

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО**

На правах рукопису

ГАЙДУЧОК ІГОР ГРИГОРОВИЧ

УДК 616-092.19-008.61:(612.13/.16-018.74+616.155.33)

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ ХЛАМІДІЙНОЇ ІНФЕКЦІЇ
ТА ІМУНОДЕФІЦИТУ: ІМУНОПАТОГЕНЕЗ ТА
ІМУНОДІАГНОСТИКА**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація

на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
доктор медичних наук, професор
Чоп'як Валентина Володимирівна

Львів – 2008

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	5
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ І. НАУКОВІ ВІДОМОСТІ ПРО ОСНОВНІ ЛАНКИ ІМУНОПАТОГЕНЕЗУ, КЛІНІЧНІ ПРОЯВИ ХЛАМІДІОЗУ ТА ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ.....	14
1.1. Механізм розвитку гіперімунокомплексного синдрому – основна ланка патогенезу хламідійної інфекції.....	14
1.2. Особливості хламідій та клінічні прояви захворювань, зумовлених цими мікроорганізмами.....	20
1.3. Особливості імунної відповіді при хронічній хламідійній інфекції.....	31
РОЗДІЛ ІІ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	38
2.1. Об'єкти досліджень та умови проведення експерименту.....	38
2.2. Методи дослідження.....	40
2.2.1. Визначення концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові	41
2.2.2. Визначення загальної комплементарної активності сироватки крові	41
2.2.3. Отримання клітин нейтрофілів та моноцитів	42
2.2.4. Оцінка фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів	42
2.2.5. Нітросиній тетразолієвий тест спонтанний та стимульований.....	43
2.2.6. Визначення активності NO-синтаз.....	43
2.2.6.1. Визначення активності сумарної конститутивної (Ca ²⁺ - залежної) NO-синтази (cNOS)	44

2.2.6.2. Визначення активності індукцибельної (Ca ²⁺ - незалежної) NO-синтази (iNOS)	44
2.2.7. Визначення вмісту нітрит-аніону (NO ₂ ⁻)	45
2.2.8. Визначення вмісту нітрат-аніону (NO ₃ ⁻)	45
2.2.9. Визначення вмісту білка за Бретфордом.....	46
2.2.10. Визначення антихламідійних антитіл – специфічних імуноглобулінів класу M, G, A	46
2.2.11. Визначення тумор-некротичного фактору – альфа, інтерлейкінів-2, -4, -10 в сироватці крові	47
2.2.12. Визначення гамма-інтерферону в сироватці крові	48
2.2.13. Визначення теплового шокowego протеїну – 60 та основного мембранного білка хламідій в сироватці крові	49
2.2.14. Фенотипування лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії	50
2.2.15. Електронно-мікроскопічні дослідження.....	51
2.2.16. Статистична обробка результатів.....	52

РОЗДІЛ III. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Характеристика активності систем фагоцитозу та комплементу крові інтактних тварин та тварин з хронічним гіперімунокомплексним синдромом	53
3.2. Оцінка синтезу оксиду азоту в нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому.....	57
3.3. Ультраструктурна характеристика нейтрофільних гранулоцитів та мононуклеарних фагоцитів периферійної крові та ендотеліоцитів грудної аорти за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому.....	60
3.4. Ультраструктурна характеристика ендотеліоцитів черевної аорти білих щурів у нормі та при хронічному гіперімунокомплексному синдромі....	66

РОЗДІЛ IV. КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	70
4.1. Оцінка молекулярно-генетичних досліджень хламідійної інфекції в хворих	70
4.2. Оцінка стану систем фагоцитозу та комплементу хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.....	75
4.3. Фенотипування лімфоцитів та активізаційні та їх маркери хворих на хламідійну інфекції з проявами імунодефіциту	86
4.4. Цитокіновий баланс у сироватці хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.....	97
4.5. Зміни гуморальних показників імунної системи хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.....	106

РОЗДІЛ V. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	116
--	------------

ВИСНОВКИ.....	129
----------------------	------------

РЕКОМЕНДАЦІЇ НАУКОВОГО ТА ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	131
--	------------

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	132
--	------------

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- АБА – аберантні (атипові) тільця
- АГ – антиген
- АТ – антитіло
- АФК – активні форми кисню
- ЕТ - елементарні тільця
- ГІКС –гіперімунокомплексний синдром
- ІД – імунодефіцит
- ІК – імунні комплекси
- ІХС – ішемічна хвороба серця
- ЛПС - ліпополісахарид
- ІФА – імуноферментний аналіз
- МПО – мієлопероксидаза
- НСТ – нітросиній-тетразолієвий тест
- НСТ сп – нітросиній-тетразолієвий тест – спонтанний
- НСТ ст – нітросиній-тетразолієвий тест – стимульований
- НК – натуральні кіллери
- ОБЗМ – основний білок зовнішньої мембрани
- ПМЯЛ – поліморфоядерні лейкоцити
- ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
- ПЛР – полімеразно-ланцюгова реакція
- ПТ – прміжні тільця
- РТ – ретикулярні тільця
- Т – Т-хелпери (помічники) лімфоцити
- Т – Т- цитотоксичні лімфоцити
- ФК – фагоцитарний показник
- ХГІК – хронічна гіперімунокомплексемія

ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень

ЦКК – циркулюючі імунні комплекси

ЦНС – центральна нервова система

AP – (activator protein) – активуючий білок-1

B – бурсозалежні лімфоцити

CD – кластер диференціації

CH50 – комплементарна активність за 50% гемолізом

C5a – фрагмент C5 компонента комплементу

C3b – фрагмент C3b компонента комплементу

CR1 – рецептор до комплементу типу 1

DR – другий клас локусу HLA - системи

FNT α – фактор некрозу пухлин α

Fas - (CD95) – мембранний клітинний рецептор

Fab – антитілобудуючий фрагмент Ig

Fc - (fragment crystalline) – фрагмент молекули імуноглобуліну

Fc γ RI (CD64) – рецептор для IgG

Fc γ RII (CD32) – рецептор для IgG

Fc γ RIII (CD16) – рецептор для IgG

HLA – людська лейкоцитарна система антигенів

HSP60 – білок теплового шоку 60

IL – інтерлейкіни

INF - інтерферон

H₂O₂ – пероксид водню

Ig – імуноглобулін

LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen) антиген, пов'язаний із функцією лімфоцитів

MCP – моноцитарний хемотаксичний протеїн

M6MP – основний білок зовнішньої мембрани

NF- κ B – нуклеотидний фактор- κ B

NK – натуральні кілери

NO_2^- нітрит аніон

NO_3^- нітрат аніон

cNOS - конститутивна NO-синтаза

eNOS – ендотеліальна NO-синтаза

iNOS – індуцибельна NO-синтаза

nNOS – нейрональна NO-синтаза

NO – оксид азоту

O_2^- - супероксид аніон-радикал

O_3^- - супероксид аніон-радикал

OH – гідроксил-радикал

PAR- 2 – (proteinase-activated receptor-2) – рецептор, активований протеїназами

PKC – протеїнкіназа C

PLD – фосфоліпаза D

RANTES (regulation on activation normal T- cell expressed and secreted) - регуляція активації, експресії і секреції нормальних T- клітин

ВСТУП

Патогенез хронічної хламідійної інфекції дотепер є предметом різнобічного вивчення [114, 118, 284]. Механізми, які сприяють хронічній персистенції хламідійної інфекції, тісно пов'язані з формуванням порушеного природного та набутого імунного нагляду над нею [61]. Особливо небезпечна хронічна хламідійна інфекція з частими реактиваціями, які можуть зумовлювати розвиток постхламідійних ускладнень – урогенітальних, офтальмологічних, суглобових, респіраторних, кардіологічних, неврологічних тощо [64, 290].

Активацію цієї інфекції, а особливо формування її ускладнень, супроводжує гіперімунокомплексний синдром, вивчення якого залишається актуальним питанням в патофізіології [233]. Відомо, що гіперімунокомплексний синдром є провідною ланкою ряду інфекційних захворювань, а також автоімунних, пухлинних тощо [234]. Механізми розвитку цього синдрому звикли трактувати як гіперсенситивний прояв імунної відповіді, але останніми роками він оцінюється як ознака імунної недостатності, яка пов'язана з послабленням функцій системи фагоцитів [97]. Цей синдром може супроводжуватись також продукцією структурно-неповноцінних антитіл, зниженою активністю “осліплених” імунними комплексами лімфоцитів. При тривалій персистенції хламідій спостерігається розвиток хронічного гіперімунокомплексного синдрому, а також автоімунних ускладнень цієї інфекції, пов'язаних із формуванням хвороби Рейтера, вторинних постхламідійних системних васкулітів, увертів, набутих неревматичних вад серця, бронхіальної астми тощо [72, 193, 235].

Відомо, що потужним резервуаром хламідій в організмі є циркулюючі та фіксовані фагоцити. Активність цих клітин тісно пов'язана з формуванням гіперімунокомплексемії [53]. Недостатньо вивченим є метаболізм оксиду азоту – імуноопосередкованого вазоактивного фактору, який значною мірою

продукуються фагоцитами [139,255]. Він може визначати предикторні фактори перебудови природної і адаптивної імунної відповіді та впливати на розвиток імунодефіцитних проявів, а також автоімунних запальних ускладнень [153]. Зміни обміну L-аргініну в фагоцитах, особливо його NO- синтазного шляху активації, можуть зумовлювати зниження захисних механізмів організму з розвитком метаболічно-імунної дизадаптації [27, 245].

У зв'язку з тим виникає необхідність глибшого розуміння патогенезу хронічної хламідійної інфекції з синдромом гіперімунокомплексемії, перебудови імунної відповіді в хворих на хламідіоз, з проявами імунодефіциту та автоімунними ускладненнями [128]. Такий напрямок досліджень надалі може створити перспективу та дозволити впливати на зменшення кількості неплідних шлюбів, спричинених хламідійною інфекцією, суглобових та офтальмологічних ускладнень із розвитком швидкої інвалідизації молодих людей, формування у них раннього атеросклерозу, хронічних обструктивних захворювань легень, активізацію розробок патогенетичних методів лікування та профілактики хвороб, зумовлених хламідійною інфекцією [79].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами
Дисертаційна робота є фрагментом планової міжкафедральної науково-дослідної роботи на тему “Імуно-ендотеліально-епітеліальнозалежні механізми в розвитку гіперімунокомплексного синдрому в експерименті і клініці”, яка виконувалась на кафедрах клінічної імунології та алергології, патологічної фізіології та ендоскопії і малоінвазивної хірургії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (№ держреєстрації 0101U009233). У виконанні цієї роботи дисертант приймав участь у моделюванні хронічного гіперімунокомплексного синдрому та виявленні хворих на хламідіоз із супутнім гіперімунокомплексним синдромом та проявами імунодефіциту.

Тема дисертаційної роботи затверджена проблемною комісією МОЗ та АМН України “Клінічна імунологія та алергологія” 20 квітня 2004 р. (протокол №3).

Мета дослідження. Вивчити особливості функціонально-структурних змін фагоцитів за умов гіперімунокомплексного синдрому в експерименті та його роль в розвитку хронічної хламідійної інфекції в хворих з проявами імунодефіциту.

Завдання дослідження:

1. Оцінити фагоцитарну, окисно-відновну, NO-залежну активність фагоцитів крові щурів за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому.
2. Охарактеризувати електронно-мікроскопічні особливості змін фагоцитів крові та ендотеліоцитів аорти щурів за умов хронічної гіперімунокомплексного синдрому.
3. Виявити особливості стану фагоцитарної ланки імунної системи хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексним синдромом та за умов імунодефіцитних проявів.
4. Проаналізувати адаптивну імунну відповідь – лімфоцитарну та антитілозалежну в хворих на хламідіоз, а також у поєднанні з гіперімунокомплексним синдромом та імунодефіцитом.
5. Оцінити цитокіновий регуляторний баланс у хворих на хламідійну інфекцію з супутнім гіперімунокомплексним синдромом та проявами імунодефіциту.
6. Охарактеризувати імунологічні маркери імунодефіциту та автоімунних ускладнень у хворих на хламідійну інфекцію.

Об'єкт дослідження – хронічний гіперімунокомплексний синдром та хронічна хламідійна інфекція із супутнім гіперімунокомплексним синдромом та проявами імунодефіциту.

Предмет дослідження – показники захоплювальної, окисно-відновної, NO-залежної активності фагоцитів крові, їх ультраструктура в контрольних та дослідних тварин за умов експериментального хронічного гіперімунокомплексного синдрому, а також показники поглинальної та ферментативної активності циркулюючих мікро- та макрофагоцитів, популяцій

та субпопуляцій лімфоцитів, їх функціональної активності, специфічної антитілопродукції, регуляторних цитокінів та маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідіоз.

Методи дослідження. З метою вивчення особливостей функціонально-структурних змін фагоцитів за умов гіперімунокомплексного синдрому в експерименті та їх ролі в розвитку хламідійної інфекції з формуванням імунодефіциту були застосовані такі методи: цитологічні, цитохімічні, імунофлюоресцентні, нефелометричні, імуноферментні, біохімічні, електронно-мікроскопічні та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів:

- Уперше з'ясовано особливості змін NO-залежної активності нейтрофілів та моноцитів крові щурів на формування у них фагоцитарного імунодефіциту з проявами глибоких структурних змін цих клітин за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому в експерименті;

- уперше оцінено поєднання гіперімунокомплексного синдрому хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту за кількісним та функціональним фагоцитарним типом;

- уперше оцінено прояви імунодефіциту в хворих на хламідійну інфекцію на основі адаптаційної гуморальної імунної відповіді, пов'язаної з інтенсивністю синтезу специфічних антитіл і їх авідністю;

- уперше охарактеризовано внутрішньоклітинні цитокіно-регуляторні механізми Т-хелперів 1 та 2 типів у хворих на хламідійну інфекцію в поєднанні з гіперімунокомплексним синдромом та імунодефіцитом.

Практичне значення одержаних результатів.

Результати проведених досліджень дозволять:

- визначити вікові та статеві особливості хворих на хламідійну інфекцію, а також умови розвитку в них імунодефіциту;

- оцінити імунологічні критерії формування імунодефіциту на тлі хламідійної інфекції у хворих;

- діагностувати патогенетичні типи імунодефіциту (фагоцитарний,

лімфоцитарний, антитілозалежний) та його клінічні форми (інфекційна, інфекційно-автоімунна) в хворих на хламідійну інфекцію;

- рекомендувати ранні діагностичні маркери автоімунних ускладнень хламідійної інфекції;

- диференційовано підійти до призначення патогенетичної імуотропної терапії в хворих на хронічний хламідіоз із проявами імунодефіциту.

