НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ ІМЕНІ Л. В. ГРОМАШЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

ПРИЙМЕНКО НАТАЛІЯ ОЛЕГІВНА

УДК: 616.921.5:575.191]-08-084

ОПТИМІЗАЦІЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ ПРИ ГРИПІ У ХВОРИХ ІЗ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНІВ ARG753GLN TLR-2, LEU412PHE TLR-3, ASP299GLY TLR-4

14.01.13 – інфекційні хвороби

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Київ – 2015

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України "Українська медична стоматологічна академія" МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
ДУБИНСЬКА Галина Михайлівна,
Вищий державний навчальний заклад України
"Українська медична стоматологічна академія"
МОЗ України, завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
РУДЕНКО Антоніна Олексіївна,
ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України», завідувач відділу нейроінфекцій, заслужений лікар України;

доктор медичних наук, професор
ЧЕМИЧ Микола Дмитрович,
Сумський державний університет МОН України,
завідувач кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією

Захист відбудеться "28" вересня 2015 року о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.26.614.01. при ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України» (03680, м. Київ, вул. Амосова, 5).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України» за адресою (03680, м. Київ, вул. Амосова, 5).

Автореферат розісланий "26" серпня 2015р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат медичних наук Л.В. Березіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Грип та грипоподібні захворювання залишаються однією з найактуальніших медичних і соціальних проблем у зв'язку з високою питомою вагою в інфекційній патології (80-90 %), а також ризиком розвитку тяжких ускладнень та загострень хронічних хвороб [Ходош Э. М., Волобуева О. В., 2010]. За підрахунками ВООЗ, щороку на грип у світі хворіє до 500 млн. чоловік, 2 мільйони з яких помирає. В Україні кількість хворих щорічно сягає 10-14 мільйонів, що складає 95 % від усіх зареєстрованих випадків інфекційних захворювань [Малий В. П. і співавт. 2010; Руденко А. О., 2009]. Під час пандемій грипу, які в людській популяції пов'язані з шифтовими змінами збудника, захворюваність населення зростає до 50-70 %, а летальність до 10 % [Возианова Ж. И., Голубовская О. А., 2010]. Найбільша кількість летальних випадків при грипі пов'язана не безпосередньо з цим захворюванням, а з ускладненнями, провідне місце (80-90 %) серед яких займають пневмонії [Малый В. П., Андрейчин М. А., 2013]. Частота їх виявлення складає до 10 % серед всіх, що захворіли, і до 50 % серед госпіталізованих [Шойхет Я. Н. и соавт., 2010]. На сьогодні доведено, що тяжкий та ускладнений перебіг грипу розвивається переважно в пацієнтів із груп ризику, до яких належать: вагітні, хворі на цукровий діабет, ожиріння, хронічні захворювання легень та серця, а також особи старших вікових груп [Kerkhove Van M. D., 2011; Rothberg M. B., Haessler S. D., 2010]. Проте за даними ВООЗ, у 30 % пацієнтів, які раніше вважалися здоровими, також можливий тяжкий і ускладнений перебіг грипу, що обумовлює необхідність подальшого вивчення факторів, які впливають на перебіг та наслідки хвороби.

У даний час активно вивчається роль вродженого імунітету в регуляції імунної відповіді при інфекційній патології, зокрема Toll-подібних рецепторів (TLR) вродженої імунної системи, які забезпечують молекулярну ідентифікацію патогенів і ранній захист організму від чужорідних агентів [Абатуров А. Е. и соавт., 2012]. Особливий інтерес з точки зору вивчення патогенезу грипу та його ускладнень представляють TLR-2 і TLR-4, що розпізнають вірусні структурні білки і ліганди грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також TLR-3, який взаємодіє з длРНК – продуктом реплікації та транскрипції РНК- і ДНК-геномних вірусів [Друцкая М. С. и соавт., 2011; Kawai T., 2009].

Відомо, що точкові заміни в геномній ДНК (однонуклеотидний поліморфізм) призводять до змін у структурі TLR, порушуючи тим самим розпізнавання патогенів, функціонування системи вродженого імунітету, та як наслідок – обумовлюють можливість тяжкого та ускладненого перебігу захворювань [Вовк Ю. А., 2013; Gorbea C., 2010]. Проте роль однонуклеотидних поліморфізмів у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 при грипі дотепер залишається не визначеною.

Тому зважаючи на дані наукової літератури, які свідчать, що сприйнятливість до інфекційних агентів є генетично детермінованою, пошук маркерів, які визначають ризик розвитку тяжкого та ускладненого перебігу грипу

серед алелей генів TLR є актуальним завданням, виконання якого дозволить удосконалити діагностику, прогнозувати перебіг та індивідуалізувати лікувально-профілактичну тактику з урахуванням особливостей імунного реагування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи НДІ Генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія": "Визначення ролі поліморфізму Toll-подібних рецепторів у механізмах розвитку імуноопосередкованих захворювань України" (номер державної реєстрації 0109U001629) і була фрагментом наукової роботи кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією: "Визначення ролі поліморфізму Toll-подібних рецепторів у патогенезі інфекційних захворювань" (номер державної реєстрації 0113U005006).

Мета дослідження – удосконалення надання медичної допомоги хворим на грип на основі вивчення особливостей клінічного перебігу та оцінки ефективності лікувально-профілактичних заходів залежно від поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.

Завдання дослідження:

1 Дослідити поширеність поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 у хворих із неускладненим перебігом грипу та грип-асоційованими пневмоніями.

2 Провести поглиблене клініко-анамнестичне обстеження та встановити зв'язок із запальними захворюваннями верхніх і нижніх дихальних шляхів в осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.

3 Проаналізувати клінічний перебіг грипу та грип-асоційованих пневмоній у хворих із нормальним і мутантним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4.

4 З'ясувати ефективність специфічної імунопрофілактики грипу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Об'єкт дослідження: грип та грип-асоційовані пневмонії в пацієнтів із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4, вакцинація проти грипу.

Предмет дослідження: частота розподілу алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4, перебіг грипу та грип-асоційованих пневмоній, ефективність протигрипозної вакцинації в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Методи дослідження: анамнестичні, загальноклінічні, біохімічні, бактеріологічні, серологічні, генетичні, інструментальні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше з'ясовано, що серед хворих на грип і грип-асоційовану пневмонію достовірно частіше виявляється мутантний алель 299Gly TLR-4 та комбінації поліморфізмів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Частота мутантної алелі 412Phe TLR-3 вище серед хворих на грип-асоційовану пневмонію.

Вперше доведено, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх і нижніх дихальних шляхів, частих (більше 4 разів на рік) ГРВІ, при яких ризик

розвитку ураження НДШ достовірно вищий, у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей.

Вперше встановлено, що грип у пацієнтів із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при типовій клінічній картині відрізняється більшою тривалістю основних клінічних симптомів, переважанням середньотяжкого та тяжкого перебігу, високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії.

Вперше доведено, що в хворих на грип із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 при відсутності загальновизнаних факторів ризику розвитку ускладнень первинна вірусна пневмонія розвивається винятково в носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 і характеризується: раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного, багаточасткового ураження легень, тяжким перебігом із тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому та поліорганної недостатності, більшою летальністю. Установлено, що вторинна вірусно-бактеріальна грип-асоційована пневмонія в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 характеризується переважно тяжким перебігом із двобічним ураженням легень.

Уточнені дані щодо ефективності вакцинації проти грипу в осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 і доведено, що за імунними та клініко-епідеміологічними показниками її ефективність визначається на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4. Специфічна імунопрофілактика грипу в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 дозволяє запобігти розвитку пневмонії та зменшити частоту приєднання бронхіту.

Практичне значення роботи. Дослідження поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 дозволяє сформувати групу ризику тяжкого та ускладненого перебігу грипу.

Пацієнтам із поліморфізмом генів Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 та комбінаціями з Arg753Gln TLR-2 запропоновано індивідуалізувати лікувально-діагностичну тактику при грипі, яка полягає в призначенні противірусних препаратів із першого дня хвороби, обов'язковій госпіталізації для динамічного спостереження, проведенні рентгенографії органів грудної клітини на першому тижні у зв'язку з високим ризиком розвитку вірусної пневмонії.

У практичній діяльності сімейним лікарям і лікарям-інфекціоністам слід враховувати, що особи з поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 складають групу ризику тяжкого та ускладненого перебігу грипу та грип-асоційованої пневмонії (інформаційний лист № 179-2014 «Прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованої пневмонії»), для запобігання яких необхідно проводити обов'язкову специфічну імунопрофілактику грипу.

