кількісних і якісних показників імунітету. Покази до трансплантації кісткового мозку у хворих з ПІД.
4. Можливості генної терапії при ПІД.
5. Замісна терапія довенними імуноглобулінами у пацієнтів з ПІД.
6. Принципи протиінфекційної терапії і профілактики у хворих з ПІД.

Тема практичного заняття №8 «Імунодіагностика та імунотропне лікування вірусної інфекції COVID-19» - 2 год.

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасні знання про імунодіагностику та імунотропне лікування вірусної інфекції COVID-19.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів застосовувати знання про імунодіагностику та імунотропне лікування вірусної інфекції COVID-19.

Навчальні питання:

1. Коротка характеристика роду коронавірусів
2. Загальні підходи до лабораторної діагностики інфекції COVID-19.
3. Особливості забору матеріалу для досліджень у коронавірусних хворих.
4. Які імунологічні параметри мають значення у прогнозуванні тяжкості перебігу коронавірусної інфекції.
5. Основні стратегії лікування коронавірусної інфекції.

Короткий зміст теми заняття:

Коронавіруси (CoV) відносяться до роду Coronaviridae, до лінії BetaCoV B. У даний час відомо про циркуляцію серед населення чотирьох коронавірусів (HCoV-229E, -OC43, -NL63і -HKU1), які цілий рік присутні в структурі ГРВІ, і як правило, викликають ураження верхніх дихальних шляхів від легкого та середнього ступенів тяжкості до важкого гострого респіраторного синдрому. У даний час основним джерелом коронавірусної інфекції є хвора людина, а також, люди, що знаходяться в інкубаційному періоді захворювання. Шляхи передачі інфекції: повітряно-крапельний (при кашлі, чханні, розмові); повітряно-пило-ий; контактний. Фактори передачі: повітря, хар-чові продукти та предмети побуту, контаміновані 2019nCoV. Для більшості коронавірусних інфекцій інкубаційний період обмежений 2-3 добами. Однак, для коронавірусу 2019 nCov цей період може становити від 1 до 14 днів (в середньому 10 днів). Новий коронавірус (SARS-CoV-2; 2019 nCoV), що раніше не спостерігався у людей, у кінці 2019 року було ідентифіковано як причину захворювання людей у Китаї і отримав назву 2019 nCoV. SARS-CoV-2, є зооозною інфекцією, яка вражає людей. Попередній генетичний аналіз показує велику схожість з SARS-подібним коронавірусом кажана (рід Betacoronavirus, підрід Sarbecovirus).

Лабораторна діагностика COVID-19 поділяється на загальну і специфічну. До загальної відноситься: клінічні дослідження (збір скарг та анамнезу), епідеміологічні, лабораторні (загальний аналіз крові з формулою, визначення сечової кислоти в крові, печінкових та ниркових маркерів, загальний аналіз сечі), молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція– ПЛР в реальному часі), імунологічні (імуноферментний аналіз – ІФА). Клінічний аналіз крові повинен містити визначення рівня еритроцитів, гематокриту, лейкоцитів, тромбоцитів, лейкоцитарної формули; біохімічний аналіз крові з визначенням сечовини, креатиніну, електролітами, печінковими ферментами, білірубінном, глюкозою та альбуміном. При проведенні загальноклінічних лабораторних обстежень пацієнтів із COVID-19 часто виявляють лейкопенію чи лейкоцитоз, лімфопенію, тромбоцитопенію, підвищену активність аланін- та аспартатамінотрансфераз. Високе нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення є корисним маркером підвищеного ризику тяжкого перебігу захворювання та поганого прогнозу. Специфічна лабораторна діагностика скерована на виявлення РНК 2019 nCoV методом ПЛР. Для проведення лабораторної діагностики має бути зібраний респіраторний матеріал у амбулаторних пацієнтів: мазок з носоглотки і ротоглотки (URT), ендотрахеальний аспірат (ETA) або бронхоальвеолярний лаваж (LRT). Ці два останніх дослідження мають бути виконані у випадку більш тяжких респіраторних форм захворювання. Респіраторний матеріал для тестування на 2019nCoV методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі (RT-PCR). У госпіталізованих пацієнтів з підтвердженою інфекцією 2019 nCoV необхідно зібрати повторні зразки URT і LRT, щоб визначити кліренс вірусу. Частота збору зразків повинна відбуватися, щонайменше, кожні 2-4 дні, поки не буде отримано два послідовних негативних результати (як у зразка URT, так і у LRT, якщо обидва взяті) у пацієнта, що одужав, з інтервалом не менше 24 годин. Серологія для діагностичних цілей

рекомендується тільки тоді, коли RT-PCR недоступна. У медичній практиці використовуються такі лабораторні методи дослідження на коронавірус: тести методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), тести імуно-ферментного аналізу (ІФА) та експрес-тести на імунохроматографічний аналіз (ІХА). Діагностика за допомогою методу ПЛР визначає присутність вірусної РНК у зразку. Метод ІФА-тестування визначає імуноглобуліни двох типів: IgM і IgG. Якщо виявляють підвищений рівень IgM, то йдеться про гострий процес захворювання, якщо IgG – то це означає, що людина перехворіла або інфікувалася вірусом і виробилися антитіла до цього захворювання. Використання ІФА-тестів для виявлення антитіл COVID-19 врегульовано наказом МОЗ від 20.05.2020 № 1227. Для встановлення діагнозу рекомендовано виключно результат ПЛР. Метод ПЛР вважається точним, оскільки фіксує присутність самого вірусу (його РНК, які є носіями генетичної інформації). Суть методу полягає у виявленні фрагменту РНК збудника, тобто вірусу в пробі. Основними перевагами ПЛР як методу діагностики є його висока чутливість, пряме визначення наявності збудника, можливість діагностики не тільки гострих, а й латентних інфекцій. Якщо лікар буде мати якісний експрес-тест, правильно збере анамнез пацієнта, все одно він не зможе виставити діагноз коронавірусу COVID-19.

Оскільки визначення тільки підвищеного рівня специфічних антитіл до вірусу є недостатнім, рекомендується провести ще і ряд імунологічних досліджень (таблиця 1 з продовженням).

Імунний показник	Здорові особи	Інфіковані COVID-19 (легка форма)	Інфіковані COVID-19 (середня форма)	Інфіковані COVID-19 (важка форма)
Кількість лімфоцитів	низька	низька	низька	дуже низька
Кількість нейтрофілів	висока	висока	висока	Висока, є нейтрофільна пастки
NK-клітини	низька	низька	низька	Дуже низька, підвищений NKG2A, низькі CD107a, IFN-λ, IL-2, Granzyme B, TNF-α
CD4+ Т-клітини	низька	Присутні функціональні клітини	Присутні функціональні клітини	Глобальна гіперактивація CD4+, низька продукція IFN-λ, TNF-α
CD8+ Т-клітини	низька	Не виснажені	Не виснажені	Глобальне виснаження CD8+, висока продукція NKG2A+, CD107a, Granzyme B, низька, PD-1, TGIT, CTLA-4

Таблиця 1.

Залежність між імунними показниками та важкістю перебігу інфекції COVID-Р

о
о
п
і
а
е
т

Імунний показник	Здорові особи	Легка форма	Середня форма	Важка форма
Фолікулярні Т-хелпери	активовані	активовані	активовані	Немає даних!
В-клітини	активовані	Збільшене число плазматичних клітин	Збільшене число плазматичних клітин	Знижене число плазматичних клітин
IgG/IgM/IgA	Присутні	Присутні	Присутні	Присутні
Цитокіни	Нормальний рівень	Знижений	Знижений	Цитокіновий шторм

Таблиця 1 (продовження)

Залежність між імунними показниками та важкістю перебігу інфекції COVID-Р

№ п/п	Імунологічний показник	Характер зміни
Фактори вродженого імунітету		
1.	Екстрацелюлярні нейтрофільні пастки (NETs) – асоційовані з посиленням легеневої недостатності	↑
2.	IL-9 (цитокін з прозапальною дією щодо легеневої тканини), IL-17A (посилює експресію ICAM-1, GM-CSF на епітелії бронхолегеневої системи), IL-6, TNF-α	↑
3.	Прозапальні моноцити CD14+CD16+, синтезовані ними цитокіни IP-10, MCP-3, IL-1Ra	↑
4.	Дендритні клітини та синтезовані ними цитокіни IL-21 (стимулює продукцію імуноглобулінів), IL-23 (посилює запалення та його хронізацію), IL-33 (належить до родини IL-1, діє як алармін)	↑
5.	Ферритин (гострофазовий протеїн, який затримує Fe у зв'язаній формі у печінці), онкостатин М (OSM – стимулює експресію костимулюючих щодо Тх1 молекул CD80-CD86))	↑
6.	Кількість НК-клітин знижується, посилюється експресія їх інгібіторного рецептора NKG2A	↑
7.	Посилена експресія TLR 3, 7, 8, які активують моноцитарний CD14+ та інтерферон-асоційований IFN-γ (IRF-3) сигнальні шляхи	↑

Таблиця 2.

Імунологічні показники, які сигналізують про ризик тяжкого перебігу COVID-19 – пневмонії

№ п/п	Імунологічний показник	Характер зміни
Фактори набутого (адаптивного) імунітету		
1.	Кількість CD4+ Т-клітин, CD8+ Т-клітин, B -клітин	↓
2.	Експресія активаційних маркерів CD38, CDHLA-DR на Т-клітинах	↑
3.	Антитіла до COVID-19 класів IgM та IgG , збагачені CDR3-послідовностями (CDR3 – регіон гіперзмінності, який через генні сегменти VDJ може викликати дефекти структури важких ланцюгів імуноглобулінів)	↑
4.	Сигнальні шляхи, пов'язані з транскрипційними факторами NF-κB (TNFSF-14), IRF-3, JAK/STAT, EN-RAGE	↑
5.	Сигнальний шлях mTOR (має проліферативну та антиапоптозну дію)	↓

Таблиця 2 (продовження)

Імунологічні показники, які сигналізують про ризик тяжкого перебігу COVID-19 – пневмонії

Використовуючи поглиблені імунологічні дослідження (таблиця 2 з продовженням), можна прогнозувати формування імунопатологічних синдромів (вторинного імунодефіциту інфекційного генезу, автоімунного) у пацієнтів, які перехворіли вірусною інфекцією COVID-19.

Симптоми	Гарячка, нежить і т.п.	Диспное, гіпоксемія	Гострий респіраторний дистрес синдром, мультисистемна дисфункція
Ознаки	Лімфопенія, гіперкоагуляція	Ущільнення легеневої тканини, тромбози	Високі запальні маркери CRP, IL-6, D-димер
Імунологічна профілактика: Cov2 Vaccines: Nabs (нейтралізуючі антитіла), CoV2-специфічні CTLs (цитотоксичні Т-клітини)	Антивірусні засоби	Імунотерапія: блокатори цитокінів/хемокінів – тоцілізумаб, анакінра, інфліксимаб	Імунотерапія: блокатори цитокінів/хемокінів – тоцілізумаб, анакінра, інфліксимаб
«Тренування» імунної відповіді: активація вродженого імунітету		Адаптивний перенос: гіперімунна сироватка, CoV2-специфічні Т-клітини	Адаптивний перенос: гіперімунна сироватка, CoV2-специфічні Т-клітини
Адаптивний перенос (для групи високого ризику): CoV2Nabs, CoV2-специфічні Т-клітини			

Таблиця 3. Профілактичні та лікувальні заходи при COVID-19 (Poonia Bh. et al.,

Контрольні питання:

1. Особливості роду коронавірусів
2. Значення загальноклінічних лабораторних аналізів у діагностиці інфекції COVID-19.
3. Значення імунологічних лабораторних аналізів у діагностиці інфекції COVID-19.
4. Які імунологічні параметри мають значення у прогнозуванні ризику формування імунопатологічних синдромів.
5. Основні групи імуноотропних препаратів, які застосовують у лікуванні коронавірусної інфекції.