Теоретичні та практичні узагальнення роботи викладені в інформаційному листі “Гіперімунокомплексний синдром в клініці та експерименті: діагностичні підходи“ (№227-2004) та актах впровадження, які використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри загальної і клінічної патофізіології Одеського державного медичного університету, кафедрах патологічної фізіології, внутрішньої медицини з клінічною імунологією та алергологією Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, на кафедрах патофізіології та ендокринології, клінічної імунології, алергології Донецького державного медичного університету ім. О. М. Горького, кафедрі клінічної імунології та алергології Київського національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. На основі проведеного інформаційного пошуку та літературного огляду автором спільно з науковим керівником сформульовано мету і завдання дослідження та обрано адекватну модель і методики. Під час виконання експериментальної частини здобувач брав участь у проведенні біохімічних, імунологічних та морфологічних досліджень. Автором самостійно були проконсультовані та відібрані хворі на хламідіоз, сформовані групи хворих. Імунологічні обстеження хворих проводились в імунологічних лабораторіях кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького та Львівського

регіонального медичного центру клінічної імунології та алергології, біохімічні дослідження – в Інституті біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, морфологічні – у лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Автор самостійно провів статистичну обробку результатів дослідження, проаналізував і узагальнив отримані результати, написав усі розділи дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, викладено матеріал дисертації, отриманий у процесі досліджень. У тій частині актів впровадження, що стосується науково-практичної новизни, викладено матеріал дисертації. Висновки та практичні рекомендації сформульовано спільно з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на пленумі Наукового товариства патологіологів України (Одеса, 2002), науково-практичному семінарі з міжнародною участю “Клінічна імунологія та алергологія: погляд у майбутнє” (Львів; Трускавець, 2004), IV національному конгресі патологіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004), науково-практичній конференції “Стан і перспективи розвитку медичної генетики, алергології та клінічної імунології” (Трускавець, 2005), VII науково-практичній конференції Українського товариства фахівців з імунології, алергології та імунореабілітації “Діагностика, та лікування TORCH-інфекцій та хламідіозу” (Київ, 2006), II Національному конгресі з клінічної імунології та алергології “Сучасні здобутки клінічної імунології та алергології” (Миргород, 2007).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 робіт, із них 5 статей у фахових наукових журналах рекомендованих ВАК України, 1 інформаційний лист, 3 тези в матеріалах наукових з’їздів, конференцій та конгресів.

РОЗДІЛ І

НАУКОВІ ВІДОМОСТІ ПРО ОСНОВНІ ЛАНКИ ІМУНОПАТОГЕНЕЗУ, КЛІНІЧНІ ПРОЯВИ ХЛАМІДІОЗУ ТА ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ

1.1. Механізм розвитку гіперімунокомплексного синдрому – основна ланка патогенезу хламідійної інфекції

Питання хронічного гіперімунокомплексного синдрому є актуальною проблемою практичної медицини. Ця патогенетична ланка супроводжує низку автоімуноагресивних, алергічних, запальних та онкологічних захворювань. Понад два десятиліття тому Leber P. та R. McCluskey ввели в практичну медицину нову нозологічну форму захворювань – імунокомплексні, які посідають вагомим місце в патології внутрішніх хвороб [61].

На даний час експериментальними моделями хвороб імунних комплексів є реакція Артюса – локалізований гострий некротизуючий васкуліт, патогенетично найбільш просте ураження, автоімунні реакції у мишей NZB/NZW, які супроводжуються хворобою імунних комплексів, та сироваткова хвороба. Сироваткову хворобу провокують довенним введенням розчинного чужорідного білка, наприклад бичачого сироваткового альбуміну. При сироватковій хворобі циркулюючі в крові ІК відкладаються в стінках кровоносних судин, що призводить до підвищення судинної проникливості, аж до розвитку запалення, як це відбувається при гломерулонефриті та артриті [8].

Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) постійно утворюються і в здоровому організмі, що є одним із механізмів нормальної імунної відповіді, спрямованим на підтримку внутрішнього гомеостазу організму. При еквімолярних співвідношеннях у плазмі антигенів (АГ) і антитіл (АТ) вони преципітуються та елімінуються з кровоплину фагоцитами [251]. При імунокомплексних захворюваннях розвивається 3-й тип імунопатологічних

реакцій за класифікацією G.H. Gall, R.R. Coombs: при первинному потрапленні антигену як екзо-, так і ендogenous походження (віруси, бактерії, продукти розпаду клітин і т.д), на нього відбувається продукування антитіл, найчастіше – імуноглобулінів класу G і M, які фіксуються на клітинних мембранах, переважно тучних, гладком'язових клітин і клітин шкіри. Цей процес – продукування і фіксації АТ – прийнято називати сенсibiliзацією [284]. Період піврозпаду IgG становить, у середньому, 30–35 днів, і якщо за цей час не відбувається наступний контакт з АГ, АТ розпадаються і захворювання не виникає. При повторному контакті організму з АГ утворюються циркулюючі імунні комплекси. Взаємодія АГ із АТ здійснюється за допомогою водневих зв'язків, гiдрoфoбнoї взаємодії, електростатичних, кулонових та Ван-дер-Ваальсових сил. Припускають, що при їх зв'язуванні відбувається зміна кута у “шарнірній” ділянці АТ [71].

Концентрація ЦіК залежить від швидкості їх утворення, кількості АГ, інтенсивності синтезу АТ, хімічних і фізичних властивостей АГ і АТ та від швидкості їх видалення системою фагоцитів [124]. Молекулярна маса ЦіК визначає їх розмір, який є важливим показником патогенності, а також швидкість елімінації з організму. “Великі” ЦіК упродовж 60 хвилин на 90% зникають із кровоплину і є порівняно мало патогенні. “Малі” ЦіК погано елімінуються, тривало персистують у циркуляції, і їх 90% кліренс відбувається 4 доби. Вони відкладаються субендотеліально, але не здатні активувати систему комплементу. ЦіК “середнього” розміру мають високу комплементзв'язуючу здатність і є найбільш патогенними [8, 15, 22, 199].

Оскільки синтез антитіл перебуває під генетичним контролем, спадковість, можливо, відіграє опосередковану роль у розвитку імунокомплексних хвороб. Вважають, що генетичний дефект, який сприяє утворенню низькоафінних антитіл, цілком може обумовлювати формування дрібних комплексів і тим самим – розвиток хвороби імунних комплексів [185].

Здатність активувати систему комплементу та взаємодіяти з рецепторами до Fc-фрагменту, розташованими на мембранах різних клітин, зумовлюють

роль імунних комплексів (ІК) у розвитку запалення та регуляції функціональної активності імунної системи [179, 260, 286]. Хоча роль комплементу в розвитку імунокомплексного процесу розцінюють двояко. З одного боку, активація ІК системи комплементу є провідним фактором розвитку імунного запалення. З іншого, як показано в експериментальних дослідженнях, комплемент здатний розчиняти ІК і навіть зумовлювати зникнення імунних комплексів, які відклалися в тканинах. Це пов'язують із тим, що включення С3b у структуру ІК не тільки змінює первинні зв'язки АГ і АТ, а й призводить до перебудови їх зв'язків шляхом розриву міжмолекулярних зв'язків за рахунок конкурентного неспецифічного зв'язування С3b, який має велику спорідненість до Fc- або Fab-детермінант ІgG [199].

Як правило, за нормальних умов, ІК, які відклалися в тканинах, зникають унаслідок місцевої активації комплементу та фагоцитозу місцевими фагоцитами. ІК після активації комплементу опсонізуються С3b і знищуються мононуклеарними фагоцитами, переважно в печінці і селезінці. Елімінація відбувається за участю С3b-рецепторів (CR1) [61]. У людей CR1 присутні, в основному, на еритроцитах. На кожному еритроциті – близько 700 рецепторів, і їх ефективність підвищується за рахунок кластеризації, що створює можливість високоавідного зв'язування великих комплексів. Експериментально показано, що CR1 легко зв'язують лише ті комплекси, які фіксували комплемент [179]. Еритроцити виконують функцію буфера, зв'язуючи ІК та ефективно видаляючи їх із плазми. Комплекси переносяться в печінку і селезінку, де їх “виловлюють” із крові тканинні макрофаги цих органів. При цьому видаляється й велика кількість CR1. Тому у разі постійного утворення ІК кількість активних рецепторів на еритроцитах постійно зменшується, що знижує ефективність транспорту комплексів. Швидкість кліренсу ІК залежить від класу імуноглобулінів. ІgG-комплекси зв'язуються з еритроцитами і видаляються із крові поступово, відкладаються найчастіше в розгалуженнях судин, синовіальній оболонці суглобів. У той же час ІgM- та

IgA-комплекси погано зв'язуються з еритроцитами, але зникають із крові швидше. Вони, в основному, відкладаються в нирках, легенях і мозку [153].

Ще однією причиною персистенції ІК можуть бути дефекти фагоцитів [97]. При великій кількості комплексів можливе перенавантаження системи полі- та мононуклеарних фагоцитів, що призводить до збільшення комплексів у крові і відкладання їх у тканинах. Важливу роль у видаленні ІК фагоцитами виконують вуглеводневі групи молекул імуноглобулінів. Так, показано, що відсутність кінцевого залишку галактози в олігосахаридному ланцюгу Fc-фрагмента імуноглобулінів посилює зв'язування ревматоїдного фактора. Нещодавно встановлено, що з антитілами, які не містять залишку галактози, взаємодіє мананзв'язуючий білок, що призводить до активації комплементу [217]. Все це сприяє тривалій циркуляції ЦІК у кровотоці та їх підвищеному відкладанню в судинному ендотелії різних органів і систем [225]. Локалізація органів-мішеней обумовлена тими ділянками, де до компонентів ІК наявно найбільше рецепторів, або там, де йдуть інтенсивні процеси фільтрації (капіляри клубочків нирок, судинна система ока та ін), турбулентний рух крові або там, звідки йде надходження АГ. Вважають, що відкладення великих ІК провокує ураження шкіри і суглобів, а дрібні депозити ІК обумовлюють абдомінальні та ниркові ураження [251].

Патогенетичний вплив ІК також обумовлений активацією медіаторних систем плазми або дією на різні види клітин, які мають Fc-рецептори для зв'язаного імуноглобуліну або для зв'язаного комплементу (C3b) [98, 162, 286]. Вазоактивні аміни, які виділяються тромбоцитами, базофілами і тучними клітинами, спричиняють ретракцію клітин ендотелію, збільшуючи тим самим проникливість судин, і створюють можливість відкладання імунних комплексів на їх стінках. У присутності ІК активуються макрофаги, які вивільняють прозапальні цитокіни, в першу чергу – TNF- α і IL-1 [199].

У персистенції ІК при хронічній гіперімунотоксемії важливу роль відіграють цитокіни, підвищений вміст яких посилює міграцію клітин, стимулює розвиток респіраторного “вибуху” фагоцитів, унаслідок чого

посилюється деструктивна дія цих клітин [266]. Хронічну персистенцію ЦІК із дефіцитом фагоцитів спостерігали при гіперпродукції ІЛ-4 [106]. Але все ж механізми дії цитокінів потребують поглибленого аналізу за умов ХГІС.

Дослідження, проведені впродовж останніх років, засвідчують, що процеси утворення та відкладання ІК залежать від рівня оксиду азоту [230]. Утворення NO[•] в організмі відбувається при ферментативному окисненні L-аргініну і показано в багатьох клітинах і тканинах [210]. Синтез NO[•] здійснюється родиною цитохром Р-450-подібних гемпротейнів – NO-синтаз, молекули яких містять домени з редуктазною та оксигеназною активністю, внаслідок чого відбувається окиснення L-аргініну з утворенням L-цитруліну і NO[•] [225]. За характером індукції і дії ферменти розділяють на два класи: І – кальцій- і кальмодулінзалежні, які експресуються конститутивно, поділяються на ендотеліальну (eNOS) і нейрональну (nNOS) ізоформи, ІІ – кальційнезалежна, яка експресується індукційно (iNOS) під дією прозапальних цитокінів [70]. Оксид азоту виконує низку важливих фізіологічних функцій, беручи участь у біохімічних механізмах, які лежать в основі функціонування різних органів і систем. Однак зміни вмісту оксиду азоту (як недостатність, так і надлишок його синтезу) призводять до серйозних порушень функцій організму [84, 214].

Деякі дослідники [178, 280] схиляються до думки, що процеси утворення та відкладання ІК залежать від рівня оксиду азоту та активних форм кисню. До того ж, NO значно посилює утворення ІК в присутності супероксид-аніон-радикала (O₂^{•-}). Описано вплив взаємодії NO[•] та його метаболіту нітрит-аніону з пероксидом водню (H₂O₂) і мієлопероксидазою (МПО) на зв'язування ІК [161, 272]. Детальні дослідження показали, що саме NO₂⁻, а не NO₃⁻-аніони здатні посилювати процеси комплексоутворення. NO₂⁻-аніон частково пригнічує НОСІ-індуковане утворення ІК, а це засвідчує, що процеси комплексоутворення є винятково результатом взаємодії NO₂⁻-аніону з МПО і H₂O₂ [163]. Те, що NO[•] прямо чи опосередковано зв'язаний з

імунокомплексним ушкодженням тканин, показано в роботі Nishimura M. і співавторів [260].

Велика кількість патологічних процесів, які виникають при дії ІК, обумовлює різноманітність клініко-морфологічних проявів імунокомплексної хвороби [199]. Виділяють миттевий, гострий і хронічний перебіги імунокомплексної хвороби. Миттєва імунокомплексна хвороба виникає при масивному і швидкому проникненні антигенів в організм. ІК, що циркулюють у загальному кровотоці, фіксуються на стінках судин мікроциркуляторного русла і обумовлюють розвиток генералізованої мікроангіотромбопатії [256]. Патоморфологічно розрізняють виражені зміни дрібних судин аж до фібриноїдного некрозу, більшість артеріол паралітично розширені. У змінених стінках судин, у тромбах виявляють ІК – імуноглобуліни і комплемент. У нирках особливо страждають капіляри клубочків, імуногістохімічно в них виявляють компоненти ІК, електронно-мікроскопічно – депозити ІК. Фіксують глибоке ушкодження лімфоїдних органів, аж до їх спустошення, що пов'язано з багатоклоновою імуносупресивною дією ІК [160].

При гострому перебігові імунокомплексної хвороби основними проявами є ураження нирок, васкуліт (артеріїт), ендокардит і міокардит, артрит, шкірні васкуліти. В артеріях знаходять проліферацію ендотеліальних клітин, лейкоцитарну інфільтрацію стінки, зруйновану внутрішню еластичну мембрану, фібриноїдний некроз [61].

Хронічна імунокомплексна хвороба виникає внаслідок персистенції антигену в організмі або його тривалого надходження. Для неї характерні хронічні васкуліт і гломерулонефрит із подальшим склерозом і проявами реакції гіперчутливості сповільненого типу. Для кожної нозологічної форми характерним є свій, унікальний спектр ЦІК, однак кінетика їх утворення і подальша доля в організмі підпорядковані загальним закономірностям, властивим імунокомплексному процесу в цілому [188].

Завдяки дослідженням [6, 12, 181], встановлено патогенетичну роль ЦІК у персистуванні збудників в організмі, а комплекси поділені на інфекційні та

імунні [153]. Виявлено прогностичне значення ЦК при бешиховому запаленні, представлені дані аналізу кількості ЦК у хворих залежно від типу цукрового діабету та наявності ангіопатій [139]. Підвищення рівня ЦК у хворих на інфаркт міокарда пов'язано з великими ІК. Зростання кількості великих ЦК, мабуть, є захисною реакцією організму на підтримку гомеостазу шляхом стимуляції гуморальної відповіді, з одного боку, та розвитком гострофазових запальних реакцій – з іншого [287]. Проведені дослідження, які підтверджують важливу роль ІК в імунopatологічних та запальних процесах при atopічному дерматиті [284].

Таким чином, підвищений вміст циркулюючих імунних комплексів відіграє провідну роль у патогенезі багатьох захворювань, зокрема інфекційних, автоімунних, пухлинних. Гіперімунокомплексний синдром супроводжує хронічну хламідійну інфекцію. Їх збільшення може свідчити про вираженість патологічного процесу, а зниження активності системи комплементу, гальмування моноцитарно-макрофагальної системи, підвищення проникливості судин та зниження функціональної активності місцевих захисних факторів – основні причини, які призводять до відкладання ІК у тканинах. До факторів, які визначають накопичення ІК у тканинах та їх патогенетичну роль, відносять їх розмір, співвідношення антигену до антиліла та функціональну активність імункомпетентних клітин. Однак роботи останнього часу засвідчують, що в процесах комплексоутворення та їх відкладання в тканинах залучені різноманітні молекулярні механізми в клітині, розуміння яких потребує подальшого детального дослідження, особливо за умов хламідійної інфекції.