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати досліджень впроваджені в практику інфекційних стаціонарів Полтавської, Сумської, Харківської областей. Теоретичні положення й практичні рекомендації

використовуються в навчальному процесі на кафедрах інфекційних хвороб з епідеміологією ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Сумського державного університету, Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням. Внесок автора полягає в проведенні інформаційно-патентного пошуку, аналізі та узагальненні даних наукової літератури, розробці основних завдань дослідження, самостійному веденні та обстеженні хворих, проведенні клінічних і організації виконання лабораторних досліджень. Дисертантом особисто систематизовані отримані дані, узагальнені результати дослідження, написані всі розділи роботи, сформульовані висновки та практичні рекомендації, підготовлені до друку наукові праці та виступи, упроваджені результати наукових розробок у роботу медичних закладів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи обговорювалися та викладені на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Епідеміологічні та клінічні аспекти профілактики, діагностики та лікування розповсюджених інфекційних хвороб сучасності» (Харків, 2012 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти» (Суми, 2013 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука 2013» (Полтава, 2013 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Вірусні хвороби. ВІЛ-інфекція/СНІД» (Алушта, 2013 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2014 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Фармакотерапія інфекційних захворювань» (Київ, 2014 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 праць, із них 5 – статті в наукових спеціалізованих виданнях, що входять до переліку, затвердженого МОН України, 1 стаття в закордонному виданні, що обліковується наукометричною базою «SCOPUS», 4 тез науково-практичних конференцій, інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Робота викладена на 209 сторінках і включає вступ, огляд літератури, загальну характеристику обстежених осіб та методів дослідження, 4 розділи власних досліджень, обговорення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації і список використаної літератури, який містить 270 джерел (з них 89 – кирилицею та 181 – латиницею). Робота ілюстрована 31 таблицею та 18 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріли та методи дослідження. Під спостереженням знаходилося 282 особи: 112 хворих на грип та 170 здорових. Комплексне клініко-лабораторне обстеження хворих проводилося в умовах діагностичного та реанімаційного відділень Полтавської обласної клінічної інфекційної лікарні протягом 2009-2014 рр.

Усі лікувально-діагностичні процедури здійснювали за інформованою згодою хворих.

Клінічний перебіг грипу та грип-асоційованої пневмонії вивчали у 112 пацієнтів (чоловіків – 57, жінок – 55) віком від 18 до 64 років (середній вік – (34,40±1,38) роки), які не мали загальновизнаних факторів ризику розвитку ускладнень (вагітність, ожиріння, цукровий діабет, імуносупресивні розлади, хронічні хвороби легень, серця, нирок, печінки та ін.), з них:

– 63 з неускладненим перебігом грипу (32 – з поліморфнозміненими генотипами та 31 – з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4);

– 49 з грип-асоційованою пневмонією (35 – з мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та 14 – з нормальним розподілом алелей TLR).

Діагноз грипу встановлювали згідно МКХ-10 (ВООЗ, 1998) та класифікації інфекційних і паразитарних хвороб (Возіанова Ж. І., 2000; Андрейчин М. А. та співав., 2002) на основі характерних клініко-епідеміологічних даних і результатів лабораторних методів дослідження: серологічного (визначення наростання титрів специфічних антитіл у реакції гальмування гемаглютинації (РГГА) з грипозними діагностикумами трьох штамів A/H3N2, A/H1N1 pdm 09 і B («Диагностикумы гриппозные для реакции торможения гемагглютинации сухие» ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов», Россия) та молекулярно-біологічного (визначення РНК вірусу грипу в назофарингеальних мазках методом ПЛР із використанням набору реагентів «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL» (Россия). Серологічні та молекулярно-біологічні дослідження для верифікації діагнозу грипу виконані у вірусологічній лабораторії ДУ «Полтавський обласний лабораторний центр Держсанепідслужби України».

Діагноз пневмонії верифікували на підставі рекомендацій Європейського респіраторного товариства (ERS, 2011) та Наказу МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. Оцінку тяжкості пневмонії здійснювали за полегшеним варіантом шкали SMART-COP (SMRT-CO). Для діагностики та оцінки тяжкості органно-системної дисфункції використовували шкалу SOFA, визначаючи наступні оціночні критерії: рівень загального білірубіну та креатиніну в крові, кількість тромбоцитів, рівень середнього артеріального тиску (АТ), функціональний стан ЦНС (по шкалі Глазго). Діагностику ГРДС здійснювали за сукупністю результатів клінічних даних, лабораторних та рентгенологічних досліджень відповідно до Берлінських критеріїв ГРДС (2012 р.) Усім хворим на грип та грип-асоційовану пневмонію проводили лікування відповідно до протоколу та чинних наказів МОЗ [Наказ МОЗ України № 813 від 07.11.2009 р., Наказ № 832 від 13.11.2009 р., Наказу МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р.].

Групу популяційного контролю для вивчення поширеності поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 та з'ясування взаємозв'язку їхньої наявності зі схильністю до запальних захворювань верхніх і нижніх дихальних шляхів склали 170 осіб (90 – із бази генетичних зразків Науково-дослідного інституту генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» та 80

практично здорових жителів Полтавської області (жінок – 97, чоловіків – 73), віком від 18 до 59 років (середній вік – (23,41±0,64) роки).

Для визначення ефективності специфічної імунопрофілактики грипу в осіб із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3 та Asp299Gly TLR-4 провакциновано 66 осіб: 46 із мутантними та 20 із нормальними генотипами досліджуваних TLR, яким раніше не проводили щеплення протигрипозною вакциною. Імунізацію проводили за стандартною методикою вакциною Інфлювак (Solvay Pharmaceuticals, Нідерланди), яка містила актуальні штами для епідсезонів 2011/2012, 2012/2013, 2013/2014 років. Вакцинацію проводили після огляду лікаря. Імунну відповідь на вакцинацію оцінювали в РГГА на основі дослідження парних сироваток крові, зібраних до імунізації та через 28 днів після введення вакцини. Імунологічну ефективність вакцинації оцінювали по сероконверсії (число приростів специфічних титрів антитіл у 4 рази і більше), серопротекції (відсоток осіб із титрами 1:40 і вище після вакцинації) та динаміці рівня середніх геометричних титрів антитіл. Оцінку епідеміологічного та клінічного ефекту вакцинації проводили, порівнюючи число епізодів ГРВІ, тяжкості їх перебігу та розвитку ускладнень, що виникали в епідсезон. Аналізували період протягом 6 місяців після вакцинації та аналогічний період року до імунізації.

Усім хворим було проведене комплексне загальноклінічне обстеження, проаналізовані дані амбулаторних карт, біохімічне дослідження крові (рівень загального білірубіну, креатиніну, сечовини, залишкового азоту, активність АлАТ і АсАТ), бактеріологічне дослідження харкотиння, рентгенографія органів грудної клітини, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини. Хворим на грип-асоційовану пневмонію визначали ступінь насичення крові киснем за допомогою пульсоксиметра.

Визначення поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Asp299Gly TLR4 Leu412Phe TLR-3 проводилось методом ПЛР. Ампліфікацію специфічної ділянки ДНК здійснювали на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технология», Москва) з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів із наступним рестрикційним аналізом. Детекція продуктів ампліфікації проведена за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі («Helikon», Москва). У ролі маркера молекулярної ваги ДНК використовували pBR322/BsuRI. Гелі фарбували етидіумом бромідом із подальшою візуалізацією результатів в УФ-світлі [Левченко Л. Ю. та співав., 2012].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили методом варіаційної статистики з використанням комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2010 і «STATISTICA 7.0». Для порівняння частот алелей та генотипів між групами, використовували точний тест Фішера, показник відношення шансів (OR) із визначенням 95% довірливого інтервалу (CI). Відносний ризик розвитку захворювання та ускладнень оцінювали за допомогою показника OR. Для аналізу взаємозв'язків якісних параметрів визначали коефіцієнт контингенції Пірсона [Белокопытов А. В., 2007; Медик В. А., Лисицин В. И., 2012]. Статистична значимість відмінностей для кількісних ознак оцінювалась із використанням t-критерію Стьюдента, для якісних – точного тесту Фішера. При порівнянні

частот бінарних ознак у двох пов'язаних групах використовували критерій Мак-Немара. Відмінності вважали вірогідними для всіх видів аналізу при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях ймовірності помилки $p<0,05$, яку оцінювали за таблицями критичних чисел з урахуванням розміру експериментальних груп.

Результати дослідження та їх обговорення. При аналізі результатів молекулярно-генетичного обстеження встановлено, що серед хворих на грип поліморфізм генів Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR4, а також їх поєднання з Arg753Gln TLR-2 визначалися частіше, в порівнянні з практично здоровими (табл. 1). Так поширеність мутантного гомозиготного генотипу Phe/Phe TLR-3 і алелі 412Phe виявилася достовірно вищою серед хворих на грип-асоційовану пневмонію у 3,7 і 1,4 разу, в порівнянні зі здоровими та у 3,8 і 1,7 разу – з хворими на грип. Наявність у геномі хворих на грип мутантної алелі 412Phe та гомозиготного генотипу Phe/Phe у 2,3 та 4,5 разу підвищує ризик розвитку грип-асоційованої пневмонії (OR=2,3; 95 % CI:1,3-4,06 і OR=4,5; 95 % CI:1,15-17,65, відповідно). Стосовно поліморфізму Asp299Gly гена TLR-4 встановлено, що частота гетерозиготного генотипу Asp/Gly та мутантної алелі 299Gly вища серед хворих на грип у 3,8, грип-асоційовану пневмонію у 4,3 разу, в порівнянні зі здоровими. У носіїв алелі 299Gly гена TLR-4 у 4,0 рази (OR=4,0; 95 % CI:1,04-15,39) вищий ризик розвитку грипу, в порівнянні з особами з генотипом Asp299Asp. При дослідженні однонуклеотидного поліморфізму Arg753Gln гену TLR-2 статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів та алелей нами не виявлено. Комбінації мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 реєструвалися лише у хворих на грип (11,1 %, $p<0,01$) та грип-асоційовану пневмонію (14,3 %, $p<0,003$) і не визначалися у здорових. Наявність у геномі мутантних генотипів TLR-3 в поєднанні з TLR-2 і TLR-4 у 15,0 разів (OR=15,0; 95 % CI:1,83-286,93) підвищує ризик розвитку грипу в носіїв даних мутацій.