Тема практичного заняття №9 «Сучасні лабораторні імунологічні критерії предикторної діагностики та оцінки прогнозу перебігу автоімунних хвороб» - 2 год.

Навчальна мета заняття: дати аспірантам сучасні знання про імунологічні показники, необхідні для визначення з метою прогнозування тяжкості перебігу автоімунних хвороб.

Професійно-орієнтована мета заняття: навчити аспірантів застосовувати сучасні знання про імунологічні показники для прогнозування тяжкості перебігу автоімунних хвороб у клінічній роботі.

Навчальні питання:

1. Місце загальноклінічних аналізів у діагностиці автоімунної хвороби.
2. Автоантитіла – основні лабораторні імунологічні параметри при автоімунній патології.
3. Комплексний алгоритм лабораторного обстеження пацієнта з автоімунною хворобою.
4. Асоціація тяжкості перебігу автоімунної хвороби зі змінами лабораторних показників.

Короткий зміст теми заняття:

Лабораторна діагностика у хворих на аутоімунні хвороби має велике значення. **Проведення загальноклінічних лабораторних досліджень** у хворих допомагає у проведенні диференційної діагностики, визначенні ступеня активності запального процесу та дозволяє здійснювати моніторинг основних біохімічних параметрів. Про наявність запального процесу у хворого свідчить виявлений лейкоцитоз, нейтрофіліоз, тромбоцитоз, гіпохромна анемія, підвищення ШОЕ та СРП. Лабораторні показники гострої фази запалення є неспецифічними обстеженнями. У хворих з аутоімунними хворобами результати лабораторних досліджень повинні характеризуватися такими змінами: 1)

підвищення у сироватці рівня γ -глобулінів; 2) загального IgG. Крім електрофорезу білків і виявлення фракцій, потрібно визначати окремі гострофазові білки. У здорових людей СРП виявляють у дуже низьких концентраціях. Зростання його рівня відбувається протягом декількох годин після початку гострого запального процесу з піковими підвищенням між 1 і 3 добами хвороби. Період піврозпаду СРП становить 19 годин, що робить його більш чутливим маркером запального процесу, аніж ШОЕ. При більшості захворювань, рівень СРП більш точно відображає ступінь запалення та / або пошкодження тканини, ніж ШОЕ. Таким чином, визначення рівня СРП та ШОЕ є неспецифічними обстеженнями, які відображають ступінь активності будь-якого запального процесу. Визначення рівня феритину є важливим у хворих на системний ювенільний ідіопатичний артрит (ЮІА). Феритин є широко поширеним внутрішньоклітинним білком, який має значення для зберігання та транспорту заліза. Значна гіперферитинемія (як правило, більше, ніж 1000 нг / мл, та часто набагато вище) може допомогти в діагностиці системного ювенільного ідіопатичного артриту і синдрому активація макрофагів синдром (СМ).

Специфічними обстеженнями, що проводять у хворих з аутоімунною патологією, є виявлення антинуклеарних антитіл (АНА), ревматоїдного фактору (РФ), а у окремих хворих – антитіл до цитрулінового пептиду (анти-ССР). АНА – це велика група аутоантитіл, які розпізнають клітинні антигени, які походять, в основному, хоча і не завжди, з клітинного ядра. Виявлення цих антитіл пов'язують з численними аутоімунними захворюваннями, зокрема, їх виявляють у хворих на ЮІА, системний червоний вовчак. Однак, АНА можуть бути виявленими при інфекційних захворюваннях, злоякісних новоутворень. АНА можуть бути знайдені в низьких титрах (наприклад, 1: 40) у 32% здорових дорослих і у більш високих титрах (наприклад, 1: 160) в 5% осіб. Титр АНА залежить від таких факторів, як метод визначення, реагентів. Результати досліджень у різних лабораторіях можуть бути різним. Поширеність АНА у здорових дітей складає від 5% до 18%, які виявляють титрах від 1: 80 до 1: 320. РФ - це не одне антитіло, а сімейство антитіл, спрямованих до частини Fc IgG, котрі найчастіше виявляють у дорослих з ревматоїдним артритом та при серопозитивному ЮІА. Присутність IgM-РФ у цих хворих є пов'язаною з підвищеним ризиком прогресування захворювання та важкістю пошкодження суглобів. Антитіла до цитрулінового пептиду (анти-ССР) належать до групи аутоантитіл, які включають в себе антиперинуклеарний фактор, антикератинові антитіла та анти-Sa антитіла. Анти-ССР антитіла є високо специфічними для діагностики ревматоїдного артриту та ЮІА. У більшості досліджень анти-ССР виявляли переважно у підгрупі хворих на РФ-позитивний поліартрит, у якій їх поширеність наближається до такої як серед хворих на ревматоїдний артрит (~ 59%). У хворих з іншими аутоімунними хворобами проводять виявлення специфічних аутоантитіл, зокрема у хворих на системні васкуліти - антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл, хворобі Шарпа – анти-U1-антитіл, тощо. Виявлення специфічних аутоантитіл допомагає у дагностиці конкретних аутоімунних хворіб.

HLA-антигени відображають генетичну схильність до аутоантитілоутворення, особливо ті, які знаходяться у сублокусах -DR та -DQ II-го класу головного комплексу гістосмісності людини.

Сформовано **комплексний алгоритм лабораторного обстеження** пацієнта з аутоімунною хворобою:

- 1) наявність у сироватці різних аутоантитіл та антигенів;
- 2) наявність у сироватці підвищеного рівня імунних комплексів та/або кріоглобулінів;
- 3) знижений рівень загальної комплементарної активності сироватки чи певних компонентів комплементу (в першу чергу, C3-, C4-C2-компонентів комплементу);
- 4) зниження поглинальної активності фагоцитів (фагоцитарний показник), гіперактивація лізосомальних ферментів (в першу чергу, катіонних білків);
- 5) підвищений рівень гострофазових протеїнів (СРБ, сироваткового амілоїдуА, макроглобуліну, β 2-мікроглобуліну);
- 6) підвищення показника специфічної клітинної сенсibiliзації (реакції бласттрансформації, інгібіція міграції лейкоцитів у присутності відповідного аутоантигену);
- 7) зміни кількості Т-хелперів та Т-регуляторно-супресорних лімфоцитів та імунорегуляторного індексу;
- 8) підвищення активності Т-цитотоксичних лімфоцитів, збільшення числа CD95⁺-лімфоцитів (маркер апоптозу);
- 9) підвищення числа лімфоцитів, на яких експресовані “ранні” та “пізні” активізаційні маркери;
- 10) типування за HLA-системою (виявлення лейкоцитарних антигенів, асоційованих з аутоімунними хворобами);
- 11) при гістоцитологічних дослідженнях біоптатів уражених тканин виявляють IgG та IgM-вмістні імунні комплекси.

Ключовим пунктом лабораторної діагностики аутоімунних хвороб є визначення специфічних аутоантигенів та антитіл до них.

Основними діагностичними маркерами ревматичних захворювань в якості первинних (скринінгових) серологічних тестів, рекомендованих міжнародним комітетом із стандартизації методів, є антиядерні антитіла (ANA), антитіла до нейтрофільних цитоплазматичних антигенів (ANCA), антифосфоліпідні антитіла, ревматоїдний фактор (РФ), антитіла до циклічного цитрулінового пептиду, віментину. У якості вторинних (підтверджуючих) пропонуються тести для визначення антитіл до ДНК, Sm, SSA/Ro, SSB/La, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1, β 2-глікопротеїну I (β 2-ГП I) тощо. При призначенні лабораторних тестів, пов'язаних з аналізом аутоантитіл, необхідно враховувати, що скринінгові тести повинні мати високу діагностичну чутливість, а підтверджуючі тести - високу діагностичну специфічність. Більшість аутоантитіл не є специфічними для одного певного захворювання, вони продукуються в різних комбінаціях. Виявлення аутоантитіл при відсутності клінічних ознак не є достатнім для постановки діагнозу АІХ. Відзначено наростання частоти виявлення аутоантитіл

у осіб похилого віку на тлі приймання лікарських засобів, при вірусних та бактерійних інфекціях, злоякісних новоутвореннях тощо. При оцінці клінічного значення аутоантитіл необхідно враховувати стійкість і вираженість їх гіперпродукції. Так, при системному червоному вовчаку, що супроводжується появою антитіл до Ro/SS-A, гломерулонефрит формується рідше, ніж у хворих, які мають високий титр антитіл до dsDNA, однак при цьому спостерігається певний ризик розвитку уражень шкіри з підвищеною фоточутливістю. Поряд із дослідженням аутоантитіл найбільш корисними лабораторними тестами в ревматології є методи визначення маркерів запалення (ШОЕ, С-реактивний білок). Ці тести дозволяють оцінити активність захворювання, характер прогресування і його прогноз, а також ефективність проведеної терапії.

Виявлення LE-клітин служить морфологічним проявом імунологічного феномену, характерного для системному червоному вовчаку. Специфічність дослідження становить 30-40%; при оцінці результатів характерний суб'єктивізм; цей метод трудомісткий і застарілий у наш час. Дослідження необхідно проводити до початку кортикостероїдної терапії. Негативний результат дослідження не виключає можливості даного захворювання. LE-клітини виявляються в ранній період захворювання, а також при вираженому нефротичному синдромі.

Контрольні питання:

1. Загальноклінічні лабораторні обстеження у діагностиці автоімунної хвороби.
2. Значення вивчення специфічності аутоантитіл у імунологічній лабораторній діагностиці аутоімунної патології.
3. Зміст комплексного алгоритму лабораторного обстеження пацієнта з аутоімунною хворобою.
4. Обґрунтування непотрібності деяких лабораторних аналізів у алгоритмі лабораторного обстеження.

Тема практичного заняття №10 «Моноклональні технології у лікуванні аутоімунних хвороб» - 2 год

Навчальна мета заняття: дати аспірантам сучасні знання про роль моноклональних антитіл у лікуванні аутоімунних хвороб.

Практично орієнтована мета заняття: навчити аспірантів використовувати отримані знання у клінічній практиці.

Навчальні питання:

1. Методика отримання моноклональних антитіл.
2. Застосування моноклональних антитіл.

3. Використання моноклональних антитіл в ревматологічній практиці.
4. Сучасні моноклональні антитіла та їх застосування у лікуванні автоімунних хвороб

Короткий зміст теми заняття:

Моноклональні антитіла (МАТ) – це особливий тип білків, отриманих шляхом гібридомної технології. Ця технологія дозволяє отримати клітини, які будуть продукувати однакові антитіла. Метод синтезу моноклональних антитіл є досить складним. Спочатку тварин імунізують антигеном для отримання специфічних антитіл. Після проведеної імунізації з селезінки тварини виділяють В-лімфоцити, оскільки саме ці клітини здатні продукувати специфічні антитіла. Далі синтез моноклональних антитіл проходить в умовах *in vitro*. Для продукції великої кількості моноклональних антитіл, а також для можливого довготривалого культивування клітин проводять злиття В-лімфоцитів і пухлинних клітин. Пухлинні клітини надають злитим клітинам «безсмертя», що дозволяє довго культивувати їх *in vitro*. Крім того, таке злиття В-лімфоцитів з пухлинними клітинами забезпечує велику кількість органел, необхідних для продукції значної кількості білків. Через певний час проводять виділення насинтезованих моноклональних антитіл і визначають їх специфічність.

Більшість моноклональних антитіл до цього часу отримували з клітин мишей. Зараз їх отримують також і з клітин організму людини.

Альтернативна методика виробництва моноклональних антитіл базується на «безсмерті» В-лімфоцитів, які продукують відповідні антитіла, шляхом трансформації їх вірусом Епштейна-Барра.