1.2. Особливості хламідій та клінічні прояви інфекційних захворювань, зумовлених цими мікроорганізмами

У 1950р. К. Harkness, аналізуючи мазки із уретри чоловіків з негонококовим уретритом, вперше виявив у складі епітеліальних клітин специфічні “включення”, які він визначив як «великі віруси — хламідії [137].

Свою назву хламідії отримали від грецької мови «Chlamus» (плащ) через те, що їх внутрішньоклітинні мікроколонії виглядають ніби огорнуті мантиєю (хламідою). Хламідії — грамнегативні коковидні дрібні бактерії, що втратили деякі механізми вироблення метаболічної енергії, що обумовлює їх внутрішньоклітинний ріст. Існуюча класифікація мікроорганізмів відносить хламідії до порядку Chlamydiales, що становить одну сім'ю Chlamydiaceae, яка включає один рід Chlamydia (C). У його склад входять чотири види *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* і *C. pecorum*. Їх виділення базується на фенотипних особливостях збудників, серед яких – здатність накопичувати глікоген та стійкість до сульфадіазину. Застосування нових методологічних підходів до швидко розширюючого масиву даних в межах хламідіології дало змогу К. Ewerett et al. розробити нову класифікацію порядку Chlamidiales, основними критеріями якої є дані про первинну структуру генів 16s і 23S rRNAs, а також фенотипічні та екологічні особливості мікроорганізмів [13,220].

Патогенні для людини *C. trachomatis* розподіляють на 15 серотипів: L-I, L-II, L-III - пов'язані з венеричною лімфогранульозомою; A, B, Ba і C – з гіперендемичною трахомою; серотипи від D до K – з інфекціями сечостатевої системи і захворюванням очей. У випадку хламідіозів має місце так званий "третій варіант" взаємодії паразит-хазяїн, коли не відбувається ані загибелі макроорганізму, ані елімінації мікроба, а зберігається рівновага між захисними силами і патогенним впливом збудника. Однак, хламідії не просто перебувають в організмі. Вони включають складний каскад запальних та імунних реакцій, які призводять до поступового розвитку патологічних проявів в уражених органах [17].

Хламідії мають загальний термостабільний родоспецифічний антиген — ліпополісахарид, вуглеводний компонент, зв'язаний з ліпідом А. Ліпополісахарид хламідій за складом близький до ліпополісахариду грамнегативних бактерій, особливо *Salmonella sp.*, яка володіє ендотоксиноподібною активністю. Структура клітинної стінки хламідій подібна до структури грамнегативних бактерій, за винятком дефіциту пептогліканового

шару. Приблизно 60% загальної маси мембранних білків складає головний білок зовнішньої мембрани. Його молекулярна маса варіює від 38 до 45кД. Основний білок зовнішньої мембрани (ОБЗМ - МOMP) різних видів хламідій виявляє високогомологічну послідовність, але також містить різні сероспецифічні епітопи, експоновані на поверхні елементарних тілець. Епітопи виду і підвиду розташовані в стабільних ділянках ОБЗМ. Головний білок, виконуючи функцію структурного білка іпорину, виявляється протягом усього життєвого циклу хламідій. Для *S. trachomatis* встановлено, що власне глікозидна частина глікопротеїну її ОБЗМ залучена в процес інфікування клітини господаря [21].

S. psittaci і серовар LGVCA *S. trachomatis* викликають інфекцію в різних типах клітин, включаючи мононуклеарні фагоцити, що характерно для системного розповсюдження інфекції. *S. trachomatis* характеризується тропізмом до слизової оболонки епітелію, інфекція має тенденцію залишатися локальною або поширюватися по всій слизовій оболонці. Отримано дані про виявлення *S. trachomatis* у субепітеліальних тканинах, де вона може доволі довго персистувати. *S. pneumoniae* розмножується в альвеолярних макрофагах, у моноцитах та ендотеліальних клітинах судин; при якому також можливе системне поширення інфекції [181].

Цикл розвитку хламідій протікає в цитоплазматичному включенні паразитоформної вакуолі, що сама по собі проходить складний цикл розвитку і є прикладом того, як паразит змушує клітину працювати на себе. Життєвий цикл хламідій нагадує процес споруляції в інших бактерій, стійких в зовнішньому середовищі, що знаходяться в метаболічному спокої, тобто спороподібні форми і метаболічно активні вегетативні форми. Основними формами хламідій є елементарні (ЕТ) і ретикулярні (РТ) тільця (синонім: ініціальні тільця). Проміжні форми, що виявляються в циклі розвитку, визначаються як перехідні чи проміжні тільця (ПТ). Ці форми мають ультраструктурні, біологічні і функціональні відмінності, подібні в різних представників *Chlamydia*. Зрілою формою збудника урогенітальних хламідіозів

(так само, як і інших хламідій) є сферичне ЕТ діаметром 250-300 нм. Основна функція ЕТ - вижити тривалий час у позаклітинному середовищі, тобто у багатоклітинного організму в зовнішньому середовищі та інфікувати чутливу клітину. Зовні вони обмежені двома тришаровими (унітарними) мембранами кожна товщиною 8 нм, які мембрани є морфологічними аналогами клітинної стінки і цитоплазматичної мембрани грамнегативних бактерій. Усередині ЕТ знаходиться цитоплазма, що містить рибосоми і нуклеоїд. А метаболічні процеси в ЕТ знаходяться у стані спокою [151].

Клітинна стінка з проміжним шаром, що знаходиться під нею, яку розглядають як аналог пептидогліканового шару грамнегативних бактерій, відповідає за ригідність ЕТ. Ці тільця зберігають форму сфери як усередині, так і поза клітиною господаря. Клітинна стінка містить різні антигенні компоненти, що виявляються за допомогою імунологічних реакцій. Цитоплазматична мембрана ЕТ тісно прилягає до цитоплазми й до щільного компактного нуклеоїду. Цитоплазма ЕТ відрізняється значною щільністю і містить щільно упаковані рибосоми і дрібні гранули полісахаридної природи. Нуклеоїд, що містить генетичний апарат ЕТ — щільно упаковану ДНК, часто має ексцентричне розташування, що характерно для вірулентних штамів хламідій. Потрапляючи всередину чутливої клітини, ЕТ швидко починають трансформуватися в РТ, притому в деяких штамів за 1-2 години. При цьому відбувається деконденсація щільно упакованої бактеріальної хромосоми, що зі стану "надспіралізації" переходить у "релаксовану" кільцеподібну форму. Це необхідно для експресії багатьох генів, що кодують необхідні для життєдіяльності ферменти і структурні макромолекули [40, 105].

Ретикулярні тільця являють собою вегетативну форму хламідій, що утворюється в середині клітини господаря, яка здатна до розмноження і є попередником нового покоління ЕТ. Ці тільця дуже лабільні, володіють вираженою метаболічною активністю, являють собою овальні чи округлі утворення із середніми розмірами 400-600x800-1000 нм. Форма РТ залежить від щільності упакування включення і прилягаючих морфологічних структур у

хламідій, що розмножуються. РТ оточені двома тришаровими мембранами, що подібні до зовнішньої мембрани і цитоплазматичної мембрани грамнегативних бактерій. В ультратонких зрізах товщина кожної з цих мембран близько 8 нм. На поверхні клітинної стінки РТ виявлено мікрокапсулу в вигляді пластівцевого матеріалу, що так само як і сама клітинна стінка, містить полісахариди. Клітинна стінка РТ так само, як і клітинна стінка ЕТ, містить антигенні компоненти, що виявляються в імунологічних реакціях. Ригідний шар клітинної стінки в РТ відсутній, що пояснює її високу пластичність. Між клітинною стінкою та цитоплазматичною мембраною знаходиться периплазматичний простір — периплазматичний шар. Цитоплазматична мембрана обмежує протопласт РТ, що містить цитоплазму з рибосомами та нуклеоїд, представлений фібрилами ДНК. Іноді нуклеоїд може займати центральну частину протопласту. В ультратонких зрізах молекула ДНК має вигляд нещільно упакованих фібрил у вигляді сітчастих (ретикулярних) структур товщиною 24 нм. Перехідні, чи проміжні, тільки утворюються на двох стадіях циклу розвитку хламідій: на ранній, при перетворенні ЕТ у РТ (дисперсні ПТ), і на пізній, при реорганізації РТ у ЕТ (конденсовані ПТ). Морфологічно вони дуже подібні, але відрізняються за спрямованістю процесів, що відбуваються в них. ПТ звичайно мають розміри трохи більші, ніж ЕТ, вони обмежені клітинною стінкою та цитоплазматичною мембраною. Внутрішній їх вміст представлений фібрилярним нуклеоїдом різного ступеня конденсації і рибосомами. Рибосоми виявляються в цитоплазмі, розташованій по периферії ПТ [94, 100].

Представлені характеристики основних форм хламідій вказують на подібність структури РТ із грамнегативними бактеріями, функціональні відмінності РТ і ЕТ знайшли відображення й у їхньому визначенні: РТ , як "вегетативних" і ЕТ, як "спороподібних" форм хламідій. ЕТ і РТ мають різні тинкторіальні властивості, що дозволяє диференціювати ці форми при світловій мікроскопії. Таким чином, ЕТ– форма внутрішньоклітинного існування паразита, лабільна фаза клітин господаря. що забезпечує репродукцію

мікроорганізму, при тому тільки одне ЕТ може давати від 200 до 1000 “інфекційних одиниць” [26, 285].

Хламідії володіють всіма основними ознаками бактерій: розмножуються бінарним розподілом, містять два типи нуклеїнових кислот РНК і ДНК, рибосоми, муратову кислоту, як і грамнегативні бактерії. Разом з тим, двофазний життєвий цикл хламідій їх істотно відрізняє від бактерій. Розмір хламідій становить 0,25—1,5мкм. За морфологічними ознаками елементарні тільця можуть бути округлі (*C. trachomatis*, *C. psittaci*) або грушеподібні (*C. pneumoniae*). Хімічний склад: ДНК— 3,4%; РНК—2,7%; білки — 33%; вуглеводи — 1,7%; ліпіди — 40-60% [11, 191].

Хламідії у вигляді ЕТ добре адаптовані до позаклітинного виживання, метаболічно мало активні, резистентні до осмотичного шоку. Вони мають міцну клітинну стінку завдяки дисульфідним зв'язкам між двома багатими цистеїном білками: білком оболонки і зовнішнім мембранним ліпопротеїном з молекулярною масою 12 кД. Сам головний білок зовнішньої мембрани елементарних тілець існує у виді димерів завдяки дисульфідним місткам, що сприяє їх ригідності. Упровадження хламідій відбувається шляхом ендоцитозу: в одних випадках тканинні макрофаги фагоцитують хламідій за допомогою псевдоподій, для інших клітин характерна інвагінація ділянки плазмеломы з адсорбованим ЕТ у цитоплазму з утворенням фагоцитарної вакуолі. Характерною рисою ЕТ також є їхня здатність стимулювати свій ендоцитоз і пригнічувати злиття лізосом з фагосоною, що містить хламідії у клітині господаря, що перешкоджає реалізації лізосомальної активності, що призводить до деструкції хламідій у фаголізосомальній системі еукаритної клітини [165].

Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що морфологія хламідійних включень при інфекції *C. trachomatis* і *C. pneumoniae* та тривале існування хламідій мають свої особливості. Крім типових ЕТ і РТ, з'являються так звані атипові «аберантні» тільця (АБТ), кількість яких зростає. За ступенем електронної щільності АБТ наближаються до РТ, а їх розміри можуть бути або

великими (у 4-5 разів більше, ніж звичайні РТ), або дрібними, порівняно з ЕТ [42, 142].

Дослідженнями, які були проведені А.А.Шаткіним і співав. в НДІ епідеміології та мікробіології ім.М.Ф. Гамалії, показали можливість спадкової передача хламідійної інфекції. Було доказано, що *S. trachomatis* здатна персистувати в культурі клітин до трьох років, а *S. pneumoniae* — більше двох років [114].

Уретральний і респіраторний хламідіози, збудниками яких є *S. trachomatis* та *S. pneumoniae* значно розповсюджені у природі і тому залишаються актуальними у медичній практиці. Поруч із щорічним ростом кількості хворих, ці інфекції характеризується високою частотою несприятливого перебігу, в тому числі розвитком хронічних форм. Медико-соціальні аспекти хламідіозів визначаються не лише фізичними стражданнями хворого, але й серйозними наслідками хвороби: непліддям, викиднями, важкими захворюваннями новонародженого, зумовленими *S. trachomatis*, розвитком атипової пневмонії, бронхіту, бронхіальної астми і серцево-судинних захворювань, зумовленими *S. pneumoniae* [105].

За даними Маврова І. І. *S. pneumoniae* може локалізуватися в ендотеліальних клітинах незміненої судинної стінки різних ділянок судинного русла. Розвиток реакції на антигени хламідій, що локалізуються в стінці коронарних судин, може призводити до швидкого звуження їх просвіту і розвитку ішемії міокарду. Інфікування хламідіями хворих атеросклерозом досягає 55,3%, а ризик розвитку гострого інфаркту в цих випадках зростає вдвічі [114].

Урогенітальна інфекція – найчастіша причина непліддя і розвитку реактивних артритів, а також фактор ризику розвитку онкологічних процесів у сечостатевої системі. Інфікування хламідіями вагітних жінок є частою причиною перинатальних інфекцій, а інфікування немовлят при пологах становить більше 50%. Хламідії виявлено у 33,4% новонароджених, які народились від матері з хламідійною інфекцією, при чому виявились вони з

кон'юктиви, вульви, змістовного слухового проходу, у 31,2% випадків виділено хламідії у навколоплідних водах, у 38,8% випадках виділено хламідії з плаценти [43, 120].

У світі щороку реєструється 89 мільйонів нових випадків хламідіозу. Інфікування *C. trachomatis* на сьогодні є найчастішим серед інфекцій, що передаються статевим шляхом, і вражає чоловіків та жінок активного фертильного віку від 20 до 40 років. В промислово розвинутих країнах 30% населення протягом свого життя 2-3 рази інфікується цим збудником. У Німеччині щороку реєструється близько 1 млн., а в США – 4 млн. осіб, інфікованих хламідіями [121].

Хламідіоз – типовий приклад так званої «повільної бактеріальної інфекції», основні ознаки якої визначили V. Blaser і J. Parsonnet у 1994р. «Повільні» бактерії можуть персистувати в організмі господаря десятиліттями, зберігаючи патогенні властивості. Іншими словами, встановлено «третій варіант» взаємодії паразит-господар, коли не відбувається ні загибелі мікроорганізму, ні елімінація мікроорганізму, а зберігається рівновага між захисними силами організму і патогенним впливом збудника. Однак, хламідії не просто існують в організмі. Вони включають складний каскад запальних та імунних реакцій, які обумовлюють постійне прогресування патологічних процесів в уражених органах [78].

На даний час характерним є збільшення кількості прихованих форм хламідіозів — хламідіоносійство, коли під час обстеження пацієнтів у більшості випадків хламідії не виявлено, відсутні клінічні прояви, що свідчить про наявність вогнищевої інфекції, і в той же час хворі є збудниками зараження. *S. pneumoniae*, яка зумовлює 15-25% патології дихальної системи, частіше всього поширена у вигляді безсимптомного носійства: до 90% усіх штамів виділяються із слизових оболонок ротоглотки в осіб без ознак якого-небудь захворювання. Описані випадки отиту, пневмонії, менінгоенцефаліта, ендокардита, аортита хламідійної етіології [273].