Установлено, що на ГРВІ частіше хворіли особи з генотипами Leu/Phe TLR-3 (91,2 %), Phe/Phe TLR-3 (100,0 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR (69,4 %, $p<0,03$, $p<0,04$, $p<0,05$ відповідно). Вірогідно, вищим у цих категорій осіб виявився також відсоток тих, які хворіли на ГРВІ 4 і більше разів протягом року: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 4,6 (38,2 %, $p<0,003$), Phe/Phe TLR-3 – у 8,7 (72,7 %, $p<0,00006$), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 7,8 (62,5 %, $p<0,002$) разу, в порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR (8,3 %). У хворих із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 закономірним виявилися ускладнення ГРВІ запальними процесами дихальних шляхів – у 42 із 62 обстежених (67,7 %) (при нормальному розподілі алелей TLR у 12 із 34 (35,3 %, $p<0,001$), зокрема: при генотипі Leu/Phe TLR-3 – у 21 (61,8 %, $p<0,05$), Phe/Phe TLR-3 – у 10 (90,9 %, $p<0,001$), Asp/Gly TLR-4 – у 4 (100,0 %, $p<0,02$) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 7 (87,5 %, $p<0,01$). Серед ускладнень переважали ураження НДШ – бронхіт та пневмонія.

Таблиця 1

Розподіл частот генотипів та алелей поліморфізму Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 серед хворих на грип, грип-асоційовану пневмонію та здорових, абс. число (%)

Генотип та алелі	Група			F p ≤	OR (95 % CI)
	здорові n=80	хворі на			
		грип неускладнений n=63	грип-асоційовану пневмонію n=49		
Leu412Phe TLR-3					
Leu/Leu	36 (45,0)	35 (55,5)	16 (32,7)	0,2403 a 0,1973 b 0,0216 d	1,53 (0,79-2,97) a 0,59 (0,28-1,24) b 0,39 (0,18-0,84) d
Leu/Phe	40 (50,0)	25 (39,7)	24 (48,9)	0,2399 a 0,9999 b 0,3437 d	0,66 (0,34-1,28) a 0,96 (0,47-1,95) b 1,46 (0,69-3,1) d
Phe/Phe	4 (5,0)	3 (4,8)	9 (18,4)	1,00 a 0,0309 b 0,0299 d	0,95 (0,2-4,41) a 4,28 (1,24-14,75) b 4,5 (1,15-17,65) d
Leu	112 (70,0)	95 (75,4)	56 (57,1)	0,3519 a 0,0434 b 0,0042 d	1,31 (0,77-2,23) a 0,57 (0,34-0,96) b 0,44 (0,25-0,77) d
Phe	48 (30,0)	31 (24,6)	42 (42,9)	0,3519 a 0,0534 b 0,0012 d	0,76 (0,45-1,29) a 1,75 (1,04-2,95) b 2,3 (1,3-4,06) d
Asp299Gly TLR-4					
Asp/Asp	87 (96,7)	55 (87,3)	42 (85,7)	0,0516 a 0,0334 b 0,9999 d	0,24 (0,06-0,93) a 0,21 (0,05-0,84) b 0,87 (0,29-2,6) d
Asp/Gly	3 (3,3)	8 (12,7)	7 (14,3)	0,0516 a 0,0324 b 0,9999 d	4,22 (1,07-16,59) a 4,95 (1,22-20,13) b 1,15 (0,38-3,41) d
Gly/Gly	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0	0
Asp	177 (98,3)	118 (93,6)	91 (92,9)	0,0561 a 0,0367 b 0,9999 d	0,25 (0,06-0,96) a 0,22 (0,06-0,87) b 0,88 (0,31-2,52) d
Gly	3 (1,7)	8 (6,4)	7 (7,1)	0,0561 a 0,0367 b 0,9999 d	4 (1,04-15,39) a 4,54 (1,15-17,97) b 1,13 (0,4-3,24) d

Примітка: p – рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера для відмінностей за частотами генотипів і алелей між: a – здоровими і хворими на грип неускладнений; b – здоровими і хворими на грип-асоційовану пневмонію; d – хворими на грип неускладнений та грип-асоційовану пневмонію.

Так розвиток бронхіту на тлі ГРВІ відмічався у 64,5 % ($p<0,03$) обстежених із генотипом Leu/Phe TLR-3, 81,8 % ($p<0,01$) з Phe/Phe TLR-3, 75,0 % ($p<0,05$) з Asp/Gly TLR-4, 87,5 % ($p<0,01$) комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 32,0 %), пневмонії – у 23,5 % ($p<0,04$) осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3, 45,5 % ($p<0,01$) з Phe/Phe TLR-3 та 50,0 % ($p<0,02$) з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (із нормальним розподілом алелей TLR – у 8,0 %). Установлено, що особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мали підвищений ризик розвитку запальних процесів нижніх дихальних шляхів при ГРВІ: з генотипом Leu/Phe TLR-3 у 2,9 (OR=2,9; 95 % CI:1,1-7,94), Phe/Phe TLR-3 – у 20,0 (OR=20; 95 % CI:2,29-175,05), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 12,8 разу (OR=12,8; 95 % CI:1,41-117,01), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR. При проведенні кореляційного аналізу встановлено наявність достовірних прямих зв'язків між поліморфнозміненими генотипами Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3, а також їхніми комбінаціями з Arg/Gln TLR-2 та Asp/Gly TLR-4 з ГРВІ ($\varphi=0,371$, $p<0,05$, $\varphi=0,305$, $p<0,05$, $\varphi=0,332$, $p<0,05$ відповідно) з частими (більше 4 на рік) епізодами протягом року ($\varphi=0,390$, $p<0,05$, $\varphi=0,536$, $p<0,01$, $\varphi= 0,508$, $p<0,05$ відповідно), ускладненим перебігом запальними процесами НДШ ($\varphi=0,384$, $p<0,05$, $\varphi=0,478$, $p<0,01$, $\varphi=0,421$, $p<0,01$ відповідно), тонзилітом ($\varphi=570$, $p<0,05$, $\varphi=0,654$, $p<0,05$, $\varphi=0,654$, $p<0,05$ відповідно), бронхітом ($\varphi=0,383$, $p<0,05$, $\varphi=0,525$, $p<0,05$, $\varphi=0,531$, $p<0,05$ відповідно), пневмонією ($\varphi=0,356$, $p<0,05$, $\varphi=0,547$, $p<0,05$, $\varphi=0,499$, $p<0,05$ відповідно), простим герпесом ($\varphi=0,379$, $p<0,05$, $\varphi=0,411$, $p<0,01$, $\varphi=0,445$, $p<0,01$, відповідно) з частотою рецидивів 4 і більше протягом року ($\varphi=0,346$, $p<0,05$, $\varphi=0,490$, $p<0,05$, $\varphi=0,508$, $p<0,05$ відповідно). Отримані дані свідчать, що особи з поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 складають групу ризику розвитку ГРВІ з ускладненнями запальними процесами дихальних шляхів, і тому стали предметом нашого подальшого дослідження.

За результатами клініко-лабораторного обстеження з'ясувалося, що грип в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 перебігав типово, однак мав відмінності та тяжчий перебіг. Розподіл обстежених пацієнтів за тяжкістю перебігу грипу приведено на рис. 1.

Виявлено прямий кореляційний зв'язок мутантних генотипів TLR-3 ($\varphi=0,323$, $p<0,05$) та їхніх комбінацій з TLR-2 і TLR-4 ($\varphi=0,446$, $p<0,05$) із тяжким перебігом грипу.

При проведенні порівняльного аналізу клінічних ознак грипу встановлено, що в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 визначалися відмінності у виразності інтоксикаційного синдрому та тривалості основних клінічних симптомів. У всіх хворих домінували два основні синдроми – токсикоз і катаральні явища. Однак на головний біль частіше скаржилися пацієнти з поліморфнозміненими генотипами TLR-3 (90,9 %, $p<0,03$) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %, $p<0,002$) у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей TLR (67,7 %,).

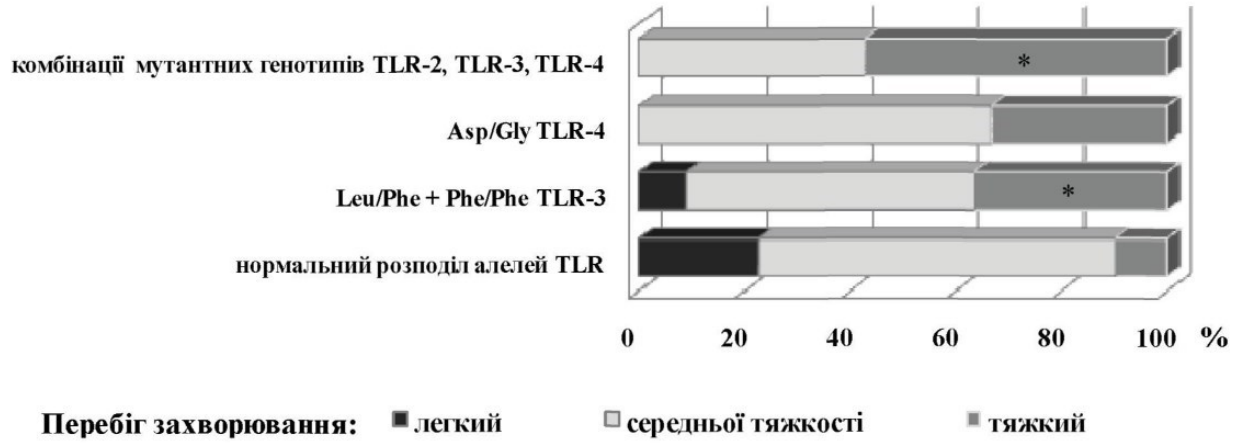

Рис. 1 Розподіл хворих за тяжкістю перебігу грипу

Примітка. *– $p<0,05$ у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Усі хворі відмічали слабкість, розбитість, адинамію, більшість – пітливість. На ломоту в тілі, артралгії, м'язові болі частіше скаржилися пацієнти з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 (Asp/Gly TLR-4 – 100,0 %, мутантними генотипами TLR-3 – 59,1 %, комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 57,1 %) у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (35,5 %). Нудота вдвічі частіше відмічалася в осіб із генотипом Asp/Gly TLR-4 (33,3 %, при нормальному розподілі алелей TLR – 12,9 %).