Моноклональні антитіла поділяються на різні види на підставі технології отримання, модифікації будови та спрямованості. За технологією отримання МАТ поділяються на: 1) мишачі антитіла; 2) химерні антитіла; 3) гуманізовані антитіла. МАТ бувають простими та модифікованими (кон'югованими), тобто їх другий Fab-фрагмент фіксує токсин (отруту кобри, рослинну отруту тощо), або ізотоп (найчастіше радіоактивний йод), або хіміотерапевтичний препарат. Існують також МАТ з подвійною специфічністю – так звані біспецифічні. Один з їх Fab-фрагментів специфічний до антигену-мішені, а інший – до поверхневого глікопротеїнового рецептора ефекторного Т-лімфоцита з цитотоксичною функцією (рисунок 1).

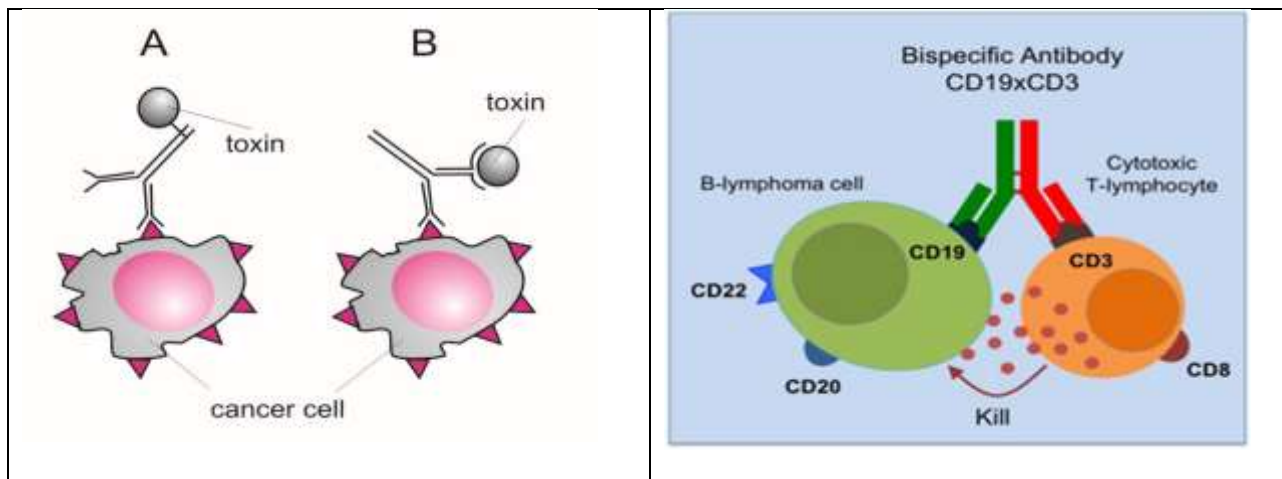


Рисунок 1.

Графічне зображення структури кон'югованого з токсином та біспецифічного моноклонального антитіла (Golab J et al., 2015)

Щодо спрямованості дії, то МАТ найчастіше є специфічними до: 1) поврхневих глікопротеїнових рецепторів, тобто CD – маркерів різних імунокомпетентних клітин; 2) цитокінових рецепторів на клітинах (IL-1, TNF- α тощо); 3) молекул клітинної адгезії. МАТ найчастіше застосовуються в онкології та онкогематології, у терапії автоімунних захворювань, в трансплантології та у лабораторній діагностиці.

Основні сфери застосування моноклональних антитіл: 1) визначення концентрації різних автоантитіл у тестах радіоімунного, імунофлуоресцентного та імуноферментного аналізів; 2) визначення специфічних до антигенів мікроорганізмів антитіл для діагностики інфекційних захворювань; 3) фенотипування (імунокомпетентних клітин, виявлення HLA-антигенів) і т.д.

Крім діагностичної, МАТ застосовують з терапевтичною метою у трансплантології, клініці автоімунних хвороб та онкології.

Для діагностики автоімунних хвороб використання моноклональних антитіл проводиться в тестах радіоімунного, імунофлуоресцентного, імуноферментного аналізів і методу імуноблоту. Принцип цих методів полягає на взаємодії моноклональних антитіл, мічених різноманітними мітками, залежно від методу дослідження, зі специфічними автоантитілами чи автоантигенами, які знаходяться у сироватках обстежуваних пацієнтів. За допомогою цих методів проводять визначення різноманітного спектру автоантитіл як для діагностики системних, так і органоспецифічних аутоімунних хвороб, а саме: ревматоїдного фактора, антинуклеарних антитіл (nRNP, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70), одно- і двохспіральної ДНК, антитіла до фосфоліпідів, а також антитіл до

тиреоглобуліну, інсуліну, клітин Лангерганса, а також автоантигенів – тиреоглобуліну, печінкового специфічного протеїну (LSP) тощо.

Моноклональні антитіла використовують з терапевтичною метою у хворих на автоімунні хвороби. Застосовують наступні види моноклональних антитіл проти:

- В-лімфоцитів (до CD20) – ритуксімаб, атацепт, окталізумаб;
- Т-лімфоцитів (до CD4, CD3, CD25, CD52) – наталізумаб, даклізумаб, алемтузумаб, устакінзумаб;
- рецепторів для інтерлейкінів 12, 23, 17 - устекінумаб-«Стелара», бродалумаб;
- TCR-рецепторів активованих Т-лімфоцитів;
- молекул МНС II класу;
- адгезивних молекул - наталізумаб-«Tysabry»;
- TNF- α - інфліксімаб-«Ремікейд», адалімумаб.

Найчастіше використовуються моноклональні антитіла в комплексній терапії ревматоїдного артрити, анкілозуючого спондилоартрити, псоріатичного артрити, псоріазу, хворобі Крона тощо.

Контрольні питання:

1. Гібридомна технологія як метод отримання моноклональних антитіл.
2. Класифікація моноклональних антитіл за походженням, структурою, скерованістю.
3. Можливості використання моноклональних антитіл з діагностичною метою.
4. Види моноклональних антитіл, які використовуються для лікування автоімунних хвороб.

Тема практичного заняття №11 «Алергічні риніт, кон'юнктивіт, бронхіальна астма, дерматити: сучасна молекулярна імунодіагностика та імунотерапія» - 2 год.

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасний підхід до діагностики та лікування алергічних хвороб.

Професійно-орієнтована мета заняття: навчити аспірантів призначати коректний діагностичний комплекс, правильно інтерпретувати результати обстежень та призначати на основі отриманої інформації лікування хворого з алергопатологією.

Навчальні питання:

1. Поняття про алергію.
2. Основні етапи діагностики алергічних захворювань.

3. Фармакотерапія алергічних захворювань.
4. Методи профілактики алергій.

Короткий зміст теми заняття.

Алергія (грец. *allos* — інший + *ergon* — дія) — змінена (патологічна) реакція імунної системи на дію алергенів, що призводить до різноманітних порушень в організмі — запалення, спазму бронхів, некрозу, шоку та інших змін. Переважна більшість алергічних захворювань (АЗ) проявляються такими основними синдромами: риніт, задишка, шкірні висипи зі свербіжем, анафілаксія.

Етапність діагностики АЗ: 1) збір скарг та поглибленого анамнезу, 2) об'єктивне обстеження хворого; 3) проведення шкірних алергологічних проб; 4) провокаційні тести; 5) функціональне обстеження; 6) лабораторно-інструментальне обстеження; 7) консультування іншими фахівцями.

Перший етап — скарги та анамнез. *Скарги:* з боку носа (нежить, виділення, закладеність, свербіж, втрата нюху); з боку очей (свербіж, різь, слезотеча, набряк, виділення, почервоніння); з боку органів дихання (задишка, спазм, утруднене дихання, напади кашлю, ядухи, дистанційні хрипи, свист, виділення харкотиння); з боку органів слуху (свербіж, закладеність, зниження слуху); з боку шкіри (свербіж, висип, набряки). *Анамнез.* Правильно зібраний анамнез має визначальне діагностичне значення і дуже часто приводить майже до вирішальної постановки не тільки клінічного, але й етіологічного діагнозу АЗ. При збиранні анамнезу ставляться наступні завдання: 1) встановлення алергічної природи захворювання, нозологічної форми; 2) орієнтовна диференційна діагностика; 3) встановлення переважного типу алергічних реакцій, виявлення ймовірного “причинного” алергену (АГ) (окреслення кола АГ, з якими потрібно проводити шкірне чи лабораторне тестування); 4) виявлення неалергічної патології чи факторів, які можуть викликати схожі реакції; 5) визначення факторів, що сприяють розвитку АЗ: спадкової схильності; тригерних факторів (вплив шкідливих факторів довкілля, професійних агентів; кліматичних, фізичних, інфекційних факторів, ятрогенних впливів); 6) виявлення інших алергічних і неалергічних захворювань; 7) оцінка клінічного ефекту від застосування протиалергічних заходів і засобів; 8) наявність інших проявів алергії; двобічність та багатоорганність алергічних проявів; оцінка ефективності попереднього лікування; епізодичність проявів.

Об'єктивне обстеження хворого – огляд пацієнта, фізикальне, пальпаторне та інше об'єктивне обстеження, що може підтвердити чи відхилити діагноз АЗ. Так, у хворих на сезонний чи цілорічний *алергічний риніт* шкіра крил носа, верхньої губи має подразнення, розчухи. При риноскопії нижні носові раковини мають голубуватий чи сірий колір з ділянками гіперемії, набряклі, майже закривають носову перегородку, іноді є поліпи, на задній стінці глотки – слиз. При отоскопії нерідко є ознаки отиту. Виявляється гіперемія та набряк кон'юнктиви очей, можливий і периорбітальний набряк. Важливе значення має

виявлення характерних елементів atopічного дерматиту, кропив'янки, контактного дерматиту тощо.

Шкірне тестування з алергенами: 1) прік-тести; 2) підшкірні тести; 3) провокаційні тести з алергеном, який вводиться безпосередньо в шоківий орган,

Функціональні тести: 1) дослідження функції зовнішнього дихання (скринінгова – за допомогою пікфлуориметрів, поглиблена – за допомогою спірограми); 2) дослідження функції носового дихання (ринопневмометрія), „звукова” ринопневмометрія для реєстрації провокаційних назальних проб з алергеном; 3) ендоскопічне дослідження порожнини носа; 4) рентгенографія та томографія порожнини носа; 5) ультразвукове дослідження; 6) визначення порогу нюху в хворого, ефективності мукоциліарного транспорту.

Лабораторні дослідження: а) *неспецифічні* - дослідження крові, сечі, носового секрету, харкотиння, рентгенограми грудної клітини, навколо носових пазух, аналізи калу на яйця гельмінтів, дисбіоз тощо; б) *специфічні* – виявлення загального і специфічного IgE різними методами (імуноферментним, радіоалергосорбентним тощо).

Найсучаснішим методом визначення імуноглобулінів класу IgE, специфічних до різних алергенів, є метод ImmunoCAP. Його основними перевагами є:

- економність часу та біологічного матеріалу: автоматизований режим роботи, потреба малої кількості сироватки чи плазми, можливість одночасного виконання чотирьох визначень;

- точність: метод ImmunoCAP відноситься до методів молекулярної діагностики, які розроблені на основі мікроматриць і дають можливість визначати специфічні IgE-антитіла як проти множинних рекомбінантних алергенів, так і проти їх натуральних компонентів.

Визначення специфічних IgE-антитіл є необхідне для прийняття рішення щодо застосування пацієнтові специфічної імунотерапії алергенами (АСІТ). Шлях від діагностики до лікування складається із чотирьох етапів.

1. Первинний скринінг – шкірні проби для скринінгу алергічної хвороби

2. Остаточний діагноз – якщо шкірні алергопроби дали позитивний результат, проводимо кількісне визначення рівня специфічного IgE до відповідного алергену.