У 1988 р. фінські дослідники Saikku P. et al. виявили більш значне поширення інфекції, зумовленої *S. pneumoniae* (штам TWAR), серед хворих на ІХС, ніж в здоровій популяції. Автори знайшли підвищені титри антитіл класів IgG і/або IgA до *S. pneumoniae* у 68% хворих з гострим інфарктом міокарда і в 50% хворих з хронічною ІХС, тоді як в контрольній групі високі титри було виявлено лише в 17% обстежених. Подібні результати були отримані й іншими авторами, що дозволило обговорювати роль *S. pneumoniae* у розвитку атеросклерозу [105, 165, 235, 274].

Персистенція *S. pneumoniae* усередині атеросклеротичних бляшок може сприяти розвитку захворювань серцево-судинної системи, Інфекція, обумовлена *S. pneumoniae*, перебігає у вигляді пневмонії, гострого і хронічного бронхіту, фарингіту, синуситу, отиту. Захворювання малосимптомні, можливим є реінфікування хламідіями і у цьому випадку перебіг хвороби більш важкий, ніж при первинному інфікуванні. Хламідійний інфекційний процес може бути провокуючим фактором приступу бронхоспазму, а збудник — стати основним алергеном у розвитку бронхіальної астми у дітей. Показано, що у дітей з бронхіальною астмою віком до п'яти років, інфікованих хламідіями, бронхоспазм виникає вірогідно частіше, ніж у неінфікованих [152].

При хронічному бронхіті хламідійна інфекція може сприяти прогресуванню захворювання за рахунок токсичного впливу на епітеліальні клітини, порушення функціональної активності миготливого епітелію і посилення запального процесу, обумовленого продукцією цитокінів запалення. У великому контрольованому дослідженні була виявлена досить висока частота інфікування *S. pneumoniae* пацієнтів із загостреннями хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ). Показано, що *S. pneumoniae* може бути єдиним етіологічним агентом ХОЗЛ або брати участь у виникненні змішаних інфекцій, викликаних різними бактеріальними патогенами. У пацієнтів із загостреннями астми в ряді випадків виявляють ознаки гострої або хронічної інфекції, викликані *S. pneumoniae*, при тому хламідійна інфекція може сприяти розвиткові запальних змін дихальних шляхів і виникненню

хронічної астми [145]. *S. pneumoniae* є етіологічним агентом до 20% всіх випадків пневмонії. Клінічні прояви захворювання можуть варіювати від слабо виражених до важких, причому останні частіше реєструються в людей старшого віку і пацієнтів із супутніми серцево-легеневими поразками. У проспективному дослідженні, проведеному у Фінляндії, показано, що у 19,6% бактеріальних пневмоній у дітей у віці до 15 років були викликані *S. pneumoniae*. Діти молодше 5 років хворіли хламідійною пневмонією в 2 рази рідше, ніж діти більш старшого віку. В іншому проспективному дослідженні протягом 15 місяців було обстежено 109 дорослих пацієнтів із пневмонією. Мікробна етіологія була встановлена в 80% випадків захворювання, а бактеріальними агентами, що виявляються найбільш часто, виявилися *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* і *S. pneumoniae*, що викликали пневмонію в 30%, 22% і 13% пацієнтів відповідно [117, 193, 200].

Бактерії можуть заноситися в коронарні та інші артерії моноцитами периферичної крові. Інфікування і поява перших ознак атероматозних пошкоджень в молодому віці може бути обумовлене власне цим процесом. Протягом життя можливі повторні зараження *S. pneumoniae*, що підвищують ризик атеросклерозу. Етіологічна роль *S. pneumoniae* у розвитку атеросклерозу може бути побічно підтверджена здатністю представників роду *Chlamydia* брати участь у розвитку інших хронічних захворювань, наприклад, трахоми і запальних захворювань органів малого таза [15, 172, 200, 241].

Попередня інфекція, викликана *Chlamydia pneumoniae*, у два рази підвищує ризик захворювань судин серця. Крім того, зв'язок між хламідійною інфекцією і серцево-судинною патологією була продемонстрована при виявленні ДНК *S. pneumoniae* методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в атеросклеротичних бляшках артерій. Автори іншої роботи використовували метод ПЛР для аналізу тканини аневрismi аорти і виявили ДНК *S. pneumoniae* у 11 з 25 (44%) досліджених зразків. Крім того, геном *S. pneumoniae* був присутній у деяких зразках стегнових і зухвинних артерій, а також зухвинних вен. Застосування ПЛР для дослідження зразків аорти, легеневої артерії і

передсердя, отриманих від осіб у віці від 4 місяців до 60 років, показало, що *S. pneumoniae* був присутнім у тканинах пацієнтів, чий вік перевищував 15 років. Однак геном *S. pneumoniae* удавалося знайти вже на ранніх стадіях атероматозного ураження судин, що свідчило про можливу етіологічну ролі збудника в розвитку атеросклерозу[267].

В Україні перші повідомлення про зв'язок хламідійної інфекції з розвитком ІХС та її ускладнень з'явилися на початку 90-х років. Перші дослідження в цьому напрямку були проведені в Інституті дерматології і венерології АМН України й в Інституті терапії АМН України [115].

Протягом останніх років активно проводять дослідження концепції стабільності атеросклеротичної бляшки. Серед причин, що дестабілізують бляшку і приводять до її розриву і тромбозу, основна роль належить запальним процесам. Цілком логічно, що як тригерний фактор запалення, може виступати і *S. pneumoniae*. Хламідії задовольняють всім умовам, необхідним для даної гіпотези: значна поширеність, тропізм до стінок артерій, здатність персистувати, латентність, можливість повторної інфекції [173, 174, 233].

Хламідії, і особливо *S. pneumoniae*, можуть бути етіологічними агентами гострих інфекцій ЦНС, а також викликати хронічні неврологічні захворювання. Патогенез захворювань може бути обумовлений запальними й атеросклеротичними поразками стінок судин з наступною тромбоемболією. Не виключено також, що ушкодження тканини ЦНС, що спостерігаються в пацієнтів з розсіяним склерозом, зв'язані з імунопатологічними реакціями організму на хламідійну інфекцію. До одержання безперечних доказів етіологічної ролі хламідій у виникненні захворювань ЦНС і одержання позитивних результатів контрольованих клінічних досліджень нема рації використовувати антибіотики для лікування таких хворих. Якщо припущення про ролі хламідій у виникненні неврологічних захворювань виявляться справедливими, то в майбутньому ефективна профілактика і лікування хламідійних інфекцій зможуть привести до зниження захворюваності деякими серйозними хворобами ЦНС [249].

Таким чином, клінічна різноманітність хламідійної інфекції дозволяє припустити спільність патогенетичної ланки розвитку захворювань, ймовірно, пов'язаних з гіперімунокомплексним синдромом, наслідком якого може бути порушена функціональна здатність фагоцитів, які є головним резервуаром різних типів хламідій.

1.3. Особливості імунної відповіді при хронічній хламідійній інфекції

На даний час існує три основних причини розвитку хламідійної інфекції: дефіцит поживних речовин, застосування протимікробних препаратів, особливості взаємодії хламідій з імунною системою господаря [131].

Внаслідок декомпенсації імунологічної функції урогенітальна хламідійна інфекція має затяжне, часто рецидивуюче протікання, а у подальшому може трансформуватися в більш глибокі системні хвороби, провокувати розвиток аутоімунних, алергічних, онкологічних процесів. Доведено, що індивідуальні особливості макроорганізму здатні інгібувати злиття фагосом з лізосомами, що робить процес фагоцитозу непродуктивним [199]. При цьому розмноження хламідій затримується в проміжному стані між елементарними і ретикулярними тільцями. На цьому етапі в цитоплазмі присутній ліпопосахарид клітинної оболонки і відсутній основний білок зовнішньої мембрани хламідій. Таким чином, імунологічна реакція формується на вербальному ЛПС, тобто є неспецифічно. По відношенню до *S. trachomatis*, імунологічні реакції при хламідіозі носять в основному Т-хелперний характер. Продуктами активації Т-хелперної ланки є: ІЛ-2, TNF- β , які відповідно стимулюють проліферацію клонів Т-клітин і ріст диплоїдних фібробластів, що сприяє підвищенню глюкозаміногліканів, колагену й білків основної рідини еднальної тканини, що в свою чергу призводить до фіброутворення. Крім того, визначається підвищена продуктивність цитокінів макрофагами і наступною активністю «респіраторного вибуху». Однак, наявність у мембрані *S. trachomatis* дисульфідних зв'язків сприяє стійкості цього патогену у відношенні вільних

радикалів «респіраторного вибуху». Активні форми кисню сприяють активації перекисного окиснення ліпідів і пошкодженню подвійного фосфоліпідного шару мембран [84].

За даними Шеремети В.В. і Лакатоша В.П. у хворих на урогенітальний хламідіоз при дослідженні фагоцитарної системи спостерігається активація нейтрофілів, пригнічення активності моноцитів та недостатньо ефективного їх функціонування на фоні виснаження резервних можливостей. Слабкий фагоцитоз, що спостерігався у разі хронічного перебігу інфекції, може спричиняти подальшу персистенцію збудника і неспроможність клітин господаря елімітувати паразита. Показники, які характеризують фагоцитарну метаболічну активність у хворих з латентною інфекцією і відповідають сприятливому перебігу захворювання, коливались в межах контрольних величин [195]. Тобто використання обмежених механізмів захисту, можливо, призводить до інгібіції розмноження паразита, але є недостатнім для повної його елімінації, а тому створюватиме умови для тривалого перебування збудника і клітинах господаря. Не випадково деякі дослідники вважають, що моноцитарно-макрофагальна система може слугувати резервуаром хламідійної інфекції в організмі, а персистенція хламідій в макрофагах – призводить до реактивації та виникнення ранніх рецидивів захворювання [196]. У разі загострення захворювання підвищення відсотка фігоцитуючих клітин, як моноцитів. Так і нейтрофілів та активація їхнього внутрішньоклітинного кисне залежного метаболізму підтверджують наявність запального процесу. Дослідження за фенотипуванням лімфоцитів засвідчили, що попри збереження кількості лімфоцитів з поверхневими антигенами CD3, CD4, CD8, CD19 у хворих з хронічною хламідійною інфекцією спостерігалось підвищення рівня В-лімфоцитів, які експресували активаційні DR+-рецептори, та зниження активних Т-лімфоцитів з DR+-антигенами. Найістотніше зменшення співвідношення CD4/ CD8 у пацієнтів з хронічною моно інфекцією вказує на порушення імунорегуляторної ланки імунітету. Зниження вмісту сироваткового IgA у хворих на урогенітальний хламідіоз може зумовлювати зменшення

преципітації та аглютинацію більшості мікробів, які потрапляють до організму. Підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів вказує на розвиток патологічного процесу не тільки у разі загострення хвороби у пацієнтів з урогенітальним хламідіозом, а й у разі хронічного та латентного її перебігу. Незначний рівень IgA та IgG, напевно, пов'язаний з низькою імуногенною активністю хламідійних антигенів [35, 52, 79, 107, 131, 194].

За даними С.Є. Мокрецова та співавт. у хворих на уретральний хламідіоз спостерігається зниження абсолютної та відносної кількості лімфоцитів при дефіциті рівня Т-субпопуляції. Зниження потенціалу Т-активних лімфоцитів, CD3+ та CD4+ лімфоцитів поєднується з підвищенням кількості CD8+ лімфоцитів. Зменшення CD4+/CD8+ індексу асоціюється зі зростанням кількості Т-лімфоцитів, що свідчить про імуносупресію, що виникає внаслідок уретрального хламідіозу [128].

Дослідження, проведені Матвєєвою Н.К та співавт., не виявили істотних змін ні в загальному числі Т- і В-клітин, ні в концентрації імуноглобулінів різних класів. Однак, необхідно відзначити, що в більшості обстежених (53%) спостерігається зменшення як абсолютного, так і відносного рівня Т-хелперів (CD4+лімфоцитів). Отримані результати збігаються з даними подібних досліджень, при яких автори спостерігали або незначні відхилення в загальній кількості Т- і В-клітин, або зниження співвідношення Тх/Тс. Відсутність істотних змін у кількісних показниках імунітету в хворих з урогенітальним хламідіозом зв'язують зі слабкою імуногенністю хламідій, особливостями життєвого циклу збудника і локальним характером інфекційного процесу [34, 62, 64, 118]. CD4+-лімфоцити відіграють головну роль у контролі хламідійної інфекції, можливо за рахунок продукції γ -інтерферону. Лімфоцити специфічні до *S. trachomatis*, CD8+ поки не виділені із суглобів хворих на реактивні артрити. Тим не менше Т-лімфоцити активуються в суглобах і виробляють аналогічні цитокіни, як і CD4+лімфоцити. Під час досліджень, присвячених розпізнаванню HSP60 Т-лімфоцитами при реактивних артритах, виявлено, що Т-лімфоцити, які реагують на хламідійний HSP60, можуть перехресно

реагувати з людським HSP60, оскільки вони мають високо консервативні амінокислотні послідовності. У двох випадка епітоп, виявлений у HSP60 *C. trachomatis*, був ідентичний HSP60 *C. pneumoniae*. Оскільки інфекція, викликана *C. pneumoniae*, значно поширена, особливо в дитячому віці, у більшості хворих, вперше інфікованих *C. trachomatis*, імунна система вже буде підготовлена для відповіді на хламідійний HSP60 завдяки попередньому інфікуванню *C. pneumoniae*. Ураження кон'юктиви, що приводить до розвитку трахоми і супроводжується рубцюванням, вимагає повторного інфікування і на моделях тварин це захворювання розвивалося шляхом уведення HSP60 [61, 62].

З метою характеристики функціонального стану Тх-1 і Тх-2 лімфоцитів Возіанов А.Ф., Драннік Г.Н. та співавт., вивчили особливості продукції відповідно ІЛ-2, ІЛ-10 та γ -INF мононуклеарами периферичної крові. Крім того, визначалася продукція ІЛ-1 як важливого медіатора, що є одним з найбільш універсальних регуляторів імунітету і запальних реакцій із широким спектром біологічних ефектів, які включають проліферацію Т- і В-лімфоцитів, антитілоутворення, індукцію синтезу інших цитокінів [35, 63].

Дані Возіанова А.Ф. та співавт. підтверджують, що механізми регуляції гуморальної і клітинної імунної відповіді на хламідійну інфекцію зв'язані з продукцією цитокінів хелперами 1-го і 2-го типів [34]. Ми згодні з думкою А. Ройта [21, 153], що цитокіни, які продукуються Т-хелперами 1 і 2 типу, можуть бути свідченням еволюції імунної відповіді. Переключення з Тх-1 на Тх-2 тип відповіді може приводити до виникнення імунопатологічної реакції при персистуючій хламідійній інфекції. Стійкість до хламідійної інфекції та ефективність лікування залежать від нормальної функції Тх-1 типу, здатних індукувати достатні кількості γ -INF і ІЛ-2, що сприяє розвитку імунної відповіді за клітинним типом. При порушенні функції Тх-1, особливо якщо це супроводжується підвищенням продукції ІЛ-10, що пригнічує не тільки клітинну, але і гуморальну імунну відповідь, створюються умови для хронізації хламідійної інфекції [34].

Останнім часом з'явилися експериментальні дані про те, що захист від хламідійної інфекції в багатьох випадках залежить від функціональної здатності CD4+лімфоцитів [193]. Stamm W. запропонував свою концепцію імунопатогенезу хронічного сечостатевого хламідіозу в умовах генетично детермінованої підвищеної продукції IL-10, який отримав назву «супресивний» цитокін, коли пригнічується функція моноцитів-макрофагів і Т-хелперів першого типу. За даними цих авторів, перш за все страждає продукція IL-12, який є необхідним для переходу нульових Т-хелперів у Т-хелпери 1 типу (Th1). При порушенні цього процесу дозрівання, утворені Th1 лімфоцити продовжують відчувати додатковий вплив IL-10, що після наступної продукції IL-2 і γ -INF ще більше пригнічує їх функцію [274]. Ці ключові цитокіни є необхідними для важливого процесу утворення внутрішньоклітинного оксиду азоту. В результаті порушуються два відомі механізми імунного захисту: пошкодження інфікованих хламідіями клітин за рахунок Т-лімфоцитів – натуральних кілерів і внутрішньоклітинне пошкодження хламідій під впливом оксиду азоту [62].