Із перших годин хвороби температура тіла в 31 (49,2 %) пацієнтів сягала вище 39° С, у 25 (39,7 %) була в межах 38-39° С, і лише у 7 (11,1 %) відмічався субфебрилітет. При цьому у хворих із мутантними генотипами TLR-3 (63,6 %, $p<0,02$) та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (85,7 %, $p<0,02$) достовірно частіше, в порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (32,3 %), температура перевищувала 39° С.

Катаральний синдром проявлявся сухістю, першінням у горлі, закладанням носа у всіх хворих. На кінець першої доби, іноді – на другу, у більшості пацієнтів як із мутантними генотипами (з TLR-3 – у 77,3 %, Asp/Gly TLR-4 – у 66,7 %, комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 85,7 %), так і з нормальним розподілом алелей TLR (74,2 %) виникав сухий кашель, інтенсивність якого швидко наростала. З'являлися скарги на печію та біль за грудиною, які пред'являли практично з однаковою частотою хворі із мутантними генотипами TLR-3 (9,1 %) комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (14,3 %) та нормальним розподілом алелей TLR (12,9 %). У 20 (64,5 %) хворих із нормальним розподілом алелей TLR, 10 (45,4 %) з мутантними генотипами TLR-3 та 2 (28,6 %) з комбінаціями мутацій TLR-2, TLR-3, TLR-4 з першого дня недуги носове дихання було утруднено за рахунок набряку слизової оболонки носа, проте кількість виділень була невелика. У більшості хворих відмічалися ознаки токсичного ураження центральної нервової системи. А саме на порушення сну скаржилися 16 (72,7 %) пацієнтів із мутантними генотипами TLR-3, 3 (100,0 %) з

Asp/Gly TLR-4, 5 (71,4 %) з комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 та 17 (54,8 %) із нормальним розподілом алелей TLR. Скарги на запаморочення пред'являли лише пацієнти з мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 (18,2 %, $p<0,02$ і 14,3 %, $p<0,1$ відповідно). При неускладненому перебігу грипу температурна реакція довше зберігалася у хворих із генотипом Asp/Gly TLR-4 (5,66±0,33) діб ($p<0,005$) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (6,71±1,15) діб ($p<0,05$), у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей TLR (4,51±0,23) діб. У хворих із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями їх із TLR-2 і TLR-4 довше трималися головний біль (3,25±0,37) доби ($p<0,001$) і (4,28±1,13) доби ($p<0,02$) відповідно, пітливість (4,57±0,33) доби ($p<0,01$) і (5,86±1,12) доби ($p<0,02$), біль у горлі (4,18±0,44) доби ($p<0,05$) і (4,25±0,62) доби ($p<0,1$), загальна слабкість (6,04±0,43) доби ($p<0,1$) і (8,0±2,0) доби ($p<0,1$).

При аналізі частоти основних клінічних симптомів грипу в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від тяжкості перебігу хвороби суттєвих відмінностей нами не виявлено. Проте з'ясувалося, що на головний біль при тяжкому перебігу грипу частіше скаржилися хворі із генотипами Leu/Phe та Phe/Phe TLR-3 (100,0 %, із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 33,3 %, $p<0,05$). В осіб із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 при середньотяжкому перебігу хвороби довше тривав біль у горлі – (5,20±0,37) діб ($p<0,005$) і (4,66±0,66) діб ($p<0,02$) відповідно (з нормальним розподілом алелей – 3,0±0,34), визначалася зернистість задньої стінки глотки – (4,00±0,26) діб ($p<0,05$) і (4,66±0,33) діб ($p<0,005$) відповідно (з нормальним розподілом алелей TLR – 2,75±0,44). Гіперемія ротоглотки зберігалася достовірно довше в осіб із комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (5,00±0,33) ($p<0,05$), у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR (4,09±0,20) діб. Зміни загальноклінічних лабораторних показників визначалися частіше в осіб із мутантними генотипами TLR-3, у порівнянні з хворими з нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR: при тяжкому перебігу грипу – паличкоядерний зсув лейкоцитарної формули вліво – 100,0 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 33,3 %, $p<0,01$), при середньотяжкому – лімфопенія – 50,0 % (при нормальному розподілі алелей TLR – 19,0 %, $p<0,01$).

При дослідженні частоти розвитку пневмонії при грипі встановлено, що у хворих із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 та комбінаціями мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 грип-асоційована пневмонія приєднувалася частіше (54,4 % і 50,0 % відповідно), у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей генів TLR (31,1 %, $p<0,03$, OR=2,62; 95 % CI:1,12-6,12 і $p<0,1$, OR=2,21; 95 % CI:1,65-7,52). Тобто хворі на грип із поліморфізмом генів Leu412Phe TLR-3 та комбінаціями з Arg753Gln TLR-2 і Asp299Gly TLR-4 складають групу ризику розвитку грип-асоційованої пневмонії.

Наступним етапом нашого дослідження стало з'ясування клінічних характеристик грип-асоційованих пневмоній в осіб із поліморфізмом генів

Arg753Gln TLR-2 і Asp299Gly TLR-4. При аналізі догоспітального етапу хворих на грип-асоційовані пневмонії встановлено, що пневмонія в пацієнтів із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 розвинулася переважно в перші 3 доби захворювання, що виявилося раніше, ніж у носіїв нормального розподілу алелей генів – на 2,0-2,5 доби ($p<0,02$) та, незважаючи на раннє звернення за медичною допомогою, вона була не розпізнана, що стало причиною пізньої госпіталізації (22,8 %), відтермінованого призначення противірусної і антибактеріальної терапії та, як наслідок – тяжкого і ускладненого перебігу грип-асоційованої пневмонії (51,4 %). Привертало увагу, що в жодного хворого із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, які отримували противірусні препарати на догоспітальному етапі, не розвинувся тяжкий перебіг грип-асоційованої пневмонії.

Проведений аналіз показав, що етіологічний чинник розвитку грип-асоційованих пневмоній залежав від наявності поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4. За сукупністю клініко-лабораторних та рентгенологічних даних, проведених у динаміці, а також із урахуванням результатів вірусологічного і бактеріологічного дослідження змивів із носу, ротоглотки, харкотиння, первинну вірусну пневмонію було діагностовано у 19 (38,8 %) пацієнтів, вторинну вірусно-бактеріальну – у 25 (51,0 %), бактеріальну – у 5 (10,2 %). Первинну вірусну пневмонію верифікували винятково (100,0 %) у пацієнтів із поліморфізмом Leu412Phe гену TLR-3: з генотипом Leu/Phe – у 44,4 % ($p<0,004$), Phe/Phe TLR-3 – 100,0 % ($p<0,000003$), з комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3 TLR-4 – 42,9 % ($p<0,02$) (рис. 2).

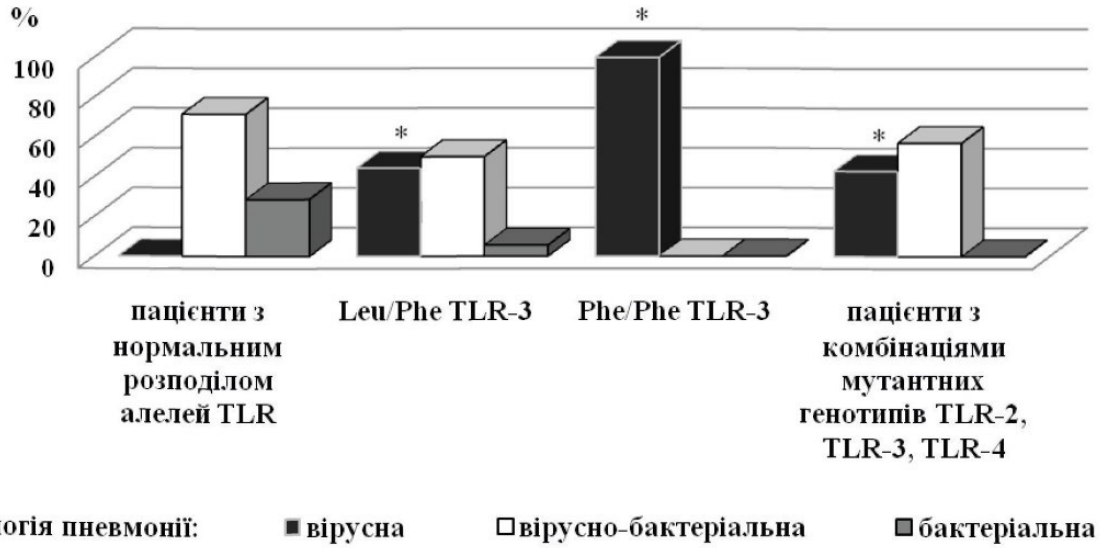

Рис. 2 Розподіл хворих із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 в залежності від етіологічного чинника грип-асоційованих пневмоній

Примітка. *– $p<0,05$ у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за точним тестом Фішера)