Найбільш розповсюджені алергени:

ПИЛОК ДЕРЕВ		ПИЛОК БУР'ЯНІВ	
Береза бородавчата	t3	Кульбаба	w8
Тополя	t14	Мар	w10
Вільха сіра	t2	Соняшник	w204
Ліщина	t4	Лобода чечевицевидна	w15
Граб звичайний	t209	Полин	w6
		Амброзія висока	w1
ПИЛОК ТРАВ		ЕПІДЕРМАЛЬНІ БІЛКИ	
Тимоїївка лугова	g6	Хвилястий папуга, пір'я	e78
Горицвіт	g11	Кішка, лупа	e1

Рута	g3	Кролик, епітелій	e82
Овес посівний	g14	Собака, лупа	e5
Жито посівне	g12	КЛІЩІ ДОМАШНЬОЇ ПИЛЮКИ	
Райграс високий	g204	Dermatophagoides pteronyssinus	d1
Овсянка лугова	g4	Dermatophagoides farinae	d2
Лисохвіст луговий	g16	ОТРУТИ КОМАХ	
Мятлик луговий	g8	Бджола медоносна	i1
		Оса звичайна	i3
		Оса «паперова»	i77

3. Відбір пацієнтів для специфічної імунотерапії алергенами. Потрібно виділити основні (мажорні) та мінорні алерген-компоненти

4. Діагностика реактивності до компонентів

Приклад:

Алгоритм прогнозу ефективності АСІТ екстрактом пилку різних бур'янів (лобода, соняшник, кульбаба, кропива, подорожник та ін.) Після визначення компонентів алергенів необхідно виключити мінорні алерген-компоненти, відповідальні за перехресні реакції: алерген g214 (g210, g212) – rPhl p 7 (Са-зв'язуючі протеїни), rPhl p 12 (профіліни)

Прогноз ефективності АСІТ	rPhl p 7, 12 “-“ (мінус)	rPhl p 7, 12 “+” (плюс)
	висока	середня/низька

Консультація іншими фахівцями. Огляд оториноларинголога - виявлення типового характеру слизових оболочок, виключення інших причин хронічного риніту, взяття мазків-відбитків є важливим для діагностики алергічного риніту. З цих же причин є важливою консультація дерматолога для виключення неалергічного характеру дерматиту тощо.

Основні принципи лікування АЗ: елімінаційні заходи; освіта та навчання хворих, алергоспецифічна імунотерапія (АСІТ); фармакотерапія: протизапальні засоби (глюкокортикостероїди, кромони), антимедіаторні засоби (антигістамінні, антилейкотрієнові), симптоматичні засоби (деконгестанти, бронхолітики, відхаркуючі), біологічна терапія (моноклональні антитіла), бронхіальна термопластика.

Серед засобів, що діють на алергічне запалення, найбільшу ефективність мають *глюкокортикостероїдні препарати* (ГКС), в першу чергу - інгаляційні ГКС, меншою мірою - кромони. Механізм дії ГКС щодо попередження чи пригнічення алергічного запалення є комплексним. На сучасному етапі при лікуванні АЗ використовуються препарати ГКС як місцевої дії, так і системної дії. Доведено, що ГКС зменшують кількість тучних клітин і активних речовин

алергії, в т.ч. гістаміну, еозинофілів, Т-лімфоцитів і клітин Лангерганса, зменшують чутливість слизових до гістаміну і інших подразників. Використовуються як системні, так і місцеві.

Антимедіаторні засоби – антилейкотрієнові препарати (зафірлукаст, монтелукаст), які нейтралізують дію лейкотрієнів ЛТС₄ і ЛТД₃, що викликають виражений бронхоспазм.

Симптоматичні засоби - бронхолітики – агоністи β 2-адреноцетпторів, які діють на гладеньку мускулатуру бронхів, через застосування небулайзерів; антихолінергічні препарати (іпратропіум і тіотропіум бромід) – блокують мускаринові рецептори залоз слизової носа; препарати теофіліну – бронхолітики, можуть негативно впливати на серцеву діяльність; комбіновані бронходилататори – (β 2-агоністи+ іпратропіум бромід), застосування яких є перспективним; деконгестанти – (α 1- і α 2- адреноміметики, речовини, що сприяють виділенню норадреналіну та препарати, припиняють утилізацію норадреналіну), активують адренергічні рецептори, викликають вазоконстрикцію, відновлюють носове дихання.

Алергоспецифічна імунотерапія (АСІТ). Суть АСІТ - введення в організм хворого причинного алергену в дозах, які постійно збільшуються. Мета лікування АСІТ - зниження чутливості хворого до природної експозиції причинного алергену (специфічна гіпосенсибілізація), що сприяє розвитку тривалої ремісії, зменшенню розвитку важких форм, прогресування АЗ, зменшення потреби в фармакотерапії. Введення причинного алергену сприяє утворенню блокуючих антитіл класу IgG4 і активації Т-х1 типу, які є антагоністами Т-х 2 типу, що призводить до зниження синтезу IgE, ІЛ-4, інших медіаторів алергії, збільшення продукції ІЛ-12.

Алерговакцини (терапевтичні вакцини для АЗ) - це очищені водно-сольові екстракти алергенів або виділені з них окремі компоненти алергенів. Вік хворого повинен бути в межах від 5 до 50 років. Кількість причинних алергенів бажано, щоб не перевищувала 3-4. Покази для проведення АСІТ: можливість визначення причинного алергену; підтверджений IgE-залежний механізм алергії (поліноз, atopічний дерматит бронхіальна астма, алергічний риніт, інсектна алергія), вік 5-60 років; неможливість припинення контакту хворого з причинним алергеном. При медикаментозній алергії АСІТ призначається вкрай рідко, у тих випадках, коли препарат життєво необхідний хворому (наприклад, інсулін при цукровому діабеті). Залежно від тривалості курсів розрізняють *цілорічну і передсезонну АСІТ*. Шляхи проведення АСІТ: інвазивний (підшкірний, внутрішньошкірний, аплікаційний, метод шкірних квадратів), неінвазивний (оральний, сублінгвальний, інтраназальний, кон'юнктивальний, інгаляційний). Класичний метод полягає в підшкірному введенні поза періодом загострення АЗ. АСІТ можна сполучити з базисною і симптоматичною терапією АЗ (місцеві антигістамінні препарати, кромони, інгаляційні глюкокортикостероїди, β 2-агоністи, холінолітики, метилксантини). Вона має проводитися під наглядом лікаря-алерголога. *Ускладнення АСІТ*: місцеві (поява на місці введення папул, набряку, гіперемії, свербіжу тощо), загальні (кашель, чихання, біль голови,

кропив'янка, анафілактичний шок, набряк, загострення основної алергопатології - розвиваються через 10-40 хвилин після введення).

Біологічна терапія. 1) *омалізумаб* — синтетичний препарат, який є генно-інженерним рекомбінантним гуманізованим моноклональним антитілом до IgE, застосовують при тяжкій, неконтрольованій алергічній астмі; 2) *моноклональні антитіла до IL-5 (реслізумаб або меполізумаб, бенралізумаб)* — при тяжкій неконтрольованій астмі з еозинофілією; *моноклональні антитіла до IL-13.*

Контрольні питання:

1. Особливості збору анамнезу у хворого з алергічним захворюванням.
2. На що необхідно звернути увагу при об'єктивному обстеженні хворого з алергопатологією.
3. Які лабораторні та інструментальні методи обстеження використовуються у хворих на алергію.
4. Які етапи включає у себе лікування хворого на алергію.
5. Які основні групи препаратів для лікування алергічних захворювань.

Тема практичного заняття №12 «Сучасні підходи до діагностики та ведення пацієнтів з гострими алергічними станами» - 2 год.

Навчальна мета заняття: сформувати в аспірантів сучасні знання щодо причин формування, імунопатогенезу, клініки, принципів невідкладної допомоги гострих станів в алергології.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів застосовувати свої знання щодо основних критеріїв клінічної, лабораторної, в т.ч. імунологічної діагностики та невідкладної допомоги в хворих з гострими станами алергологічного генезу.

Навчальні питання:

1. Причини розвитку, імунопатогенез, клініка, діагностика та принципи лікування анафілактичного шоку.
2. Причини розвитку, імунопатогенез, клініка, діагностика та принципи лікування багатоморфної ексудативної еритеми.
3. Причини розвитку, імунопатогенез, клініка, діагностика та принципи лікування гострої кропив'янки.
4. Причини розвитку, імунопатогенез, клініка, діагностика та принципи лікування набряку Квінке
5. Причини розвитку, імунопатогенез, клініка, діагностика та принципи лікування астматичного статусу.

Короткий зміст теми заняття:

До гострих станів в алергології належать: анафілактичний шок, багатобформна ексудативна еритема, набряк Квінке, гостра кропив'янка, астматичний статус.

Анафілактичний шок (анафілаксія) (АШ) – гостра генералізована алергічна реакція негайного типу, яка виникає на повторне введення в організм алергену і супроводжується виділенням медіаторів, що викликають загрозливий для життя порушення діяльності життєво важливих органів і систем (серцево-судинної, дихальної, центральної нервової). У Росії, Україні причиною розвитку АШ в 50% випадків стають медикаменти. АШ може розвиватися на білки крові при переливанні компонентів і препаратів крові, на медикаменти, на пилок рослин, продукти харчування, на укуси перетинчатокрилих комах, на латекс; в процесі проведення шкірних проб з алергенами та при проведенні специфічної алерговакцинації під час лікування IgE-залежної алергопатології. Існують наступні фактори ризику розвитку АШ: ендогенні – спадкова схильність (атопія), хронічні вогнища інфекції (бактерії, гриби, віруси), гельмінтози; періоди гормональної перебудови організму (пубертатний, передменструальний, післяпологовий тощо); ендокринопатії; гіпереозинофільний синдром, еозінофілія; екзогенні – біологічні, структурні, хімічні особливості медикаментів, які сприяють утворенню стабільного зв'язку з білком та іншими макромолекулами *in vivo* з наступним їх перетворенням в імуноген; парентеральний метод введення препарату; поліпрагмазія; часті повторні введенні препаратів особам з алергопатологією; професійна сенсibiliзація алергенами; позитивні шкірні проби чи виявлення специфічних IgE-антитіл до різних алергенів на тлі відсутньої клінічної картини.