Дослідження Чернишова В.П. та Лебедюка М.Н. з вивчення субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів за допомогою проточної цитометрії і моноклональних антитіл у жінок із запальними захворюваннями геніталій хламідійної етіології не виявило їх суттєвих змін, хоча звертали не себе увагу значні коливання рівня CD19+ В-лімфоцитів і збільшення у більшості випадків рівнів IgM у сироватці крові, що, на думку авторів, підтверджувало активацію хламідіями В-лімфоцитів. Хоч автори і не вивчали показники місцевого імунітету, але не виключено, що інфікування хламідіями може більшою мірою викликати зміни місцевого імунітету безпосередньо в тканинах і органах репродуктивного тракту. Разом з тим, на користь переважаючої активації Т-хелперів II типу (Th2) свідчать дані про посилення продукції інтерлейкіну-10 лімфоцитами хворих на хронічний сечостатевий хламідіоз [187].

Вивчення інтерферонового статусу засвідчило, що у хворих на уrogenітальну хламідійну інфекцію суттєве підвищення сироваткового INF

супроводжувалося зниженням інтерференової реакції лейкоцитів периферійної крові у відповідь на індуктори. Високий рівень сироваткового INF, можливо, зумовлений тим, що елементарні тільця, що є формою зовнішньоклітинного існування хламідій, здатні індукувати продукцію різних видів INF [5, 54]. А низький α - та γ -інтерферогенез лейкоцитів периферійної крові *in vitro* спричинений, ймовірно, блокуванням їхньої інтерференопродукуючої активності, що може бути одним з моментів хронізації інфекційного процесу. Ще більш знижена продукція α -INF та γ -INF у хворих з латентною інфекцією, можливо, не дає змоги повною мірою знищити збудника, а тільки пригнічує його розмноження, а тому забезпечує персистенцію хламідій [75, 95, 147, 195].

Вивчення імунного статусу при хламідіозі показало, що у більшості (75%) хворих виявлено порушення імунорегуляції із зниженням рівня Т-хелперів, НК-клітин, В-лімфоцитів, HLA-DR клітин, співвідношення Т-хелперів/Т-супресів. Для захисту організму від внутріклітинних патогенів, до яких відносять *S. Trachomatis*, необхідно комбінувати взаємодію цитокінів, які продукуються Т-хелперами 1 типу (Т-х1): IL-2, IL-3, IFN- γ , TNF і Т-хелперами 2 типу (Т-х2): IL-3, IL-4, IL-6, IL-10 [101, 160, 182, 201].

Цитокіни IFN- γ , TNF активують не лише макрофаги, а й фібробласти, епітеліальні клітини, підвищують адгезійні властивості мембран не індуковані клітин і, як наслідок, швидкому їх зараженню. Високий рівень IFN- γ повністю інгібує ріст хламідій, а низький, навпаки, індидує розвиток морфологічно абберантних форм. Низький рівень IFN- γ в умовах хламідіозу сприяє активності синтезу індоламін-2,3-діоксигенази, що, в свою чергу, призводить до зменшення внутріклітинного рівня триптофану, і в результаті чого з'являються патологічні форми *S. trachomatis*, тобто створюють передумови до персистування цього патогену в організмі хворого. Крім того, IFN- γ впливає на функціональний стан НК- клітин, що є першою лінією захисту організму від внутріклітинних вірусних, бактеріальних інфекцій і пухлин [63, 107, 202].

Виявлено серотипоспецифічний характер захисного імунітету при реінфекції *S. trachomatis*. Передбачається, що захисний імунітет може бути

зумовлений вродженими особливостями імунної відповіді. При вивченні природи імунної відповіді було показано, що антитіла, здатні нейтралізувати *S. trachomatis* у культурі кліток, взаємодіючи з епітопами основного білка. Однак численні спроби створення вакцини на основі ОБЗМ виявилися безуспішними. Відомо також, що наявність високих титрів протихламідійних Ig особливо АТ до хламідійного білка HSP60, у сироватці крові людини не тільки не забезпечує захист від інфекції, але й асоціюється з несприятливими випадками й ускладненнями захворювання [102].

Таким чином, роль антитіл у розвитку захисного імунітету при хламідіозах залишається нез'ясованою. Досліди на мишах зі зруйнованими генами продемонстрували важливу роль Т-хелперів I типу в видужанні тварин від хламідіозу та їхньої несприйнятливості до повторних заражень. Роль Т-лімфоцитів CD4+ у боротьбі з інфекцією, зумовленою *S. Trachomatis* [105, 274]. У той же час відомо, що Т-лімфоцити розрізняють епітопи, розташовані в консервативних областях ОБЗМ і отже, Т1-хелперна відповідь не може забезпечити описаний раніше серотипоспецифічний протективний імунітет. Роль Т-клітин CD8+ у захисті від хламідійної інфекції невідома. Мають місце дані про генотипічну схильності до інфікування *S. trachomatis*. Так, було показано, що в осіб з визначеними аллелями HLA класу частіше спостерігаються важкі ускладнення генітальної і зорової хламідійної інфекції.

РОЗДІЛ II

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти досліджень та умови проведення експерименту

Експериментальні дослідження виконані на 42 статевозрілих білих щурах-самцях масою 200-250 г. Позаяк показники імунної системи змінюються залежно від пори року, дослідження проводили в осінньо-зимовий період. Експериментальні втручання та евтаназія тварин проводилась із дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних наукових досліджень (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Комісією з питань біоетики Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (протокол № 8 від 15.12.2004р.) порушень вимог не виявлено. Модель хронічного гіперімунокомплексного синдрому створювали за допомогою класичної моделі С. Cochrane та D. Kofler у модифікації R. Williams [224] та посилаючись на праці попередніх досліджень Чоп'як В. В. [188].

Усі експериментальні тварини були поділені на 2 серії:

I серія – інтактні тварини, яким вводили в хвостову вену кожні 7 днів впродовж 12 тижнів фізіологічний розчин (20 тварин);

II серія – тварини з викликаним хронічним гіперімунокомплексним синдромом, яким у хвостову вену кожні 7 днів впродовж 12 тижнів вводили бичачий сироватковий альбумін із розрахунку 100мг/кг впродовж 12 тижнів (22 тварин).

Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації. Кров для виділення нейтрофільних гранулоцитів забирали на гепарині (50 од. мл). Отримання клітин нейтрофілів, моноцитів проводили із застосуванням розчинів фіколурографіну з густиною 1,077 г/мл та 1,095 г/мл. Виділені клітини використовували для проведення відповідних досліджень.

Для отримання сироватки крові периферичну кров витримували впродовж 1 год. в термостаті при температурі 37⁰С та 1 год. при температурі +4⁰С. Сироватку крові відбирали після центрифугування крові при 1500 об/хв. 10 хв.

Клінічні дослідження були проведені 2002-2007 роках у Львівському регіональному медичному центрі клінічної імунології та алергології, а також у Львівській обласній клінічній лікарні на базі ревматологічного відділення: було обстежено 150 хворих на хламідійну інфекцію, з них 82 жінки та 68 чоловіків у віці 18 – 50 років. Діагноз хламідійної інфекції виставлявся на основі міжнародних критеріїв діагностики урогенітальних хламідіозів, офтальмологічних хламідіозів, реактивних артритів хламідійного генезу, хламідійних бронхітів, бронхіальної астми, неревматичних вад серця та хвороба Рейтера хламідійного генезу [39, 41, 58, 151, 173]. Серед них 39 хворих мали прояви імунодефіциту згідно протоколу ВООЗ (1998). Клінічними ознаками імунодефіциту були часті рецидиви інфекції (більше 4 разів на рік), атиповий перебіг, не ефективність етіотропної антибактеріальної терапії, навіть при застосуванні комбінованих та супресивних схем, стійке порушення функції органа-мішені, тривалий субфібрилітет, синдром хронічної втоми, змішані опортуністичні інфекції (грибкові, герпетичні) [76, 98, 136].

Урогенітальний хламідіоз був верифікований у 56 хворих на хламідійну інфекцію, а з проявами імунодефіциту – 14 хворих з цієї групи. Реактивний артрит хламідійного генезу був встановлений у 46 хворих з них 8 мали ознаки імунодефіциту. У 11 хворих був встановлений кератокон'юктивіт хламідійного генезу. Пневмонія, бронхіт, бронхіальна астма хламідійного генезу були діагностовані у 14-ти хворих 6 з яких були з проявами імунодефіциту. Неревматичні вади серця хламідійного генезу були встановлені у 12-ти хворих. Хвороба Рейтера була діагностована у 11-ти хворих.

При обстеженні хворих на хламідійну інфекцію враховувались у них формування імунокомплексного синдрому, що могло в подальшому впливати на розвиток автоімунних ускладнень.

Їх обстеження проводилося з урахуванням циркадного та сезонних ритмів.

Контрольну групу складала – 31 практично здорових людей у віці 18-ти - 40-ка років, 16 жінок і 15 чоловіків.

В досліджуваній роботі були виділені наступні групи хворі на хламідійну інфекцію 150 чоловік, серед них жінки (82) та чоловіки (68) у віці до 35-ти років - 57, 35 і більше років – 93 обстежених, з гіперімунокомплексним синдромом – 55, без нього – 95, з проявами імунодефіциту – 39, серед них 19 жінок і 20 чоловіків у віці до 35-ти років – 22, 35 і більше – 17 з хворобою Рейтера – 11.

2.2. Методи дослідження

Оцінку гіперімунокомплексного синдрому здійснювали на основі вмісту циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові. Для оцінки нейтрофільного статусу проводили визначення їх фагоцитарної активності, а також окисно-відновних ферментативних процесів. Метаболізм оксиду азоту в нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові щурів досліджували в кількох аспектах: оцінювали рівень синтезу NO шляхом визначення активності ферментів індукцйбельної і конститутивної NO-синтаз; оцінювали пул NO за вмістом його кінцевих метаболітів – нітрит- і нітрат-аніонів; Окрім того, морфологічний стан і резервні можливості поліморфноядерні лейкоцити та мононуклеарних фагоцитів оцінювали за допомогою методу електронної мікроскопії.

Дослідження активності ферментів NO-синтаз, вмісту нітрит- і нітрат-аніонів виконано в Інституті біохімії ім. В.О. Палладіна спільно із к.б.н, ст.н.сп. Коцюробою А. В., за що складаю свою вдячність. Електронно-мікроскопічні дослідження проведено у лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького спільно із к.б.н. Ковалишином В. І., за що висловлюю щире подяку за допомогу при виконанні досліджень. Клінічні імунологічні дослідження виконані на базі імунологічних лабораторій кафедри клінічної імунології та алергології та лабораторно-

діагностичного відділу Львівського регіонального медичного центру імунології та алергології, за що висловлюю вдячність к.м.н. Вальчук І.В. та Вільховій Т.К.

2.2.1. Визначення концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові

Концентрацію ЦК визначали за допомогою методу селективної преципітації ЦК у присутності поліетиленгліколю (ПЕГ) з подальшим визначенням концентрації білка в преципітаті здійснювали за допомогою модифікованої методики. Після центрифугування крові 0,2 мл сироватки зміщували з 3,8мл 0,1М боратного буфера рН 8,41 і 2 мл 10,5% розчину ПЕГ – 6000 в боратному буфері. Кінцева концентрація ПЕГ, при якій відбувається випадання ЦК в осад, у досліджуваній сироватці становила 3,5%. Суміш інкубували 16 год. при 4⁰ С, потім центрифугували 30 хв. при 3000 об/хв. Надосад зливали, преципітат ресуспендували і розчиняли в 5 мл дистильованої води. Концентрацію білка в розчині визначали за методом Лоурі, використовуючи тест-системи фірми “Simko” (Україна) з наступним перерахунком концентрацій ЦК у досліджуваній сироватці за формулою:

$$[\text{ЦК}] = E * 5 / 0,2,$$

де E – оптична густина досліджуваної сироватки.

Для побудови калібрувальної кривої при визначенні концентрації білка методом Лоурі застосовували кристалічний альбумін.

Методика за Осиповым С. Г. и соавт. (1983) [140].

2.2.2. Визначення загальної комплементарної активності сироватки крові

Принцип методу полягає у визначенні гемолітичної активності комплекменту за титром – найбільшим розведенням сироватки, яке забезпечує 50% гемоліз еритроцитів. Для постановки реакції готували гемсистему – суміш

рівних об'ємів розведеної по 3-кратному титру гемолітичної сироватки і 3-5% завису еритроцитів барана. Гемсистему витримували 30 хв. при 37⁰ С для сенсibilізації еритроцитів (Фримель Г., 1987) [176].

Досліджувану сироватку, розведену 1:10, розливали в пробірки від 0,05 мл до 0,5 мл із різницею між дозами 0,05 мл. Сироватку доводили фізіологічним розчином до об'єму 1,5 мл, після чого в кожен пробірку додавали по 1,5 мл сенсibilізованих еритроцитів барана. Проби інкубували при 37⁰С 45 хв., після чого центрифугували 10 хв. при 1500 об/хв. Ступінь гемолізу визначали за допомогою ФЕК-2МП (Росія) при 540 нм. По екстинкції визначали відсоток гемолізу – за допомогою стандартної шкали.

За одиницю активності комплементу (СН₅₀) приймали ту концентрацію, яка спричиняє 50% лізис 0,5 мл сенсibilізованих еритроцитів.

2.2.3. Отримання клітин нейтрофілів та моноцитів

Клітини нейтрофілів та моноцитів отримували за загальновідомою методикою на подвійному градієнті розчинів фікол-урографіну з густиною 1,095 г/мл та 1,077 г/л. Нашаровану цільну кров, розведену 1:2 фізіологічним розчином га градієнт фікол-верографіну, центрифугували впродовж 40 хв. при 1500 об/хв. Виділені клітини двічі відмивали фізіологічним розчином і використовували у відповідних реакціях (Лаповець Л. С., Луцик Б. Д., 2002)[96]

2.2.4. Оцінка фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів

Фагоцитарну активність нейтрофілів та моноцитів оцінювали за здатністю захоплювати інертні частинки латексу розміром 1,0 мкм (“Біостерол”, Україна). Латекс тричі відмивали фізіологічним розчином, підраховували концентрацію у камері Горяєва і доводили до 150–200 тис/мл. У пробірку вносили 50 мкл суспензії лейкоцитів та 50 мкл завису частинок латексу. Проби

інкубували при 37⁰С впродовж 30 та 120 хв., періодично помішуючи. Виготовляли мазки, які висушували і фарбували фарбою “Гемографікс” за допомогою апарата для фарбування мазків “Нема-Теск-1000” (США). Підрахунок проводили на 200 клітин, визначали відсоток тих, що містять гранули латексу – фагоцитарний показник (ФП), та підраховували фагоцитарне число (ФЧ) – середня кількість гранул латексу, поглинутих одним нейтрофілом та моноцитом та їх сумуванням (Чернушенко Е. Ф. и соавт., 1985) [185]

2.2.5. Нітросиній тетразолієвий тест спонтанний та стимульований

При потраплянні у клітину тетразолій під дією електронів, що йдуть на утворення вільних радикалів, переходить у відновлену форму – диформазан темно-синього кольору, який утворює депозити. Чим вища здатність нейтрофілів та моноцитів відновлювати НСТ і перетворювати його у диформазан, тим вища біоцидність цих клітин.