Установлено, що при грипі ризик розвитку вірусної пневмонії в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 вищий у 18,9 (OR=18,91; 95 % CI:1,00-367,01), Phe/Phe TLR-3 у 49,3 (OR=49,3; 95 % CI:8,93-27198,22), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у 22,5 разу (OR=22,55; 95 % CI:1,01-524,43), у порівнянні з носіями нормальних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Первинна вірусна пневмонія розвивалася на 1-3 добу від початку захворювання на грип і відрізнялася від вторинної вірусно-бактеріальної та бактеріальної пневмонії переважно тяжким перебігом (63,1 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 26,1 %, $p<0,02$, бактеріальній – 40,0 %, $p<0,1$), високою частотою двобічного (63,1 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 39,1 %, $p<0,05$, бактеріальній – 20,0 %, $p<0,1$), багаточасткового ураження легень (47,4 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 4,3 %, $p<0,002$, бактеріальній – 20,0 %, $p<0,1$), довшою тривалістю кисневої залежності – (9,08±0,77) діб (при вторинній вірусно-бактеріальній – (7,57±0,52), бактеріальній – (5,50±1,76), $p<0,05$), розвитком ГРДС (36,8 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %, $p<0,001$, бактеріальній – 20,0 %, $p<0,1$) та поліорганної недостатності (42,1 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %, $p<0,0006$, бактеріальній пневмонії – 20,0 %, $p<0,1$), вищою летальністю (21,0 %, при вторинній вірусно-бактеріальній – 0,0 %, $p<0,02$). Слід відмітити, що тяжкий перебіг первинної вірусної пневмонії найчастіше був в осіб із генотипом Phe/Phe TLR-3 (87,5 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (100,0 %), у порівнянні з носіями генотипу Leu/Phe TLR-3 (25,0 %, $p<0,04$ OR=21,0; 95 % CI:1,5-293,27 і $p<0,05$, OR=18,2; 95 % CI:1,6-494,83 відповідно).

Вторинна вірусно-бактеріальна пневмонія характеризувалася переважно перебігом середньої тяжкості (73,9 % обстежених), її діагностували як у хворих із поліморфізмом досліджуваних генів TLR (42,8 %), так і у пацієнтів із нормальним розподілом алелей (71,4 %). Проте встановлено, що тяжкий перебіг вірусно-бактеріальної пневмонії найчастіше був в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 (55,6 %) та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (50,0 %) у порівнянні з пацієнтами з нормальним розподілом алелей генів (10,0 %, $p<0,05$, OR=11,25; 95 % CI:1,9-130,23 і $p<0,05$, OR=24,0; 95 % CI:1,2-426,57), так і двобічне ураження легень: при генотипі Leu/Phe TLR-3 – 55,6 %, комбінаціях поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – 75,0 %, (при нормальному розподілі алелей генів – 10,0 %, $p<0,05$, OR=11,25; 95 % CI:1,9-130,23 і $p<0,05$ OR=27,0; 95 % CI:1,26-578,39 відповідно).

Бактеріальну пневмонію діагностували у 10,2 % хворих, вона мала переважно перебіг середньої тяжкості (60,0 %) і була верифікована лише у 2,8 % пацієнтів із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 (з нормальним розподілом алелей генів TLR-2, TLR-3 TLR-4 – у 28,6 %), що унеможливлювало проведення детального аналізу.

Ускладнення при тяжкому перебігу грип-асоційованих пневмоній розвивалися переважно в хворих із поліморфнозміненими генотипами (88,9 %). Загалом ПОН діагностували у 9, ГРДС – у 8, інфекційно-токсичний шок – у 1 пацієнта. При цьому ПОН та ГРДС вірогідно частіше розвивалися в осіб із

генотипом Phe/Phe TLR-3 (по 50,0 %, при нормальному розподілі алелей TLR – 7,1 %, p<0,03, OR=13,0; 95 % CI:1,11-152,36).

При порівняльному аналізі біохімічних показників проведених у динаміці в пацієнтів із тяжким перебігом грип-асоційованих пневмоній установлено, що у хворих із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 частіше виявлялися зміни, які свідчили про порушення функції печінки та нирок і вказували на розвиток ПОН у цієї категорії осіб. Так, вищими були активність АлАТ в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-3 (Leu/Phe – 117,00±34,57 Од, Phe/Phe – 101,33±32,74 Од, при нормальному розподілі алелей TLR – 46,56±7,18 Од, p<0,05 і p<0,1 відповідно), показник креатиніну з генотипом Phe/Phe TLR-3 (118,00±8,27 мкмоль/л, при нормальному розподілі алелей TLR – 98,33±4,98 мкмоль/л, p<0,05) та сечовини при комбінаціях поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 (6,87±0,49 ммоль/л, при нормальному розподілі алелей TLR – 5,37±0,63 ммоль/л, p<0,1).

Летальність серед пацієнтів із тяжким перебігом грип-асоційованої пневмонії склала 23,8 % (5 пацієнтів). Найвищим показник реєструвався при первинній вірусній пневмонії – 21,0 % (при вторинній вірусно-бактеріальній та бактеріальній – 3,4 %, p<0,05). Слід відмітити, що серед померлих у 4 із 5 виявлено поліморфнозмінені генотипи TLR-3, які у 2-х поєднувалися з поліморфізмом генів Asp299Gly TLR-4 та Arg753Gln TLR-2.

Отримані дані стали підставою для вивчення ефективності специфічної профілактики грипу в цієї категорії осіб, що і стало предметом нашого подальшого дослідження.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що імунна відповідь в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 розвивалася на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR. Так, через 28 днів після імунізації відмічалося наростання відсотка осіб із захисним титром антитіл як серед вакцинованих із поліморфнозміненими генотипами, так і з нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, незалежно від початкового рівня протигрипозних антитіл, що свідчить про імунологічну ефективність вакцинації. При цьому обстежені з мутантними генотипами Phe/Phe TLR-3, Asp/Gly TLR-4, Arg/Gln TLR-2 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 із початковим титром ≤ 1:20 до окремих штамів вірусу грипу, стовідсотково мали протективний рівень специфічних антитіл після вакцинації. При дослідженні рівня серопротекції в групах обстежених загалом (незалежно від початкового рівня протигрипозних антитіл) до та через 28 днів після вакцинації виявлено достовірно вищий рівень серопротекції до серотипу A/H1N1 в осіб із нормальним розподілом алелей TLR (95,0±4,9, до вакцинації – 75,0±9,7, p<0,05) та генотипом Leu/Phe TLR-3 (100,0±2,1, до вакцинації – 69,6±9,6, p<0,005), з тенденцією до вірогідності до серотипу A/H3N2 в осіб з Leu/Phe TLR-3 (95,6±4,3, до вакцинації – 82,6±7,9, p<0,1) і A/H1N1 – з генотипом Arg/Gln TLR-2 (100,0±4,5, до вакцинації – 60,0±21,9, p<0,1). За рівнем сероконверсії імунна відповідь в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 не залежала від початкового рівня специфічних антитіл та визначалася на рівні вакцинованих із

нормальним розподілом алелей TLR, а до штаму A/H1N1 виявилася вищою. А саме, рівень сероконверсії до серотипу A/H1N1 в загальній групі вакцинованих був вищим в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,5 ($p<0,05$), Arg/Gln TLR-2 – у 3,2 ($p<0,05$), Phe/Phe TLR-3 – у 2,7 разу ($p<0,1$), у порівнянні з вакцинованими з нормальним розподілом алелей TLR (рис. 3).

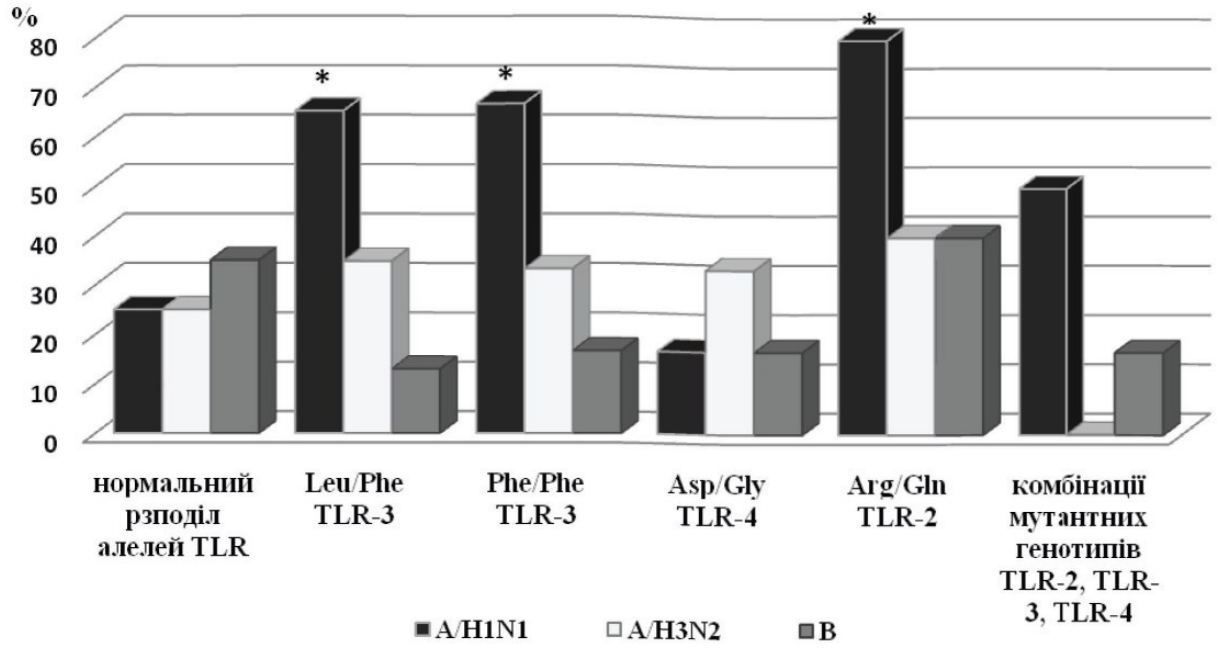

Рис. 3 Рівень сероконверсії в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з показниками осіб із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 (рівень значимості отриманий за критерієм Стьюдента)

При дослідженні динаміки середньогеометричних титрів антитіл встановлено, що на 28 день після вакцинації відбулося зростання титрів в усіх групах вакцинованих. При цьому особи з поліморфнозміненими генотипами TLR мали достовірно вищі показники до окремих вакцинних штамів. Отже, середньогеометричні титри до штаму A/H1N1 визначалися вищими в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,4 (126,9, $p<0,005$), Phe/Phe TLR-3 – у 4,2 (226,3, $p<0,001$), Arg/Gln TLR-2 – у 3,0 (160,0, $p<0,02$), комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,3 разу (179,6, $p<0,01$) у порівнянні з вакцинованими з нормальним розподілом алелей TLR (54,0). До штаму A/H3N2 відповідний показник був вищим у вакцинованих із генотипом Arg/Gln TLR-2 (320,0 при нормальному розподілі алелей TLR – 100,8, $p<0,0005$).