Анафілаксія відноситься до першого типу ушкоджуючих реакцій, в основі якої лежить реактивний механізм ушкодження тканин за участю антитіл класу IgE, рідше класу IgG (IgG4) на поверхні тучних клітин і базофілів. У кров вивільняється низка біологічно активних речовин: гістамін, серотонін, брадикінін, гепарин, повільнореагуюча субстанція анафілаксії, лейкотрієни тощо, які сприяють порушенню проникливості мембран клітин, інтерстиціальному набряку, спазму гладеньких м'язів, гіперсекреції та порушенню функції внутрішніх органів і систем організму, що й обумовлює клінічну картину анафілактичної реакції. Типовими клінічними прикладами алергічної реакції першого типу є анафілактичний шок, бронхіальна астма, кропив'янка, алергічний риніт. Виділяють два варіанти можливої анафілаксії: активну і пасивну. Анафілактичні реакції розвиваються відповідно до наступних стадій: *I стадія*: імунопатологічна; *II стадія*: патохімічна; *III стадія*:

патофізіологічна. Класифікація АШ: 1) *за типом алергічної реакції*: алергічний (IgE-залежний, IgE-незалежний), неалергічний; 2) *залежно від причинного фактора*: медикаментозний; інсектний; харчовий; хімічний; в результаті проведення внутрішньошкірних і провокаційних проб під час діагностики алергії; під час проведення алерговакцинації; 3) *залежно від провідного клінічного синдрому*: гемодинамічний; асфіксійний; церебральний; абдомінальний. АШ необхідно диференціювати з: гіповолемією (кровотеча, зневоднення, втрата білка з гіпопротеїнемією); серцевою недостатністю (інфаркт міокарда, серцева аритмія); бактеріємією (септичний бактеріальний інфекційно-токсичний шок); підвищеною чутливістю на певні чинники (анафілаксія, реакція на медикаменти); неврогенними порушеннями (вазомоторний параліч, спинальний шок, гангліонарна блокада, крововилив у мозок); перешкодою кровоплину (легенева емболія, аневризма з розшаруванням); недостатністю гормонів кіркового і мозкового шарів надниркових залоз; кишковою непрохідністю, перфорацією виразки шлунка і дванадцятипалої кишки; астматичним статусом; колаптоїдними станами внаслідок приймання гангліоблокаторів або інших препаратів з гіпотензивним ефектом; феохромацитомою; карциноїдним синдромом; мастоцитозом. Діагностика і диференційна діагностика АШ проводиться з іншими видами шоку і базується, в першу чергу, на клінічній картині. В гострий період диференційну діагностику можна провести на основі визначення у крові хворого рівня гістаміну, триптази, ІЛ-5, титру специфічних IgE- і IgG-антитіл до ймовірних причинних алергенів. Більш ретельне дослідження необхідно проводити після гострого періоду. Принципи лікування: *Консервативне*: зупинити введення можливого медикаменту-алергену; накласти джгут вище введення медикаменту або обколоти місце введення препарату (ужалення) 0,1% р-ном адреналіну, контроль і забезпечення прохідності верхніх дихальних шляхів, введення пресорних амінів, ГКС, еуфіліна, антигістамінних речовин, при необхідності штучна вентиляція легень, закритий масаж серця, інфузійна та симптоматична терапія.

Багатоформна ексудативна еритема – запальне захворювання шкіри та слизових оболонок з гострим початком, частими рецидивами та поліморфізмом патологічних елементів ураження (плями, папули, геморагії, міхурці, міхурі, що виникають одночасно). Рецидивуючий характер захворювання (весняно-осінній період) спостерігається приблизно в 30% осіб. До основних клінічних форм БЕЕ відносяться синдром Стівенса-Джонсона та токсичний епідермальний некроз (синдром Лайєла).

Синдром Стівенса-Джонсона - тяжкий варіант БЕЕ, початкові симптоми якого відповідають ГРЗ з раптовою гарячкою, артралгіями, болем голови,

ознобом. Ураження шкіри виникає через 4–6 днів від початку гарячкового періоду. Переважно уражаються слизові оболонки природних вихідних отворів (діагностична тріада – ураження слизових оболонок порожнини рота, кон'юнктиви і статевих органів), шкіра кінцівок, особливо тильна поверхня кистей і стоп. Характерний поліморфізм висипань, аналогічно як при БББ. Міхурі розміщені групами, різної величини (від дрібних до великих), симптом Нікольського негативний. Коефіцієнт ураження шкіри не перевищує 30–40%. Гістологічно: спонгіоз, внутрішньоклітинний набряк. Міхурі утворюються під епітелієм з наступним його некрозом; у сполучній тканині спостерігається набряк і запальний інфільтрат навколо судин.

Токсичний епідермальний некроз (синдром Лайєла) – найтяжча форма БББ. В його основі лежить – гіперчутливість сповільненого типу на сульфаніламід, антибіотики (пенициліни, макроліди), нестероїдні протизапальні препарати, барбітурати, вакцини, сироватки, рентгенотерапію. У хворих з синдромом Лайєла в анамнезі часті алергічні й інфекційно-алергічні хвороби (екзема, бронхіальна астма, ревматизм), а також алергічні реакції на медикаменти. Розвивається гостро через кілька годин або днів від початку лікування. Раптово підвищується температура тіла до 38–41°C, різко погіршується стан хворого, виражена болючість шкіри. Надалі з'являється висипання: багатоформна ексудативна еритема, міхурі. Ураження шкіри поліморфні і складають 80–90%. На всіх видимих слизових з'являються еритематозні, бульозні висипання. Надалі настає відшарування епідермісу з утворенням обширних кровоточивих ерозій (на шкірі кистей рук і стопах у вигляді рукавичок і шкарпеток). Наростає ексикоз та інтоксикація: слабкість, сонливість, розлади серцево-судинної діяльності, порушення функції нирок, печінки. Важкість стану прогресує за рахунок відшарування слизової верхніх дихальних шляхів, травного каналу, сечовидільних шляхів. Швидко приєднується бактеріальні ускладнення. Симптом Нікольського різко позитивний. *Диференційна діагностика* проводиться з міхурчаткою, кандидозом, гострим червоним вовчком, хворобою Дюринга. *Діагностика БББ*: визначення рівня вільних антитіл, антитіл, зв'язаних з лейкоцитами і тромбоцитами, Т-ліфоцитів, сенсibiliзованих до алергена. *Лікування БББ*: відміна усіх медикаментів; загальне (великі дози ГКС - преднізолон до 300 мг д.д., гідрокортизон, детоксикаційні, плазмаферез, гемосорбція, гіпербарична оксигенація; десенсибілізуючі, протизапальні препарати тощо) і місцеве (знеболюючі, антисептики, протеолітичні ферменти з антибіотиками у вигляді аплікацій, мазі, гелю, топічні ГКС тощо). У період ремісії – санація хронічних вогнищ інфекції, неспецифічна гіпосенсибілізація.

Гостра кропив'янка (ГК) характеризується наявністю сверблячих міхурів, чітко відмежованих, що підносяться над поверхнею почервонілої шкіри, розміром від кількох міліметрів до декількох сантиметрів. Причина ГК ліки, харчові продукти, інфекції або укуси перетинчастокрилих комах. Особливістю кропив'янки є швидкий розвиток і настільки ж швидке зникнення (від декількох хвилин до декількох годин) після призначення адекватної терапії. Характерно: раптова поява на будь-якій ділянці шкіри численних міхурів, сильно сверблячих, яскраво-рожевого кольору щільної консистенції, величиною до долоні і більше. Висипання триває 1-2 години, потім міхурі безслідно зникають, але можуть з'явитися нові. Зазвичай напад триває декілька годин-днів (гостра кропив'янка), але іноді триває місяці і навіть роки (хронічна кропив'янка). Процес може супроводжуватися нездужанням, болем голови, лихоманкою. У клінічній практиці найчастіше використовується класифікація за етіологічним генезом: лікарська, харчова, механічна, холодова, теплова, токсична, світлова тощо. *Лікування кропив'янки*: усунення причинного фактору, елімінаційна дієти, антигістамінні препарати, ГКС (в тяжких випадках).

Набряк Квінке (син.: ангіоневротичний набряк, гігантська кропив'янка) - гострий, раптовий, обмежений набряк шкіри та підшкірної клітковини і (або) слизових оболонок. Частіше спостерігається у жінок; рідше - у дітей та осіб похилого віку. Алергічний набряк Квінке часто поєднується з кропив'янкою. У хворих нерідко відзначаються інші захворювання алергічної природи: бронхіальна астма, поліноз та ін. Найчастіше спостерігається набряк тканин обличчя, тильних поверхонь кистей і стоп. В області набряку шкіра звичайно бліда або блідо-рожева, свербіж в більшості випадків відсутній. Місцеві зміни зберігаються кілька годин або днів, а потім безслідно зникають. Найбільш небезпечним є набряк гортані. У хворого раптово з'являються кашель, осиплість голосу, неспокій, блідість або синюшність шкіри, утруднене дихання, іноді кровохаркання. При огляді порожнини рота виявляється набряк м'якого піднебіння, язичка і піднебінних мигдалин; при ларингоскопії - набряк надгортанника і слизової оболонки гортані. Подібний стан триває від 3 - 5 до 20 - 30 хв і поступово проходить, більш тривало зберігається осиплість голосу. Можливо наростання набряку та його поширення на слизову оболонку трахеї з погіршенням стану пацієнта і небезпекою летального результату від асфіксії. Набряк слизової оболонки шлунково-кишкового каналу клінічно нагадує картину гострого живота - різкий біль у животі, блювота, діарея. Зміни шкіри і видимих слизових оболонок у подібних випадках можуть бути відсутніми, що ускладнює своєчасну діагностику. *Лікування* скероване на ліквідацію алергічної реакції, зменшення набряку, зниження чутливості організму до гістаміну. Невідкладного лікування вимагає набряк гортані, при якому необхідно негайно ввести підшкірно 0,1% розчин адреналіну у дозі (0,3-0,5-0,8 мл); внутрішньовенно або внутрішньом'язово антигістамінні препарати (дімедрол, супрастин, тавегіл тощо), гідрокортизон гемісукцинат (125 мг) або преднізолон

гемісукцинат (60-90 мг). Хворий з набряком гортані потребує термінової госпіталізації у відділення інтенсивної терапії або реанімації. Йому необхідно забезпечити вдихання зволоженого кисню, введення діуретиків: фуросеміду (внутрішньовенно або внутрішньом'язово 1% розчин по 1-2мл), 15% розчину маніту (внутрішньовенно струменево повільно або крапельно із розрахунку 1-1,5 г/кг маси тіла), 30% розчину сечовини (внутрішньовенно крапельно з розрахунку 0,5-1,5 г/кг маси тіла) та ін. У разі подальшого погіршення стану потрібна термінова трахеостомія. Прогноз, як правило, сприятливий.

Астматичний статус (Status asthmaticus) - важке загрозливе для життя ускладнення бронхіальної астми (БА), що виникає, зазвичай, у результаті тривалого нападу, резистентного до лікування. Характеризується набряком бронхіол, накопиченням у них густого харкотиння, що призводить до наростання задухи і гіпоксії. Розвиток астматичного статусу вимагає екстреної інтенсивної терапії, летальність становить близько 5%. Класифікація: згідно патогенезу (повільно розвивається - метаболічний; негайно розвивається - анафілактичний; анафілактоїдний; за стадіями (I стадія - відносної компенсації; II стадія - декомпенсації , «німа легеня»; III стадія - гіпоксично-гіперкапнічна кома. Причинами Status asthmaticus: загострення хронічних або розвиток гострих бактеріальних і вірусних запальних захворювань бронхолегеневої системи; гіпосенсибілізуюча терапія, проведена в фазу загострення БА; надмірне вживання седативних і снодійних засобів; синдром відміни при лікуванні ГКС; алергічна реакція з бронхообструкцією на лікарські речовини: саліцилати, анальгін, антибіотики, вакцини, сироватки; надмірне приймання симпатоміметиків (впливають на β 2-адренорецептори, що сприяють обструкції бронхів). Анафілактична форма (негайна) - розвивається по типу анафілактичної реакції негайного типу при контакті з алергеном. Характеризується майже миттєвим розвитком бронхоспазму та асфіксії. Анафілактоїдна форма - не є типовою алергічною реакцією за участю комплексу антиген-антитіло. Розвивається рефлексорно внаслідок подразнення рецепторів дихальних шляхів механічними, хімічними, фізичними факторами (холодне повітря, різкі запахи) внаслідок гіперреактивності бронхів. Клініка: поверхневе дихання; порушення газообміну (гіпоксія, гіперкапнія) і кислотно-лужної рівноваги крові, зменшення об'єму та підвищення в'язкості крові, гіпокаліємія, гостра легенева гіпертензія, підвищення артеріального тиску, різка тахікардія з аритміями, парадоксальний пульс зі зниженням пульсової хвилі на вдиху. Хворий приймає вимушене положення з фіксацією плечового пояса; свідомість не порушена, сильний страх, збудження; уста синюшні; частота дихання 26-40 в хв., видих утруднений, мокрота не відходить. Аускультативно безліч сухих хрипів. Надалі хворий стає неадекватним, знесиленим; цианоз шкіри і видимих слизових, набухають шийні

вени. Частота дихання стає більше 40 в хв., хрипи чути на відстані. При вислуховуванні легень виявляються ділянки "німої легені". Надалі хворий у вкрай важкому стані, без свідомості, можливі судоми. Загальний цианоз, зіниці розширені, слабо реагують на світло, частота дихання більше 60 в./хв., при аускультатії - картина "німої легені" (дихальні шуми не прослуховуються). Лікування анафілактичної і анафілактоїдній форми астматичного статусу ведуться за однаковою схемою. Введення в/в 0,1% розчину адреналіну, преднізолону, атропіну сульфату, еуфіліну; антигістамінні засоби (супрастин, тавегіл) в/в струйно; фторотановий наркоз по відкритому контуру. При відсутності ефекту переведення на ШВЛ; прямий масаж легень при тотальному бронхоспазмі з неможливістю видиху і "зупинкою легень" на вдиху. Ознаки ефективності терапії: вихід зі статусу відбувається повільно, найбільш ранніми ознаками можуть служити зниження ЧСС, гіперкапнії, зникнення страху і збудження, сонливість. До основної ознаки ефективності терапії належить - поява продуктивного кашлю спочатку з в'язким харкотинням, а згодом з великою кількістю рідкого харкотиння; при аускультатії - вологі хрипи. Ознаки прогресування астматичного статусу: збільшення площі німих зон над легеньми; збільшення ЧСС; здуття грудної клітки (перерозтягнення легень); наростаючий цианоз і загальмованість хворого.