У пробірки забирали 0,1 мл завису лейкоцитів, до них додавали 0,1 мл 0,1% розчину нітросинього тетразолію (“ДиаМ”, Росія) в 0,15М фосфатному буфері (рН 7,2). Проби ретельно перемішували та 60 хв. інкубували при 37⁰С. Готували мазки, висушували, фіксували етанолом, фарбували 1% розчином сафроніну. Підраховували 200 клітин і визначали відсоток диформазанпозитивних фагоцитів.

Стимульований НСТ-тест проводили аналогічно з введенням у тест-систему 0,1 мл зимозану (“ДиаМ”, Росія) (Передерий В. Г. и соавт., 1995) [73]

2.2.6. Визначення активності NO-синтаз

Для оцінки активності NO-синтаз (Ca²⁺ - залежної і Ca²⁺ - незалежної)

використовували класичний метод, пристосований до спектрофотометричного визначення одного з продуктів реакції нітрит-аніону.

2.2.6.1. Визначення активності сумарної конститутивної (Ca²⁺- залежної) NO-синтази (cNOS)

Активність ферменту визначали колориметричним методом в сироватці крові та в суспензіях клітин, які готували в середовищі, що містить 0,15M NaCl у 0,01M фосфатному буфері, pH=7,2. Визначення проводили в інкубаційній суміші (1 мл), що містила 50 mM KH₂PO₄, 1 mM MgCl₂, 2mM CaCl₂, 1 mM NADPH, 0,22 mM L-аргініну. Реакцію запускали, додаючи до інкубаційної суміші 0,1 мл сироватки або суспензії клітин, що містять 100 мкг загального білка. Дослідні і контрольні проби інкубували при 37°C впродовж 60 хв., білок був попередньо денатурований 0,2 мл 2н HClO₄. Реакцію зупиняли, додаючи 0,2 мл 2н HClO₄. Денатурований білок осаджували центрифугуванням при 2500 об/хв впродовж 10 хв. В надосадковій рідині визначали вміст продуктів реакції — оксиду азоту (його стабільного метаболіту — нітрит-аніону NO₂⁻) за методом [170]. Розраховували питому активність NOS у пікомолях NO₂⁻, який утворився за 1 хв. в розрахунку на 1 мг загального білка проби (Синяченко О. В., Звягина Т. В., 2001) [163].

2.2.6.2. Визначення активності індукцйбельної (Ca²⁺ - незалежної) NO-синтази (iNOS)

Методика визначення активності індукцйбельної NO-синтази аналогічна, як і для визначення сумарної конститутивної NO-синтази, за деякими відмінностями: для визначення активності Ca²⁺-незалежної NO-синтази в інкубаційну суміш замість CaCl₂ додавали 2 мкмоль ЕДТА (Синяченко О. В., Звягина Т. В., 2001) [163].

2.2.7. Визначення вмісту нітрит-аніону (NO_2^-)

Кількість NO_2^- визначали в безбілкових аліквотах сироватки крові і суспензій клітин (вміст білка 20-40 мг/мл) в колориметричній реакції за допомогою реактиву Грісса методом Гріна в модифікації Коцюруби А.В. та співавт. [41]. Реактив Грісса готували, змішуючи рівні частини 0,1% водного розчину нафтилетилендіамінгідрохлориду з 1% розчином сульфаніламіну в 5% H_3PO_4 безпосередньо перед визначенням. Визначення проводили в безбілкових аліквотах проб, які готували таким чином: до 0,5 мл зразка додавали 0,1 мл сульфосаліцилової кислоти, перемішували 1 раз через 5 хв. впродовж 30 хв., потім центрифугували при 10000g впродовж 10 хв. Надосадкову (кислоторозчинну фракцію, що містить NO_2^-) нейтралізували 5% розчином NaOH та в її аліквоті визначали NO_2^- , додаючи реактив Грісса у співвідношенні 1:1. Величину екстинкції визначали спектрофотометрично при 543 нм через 5 хв. після змішування. Кількість NO_2^- розраховували за калібрувальною кривою, побудованою для стандартних розчинів NaNO_2 (Коцюруба А. В. і співавт., 2000) [89].

2.2.8. Визначення вмісту нітрат-аніону (NO_3^-)

Кількість NO_3^- визначали в сироватці крові і суспензії клітин спектрофотометричним методом у модифікації Коцюруби А.В., де замість стрихніну використовували його гідроксильоване похідне – бруцин, що дозволило підвищити чутливість методу в 100 разів. Проби депротейнізували, додаючи до 0,5 мл сироватки крові або суспензії клітин (20–40 мг білка на мл) 0,25мл 2N HClO_4 . Денатурований білок осаджували центрифугуванням при 2000 об/хв упродовж 15 хв. До 0,5 мл надосадкової фракції проб додавали 1,5 мл бруцинового реактиву. Бруциновий реактив готували, розчиняючи 60 мг бруцину (10,11-диметоксистрихнін) у 100 мл розведеної (2:1) сірчаної кислоти. У контрольні проби замість 0,5 мл безбілкової надосадкової фракції проб

додавали 0,5 мл дистильованої води. Проби інкубували впродовж 10 хв. на водяній бані при 100°C. Проби швидко охолоджували і визначали екстинцію при 405 нм. Кількість NO_3^- визначали за калібрувальною кривою, побудованою для стандартних розчинів NaNO_3 . (Коцюруба А. В. і співавт., 2000) [89].

2.2.9. Визначення вмісту білка за Бретфордом

Вміст загального білка в пробах визначали методом Бретфорда, використовуючи барвник Cumassi G-250 (Фримель Г., 176)

2.2.10. Визначення антихламідійних антитіл - специфічних імуноглобулінів класу М, G, А

Визначення антихламідійних антитіл - специфічних імуноглобулінів класу М, G, А проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „ВекторХТ-IgM-стріп”, „Вектор ХТ+ХП-IgG” та „Вектор ХТ-IgA” („Вектор Бест”, Росія).

Матеріалом дослідження слугувала сироватка крові хворих. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували в лунках планшета з імобілізованими антигенами ХП та ХТ. Антитіла до ХП та ХТ зв'язувались з імобілізованими антигенами. Незв'язаний матеріал видаляли відмиванням. Зв'язані антитіла виявляли при інкубації з кон'югатом антитіл до IgM, IgG та IgA людини з пероксидазою хрому. Після другого відмивання кількість зв'язаного кон'югата визначався кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази – перекису водню і хромогену – тетраметилбензидину. Реакцію зупиняли додаванням розчиною сірчаної кислоти і вимірювали оптичну щільність розчину в лунках при довжині хвилі 450 нм.

Для оцінки результатів аналізу обчислювався контрольний рівень оптичної щільності $\text{ОЩ}_{\text{крит}}$:

$OШ_{крит} = OШ_{ср}K^{-} + 0,2$, де

$OШ_{ср}K^{-}$ оптична щільність в лунках з негативним контролем.

Позитивними рахувались проби з $OШ \geq OШ_{крит} + 10\%$.

Від'ємними рахувались проби з $OШ \leq OШ_{крит} - 10\%$.

Методика здійснювалась також на основі рекомендацій Руденко А. В., Кругликова В. Т. (1999) [154].

2.2.11. Визначення тумор-некротичного фактору – альфа, інтерлейкінів-2, -4,-10 в сироватці крові

Визначення тумор-некротичного фактору – альфа, інтерлейкінів-2, -4,-10 в сироватці крові проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „ тумор-некротичного фактору – альфа -ІФА-БЕСТ” “інтерлейкін-2-ІФА-БЕСТ”, “інтерлейкін-4-ІФА-БЕСТ” “інтерлейкін-10-ІФА-БЕСТ” („Вектор Бест”, Росія).

Матеріалом дослідження слугувала сироватка крові хворих. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували в лунках з іммобілізованими антитілами. Відповідні цитокіни, що містяться в зразках, зв'язувались з іммобілізованими антитілами. Незв'язаний матеріал видалявся відмивкою. Зв'язані досліджувані цитокіни взаємодіяли при інкубації з відповідними кон'югатами антитіл до них людини з пероксидазою хрому. Після другого відмивання кількість зв'язаних кон'югатів визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому – перекису водню і хромогену – тетраметилбензедину. Реакцію зупиняли додаванням розчину сірчаної кислоти і вимірювали оптичну щільність розчину в лунках при довжині хвилі 450 нм. Вимірювання проводили через 10-15 хвилин після зупинки реакції. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна кількості вмісту в зразках цих цитокінів. Для визначення концентрації тумор-некротичного фактору – альфа, інтерлейкінів-2, -4,-10 в досліджуваних пробах

будувались калібровочні криві в координатах: вісь абсцис – концентрація цих цитокінів (пг/мл); вісь ординат – значення оптичної щільності відповідних зразків.

Для цих значень оптичної щільності, що відповідали концентраціям цитокінів в кожному стандартному розчині, відкладали на міліметровому папері. По отриманих крапках проводили калібровану криву. Для визначення концентрації досліджуваних цитокінів в зразках на осі ординат відмічали значення оптичної щільності вказаних зразків. Проводили пряму до перехресту з каліброваною кривою, від місця пересікання опускали перпендикуляр на вісь абсцис. Місце перехресту було значенням концентрації цих цитокінів (Руденко А. В., Кругликов В. Т., 1999) [154].

2.2.12. Визначення гамма-інтерферону в сироватці крові

Визначення гамма-інтерферону (гамма-ІНФ) в сироватці крові проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „гамма-Інтерферон-ІФА-БЕСТ” („Вектор Бест”, Росія).

Матеріалом дослідження слугувала сироватка крові хворих. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували в лунках з іммобілізованими антитілами. Гамма-ІНФ, що міститься в зразках, зв'язувався з іммобілізованими антитілами. Незв'язаний матеріал видаляли відмивкою. Зв'язаний гамма-ІФА взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до гамма-ІНФ людини з біотином). Незв'язаний кон'югат №1 видаляється відмиванням. На третій стадії зв'язаний кон'югат №1 взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин з пероксидазою хрону). Після третього відмивання кількість зв'язаного кон'югату №2 визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрону – перекису водню і хромогену – тетраметилбензедину. Реакцію зупиняли додаванням розчину сірчаної кислоти і вимірювали оптичну щільність розчину в лунках при довжині хвилі 450 нм.

Вимірювання проводили через 10-15 хвилин після зупинки реакції. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна кількості вмісту в зразках гамма-ІНФ. Для визначення концентрації гамма-ІНФ в досліджуваних пробах будували калібровану криву в координатах: вісь абсцис – концентрація гамма-ІНФ (пг/мл); вісь ординат – значення оптичної щільності зразка.

Для цього значення оптичної щільності, що відповідає концентрації гамма-ІНФ в кожному стандартному розчині, відкладали на міліметровому папері. По отриманих крапках проводили калібровану криву. Для визначення концентрації гамма-ІНФ в досліджуваних зразках на осі ординат відмічали значення оптичної щільності досліджуваного зразка. Проводили пряму до перехресту з калібною кривою, від місця пересікання опускали перпендикуляр на вісь абсцис. Місце перехресту було значенням концентрації гамма-ІНФ (Руденко А. В., Кругликов В. Т., 1999) [154].

2.2.13. Визначення теплового шокowego протеїну – 60 та основного мембранного білка хламідій в сироватці крові

Визначення теплового шокowego протеїну – 60 та основного мембранного білка хламідій в сироватці крові проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу згідно методичних рекомендацій, що додаються до стандартного набору реактивів „ HSP-60-ІФА-БЕСТ”, “МOMP-ІФА-БЕСТ” („Вектор Бест”, Росія).

Матеріалом дослідження слугувала сироватка крові хворих. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубувались в лунках з іммобілізованими антитілами. Цими протеїнами, що містяться в зразках, зв'язували з іммобілізованими відповідними антитілами. Незв'язаний матеріал видаляли відмивкою. Зв'язані протеїни взаємодіяли при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до HSP-60 та MOMP людини з біотином). Незв'язаний кон'югат №1 видаляли відмиванням. На третій стадії зв'язаний кон'югат №1 взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин з пероксидазою хрому). Після

третього відмивання кількість зв'язаного кон'югату №2 визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрому – перекису водню і хромогену – тетраметилбензедину. Реакцію зупиняли додаванням розчину сірчаної кислоти і вимірювали оптичну щільність розчину в лунках при довжині хвилі 450 нм. Вимірювання проводили через 10-15 хвилин після зупинки реакції. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна кількості вмісту в зразках протеїнів. Для визначення концентрації HSP-60 та MOMP в досліджуваних пробах будували калібровану криву в координатах: вісь абсцис – концентрація HSP-60 та MOMP (пг/мл); вісь ординат – значення оптичної щільності зразків.

Для цього значення оптичної щільності, що відповідає концентрації HSP-60 та MOMP в кожному стандартному розчині, відкладали на міліметровому папері. По отриманих крапках проводили калібровану криву. Для визначення концентрації цих протеїнів в досліджуваних зразках на осі ординат відмічали значення оптичної щільності досліджуваних зразків. Проводили пряму до перехресту з калібною кривою, від місця пересікання опускали перпендикуляр на вісь абсцис. Місце перехресту було значенням концентрації HSP-60 та MOMP (Руденко А. В., Кругликов В. Т., 1999) [154].

2.2.14. Фенотипування лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитометрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Забір крові у хворого проводили натщесерце, з вени в пробірки VACUTAINER К₃ЕДТА ("Becton Dickinson", США). У дві пробірки TruCOUNT дозатором лабораторним вносили по 100 мкл цільної крові хворого. У першу пробірку додали 20 мкл CD3/CD8/CD45/CD4 моноклональних антитіл ("Becton Dickinson", США), у другу – 20 мкл CD3/CD16+56/CD45/CD19

моноклональних антитіл ("Becton Dickinson", США), у третю - 20 мкл CD3/CD8+45/CD4/CD25 моноклональних антитіл ("Becton Dickinson", США). Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 15-30 хв при кімнатній температурі, уникаючи попадання прямого сонячного проміння. У кожен пробірку додавали 2 мл робочого лізуючого розчину (10x концентрат) FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США). Перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) і інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Аналіз зразків проводили на проточному цитометрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення MultiSET (Райт А. и соавт., 2005) [153].

2.2.15. Електронно-мікроскопічні дослідження

Забір нейтрофілів, моноцитів і ендотеліоцитів аорти, проведення електронної мікроскопії.

Отримані клітини фіксували у 2% розчині тетраоксиду осмію на 0,1М кокадилатному буфері (рН-7,2) впродовж 2 год. на холоді. Після промивання матеріал зневоднювали у спиртах висхідної концентрації та окису пропілену за схемою: 50⁰ спирт – 2 рази по 10 хв., 70⁰ спирт – 2 рази по 10 хв., 90⁰ спирт – 2 рази по 10 хв., 100⁰ спирт – 2 рази по 10 хв., окис пропілену – 2 рази по 10 хв. Потім осад заливали в епоксидну смолу "Епон 812". Після полімеризації блоків виготовляли зрізи на ультрамікротомі УМТП-№М. Зрізи контрастували у 2% уранілацетаті і цитраті свинцю за Рейнольдсом [266]. Підготовлені зрізи переглядали в трансмісійному електронному мікроскопі УЭМВ-100К.