Катамнестичне спостереження за вакцинованими протягом 6 місяців виявило виражений профілактичний ефект вакцинації по відношенню до наступних ГРВІ в обстежених із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та з нормальним розподілом алелей TLR. Так, відсоток осіб, що хворіли на ГРВІ після вакцинації зменшився серед обстежених з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,1 ($p<0,0005$), Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 2,0 ($p<0,04$), Asp/Gly TLR-4 – у 3,0 ($p<0,01$), Arg/Gln TLR-2 та

нормальним розподілом алелей TLR – у 2,5 разу ($p<0,03$ і $p<0,004$ відповідно) (рис. 4).

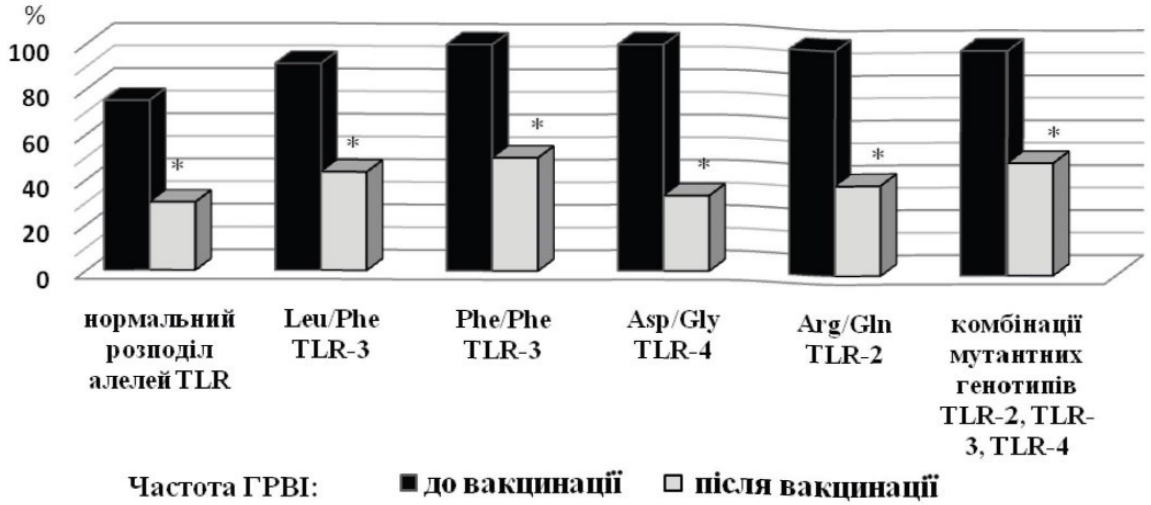

Рис. 4 Частота ГРВІ протягом епідсезону до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4

Примітка: *– $p<0,05$, у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Мак-Немара)

Слід відмітити, що на тлі вакцинації в більшості осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 та з нормальним розподілом алелей TLR, які хворіли на ГРВІ частіше 4 разів протягом епідсезону до вакцинації, відмічалося зменшення частоти епізодів до 1-2 разів: з мутантними генотипами TLR-3 Leu/Phe – у 5 із 8 ($p<0,02$), Phe/Phe – у 3 із 4, ($p<0,05$), з комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 2 із 4 ($p<0,05$). У решти обстежених, а саме з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 37,5 %, Phe/Phe – 25,0 %, з комбінацією мутантних генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 та нормальним розподілом алелей TLR – по 50,0 % жодного випадку ГРВІ в післявакцинальному періоді зареєстровано не було. Аналіз випадків ГРВІ, які виникали після імунізації показав, що вакцинація проти грипу здатна попереджати розвиток ускладнень як в осіб із мутантними генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, так і з нормальним розподілом алелей TLR. Після вакцинації відмічалося зниження відсотку ГРВІ, що мали ускладнений перебіг: в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,0 ($p<0,02$), Phe/Phe TLR-3 та комбінацією мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 3,0 рази ($p<0,02$). В обстежених із генотипом Arg/Gln TLR-2, Asp/Gly TLR-4 та нормальним розподілом алелей досліджуваних TLR ускладнення після вакцинації не реєструвалися взагалі (до вакцинації у 40,0 %, 66,7 % та 33,3 % відповідно, $p>0,05$). Вакцинація виявилася ефективним методом профілактики ускладнень ГРВІ запальними процесами НДШ в усіх групах вакцинованих (рис. 5).

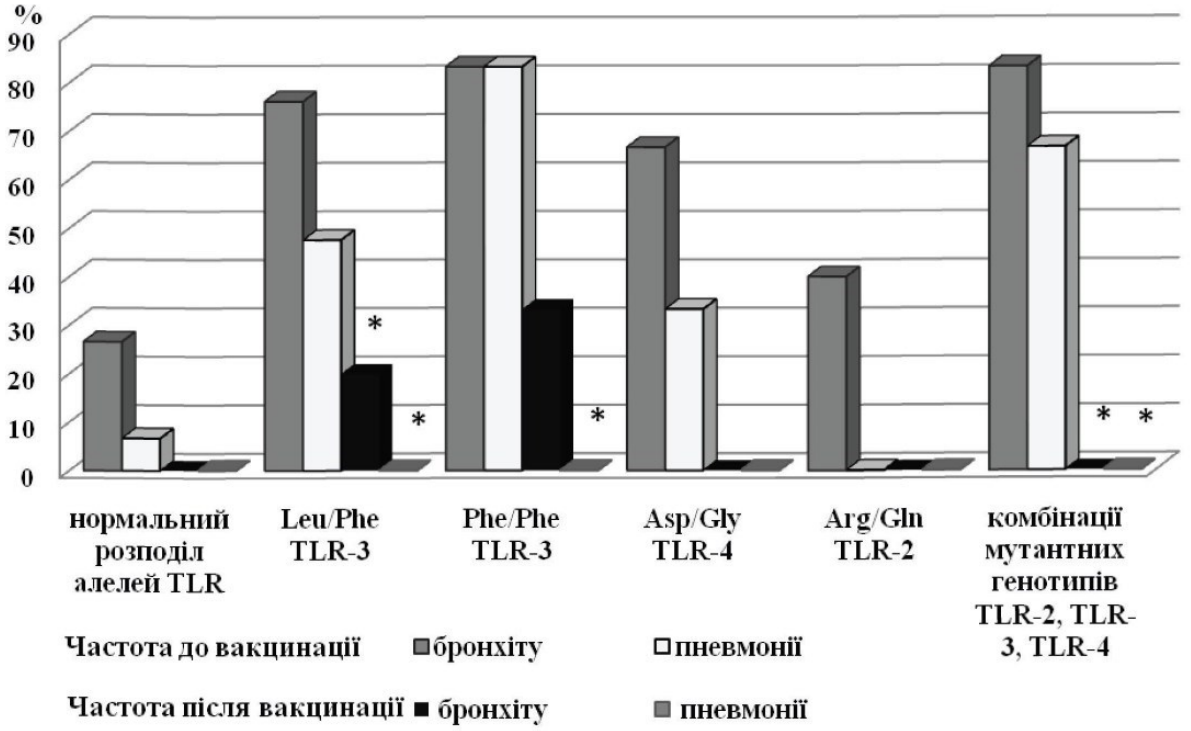

Рис. 5 Частота ускладнення ГРВІ запальними процесами НДШ до та після вакцинації в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4

Примітка: *– $p<0,05$ у порівнянні з показниками до вакцинації (рівень значимості отриманий за критерієм Мак-Немара)

Так, після вакцинації пневмонія, як ускладнення ГРВІ в осіб із мутантними генотипами та нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4 не реєструвалася. В обстежених із мутантними генотипами TLR-3 відмічалося зменшення частоти ускладнень ГРВІ бронхітом, а саме: з генотипом Leu/Phe – у 3,8 разу ($p<0,003$), Phe/Phe у 2,5, але без вірогідної різниці, в порівнянні з показником до вакцинації. В обстежених із нормальним розподілом алелей TLR, поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-4 та їхніми комбінаціями з TLR-3, дане ускладнення після вакцинації протягом епідсезону не реєструвалося.

Таким чином, проведене дослідження показало імунологічну та клініко-епідеміологічну ефективність специфічної профілактики грипу в осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4, що дозволяє рекомендувати її застосування в широкій клінічній практиці.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає в удосконаленні надання медичної допомоги хворим на грип на основі визначення клінічних особливостей перебігу та оцінки ефективності лікувально-профілактичних заходів залежно від наявності поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4.