Контрольні питання:

1. Невідкладні заходи надання допомоги при анафілактичному шоку на догоспітальному та госпітальному етапах.
2. Причини розвитку та клінічні ознаки синдром Стівенса-Джонсона та токсичного епідермального некрозу (синдром Лайєла), їх диференційна діагностика.
3. Основні принципи лікування багатоморфної ексудативної еритеми залежно від тяжкості перебігу.
4. Причини розвитку, клінічні ознаки та основні принципи лікування ангіоневротичного набряку Квінке.
5. Клінічні ознаки та основні принципи лікування гострої кропив'янки залежно від етіологічного фактору.
6. Причини розвитку, клініка, основні принципи лікування Status asthmaticus алергічної та анафілактоїдній форми.
7. Засоби профілактики гострих алергічних станів в імунологічно компрометованих осіб.

Тема практичного заняття №13 «Сучасна класифікація імуноотропних препаратів, їх ефективність та безпека» - 2 год.

Навчальна мета заняття: сформувати у аспірантів сучасні знання про імунотропні препарати.

Професійно орієнтована мета заняття: навчити аспірантів сучасним принципам застосування імунотропних препаратів

Навчальні питання:

1. Визначення та класифікація імунотропних препаратів.
2. Замісна терапія довенними та підшкірними імуноглобулінами.
3. Імуносупресанти, їхня роль у лікуванні автоімунних хвороб
4. Біологічні препарати, будова, механізми дії.
5. Різновидності специфічної імунотерапії

Короткий зміст теми заняття:

Імунотерапевтичні препарати - це лікарські засоби, які мають наступні механізми впливу на імунну систему пацієнта. Це імуностимуляція, імуносупресія, імуномодуляція.

Імуностимулююча терапія - спосіб активації імунної системи через активацію окремого клону імунокомпетентних клітин або через загальне посилення активності імунної системи. Застосовують при лікуванні первинних і вторинних імунодефіцитів, які супроводжуються рецидивуючими інфекціями різного генезу з ураженням органів дихання, уrogenітального каналу, шкіри, ЛОР-органів, ШКК тощо в комплексній терапії хворих на онкопатологію.

Імуносупресія - вплив на імунну систему, скерований на пригнічення чи видалення антитіл і/або лімфоцитів, які специфічно реагують з ало- і аутоантигенами. Застосовується для лікування автоімунних, лімфопроліферативних хвороб, при трансплантації. **Імуномодуляція** - система заходів, скерованих на нормалізацію функції імунної системи, нівелювання її дисбалансу. Імуномодулюючим називають ефект високих доз імуноглобулінів, що використовують для лікування хвороби Кавасакі, при синдромі Гійєна-Барє, автоімунній тромбоцитопенії тощо.

Імунотропна терапія (**ІТТ**) *призначається* при наявності клінічних симптомів імунопатології і лабораторних імунологічних змін (функціональних і кількісних). **ІТТ не призначається:** 1) при наявності змін імунограми на тлі відсутності клінічних ознак імунопатології; 2) при яскраво виражених клінічних симптомах без зміни імунограми. **ІТТ можна призначати** без лабораторних досліджень з профілактичною метою після ретельного аналізу анамнезу (перед епідемією, проведенням хірургічного втручання, ВІЛ-інфікованим, онкологічним хворим).

Класифікація імунотропних препаратів за скерованістю впливу:

I. Імуносупресори (глюкокортикоїди, азатіоприн, циклоспорин А, програф, мофетилу мікофенолат, рапаміцин, мізорбін, бреквінар, тимоглобін, лімфоглобін).

II Імуностимулятори.

1. Продукти мікробного походження (живі бактерії; екстракти; лізати; ліпополісахариди; дріжджові полісахариди; грибкові полісахариди; рибосоми + протеоглікан; пробіотики).
2. Синтетичні препарати (тимохен, лікопід, диуцефон, кемантан, леакідін, поліоксидоній, гропринозин, ізопринозин, копаксон, кагоцел).
3. Рослинні препарати: протекфлазид.
4. Вітаміни і антиоксидантні комплекси

Імуностимулюючі препарати протипоказані до застосування при автоімунних, злякисних та алергічних хворобах.

Сучасна класифікація імунотропних засобів за походженням: 1) *препарати біологічного походження:* адаптогени; препарати рослинного, біологічного походження: препарати тимусу, кісткового мозку, селезінки, імуноглобуліни, лейкоцитарний інтерферон; 2) *продукти генної інженерії:* рекомбінантні інтерферони; рекомбінантні інтерлейкіни, колоніестимулювальні фактори і фактор некрозу пухлин; моноклональні антитіла; рекомбінантні вакцини; 3) *препарати мікробного походження:* вакцини з живих ослаблених або вбитих бактерій чи вірусів; продукти бактерійного або грибового походження (лізати - бронховаксом, екстракти - біостим, рибомуніл, бронхомунал, імудон; дріжджові полісахариди - зимозан, нуклеїнат натрію; грибкові полісахариди; 4) *синтетичні препарати:* протипухлинні засоби (цитостатики, антиметаболіти); 5) глюकोкортикоїди; нестероїдні протизапальні препарати, простагландини; гепарини; 6) нуклеїнові кислоти та їх похідні (тилорон, ізопринозин); вітаміни; сорбенти (еферентна терапія).

Широко вживаними на сьогоднішній день є внутрішньовенні імуноглобуліни (ВВІГ). Основною біологічною функцією імуноглобулінів є специфічне розпізнавання антигену та його елімінація з організму; опсонізація з запуском і посиленням фагоцитозу; комплементзалежний лізис комплексу антиген-антитіло. Окрім того, застосування ВВІГ супроводжується імунорегулюючим впливом нормальних антитіл на Т - і В-лімфоцити й макрофаги, зниженням інтенсивності ушкодження мембран клітин фрагментами системи комплементу. При імунних цитопеніях у результаті комплексної імунорегулюючої дії, ВВІГ не тільки запобігають патологічному руйнуванню клітин крові, а й сприяє нормалізації клітинного складу крові. **Замісна**

імуноterapia препаратами **ВВІГ** (імуноглобулін нормальний людський, інтраглобін, октагам, пентаглобін, сандоглобулін, біовен) показана при первинних і вторинних імунодефіцитах, сепсис; політравма; профілактично після важких операцій, аутоімунних хворобах тощо. Широко застосовують також препарати імуноглобулінів для підшкірного введення, в першу чергу при вроджених імунодефіцитах антитілоутворення. До групи ВВІГ входять: Інтраглобін (містить IgG), Пентаглобін — містить IgM, IgG, IgA), Октагам — містить IgG — 95%; значно менше IgM, IgA, Біовен (Україна) - містить: IgG1: 43–75 % IgG2: 16–48 % IgG3: 17–7 5 % IgG4: 0,8–11,7%, граничний вміст IgA. Дози ВВІГ залежать від виду та тяжкості інфекційного процесу коливається від 200-500 мг/кг до 1,0 г/кг. Для регулярної замісної терапії при первинних імунодефіцитах використовують 0,4 - 1 г/кг кожні 3-4 тижні.

Моноклональні антитіла (МАТ) відносяться до одних з найсучасніших імунотропних препаратів. Їх отримують за допомогою гібридомної технології, основний механізм їх дії – «мішеневий». Стандартна номенклатура МАТ вказує на їх походження за кінцевими літерами МАТ: «-омаб» (мишачий); «-ксимаб» (химерний); «-зумаб» (гуманізований); «-умаб» (повністю людський). Середня частина назви стосується хвороби, для якої призначені МАТ: «-лім» - для лікування імунних та запальних захворювань; «-ці» - для серцево-судинних захворювань; «-ту» - для лікування пухлин або неопластичних станів. Залежно від механізму впливу МАТ поділяються: на інгібітори цитокінів (Етанерцепт, Інфліксимаб, Адаліумаб, Анакінра), В-клітинні модулятори (Ритуксимаб), Т-клітинні модулятори (Абатацепт, Алефацепт), молекули клітинної адгезії (Ефалізумаб, Наталізумаб); інгібітор імуноглобуліну IgE (Омалізумаб).

Розроблені **основні принципи призначення імунотропних засобів:**

- використання обмежується лише випадками імунодефіцитів у хворих, тобто наявністю стійкої імунної недостатності;
- у випадку транзиторних імунодефіцитів чи атипового функціонування імунної системи найчастіше вдаються до засобів імуноадаптації чи імунореабілітації;
- неприпустимо застосовувати імунотропні препарати без клініко-лабораторного підтвердження дисфункції імунної системи, оцінки форми розладів; показами є лише поєднання клінічних та імунологічних критеріїв імунодефіциту;
- як правило, імунотерапевтичні засоби призначають у комплексі з загально прийнятою етіотропною чи патогенетичною терапією, тоді як при імунопрофілактиці, імунореабілітації чи імуноадаптації вони часто застосовуються самостійно;

- застосування комбінованої імунотерапії (одночасно кількох імунотропних препаратів) доцільно тільки при неможливості досягнення бажаного ефекту за допомогою одного медикаменту. При цьому препарати, які призначаються повинні бути представниками різних груп (глюкокортикоїд і цитостатик, ентеросорбент і бактерійні продукти).

Призначення імунотропної терапії може поєднуватись із супроводжуючою терапією, до якої відносяться засоби еферентної терапії. Дуже важливим механізмом впливу є зв'язування і виведення імунних комплексів. Найбільш поширеними серед цього класу засобів є: 1) ентеросорбенти – для посилення елімінаційних функцій організму щодо токсичних речовин та агресивних імунних комплексів тільки природнього походження (мікотон, атоксил тощо); 2) *ензимні препарати з метою корекції основних патологічних механізмів розвитку низки хвороб*; 2) *пробіотики, пребіотики/симбіотики*; 3) *гепатопротектори* – для профілактики токсичного впливу етіопатогенетичної терапії на функцію печінки.