Виділення клітин черевного відділу аорти проводили методом ферментативного диспергування. Після декапітації тварин, швидко відпрепарували грудинно-черевний відділ аорти. Відпрепаровану черевну аорту щура завдовжки 4-5 см очищали від жирових наростів та промивали в охолоджену буфері Дюльбеко наступного складу (г/л): КСІ - 0,20, КН₂РО₄ - 0,20, NaCl - 8,0, Na₂НРО₄ - 2,16, глюкоза - 1, 98 (рН 7,4). Очищену судину

розрізали навпіл по всій довжині, поміщали інтимальною поверхнею назовні на дно чашки Петрі ($d=6\text{см}$) та додавали 0,1 % розчин колагенази (Fluka Chemic A.S. Німеччина), приготовленої на буфері Дюльбеко. Інкубацію підготовленої таким чином аорти проводили при 37°C впродовж 1 год. Після цього в розчин колагенази з клітинами додавали 20% сироватки для інгібування ферменту і осаджували клітини центрифугуванням 10 хв. при 1500 об/хв. Осаджені відмиті клітини ресуспендували в повному поживному середовищі і використовували для подальших досліджень (Сапин М. Р., Никитюк Д. Б., 2000) [159]

2.2.16. Статистична обробка результатів

Результати дослідження обробляли із застосуванням персонального комп'ютера за допомогою статистичного пакету прикладних програм Statistica 6.0 for Windows. Обчислення основних статистичних показників проводили за безпосередніми кількісними даними, отриманими внаслідок досліджень (середнє арифметичне значення – M ; стандартна похибка середнього арифметичного – m). Для оцінки достовірності відмінностей виборок вдавалися до непараметричного методу за критерієм Wilcoxon. Вірогідними вважали відмінності, в яких імовірність статистичної похибки – $P < 0,05$ Для оцінки достовірності відмінностей відсоткових показників використовували метод Пірсона.(Гланц С., 1999; Ремезов А. П. и соавт., 2005) [45, 151].

РОЗДІЛ ІІІ

ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Експериментальні моделі хламідійної інфекції та участь за цих умов імунної системи активно вивчається, враховуючи дані експериментальних та клінічних досліджень хламідійної інфекції, які вказують на провідний міунокомплексний механізм імунної відповіді при захисті від хламідійної інфекції і підтримання цього синдрому за умов хронічної колонізації хламідійних збудників [37, 171, 272]. Ця патогенетична ланка стала основою автоімунного компоненту, а в подальшому і автоімунної агресії за умов хронічної персистуючої хламідійної інфекції [189]. На основі цих даних нами була застосована класична експериментальна модель формування хронічної гіперімунокомплексемії за Cochrane C. [217] в модифікації Williams R. [294]. Оцінені основні ланки імунної відповіді у експериментальних тварин за умов тривалої циркуляції імунних комплексів у експериментальних тварин і проведено їх порівняння з їх показниками інтактних тварин.

Метою експериментальних досліджень в цій роботі була оцінка змін показників системи фагоцитозу у тварин з хронічним гіперімунокомплексним синдромом та його морфологічні наслідки.

3.1. Характеристика активності систем фагоцитозу та комплементу крові інтактних тварин та тварин з хронічним гіперімунокомплексним синдромом

Метою цієї частини роботи була оцінка захоплюючої функції фагоцитів, їх окислювально-відновної активності та її потенціалу тварин з хронічним гіперімунокомплексним синдромом.

Формування ГІКС оцінювалось за рівнем ЦІК та загальною комплементарною активністю сироватки крові. Захоплююча активність

фагоцитів характеризувалася ”раннім” та “пізнім” фагоцитарним числом та показником фагоцитозу, а окисно-відновна функція – НСТ-спонтанним та стимульованим, а також індексом стимуляції НСТ-тесту.

У таблиці 3.1 вказано стан фагоцитарної та комплементарної активності крові дослідних тварин за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому та інтактних тварин.

Як видно з таблиці, за умов хронічної гіперімунокомплексемії тенденційно зростає загальна кількість лейкоцитів ($P > 0,05$) і серед них вірогідно – абсолютна кількість нейтрофілів ($P < 0,05$). Активність ранньої фагоцитарної захоплюючої функції у дослідних тварин за фагоцитарним показником та фагоцитарним числом не відрізнялась від інтактних тварин, хоча “пізній” фагоцитарний показник та “пізнє” фагоцитарне число зростало у модельних тварин відповідно: з $2,21 \pm 0,28$ Г/л до $3,22 \pm 0,46$ Г/л ($P < 0,01$); з $4,40 \pm 0,16$ ум.од. до $3,85 \pm 0,19$ ум.од. ($P < 0,001$). Окисно-відновна активність нейтрофілів у дослідних тварин посилювалась за спонтанних умов в НСТ-тесті.

У той же час при стимульованому НСТ-тесті вона знижувалася у відносних числах з $36,06 \pm 2,58\%$ до $22,50 \pm 0,83$ ($P < 0,05$). Особливо цікаві зміни встановлені при аналізі індексу стимуляції НСТ-тесту в дослідних тварин: спостерігалось його вірогідне зниження з $3,21 \pm 0,08$ до $1,23 \pm 0,05$ ($P < 0,001$).

Ці зміни фагоцитарної активності у дослідних тварин підтверджувались стійким формування гіперімунокомплексного синдрому, який характеризувався вірогідним збільшенням рівня ЦК у дослідних тварин – $9,72 \pm 1,55$ г/л, у порівнянні з інтактними тваринами – $5,15 \pm 1,56$ г/л ($P < 0,01$), крім того, гіперімунокомплексний синдром супроводжувався у дослідних тварин зниженням загальної активності комплементу сироватки крові дослідних тварин - $50,96 \pm 3,14$ СН50 у порівнянні з інтактними тваринами – $60,46 \pm 2,65$ СН50 ($P < 0,05$).

**Показники фагоцитарної та комплементарної активності крові
дослідних тварин за умов хронічної гіперімунокомплексемії та інтактних
тварин (M±m)**

Показники		Групи тварин		P
		Інтактні тварини (n=10)	Дослідні тварини (n=24)	
Лейкоцити	Г/л	12,36±2,16	18,93±3.32	-
Нейторофіли	%	22,07±3,49	20,29±2.53	-
	Г/л	2,72±0,49	3,83±0.52	0.05
ФП 20 хв.	%	75,83±6,53	74.08±7.15	-
	Г/л	2,06±0.38	2.83±0.48	-
ФП 120 хв.	%	81.33±4.91	84.07±6.26	-
	Г/л	2.21±0.26	3.22±0.53	0.01
ФЧ 20 хв.	ум.од.	3.71±0.12	3.60±0.33	-
ФЧ 120 хв.	ум.од.	4.40±0.16	3.85±0.19	0.01
НСТ спонтан.	%	11.43±1.63	18.29±2.93	0.01
	Г/л	0.31±0.06	0.71±0.12	0.001
НСТ стимул.	%	36.06±2.58	22.50±1.83	0.05
	Г/л	0.44±0.015	0.54±0.06	-
ІС НСТ	-	3.21±0.08	1.23±0.05	0.001
ЦІК	г/л	5.15±1.53	9,72±1.55	0.01
АК	СН50	60.46±2.65	50.93±3.14	0.05

P – вірогідність різниці показників інтактних тварин з даними показниками дослідної групи тварин.

Показники фагоцитарної активності крові та комплементарної активності сироватки досліджуваних тварин за умов хронічної гіперімунокомплексемії та без неї (M±m)

Показники		Групи тварин		P
		Тварини з гіпер- ЦК (n=18)	Тварини без гіпер-ЦК (n=6)	
Нейторофіли	Г/л	3.93±0.35	3.41±0.04	-
ФП 20 хв.	%	70.23±8.24	76.31±6.83	-
	Г/л	2.76±0.28	2.60±0.24	-
ФП 120 хв.	%	72.15±2.04	88.4±3.83	0.02
	Г/л	2.84±0.28	3.01±0.42	-
ФЧ 20 хв.	ум.од.	3.23±0.41	3.98±0.25	-
ФЧ 120 хв.	ум.од.	3.05±0.15	4.21±0.21	0.001
НСТ спонтан.	%	16.31±2.84	21.24±3.24	-
	Г/л	0.64±0.05	0.72±0.04	-
НСТ стимул.	%	18.24±1.65	26.15±1.93	0.05
	Г/л	0.72±0.05	0.89±0.05	0.05
ІС НСТ	-	1.12±0.03	1.23±0.05	0.05
ЦК	г/л	9.85±2.03	6.02±1.82	0.001
АК	СН50	45.92±2.15	55.7±4.12	0.01

У таблиці 3.2 вказані особливості показників природженого імунітету в двох групах експериментальних тварин: з гіперімунокомплексемією та без неї. Як видно з цієї таблиці кількість нейтрофілів ранній фагоцитарний показник та фагоцитарне число, а також спонтанний НСТ-тест вірогідно не відрізнялись у цих двох групах тварин.

У той же час, показники “пізнього” фагоцитарного показника у відносних числах ($P < 0,02$), “пізнього” фагоцитарного числа ($P < 0,001$), стимульованого НСТ-тесту в абсолютних і відносних числах ($P < 0,05$), індексу стимуляції НСТ-тесту ($P < 0,05$) були вірогідно нижчими у порівнянні з показниками групи тварин без гіперімунокомплексемії. Крім того, у цій групі спостерігалася загальна гіпокомплементемія і активність комплементу в ній становила $45,9 \pm 2,2$ СН50 ($P < 0,01$).

Звичайно, ці зміни активності фагоцитарної і комплементарної систем супроводжувалися вираженою гіперімуно-комплексемією: рівень ЦІК становив $9,9 \pm 2,0$ г/л у ЦІК-серопозитивній групі тварин у порівнянні з другою групою тварин – ЦІК-серонегативній – $6,0 \pm 1,8$ г/л ($P < 0,001$).

Таким чином, фагоцитарна ланка фагоцитозу за умов хронічної гіперімунокомплексемії є зниженою, особливо при високих ЦІК. Порушено захоплювана, окисно-відновна активність нейтрофілів та моноцитів з поглибленням цих змін за умов гіперімунокомплексемії, зокрема, встановлене вірогідне зниження “пізнього” фагоцитозу та резервного потенціалу окисно-відновних процесів у фагоцитах.

3.2. Оцінка синтезу оксиду азоту в нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому

Попри велику кількість вивчених механізмів розвитку імунокомплексного ушкодження належить порушенням процесів синтезу оксиду азоту та внутрішньоклітинному оксидативному стресу, індукторами якого можуть бути як активні форми кисню, так і активні форми азоту, займають чільне місце в розвитку цього синдрому [38, 122]. Відомий зв'язок між рівнем оксиду азоту та імунорегуляторними білками та ендотелійзалежними факторами [195]. Однак, залишається відкритим питання щодо походження оксиду азоту, механізмів

ініціації, первинної ефекторної ланки тощо. До найбільш імовірних джерел активних його метаболітів при гіперімунокомплексному синдромі, відносять фагоцити, ксантиноксидазну систему та систему арахідонової кислоти [239].

Виходячи із вище вказаного метою цієї частини роботи було дослідити процеси синтезу оксиду азоту в нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові за умов хронічної персистенції імунних комплексів.

Синтез оксиду азоту оцінювали за активністю індукбельної і конститутивної NO-синтази та вмістом NO_2^- і NO_3^- аніонів та в нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові.

Отримані дані активності досліджуваних NO-синтаз у нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові представлені на рис. 3.1. Як видно з рисунка, рівень конститутивної NO-синтази був знижений у нейтрофілах ($P < 0,01$), досліджуваних тварин з одночасним наростанням рівня індукбельної NO-синтази в нейтрофілах ($P < 0,05$) та сироватці крові ($P < 0,01$).

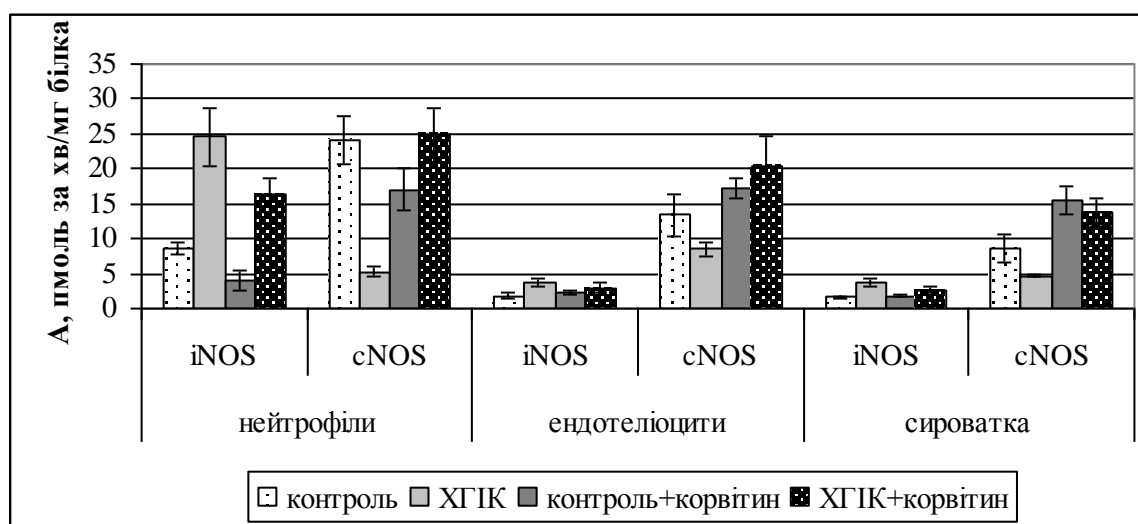


Рис. 3.1 Активність сумарної конститутивної та індукбельної NO-синтази в нейтрофілах, ендотеліоцитах та сироватці крові щурів у нормі, при хронічному гіперімунокомплексному синдромі ($M \pm m$, $n=22$)

Цікаво, що за умов гіперімунокомплексемії в досліджуваних тварин спостерігалось вірогідне зниження конститутивної NO-синтази в нейтрофілах ($P < 0,01$), моноцитах ($P < 0,05$). У той же час рівень індукбельної NO-синтази

значно зростав в моноцитах ($P<0,01$) та сироватці крові ($P<0,001$) досліджуваних тварин з гіперімунокомплексемією і частковим збільшенням її активності в нейтрофілах цієї групи тварин ($P<0,01$).

На рисунку 3.2. вказані рівень NO_2^- аніонів у нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові щурів у нормі та при хронічному гіперімунокомплексному синдромі. Як видно з цього рисунку у тварин з хронічним ГІКС встановлене зниження рівня NO_2^- аніону в нейтрофілах ($P<0,01$), моноцитах ($P<0,01$) та наростанні його рівня в сироватці крові цих тварин ($P<0,05$).

За умов порівняння груп тварин з серологічнопозитивними ЦІК та серологічнонегативними ЦІК встановлено лише вірогідне збільшення рівня NO_2^- аніонів у сироватці крові ($P<0,05$) тварин з гіперімунокомплексемією.