1 Грип і грипоподібні захворювання – одна з найактуальніших медичних та соціальних проблем у зв'язку з високою питомою вагою в

інфекційній патології (80-90 %), і розвитком ускладнень, що виникають переважно в пацієнтів із груп ризику. У 30 % пацієнтів, які раніше вважалися здоровими, також можливий тяжкий і ускладнений перебіг грипу, що обумовлює необхідність подальшого вивчення факторів, які впливають на перебіг та наслідки хвороби. Вивчення ролі поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при грипі дозволить удосконалити діагностику, прогнозувати перебіг та індивідуалізувати лікувально-профілактичну тактику з урахуванням особливостей імунного реагування.

2 Поширеність мутантного алелю 299Gly TLR-4 у хворих із неускладненим перебігом грипу складає 6,4 %, з грип-асоційованими пневмоніями – 7,1 %, що перевищує показники популяційного контролю у 3,8-4,3 разу (1,7 %, $p<0,05$). Мутантний алель 412Phe TLR-3 достовірно частіше зустрічається у хворих на грип-асоційовану пневмонію (42,9 %), у порівнянні з неускладненим перебігом грипу (24,6 %, $p<0,01$) та здоровими (30,0 %, $p<0,05$). Генотип Arg753Gln TLR-2 у хворих на грип та грип-асоційовану пневмонію реєструється в комбінаціях із мутантними генотипами TLR-3 і TLR-4 з частотою 11,1 % і 14,3 % відповідно ($p<0,01$).

3 Особи з поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів, ГРВІ з частотою епізодів 4 і більше протягом року. Згідно коефіцієнта відношення шансів ризик розвитку бронхіту та пневмонії при ГРВІ вищий в осіб із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4, у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей: з генотипом Leu/Phe TLR-3 – у 2,9 ($p<0,05$), Phe/Phe TLR-3 – у 20,0 ($p<0,001$), комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 – у 12,8 разу ($p<0,01$).

4 Грип в осіб із мутантними генотипами TLR-3 та комбінаціями мутацій у генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 має особливості клінічного перебігу: вірогідно довше (на 1-3 доби, $p<0,05$) тривають основні клінічні симптоми (температура, головний біль, ломота в тілі, біль у горлі, загальна слабкість), переважає середньотяжкий (54,4 % і 42,9 % відповідно) та тяжкий (36,4 % і 57,1 % відповідно) перебіг із високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії (54,2 % і 50,0 % відповідно).

5 В осіб без загальновизнаних факторів ризику ускладненого перебігу грипу первинна вірусна пневмонія розвивається винятково у носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 (Leu/Phe – 44,4 %, OR=18,91, Phe/Phe – 100,0 %, OR=49,3) та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 (42,8 %, OR=22,55) і характеризується: раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного (63,1 %), багаточасткового (47,4 %) ураження легень, тяжким перебігом (63,1 %) з тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому (36,8 %) та поліорганної недостатності (42,1 %), високою летальністю (21,0 %).

Вторинна вірусно-бактеріальна грип-асоційована пневмонія в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями поліморфнозмінених генотипів TLR-2,

TLR-3, TLR-4 характеризується переважно тяжким перебігом (55,6 % і 50,0 % відповідно) із двобічним ураженням легень (55,6 % і 75,0 % відповідно).

6 Вакцинація проти грипу осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 є ефективною з імунною відповіддю на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, про що свідчить динаміка наростання середньогеометричних титрів антитіл до вакцинних штамів, рівень серопротекції та сероконверсії, і підтверджується клініко-епідеміологічними даними – зменшенням випадків ГРВІ в післявакцинальному періоді в 2,0-3,0 рази ($p<0,01$); запобіганням пневмонії в усіх вакцинованих та зменшенням частоти розвитку бронхіту в 2,5-3,8 разу ($p<0,01$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1 Для виявлення контингенту осіб із високим ризиком розвитку тяжкого та ускладненого перебігу грипу рекомендовано визначати поліморфізм генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4, у першу чергу особам із частими ГРВІ (більше 4 разів на рік), що ускладнюються запальними захворюваннями нижніх дихальних шляхів.

2 У практичній діяльності сімейним лікарям та лікарям-інфекціоністам необхідно враховувати, що особи з поліморфізмом генів Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 та комбінаціями з Arg753Gln TLR-2 потребують індивідуалізації лікувально-діагностичної тактики при грипі:

– призначення противірусних препаратів із першого дня хвороби;
– обов'язкової госпіталізації в профільний стаціонар для динамічного спостереження;
– рентгенографії органів грудної клітини на першому тижні у зв'язку з високим ризиком розвитку вірусної пневмонії.

3 Особам із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 без інших факторів ризику ускладнень при грипі, слід обов'язково проводити специфічну імунопрофілактику в зв'язку з високою ймовірністю розвитку тяжкого перебігу грипу та грип-асоційованої пневмонії.

4 У лікувально-профілактичних закладах інфекційного профілю (обласних, міських, районних) рекомендується впровадити спосіб прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованих пневмоній шляхом визначення поліморфізму генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 у відповідності з розробленим інформаційним листом № 179-2014 «Прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованої пневмонії».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Прийменко Н. О. Поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих з ускладненим перебігом грипу та визначення його впливу на перебіг грип-асоційованої пневмонії / Н. О. Прийменко // Актуальні проблеми сучасної медицини: ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії. – 2013. – Т. 13, № 3(43). – С. 233-238.

2. Прийменко Н. О. Роль поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у формуванні сприйнятливості до запальних захворювань дихальних шляхів //

Н. О. Прийменко // Актуальні проблеми сучасної медицини: ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії. – 2013. – Т. 13, № 2(42). – С. 152-156.

3. Прийменко Н. О. Особливості преморбідного фону та перебігу пневмоній при грипі в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Н. О. Прийменко // Інфекційні хвороби. – 2013. – № 3(73). – С. 18-23.

4. Дубинська Г. М. Особливості перебігу пневмоній при грипі в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко // Одеський медичний журнал. – 2014. – № 1(141). – С. 38-42. *(Дисертантом вивчені дані літератури, обстежені хворі на грип-асоційовані пневмонії, статистично опрацьовані отримані результати, обґрунтовані висновки*).

5. Дубинская Г. М. Роль полиморфизма генов TLR-2, TLR-3, TLR-4 при гриппе / Г. М. Дубинская, Н. О. Прийменко, И. П. Кайдашев, В. И. Похилько, К. Ф. Чуб // Gergian medical news.– 2014.– № 7-8(232-233).– С.51-55. *(Дисертантом обрана тема, проведено клініко-генетичне обстеження, обґрунтування висновків)*.

6. Дубинська Г. М. Визначення імунологічної ефективності специфічної профілактики грипу в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, О. М. Ізюмська, С. С. Руденко, О. В. Артемьєва // Актуальні проблеми сучасної медицини: ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14, № 4(48). – С. 63-66. *(Здобувачем проведено обстеження вакцинованих, статистичну обробку отриманих результатів, формулювання висновків, підготовку до друку)*.

7. Інформаційний лист 179-2014 Прогнозування тяжкого та ускладненого перебігу грип-асоційованої пневмонії / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, І. П. Кайдашев, О. М. Ізюмська, В. А. Боднар, Т. М. Котелевська, Н. П. Свириденко, Л. Г. Волошина // підписано до друку 12.05.2014. – Укрмедпатентінформ. – Київ, 2014.

8. Дубинська Г. М. Поширеність поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 у хворих з ускладненим перебігом грипу в Полтавській області // Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, В. Ф. Шаповал, О. А. Шликова, С. І.Ковтун // Епідеміологічні та клінічні аспекти профілактики, діагностики та лікування розповсюджених інфекційних хвороб сучасності: мат. наук.-практ. конф., 26-27 травня 2012 р. – Харків, 2012. – С. 103-104. *(Дисертантом проведено пошук літератури, статистична обробка даних, підготовка роботи до друку)*.

9. Дубинська Г. М. Клініко-лабораторні особливості перебігу пневмоній при грипі в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, О. А. Шликова // Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти: : мат. наук.-практ. конф., 19-20 червня 2013 р. – Суми, 2013. – С. 37-39. *(Здобувачем проведено пошук літератури, клінічне обстеження хворих та статистична обробка даних)*.

10. Прийменко Н. О. Вплив поліморфізму генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 на формування сприйнятливості до запальних захворювань дихальних шляхів і перебіг пневмонії при грипі / Н. О. Прийменко, Г. М. Дубинська, О. М. Ізюмська // Вірусні хвороби. ВІЛ-інфекція/СНІД: мат. наук.-практ. конф. з міжнародною

участю, 3-4 жовтня 2013 р. – Алушта, 2013. – С. 276-278. *(Дисертантом особисто проаналізована література за темою, проведені статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів дослідження)*.

11. Дубинська Г. М. Оцінка ефективності вакцинації проти грипу в осіб із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 / Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, І. І. Байбарза // Фармакотерапія інфекційних захворювань: мат. наук.-практ. конф., 24-25 квітня 2014 р. – Київ, 2014. – С. 26-27. *(Здобувачем проведено обстеження вакцинованих, статистичну обробку отриманих результатів, формулювання висновків, підготовку до друку)*.

АНОТАЦІЯ

Прийменко Н. О. Оптимізація лікувально-профілактичних заходів при грипі у хворих із поліморфізмом генів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13 – інфекційні хвороби. – ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України», Київ, 2015.