Специфічна імунотерапія поділяється на активну, пасивну, адаптивну. *Специфічна активна* стимулююча імунотерапія пов'язана з імунопрофілактикою інфекційних захворювань. Для неї застосовують вакцини, анатоксини, антигени. Специфічна імунотерапія заснована на індукції толерантності до антигену, десенсибілізації або гіпосенсибілізації. Цей варіант найчастіше використовується при полінозах; IgE-залежних алергічних хворобах. Суть його полягає у введенні в організм хворого зростаючих доз причинного алергену, починаючи з мінімальної кількості, що не викликає алергічної реакції. При застосуванні *специфічної адаптивної імунотерапії* імунокомпетентні клітини отримують готову антигенспецифічну інформацію — фактор перенесення (ФП) та імунну і-РНК. ФП — екстракт лейкоцитів сенсібілізованого донора, здатний переносити гіперчутливість сповільненого типу несенсибілізованим реципієнтам. *Специфічна пасивна замісна імунотерапія* – це введення готових специфічних захисних факторів імунної системи: специфічних антитіл у вигляді імунних сироваток або препаратів специфічних імуноглобулінів. Особливо ефективна при інфекційних захворюваннях (правець, газова гангрена, дифтерія, ботулізм та ін.), при укусах змій, гнійно-септичних інфекціях, вірусних інфекціях, аутоімунних хворобах тощо. *Специфічна пасивна імунотерапія* відрізняється від замісної тим, що імунні чинники (антитіла) вводяться в організм з метою пригнічення імунологічних реакцій. Приклад: профілактика резус-конфлікту при вагітності, що полягає в уведенні Rh(-)-жінкам у перші 48–72 години після народження Rh(+)-дитини антирезусних антитіл, що пригнічують синтез антитіл у матері.

Іншим прикладом може бути введення ритуксимабу (антитіл до CD19⁺) хворим на В-клітинні лімфоми чи стійкі до інших видів терапії автоімунні цитопенії.

Контрольні питання:

1. Сучасна класифікація імуностимулюючих препаратів
2. Покази та протипокази до застосування імуотропної терапії
3. Імунобіологічні препарати, покази до їх застосування.
4. Основні принципи призначення імуотропних засобів.
5. Специфічна імунотерапія, покази до її застосування.

Тема практичного заняття №14. Застосування сучасних вакцин в клінічній практиці – 2 год.

Навчальна мета семінарського заняття: сформувати у аспірантів сучасні знання про профілактичне та терапевтичне застосування вакцин.

Професійно-орієнтована мета заняття: навчити аспірантів сучасним принципам імунопрофілактики та імунотерапії різних хвороб за допомогою вакцин

Навчальні питання:

1. Методи отримання лікарських засобів для імунопрофілактики та імунотерапії.
2. Види вакцин.
3. Загальні питання застосування лікарських засобів для імунопрофілактики та імунотерапії.
4. Шляхи отримання перспективних вакцинних препаратів.
5. Можливості контрацепції за допомогою вакцин

Короткий зміст теми заняття.

Імунопрофілактика – метод індивідуального або масового захисту населення від інфекційних хвороб шляхом створення чи посилення штучного імунітету. Імунопрофілактику класифікують на *неспецифічну* (наприклад, здоровий спосіб життя) та *специфічну* (створення чи посилення імунітету проти конкретного збудника). *Пасивна імунопрофілактика* – створення штучного імунітету шляхом введення імунних сироваток, сироваткових препаратів чи плазми, а також біологічне лікування. Використовується для екстреної профілактики інфекційних захворювань з коротким інкубаційним періодом у конкретних осіб. *Активна імунопрофілактика* – створення штучного активного імунітету шляхом введення вакцин. Використовується для профілактики інфекційних хвороб до контакту організму зі збудником. Для інфекцій з довгим

інкубаційним періодом (наприклад, сказ), активна імунізація дозволяє попередити хворобу навіть після зараження. Імунопрофілактика також використовується для попередження отруєння (наприклад, зміїною отрутою) та для неінфекційних хвороб.

Вакцинологія – розділ профілактичної імунології, завдання якого створення запасу міцності імунної системи (ІС) проти екстремального антигенного впливу. Це торкається збудників інфекційних захворювань: пандеміків, що актуальні для жителів планети (поліомієліт, дифтерія, туберкульоз, кір, грип, коронавірус тощо), ендеміків – актуальних для певних регіонів або країн (кліщовий енцефаліт, лептоспіроз, Ку-лихоманка, бруцельоз тощо). *Вакцини* – це спеціально розроблені форми імуногенів, що призначені для імунізації людини і тварини з метою продукції протективного імунітету відносно до певної хвороби. Вакцини поділяють на живі та вбиті. *Вбиті (інактивовані) вакцини* за допомогою хімічного або фізичного впливу на мікроорганізми чи їх токсини. Вбиті вакцини класифікуються на корпускулярні, хімічні, рекомбінантні, анатоксини і синтетичні олігопептиди. Ці вакцини стабільні, безпечні, однак слабо імуногенні, стійкий ефект можливий при повторному введенні (бустер-ефект). Вони частіше вводяться парентерально і досить реактогенні. До таких вакцин відносяться: АКДС, АДС, АДС-М, антирабічна, черевнотифозна, проти кліщового енцефаліту, лептоспірозу, менінгококова, інактивована поліомієлітна, правцевий анатоксин, холерна, проти японського енцефаліту, інактивована гриппозна. *Живі вакцини* – містять вакцинні (непатогенні, ослаблені) штами мікроорганізмів. Оскільки ці збудники позбавлені лише патогенних властивостей, імуногенність їх вища, ніж у вбитих вакцин, протективний імунітет на їх основі міцний і тривалий, наближається до постінфекційного. Для отримання захисного ефекту, як правило, достатньо одного введення (парентерально чи орально). Протективний імунітет живих вакцин пов'язаний з розмноженням вакцинних штамів, їх отримують на основі атенуації, маніпуляцій *in vitro* або *in vivo* з генами, що відповідають за вірулентність, тобто, позбавляють збудників патогенних властивостей. Тому застосування живих вакцин становить ризик для імуноскомпроментованих хворих. До живих атенуєваних вакцин відносяться: бруцельозна, жива гриппозна, проти жовтої лихоманки, протикорова, проти коревої краснухи, проти Ку-лихоманки, паротитна, жива поліомієлітна, проти сибірки, проти висипного тифу, протитуберкульозна (БЦЖ), туляремійна, протичумна. Ідеальна вакцина повинна бути абсолютно безпечною, максимально ефективною, однак сьогодні таких вакцин не існує. *Інактивовані вакцини* (наприклад проти кашлюку) – другий найпоширеніший тип вакцин, більш безпечний. Їх легко дозувати і комбінувати з іншими вакцинами, вони термостабільні, зумовлюють появу

кількох типів АГ, у тому числі й опсонінів, які сприяють фагоцитозу мікроорганізмів. Недоліком убитих вакцин є те, що вони формують тільки гуморальний нестійкий імунітет, тому для досягнення ефективного захисту необхідно проводити кілька щеплень при вакцинації і повторно впродовж усього життя. Так, 4-разове введення вакцини проти кашлюку створює імунітет на 2 роки. Убиті вакцини часто доводиться вводити з ад'ювантом – речовиною, яка за умови одночасного застосування з АГ підвищує імунну відповідь. *Вакцини, що містять перехресно реагуючі живі мікроорганізми*, спричинюють при щепленні нетяжку інфекцію, що захищає від реінфекції іншим штамом. Прикладом такої вакцини є БЦЖ, виготовлена зі збудника туберкульозу великої рогатої худоби. Широко застосовують також *анатоксини* (правцевий, дифтерійний, стафілококовий) – формують стійкий антитоксичний імунітет, їх легко дозувати і комбінувати, та *субклітинні (ацелюлярні, субодичні) вакцини*. До складу сучасних ацелюлярних протикашлюкових вакцин входять інактивованій КТ, ФГА, ПРН і АГ фімбрій 2 і 3 типів. Такі вакцини не менш ефективні, ніж цільна вакцина, та позбавлені загальних побічних ефектів цільної вакцини. Згідно з рекомендаціями ВООЗ, охоплення трьома щепленнями кашлюково-дифтерійно-правцевою вакциною (АКДП) не менше 90% дітей першого року життя досі є головним пріоритетом програм імунізації у всьому світі. Протективний рівень однаковою мірою може бути досягнуто як за допомогою цільноклітинних АКДП-вакцин (АКЦДП), так і вакцин на основі безклітинного компонента (АКаДП). Тривалість захисту після курсу щеплення цільноклітинною АКДП-вакциною (3 первинних щеплення + 1 доза ревакцинації) сягає 6–12 років, що збігається з постінфекційним імунітетом після перенесеного кашлюку. Є дані, що тривалість імунітету при щепленні АКДП-вакциною на основі безклітинного компонента така сама, як і при використанні цільноклітинної АКДП-вакцини. *Кон'юговані вакцини* містять бактеріальні ліпополісахариди (ЛПС), видо- й типоспецифічні для певних штамів бактерій, хімічно зв'язаних з білковим носієм, що надає пептиди для активації Т-клітин і перетворює антиполісахаридну відповідь з Т-клітинно-незалежної в Т-клітинно-залежну. За рахунок використання цього підходу були отримані різні кон'юговані вакцини проти *Haemophilus influenzae*.

До сучасних способів створення вакцин відноситься векторний принцип створення вакцин (вірусна векторна вакцина) - у цьому виді вакцин використовується безпечний вірус, який доставляє специфічні субелементи (білки) відповідного мікроорганізму, завдяки чому вакцина здатна активувати імунну відповідь, не викликаючи хвороби. З цією метою в безпечний вірус вводиться код для формування певних частин відповідного патогена. Такий безпечний вірус потім використовується в якості платформи або вектора для

доставки в клітини організму білка, який активує імунну відповідь. **Вакцини на основі генетичного матеріалу (нуклеїнових кислот)** - на відміну від вакцин на основі ослаблених або нежиттєздатних цілісних мікроорганізмів чи їх фрагментів, у вакцині на основі нуклеїнових кислот використовується ділянку генетичної структури, що містить програму для генерації специфічних білків, а не цілісний мікроорганізм. ДНК і РНК містять код, який використовується клітинами нашого організму для вироблення білків. При цьому ДНК спочатку перетворюється в інформаційну РНК, яка потім використовується в якості програми для продукування специфічних білків. Вакцина на основі нуклеїнової кислоти доставляє в клітини нашого організму певний набір інструкцій у вигляді ДНК або мРНК, спонукаючи їх синтезувати потрібний специфічний білок, який імунна система нашого організму повинна розпізнати і дати на нього імунну відповідь. До пандемії COVID-19 жодна з них ще не пройшла через всі стадії процесу схвалення для введення людям, хоча деякі ДНК-вакцини, в тому числі для певних видів раку, проходили дослідження за участю людей. Через пандемію дослідження в цій області просувалися дуже швидко, і на деякі вакцини проти COVID-19 на основі мРНК отримали дозволи для використання в надзвичайних ситуаціях; а це означає, що тепер вони можуть вводитися людям, а не тільки використовуватися в клінічних дослідженнях.

Контрацептивна вакцинація ґрунтується на веденні в організм чоловіка основних спермальних антигенів, які забезпечують фертильність, а в організм жінки – основних антигенів прозорої зони яйцеклітини, які забезпечують взаємодію ооцит-сперматозоїд, або рилізінг-гормонів. Викликаючи вироблення антигаметних антитіл в організмі вакцинованого, досягається ефект порушення фертильності. За допомогою контрацептивних вакцин чоловіки і жінки можуть регулювати народжуваність без шкоди для свого здоров'я. На жаль, контрацептивні вакцини є основною ланкою формування імунозалежного непліддя чоловіків та жінок, яке на сьогоднішній день все ще не навчилися лікувати. *Мішені застосування контрацептивних вакцин:*

- гальмування продукції гамет (вакцина проти лютеїнізуючого та гонадотропного рилізінг-гормонів LHRH/GnRH);
- пригнічення функції гамет (антиспермальна вакцина і вакцина проти антигенів прозорої зони яйцеклітини);
- знищення гамет (вакцина проти хоріонічного гонадотропіну).

Антиспермальна вакцина. Ідеальна антиспермальна вакцина повинна індукувати продукцію антитіл до найбільш важливих для запліднення спермальних антигенів: антигену фертилізації FA-1; PH-20; PH-30; спермального білка SP-10; специфічного антигену яєчок-1; контрацептивного вакциногену; анкерного білка протеїнкінази А – АКАР; спермасоційованого антигену 9 – SPAG9; лактат дегідрогенази C4 - LDH-C4; пептиду YLP12.

Анти-ZP (zona pellucida) вакцина повинна індукувати продукцію антитіл до найбільш важливих щодо запліднення антигенів тканинних елементів яйника та яйцеклітини. Імунізація сумішю цих ізольованих глікопротеїнів (ZP1, ZP2, ZP3 та ZPB) викликає синтез антитіл проти них, що приводить до знищення яйцеклітини і перешкоджає взаємодії сперматозоїд-яйцеклітина. Можливі перехресні реакції антиінфекційних антитіл із ZP: 1) антитіла до антигенів *Salmonella typhimurium* перехресно реагують із ZP3; 2) антитіла до *ectomelia virus* та *cytomegalovirus* реагують із ZP3. Дуже важливо пам'ятати, що ZP3 є найбільш імуногенним із чотирьох антигенів прозорої зони яйцеклітини!

У процесі контрацептивної вакцинації виникає *парадокс*: якою б кропіткою не була робота щодо ізоляції окремих важливих для запліднення, антигенів гамет, подальша вакцинація ними для пригнічення фертильності, але неочікувано такий ефект може розвинути в результаті перехресного зв'язування присутніх в організмі антиінфекційних антитіл з антигенами на гаметах. Наступним парадоксом є те, що наявність у організмі персистуючої інфекції створює *небезпеку «непланової» контрацептивної вакцинації*. Хронічна бактерійна інфекція викликає формування специфічних антитіл, які можуть мати спільні антигенні епітопи з аутоантигенами, присутніми на клітинах людини. Це явище називається “молекулярна мімікрія”. Антиспермальні антитіла, навіть “натуральні”, синтезовані в організмі хлопця у період дозрівання, здатні перехресно реагувати з бактеріями. Така реакція може відбуватися із грам-позитивними стафілококами та стрептококами, коринебактеріями та грам-негативними *Salmonella*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Escherichia*. Відомі перехресні реакції між антиспермальними антитілами та мікроорганізмами *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia trachomatis*, *Listosomoides sigmodontis*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Straptococcus viridans*. Тому, існує небезпека вакцинації молодих хлопців. Небезпечними виявилися бактерійні вакцини (лізати бактерійних стінок), які застосовувалися в хлопчиків перед статевим дозріванням з метою профілактики інфекцій дихальних шляхів. Ці, так звані мукозальні вакцини, можуть відігравати роль індуктора непліддя у дорослому віці.

Наукові дослідження з вивчення ролі антитіл проти стероїдних гормонів з'явилися на початку 30-х років ХХ століття, коли була сформована концепція «алергії» на гормони яйників. У подальшому в 70-80-х роках минулого століття були розроблені *контрацептивні препарати на основі моноклональних антипрогестеронових антитіл*. Підтвердилася важлива роль аутоантитіл до прогестерону в генезі передменструального синдрому. На сьогоднішній день проводяться дослідження патологічної сенсibilізації до прогестерону при звичних викиднях. Вважається, що при високому рівні антитіл до прогестерону можуть порушуватися механізми, які забезпечують процеси імплантації, формування трофобласта, розвитку вагітності. Частіше втрата плода на тлі наявних антитіл до прогестерону асоціюють із прийманням препаратів гестагенового ряду (прогестерону), штучними перериваннями вагітності. Попередні медикаментозні/інструментальні або самовільні аборти, які

супроводжуються імуногормональним стресом, можуть сприяти синтезу антипрогестеронових аутоантитіл.

Вакцини є імунотерапевтичними препаратами. Імуноterapia – спосіб лікування інфекційних хвороб шляхом створення чи посилення штучного імунітету. Класифікується на неспецифічну, тобто з використанням імунотропних препаратів в комплексному лікуванні різних інфекційних хвороб, зазвичай, хронічних, а також неінфекційних хвороб (онкологічних, автоімунних, попередження реакції відторгнення трансплантата) та специфічну імуноterapiaю – частіше спосіб лікування інфекційних захворювань з використанням готових антитіл, рідше хронічних інфекцій з використанням убитих стандартних вакцин (бруцельоз, хронічна дизентерія, хронічна гонорея, стафілококова інфекція, герпетична інфекція тощо). Імуноterapia також включає в себе лікування отруйних укусів (змій, бджіл тощо) з допомогою антитоксичних сироваток, пухлин з допомогою моноклональних антитіл, алергії шляхом десенсибілізації специфічним алергеном. Відповідно до сучасних визначень, до препаратів біологічного походження відносять медичні препарати, зокрема вакцини, препарати крові, алергени, соматичні клітини, тканини, рекомбінантні білки. Ліки біологічного походження готують з клітинних білків живих організмів, до їх складу можуть входити вуглеводи, білки, нуклеїнові кислоти, ферменти або складні комбінації цих речовин. Біологічні препарати можуть являти собою біологічні об'єкти – наприклад клітини і тканини. Їх отримують із різноманітних природних джерел – тварин, мікроорганізмів. Біологічні препарати можуть бути синтезовані методами біотехнології. Єдиної загально визнаної класифікації препаратів біологічного походження на сьогодні не існує. Умовно їх поділяють на лікувальні (специфічні гіперімунні сироватки та гама-глобуліни), профілактичні (вакцини, анатоксини), діагностичні (алергени, антигени), діагностичні (сироватки, бактеріофаги), стимулювальні засоби (сироватка крові тварин, гемодеривати, препарат вітаміну В12 та ін.)

Контрольні питання:

1. Види вакцин і вакцинних препаратів.
2. Імуногенні особливості комплексних вакцин.
3. Сучасні напрями створення нових вакцин.
4. Вакцинація як спосіб сформувати антиспермальний та антиоваріальний імунітет та імунозалежне непліддя.
5. Механізми дії вакцин як імунотропних препаратів.

Використана література:

Підручники, посібники:

1. Чоп'як В.В., Костюченко Л.В., Бойко Я.Є та ін. Клінічна імунологія та алергологія для лікарів-інтернів різних спеціальностей. Львів: в-во «НеоДрук», 2019. – 204 с.

2. Чернишова Л.І., Волоха А.П., Костюченко Л.В. та ін. Дитяча імунологія. За ред. проф. Л.І.Чернишової, А.П.Волохи. – К.:ВСВ «Медицина», 2013. – 720 с.
3. Якобисяк М. Імунологія (переклад з польської під редакцією професора В.В.Чоп'як).- Вінниця: в-во «Нова книга», 2004. – 672 с.
4. Golab J., Jakobisiak M., Lasek W., Stoklosa T. Immunologia (nowe wydanie). Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN SA, 2017, 497 s.
5. Lydyard P.M., Whelan A., Fanger M.W. Instant Notes in Immunology (Immunologia: krotkie wyklady). Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2006, 362 s.
6. Jorde L.B., Carey J.C., Bamshad M.J., White R.L. Medical Genetics. Mosby: A T i

Статті

1. Панченко О. А., Заварзіна А. Р. ДІАГНОСТИКА КОРОНАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ЯК АКТУАЛЬНА ПРОБЛЕМА ДЕРЖАВНОГО РІВНЯ. Український журнал медицини, біології та спорту – 2020 – Том 5, № 5 (27) DOI: 10.26693/jmbs05.05.278
2. Єушков А.И., Абрамов В.Ю., Мойсюк Я.Г. Роль предрасполагающих и de novo антидонорских антител при трансплантации почки. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2011, т. XIII, №1, С.84-91
Гашевська Н.І., Недзвецький В.С., Перстньова Л.К. Перевага селекції пар донор-реципієнт за МНС-антигенами II класу HLA-DR. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2010. – Вип. 1, т. ф. – С. 107–111.
3. Хамаганова Е.Г., Бидерман Б.В., Якутик И.А., Кузьминова Е.П., Юшкова А.А., Кузьмина Л.А. и др. Проблема неоднозначностей при типировании с высоким разрешением для трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток от неродственного донора. Гематология и трансфузиология, 2014, т.59, №2, С.4-9
4. Хиць А.Р. COVID-19: патогенез цитокинового вибуху і можливості терапії. Український медичний часопис. – 2020. - №5. – С.78-91.
5. Althaf M, Kosi M, Jim J, Sharma A, Halawa A Human leukocyte antigen typing and crossmatch: A comprehensive review World J Transplant 2017 December 24; 7(6): 339-348.
6. Annette Plüddemann, Jeffrey K. Aronson What is the role of T cells in COVID-19 infection? Why immunity is about more than antibodies. On behalf of the Oxford COVID-19 Evidence Service Team Centre for Evidence-Based Medicine, Nuffield Department of Primary Care Health Sciences University of Oxford 19 October 2020
7. Chari M, Kosi M, Jim J, Sharma A, Halawa A Crossmatching in Renal Transplantation by Non-Immunologists for Non-Immunologists Urol Nephrol Open Access J 5(2): 00166. DOI: 10.15406/unoaj.2017.05.00166

8. Keymolen T., C.Staessen, W.Verpoest., A.Michels., M.Bonduelle., P.Haentjens, J.Vanderelst, I.Liebaers A prposal for reproductive counseling in carrirs of Robertsonian translocations: 10 years of experience with preimplantation genetic diagnosis. 2009, journals.permissions@oxfordjournals.org, Online
9. Kilic S., B.Yukse, Ozdemir E., Yesilyurt, N.Tasdemir, I.Keskin, M. Dogan Assisted Reproductive Treatment Applications in Men With Normal Phenotype but 45,X /46, XY Mosaic Karyotype: Clinical and Genetic Perspectives. Taiwan Journal Odstet Gynecol (2010); Vol.49, N2:199-202
10. Matthew Zirui Tay1, Chek Meng Poh1, Laurent Rénia 1,2 ✉, Paul A. MacAry2 ✉ and Lisa F. P. NgThe trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nature reviews | IMMunOLOgy volume 20 | June 2020 |363-374
11. Michele Catanzaro, Francesca Fagiani1, Marco Racchi, Emanuela Corsini, Stefano Govoni, Cristina LanniImmune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2 Signal Transduction and Targeted TherapySignal Transduction and Targeted Therapy (2020) 5:84
12. Moskowitz S.M., Chmiel J.F., Sternen D.L., Cheng E., Cutting G.R. CFTR-Related Disorders. Gene Reviews (2011);26:1-23
13. Mohammad Asaduzzaman Chowdhurya, Nayem Hossainb, Mohammod Abul Kashemc, Abdus Shahidd, Ashraful Alam Immune response in COVID-19. Journal of Infection and Public Health13(2020)1619–1629
14. Mohanka R, Kosi M, Jin J, Sharma A and Halawa A Careful Interpretation of HLA Typing and CrossMatch Tests in Kidney Transplant JOJ uro & nephron 3(5): JOJUN.MS.ID.5555625 (2017)
15. MULLEY W and KANELLIS J Understanding crossmatch testing in organ transplantation: A case-based guide for the general nephrologist Nephrology 16 (2011) 125–133.
16. Poonia Bh., Kottilil S. Immune Correlates of COVID-19 control. Frontiers in Immunology. – 2020. – Vol.11. – Article 569611. – 9 pages
17. Stanley Perlman COVID-19 poses a riddle for the immune system Nature | Vol 584 | 20 August 2020 , P.345-346
18. Zuo J, Dowell A, Pearce H, et al. Robust SARS-CoV-2-specific T-cell immunity is maintained at 6 months following primary infection. BioRxiv2020.11.01.362319v1 [Preprint]. 2 November 2020. www.biorxiv.org/con-tent/10.1101/2020.11.01.362319v1.

Методична література:

1. Методична розробка циклу тематичного удосконалення «Імунологія репродукції та непліддя». Чопяк В.В., Гаврилюк А.М., Потьомкіна Г.О. Львів: «НеоДрук». – 2018. – 152 с.