У дисертаційній роботі представлені результати клініко-лабораторного обстеження 112 хворих на грип (63 з неускладненим перебігом і 49 з грип-асоційованою пневмонією) та 170 здорових.

Установлено, що серед хворих на грип і грип-асоційовану пневмонію достовірно частіше виявляються мутантний алель 299Gly TLR-4 та комбінації поліморфізмів Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Частота мутантної алелі 412Phe TLR-3 вища серед хворих на грип-асоційовану пневмонію.

Доведено, що особи із поліморфнозміненими генотипами TLR-2, TLR-3, TLR-4 мають підвищену схильність до запальних захворювань верхніх і нижніх дихальних шляхів, частих (більше 4 разів на рік) ГРВІ, при яких ризик розвитку ураження НДШ достовірно вищий, у порівнянні з носіями нормального розподілу алелей.

Установлено, що грип у пацієнтів із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 при типовій клінічній картині відрізняється більшою тривалістю основних клінічних симптомів, переважанням середньотяжкого та тяжкого перебігу, високою частотою розвитку грип-асоційованої пневмонії.

Доведено, що в хворих із поліморфізмом генів TLR-2, TLR-3, TLR-4 при відсутності загальновизнаних факторів ризику розвитку ускладнень первинна вірусна пневмонія розвивається винятково у носіїв поліморфнозмінених генотипів TLR-3 та їхніх комбінацій з Asp/Gly TLR-4 та Arg/Gln TLR-2 і характеризується: раннім розвитком (на 1-3 добу), переважанням двобічного, багаточасткового ураження легень, тяжким перебігом із тривалою кисневою залежністю, розвитком гострого респіраторного дистрес-синдрому та поліорганної недостатності, більшою летальністю. Установлено, що вторинна вірусно-бактеріальна грип-асоційована пневмонія в осіб із генотипом Leu/Phe TLR-3 та комбінаціями

поліморфнозмінених генотипів TLR-2, TLR-3, TLR-4 характеризується переважно тяжким перебігом із двобічним ураженням легень.

Вивчена ефективність вакцинації проти грипу в осіб із поліморфізмом генів Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 і доведено, що за імунними та клініко-епідеміологічними показниками вона визначається на рівні вакцинованих із нормальним розподілом алелей TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Ключові слова: грип, грип-асоційована пневмонія, поліморфізм, вакцинація, генотип.

АННОТАЦИЯ

Прийменко Н. О. Оптимизация лечебно-профилактических мероприятий при гриппе у больных с полиморфизмом генов Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.13 – инфекционные болезни. – ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней имени Л. В. Громашевского НАМН Украины», Киев, 2015.

В диссертационной работе представлены результаты клинического и лабораторного обследования 112 больных с неосложненным течением гриппа и грипп-ассоциированной пневмонией. Группу популяционного контроля составили 170 здоровых лиц аналогичного возраста. Углубленное клинико-анамнестическое обследование для изучения связи полиморфизма генов Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 с воспалительными заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей проведено 98 лицам. Эффективность специфической профилактики гриппа исследовали у 66 вакцинированных.

Установлено, что среди больных гриппом и грипп-ассоциированной пневмонией достоверно чаще выявляется мутантная аллель 299Gly TLR-4 и комбинации полиморфизмов Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4. Частота аллеля 412Phe TLR-3 выше среди больных грипп-ассоциированной пневмонией.

Выявлена связь между носительством полиморфноизмененных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 и повышенной склонностью к воспалительным заболеваниям верхних и нижних дыхательных путей, ОРВИ с частотой эпизодов 4 и более в течение года. Установлено, что риск развития бронхита и пневмонии при ОРВИ выше у лиц с генотипом Leu/Phe TLR-3 – в 2,9, Phe/Phe TLR-3 – в 20,0, комбинациями полиморфноизмененных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 – в 12,8 раза, по сравнению с носителями нормального распределения аллелей генов TLR-2, TLR-3, TLR-4.

Доказано, что грипп у лиц с мутантными генотипами TLR-3 и комбинациями мутаций в генах TLR-2, TLR-3, TLR-4 имеет особенности клинического течения: дольше продолжаются основные клинические симптомы (температура, головная боль, ломота в теле, боль в горле, общая слабость), преобладает среднетяжелое и тяжелое течение с высокой частотой развития грипп-ассоциированной пневмонии (54,2 % и 50,0 % соответственно).

Установлено, что у лиц без общепризнанных факторов риска осложненного течения гриппа первичная вирусная пневмония развивалась исключительно у носителей полиморфноизмененных генотипов TLR-3 (Leu/Phe – 44,4 %, Phe/Phe – 100,0 %) и их комбинациями с Asp/Gly TLR-4 и Arg/Gln TLR-2 (42,8 %) и характеризовалась: ранним развитием (на 1-3 сутки), преобладанием двустороннего, мультилобарного поражения легких, тяжелым течением с длительной кислородной зависимостью, развитием острого респираторного дистресс-синдрома и полиорганной недостаточности, высокой летальностью. Вторичная вирусно-бактериальная грипп-ассоциированная пневмония у лиц с генотипом Leu/Phe TLR-3 и комбинациями полиморфноизмененных генотипов TLR-2, TLR-3, TLR-4 характеризовалась преимущественно тяжелым течением с двусторонним поражением легких.

Доказано, что вакцинация против гриппа у лиц с полиморфизмом генов Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 является эффективной с иммунным ответом на уровне вакцинированных с нормальным распределением аллелей TLR-2, TLR-3, TLR-4, о чем свидетельствует динамика нарастания среднегеометрических титров антител к вакцинным штаммам, уровень серопротекции, сероконверсии и подтверждается клинико-эпидемиологическими данными (уменьшением случаев ОРВИ в поствакцинальном периоде в 2,0-3,0 раза; предотвращением осложнений пневмонией у всех вакцинированных и уменьшением частоты развития бронхита в 2,5-3,8 раза.

Ключевые слова: грипп, грипп-ассоциированная пневмония, полиморфизм, вакцинация, генотип.

ANNOTATION

Pryimenko N. O. Optimization of preventive measures in case of grippe for patients with Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 genes polymorphisms. - Manuscript.

Thesis for the scientific degree of a candidate of medical sciences, specialty 14.01.13 - infectious diseases. – SI "Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L.V. Gromashevsky of NAMS Ukraine", Kiev, 2015.

The results of clinical and laboratory examination including 112 patients with grippe (63patients with uncomplicated course and 49 patients with grippe-associated pneumonia) and 170 healthy people have been presented in the thesis.

It has been established that mutant allele 299Gly TLR-4 and combinations of polymorphisms Arg753Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 are revealed significantly more frequent among patients with grippe and grippe-associated pneumonia. The frequency of mutant allele 412Phe TLR-3 is higher among patients with grippe-associated pneumonia.

It has been proved that individuals with modified polymorphic genotypes TLR-2, TLR-3, TLR-4 possess increased susceptibility to inflammatory diseases of upper and lower respiratory tract, frequent acute respiratory viral infections (more than 4 times a year) with significantly higher risk of lower respiratory tract destruction compared with the carries of normal distribution of alleles.

It has been established that grippe in patients with Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 genes polymorphisms in case of typical clinical picture is notable for prolonged major clinical symptoms as well as the prevalence of moderate and severe course, high incidence of grippe-associated pneumonia.

It has been proved that among patients with TLR-2, TLR-3, TLR-4 genes polymorphisms without common risk factors for complications development the primary viral pneumonia develops solely in carriers of modified polymorphic genotypes TLR-3 and their combinations with Asp/Gly TLR-4 and Arg/Gln TLR-2; it is characterized by the following: early onset (on the1st – 3rd day), prevalence of bilateral, multiple lungs lesion, severe course with prolonged oxygen dependence, development of acute respiratory distress syndrome and multiple organ failure, greater lethality. It has been established that secondary viral and bacterial grippe-associated pneumonia in patients with Leu/Phe TLR-3 genotype and combinations of modified polymorphic genotypes TLR-2, TLR-3, TLR-4 is mainly characterized by the severe course with bilateral lungs lesion.

The effectiveness of grippe vaccination in patients with Arg573Gln TLR-2, Leu412Phe TLR-3, Asp299Gly TLR-4 genes polymorphisms has been studied; it has been proved that according to the immune and clinical-epidemiological parameters the effectiveness is determined at a rate of the vaccinated patients with normal distribution of TLR-2, TLR- 3, TLR-4 alleles.

Key-words: grippe, grippe-associated pneumonia, polymorphism, vaccination, genotype.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза
АсАТ – аспартатамінотрансфераза
АТ – артеріальний тиск
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
ГРВІ – гостра респіраторна вірусна інфекція
ГРДС – гострий респіраторний дистрес-синдром
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
длРНК – дволанцюгова РНК
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я
НДШ – нижні дихальні шляхи
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
ПОН – поліорганна недостатність
РГГА – реакція гальмування гемаглютинації
Asp/Gly – гетерозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 4
Arg/Gln – гетерозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 2
Arg/Arg – гомозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 2
Phe/Phe – гомозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 3
Leu/Phe – гетерозигота мутантного типу Toll-подібного рецептора 3
TLR – Toll-подібний рецептор
299Gly – мутантний алель Toll-подібного рецептора 4
412Phe – мутантний алель Toll-подібного рецептора 3

Підписано до друку 21.08.2015 р.
Папір офсетний. Друк трафаретний.
Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Формат 60×84/16. Зам. № 749.

Виготовлювач: ТОВ "Фірма "Техсервіс".
Адреса: 36011, м. Полтава, вул. В. Міщенка, 2.
Тел.: (0532) 56-36-71.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
серія ДК № 4421 від 16.10.2012 р.