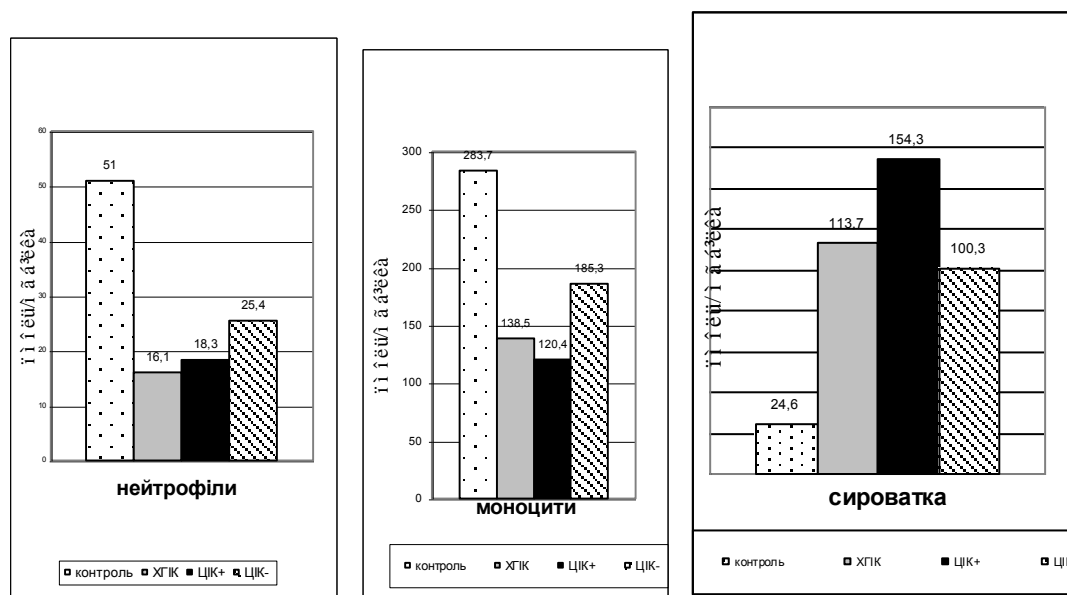


Рис. 3.2. Рівень NO_2^- -аніонів у нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові щурів у нормі, при хронічному гіперімунокомплексному синдромі

При визначенні вмісту NO_3^- -аніонів (рис. 3.3.) зафіксовано вірогідне зниження його вмісту на 67% до $5,41 \pm 0,95$ нмоль/мг білка в нейтрофілах ($P<0,01$), в моноцитах на 43% до $5,22 \pm 0,59$ нмоль/мг білка ($P<0,01$) без вірогідних змін його концентрації в сироватці крові.

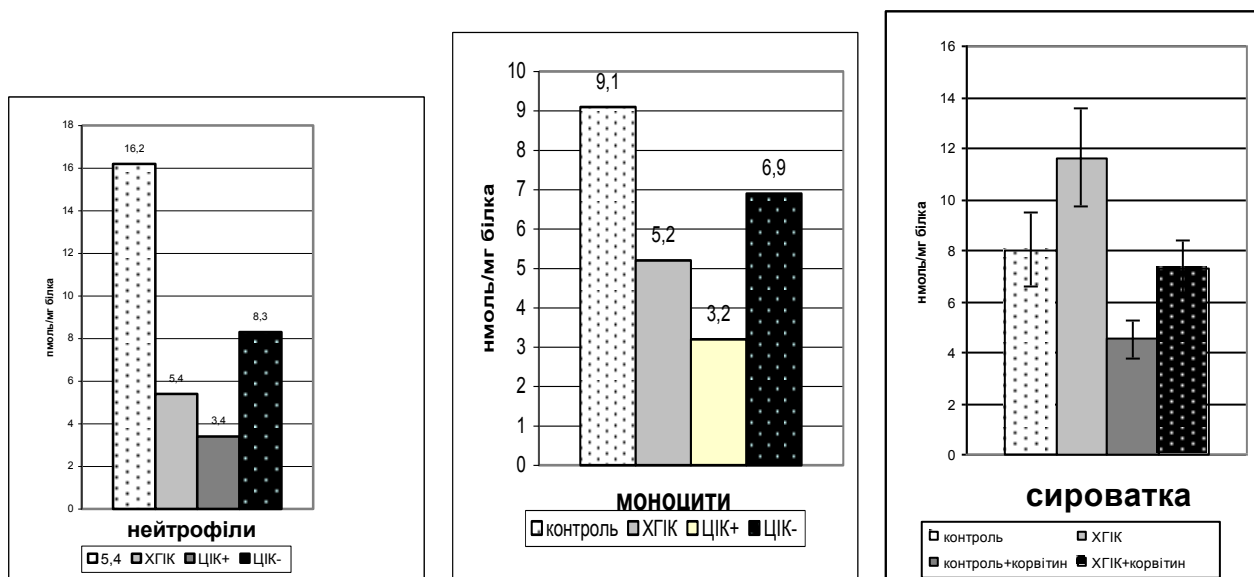


Рис. 3.3. Рівень NO_3^- -аніонів у нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові щурів у нормі, при хронічному гіперімунокомплексному синдромі

Згідно з уявленням про функціонування оксиду азоту в клітинах ссавців, продукти перетворення NO – NO_2^- і NO_3^- аніони можуть піддаватись біотрансформації [74]. Однією з причин, що обумовлюють зниження вмісту в клітинах нітрит- і нітрат-аніонів, може бути підвищений метаболізм NO .

Таким чином, у тварин з хронічним гіперімунокомплексним синдромом встановлене зниження конституційної NO -синтази в нейтрофілах та сироватці крові з одночасним наростанням індукцибельної NO -синтази в нейтрофілах та моноцитах. Рівень метаболіту NO_2^- -аніону теж знижувався в нейтрофілах з наростанням його рівня у сироватці крові.

3.3. Ультраструктурна характеристика нейтрофільних гранулоцитів та моноклеарних фагоцитів периферійної крові та ендотеліоцитів грудної аорти за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому

На даний час вже встановлено, що хронічна гіперімунокомплексемія супроводжується зниженням фагоцитарної активності та активацією ферментних систем нейтрофілів та моноцитів, з виділенням медіаторів запалення, здатних підтримувати і посилювати запальний процес. Однак морфологічних робіт, виконаних з метою встановлення конкретних одночасних ультраструктурних порушень нейтрофільних гранулоцитів та моноцитів – одночасних ефекторних клітин та ендотеліоцитів, мішеневих клітин з якими можна було б поєднати їх функціональні властивості за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому, не проводилось.

Електронно-мікроскопічні дослідження активованих нейтрофільних гранулоцитів та мононуклеарних фагоцитів описані при різних патологічних станах. Дослідження клітин на ультратонкому структурному рівні дозволяє більш точно визначити клітинні порушення як основу патогенезу і встановлення захворювань. Реактивність поліморфно ядерних лейкоцитів та моноцитів визначається їх здатністю до швидкової перебудови метаболізму клітин, яка супроводжується активацією мембранних структур, мобілізацією клітинних органел та виключенням бактерицидних речовин. Адекватність реакції на різноматні стимули забезпечується завдяки узгодженій дії багатьох ефекторних ланцюгів, що пов'язані зі змінами в структурній організації цих клітин.

Електронно-мікроскопічні дослідження проводили одномоментно з визначенням функціональних властивостей фагоцитів: захоплюючої, окисно-відновної, NO-синтазної.

Метою нашої роботи було на основі ультраструктурних особливостей нейтрофільних гранулоцитів та моноцитів, а також ендотеліоцитів отриманих від тварин з ХГІС, дати електронно-мікроскопічну характеристику ступеня активації досліджуваних клітин на основі ультраструктурних особливостей.

Рис. 3.1 Нейтрофільний гранулоцит інтактних тварин. Клітини з чітко окресленими краями цитоплазматичною (ЦМ) і ядерною мембранами (ЯМ). У цитоплазмі збережені первинні (ПЛ) і вторинні лізосоми (ВЛ), зустрічаються поодинокі мітохондрії (МХ). Зб. х 11000

Згідно з електронно-мікроскопічними даними в групі інтактних тварин ультраструктура нейтрофілів відповідає загальноприйняти уявленням про інтактні клітини (рис. 3.1.)

Неактивовані ПМЯЛ округлої форми з поодинокими відростками клітинної мембрани, цитоплазматичний матрикс рівномірної густини. Ядро складається із кількох сегментів, які різні за розміром, мають округлу чи подовгасту форму. Гетерохроматин розташований на периферії нуклеоплазми та еухроматин локалізований в центральних зонах. Клітини мають чітко окреслені цитоплазматичну та ядерну мембрани. В цитоплазмі неактивованих ПМЯЛ гранули розташовані відносно рівномірно. Азурофільні гранули (первинні лізосоми) круглої чи трохи подовженої форми, специфічні гранули (вторинні лізосоми) подібної форми. Від азурофільних гранул їх відрізняють менші розміри та наявність меншої електронної щільності матриксу. Кількість останніх гранул значно більша ніж азурофільних; наявність первинних і вторинних лізосом свідчить про активний перебіг обмінних процесів.

За умов хронічної гіперімунокомплексемії виявлено виражену реакцію нейтрофілів на змодельований патологічний процес (рис. 3.2).

Рис.3.2 Нейтрофільний гранулоцит тварин із змодельованою хронічною гіперімунокомплексемією. Клітина з ознаками запального процесу: тотальний набряк цитоплазми (ТН), перинуклеарний набряк (ПН), структурованість хроматину (СХ). У цитоплазмі збільшення кількості первинних (ПЛ), вторинних лізосом (ВЛ) та піноцитозних везикул (ПВ). Зб. х 11000

Ці клітини мають округлу форму без цитоплазматичних виростів, що очевидно може бути пов'язане знизженням захоплюючої здатності гранулоцитів. Крім цього, за умов гіперімунокомплексемії спостерігається типова реакція клітин при розвитку запального процесу: тотальний набряк цитоплазми та перинуклеарний набряк. Слід також відмітити, що в таких нейтрофілах зустрічаються структури, які не спостерігалися в клітинах контрольних тварин. В цитоплазмі спостерігаються вакуолі, іноді навіть дуже великих розмірів, відмежовані від цитоплазми мембранами. В деяких випадках зустрічалася

втрата цілісності цитоплазматичної мембрани, однак виходу вмісту цитоплазми за межі клітини не спостерігалось. Має місце збільшення структурованості хроматину, що може свідчити про старіння клітини. Поряд з цим у нейтрофілах не спостерігається суттєвого погіршення ультраструктури мітохондрій, натомість виявляються юні органели з електрощільним однорідним матриксом, які вважались резервом для утворення повноцінних органел. З іншої сторони, можна вважати що відбувається підвищення функціональної активності нейтрофілів, свідченням чого може бути збільшення кількості первинних і вторинних лізосом, які в основному сконцентровані на периферії, а також кількості, а подекуди і розмірів, піноцитозних везикул. Тобто одночасно поряд з розвитком “патологічних” змін в клітинах спостерігається залучення нейтрофілів до участі у запальному процесі в організмі піддослідних тварин.

Аналіз електронно-мікроскопічних перпаратів дозволяє прийти до висновку, що ультраструктура моноцитів крові контрольних тварин відповідає загально-прийнятим уявленням про інтактні клітини (рис.3.3.). Клітини мають чітко окреслені цитоплазматичні мембрани, мітохондрії в нормальному морфофункціональному стані, наявність піноцитозних везикул в досліджуваних клітинах свідчать про активний перебіг обмінних процесів, ядерні мембрани чітко окреслені.

При дослідженні тварин с хронічним імунокомплексним ураженням виявлено виражену реакцію моноцитів на змодельований патологічний процес рис. 3.4. У моноцитах превалюють деструктивні процеси: порується цілісність зовнішньоклітинної мембрани, що призводить до виходу клітинного вмісту в оточуюче середовище. Крім цього, збільшується оводненість цитоплазми про що свідчить наявність ділянок зі зменшенням її оптичної щільності. Відбувається набухання і вакуалізація мітохондрій, що вміщують дезорганізовані кристи, значну кількість автофаголізосом, мікроміхурців. Спостерігається набухання ядерної мембрани моноцитів з втратою її щільності і утворенням розривів, що може супроводжуватися надхдженням цитоплазматичних компонентів до ядра і ядерного матеріалу ззовні.

Таким чином, ультраструктурне дослідження нейтрофілів крові білих щурів з хронічною гіперімунокомплексемією дозволяє виявити електронно-мікроскопічні ознаки пошкодження нейтрофільних гранулоцитів і деструктивні ознаки змін в цитоплазмі. Характерним для більшості клітин було збільшення кількості первинних і вторинних лізосом та вакуолярних структур. Отримані дані підтверджують результати, які характеризують активність нейтрофільних гранулоцитів, проведені в умовах *in vitro* з використанням НСТ-тесту та визначенням їх захоплюючої здатності.

Рис.3.3. Ультраструктура цитоплазматичної мембрани (ЦМ), ядерної мембрани (ЯМ), піноцитозних везикул (ПВ) та мітохондрій (М), моноцита інтактного щура. Зб.х4000

Аналогічними деструктивними змінами відзначаються ефекторні фагоцитарні клітини – моноцити, що свідчать теж про їх активне залучення в розвиток хронічного гіперімунокомплексного синдрому.

Рис. 3.4. ультраструктура цитоплазматичної мембрани (ЦМ), розрив ядерної мембрани (РЯМ), набухання ядерної мембрани (НЯМ), мітохондрій (М), деструкція (Д) моноцита щура з хронічним гіперімунокомплексним синдромом. Збх4000

3.4. Ультраструктурна характеристика ендотеліоцитів черевної аорти білих щурів у нормі та при хронічному гіперімунокомплексному синдромі

Внаслідок електронно-мікроскопічного дослідження ультратонких зрізів черевної частини аорти інтактних тварин встановлено, що вона має форму трубочки, центральна частина якої заповнена кров'ю, а стінки сформовані з ендотелію, базальної мембрани, субендотеліального шару, внутрішньої еластичної мембрани, середньої та зовнішньої оболонок (рис.3.5)

Рис.3.5. Ультраструктура просвіту аорти (ПА), ендотеліальних клітин (ЕК), базальної мембрани (БМ), внутрішньої еластичної мембрани (ВЕМ) та гладком'язових клітин (ГМК) черевного відділу інтактного щура. Зб.х 3000.

Ендотелій значної частини аорти організований плоскими клітинами, які містять цитоплазму середньої електронної щільності і ядро з великою кількістю випинань. Ядра ендотеліальних клітин злокалізовані, в основному, в апікальній частині цитоплазми, тоді як базальна частина представлена дрібнозернистою гіалоплазмою, рибосомами, полісомами, агранулярним ендоплазматичним ретикулумом. Базальна частина плазматичної мембрани ендотеліальних клітин перебуває у тісному взаємозв'язку із базальною мембраною стінки аорти. Інколи в кортикальному шарі базальної цитоплазми плазматична мембрана утворює випинання і заглибини, у яких спостерігається згромадження електроннощільних частин базальної мембрани, що, можливо, забезпечує сильніше зчеплення між ними.

Люмінальна поверхня ендотеліальних клітин має хвилеподібний рельєф із невеликою амплітудою. У кортикальних шарах цитоплазми ендотеліальних клітин трапляються поодинокі, невеликих розмірів, електроннощільні

аутофаголізосоми. Окремі ділянки ендотелію аорти представлені ендотеліальними клітинами, які мають витягнуту форму і своєю апікальною частиною, де локалізоване ядро, занурені у плазму крові.

Рис. 3.6 Ультраструктура дезорганізованого ендотелію (ЕТ). У субендотеліальному шарі депозити (Д). Внутрішня еластична мембрана (ВЕМ) вміщує розширені фенестри, є стоншеною та насиченою електроннощільними депозитами (Д) – як з боку ендотелію, так і з боку гладком'язових клітин (ГМК) черевного відділу аорти щура з ХГІС. 36.х2000.

Значна частина ендотеліального шару утворена сплющеними ендотеліальними клітинами, що мають електроннощільну цитоплазму, яка сконцентрована, в основному, біля ядра (рис. 3.6). Периферійні ділянки цитоплазми цих клітин являють собою дуже тонкий шар, який на значну віддаль простягається від ядра. Термінальні закінчення тонкого шару цитоплазми ендотеліальних клітин часто не перебувають у контакті із сусідніми

ендотеліальними клітинами. Зареєстровано, що люмінальна поверхня ендотеліальних клітин утворює значну кількість ворсинок або вип'ячувань та інвагінацій. У цитоплазмі ендотеліальних клітин є дезорганізовані, а то й вакуолізовані мітохондрії, канали зруйнованого ендоплазматичного ретикулуму. Ядра ендотеліальних клітин мають дуже нерівний контур, значну кількість куполоподібних випинань. Плазматична мембрана ендотеліальних клітин на значних ділянках є розпушеною, перерваною, і з внутрішнього боку до неї тісно прилягає значна кількість дуже дрібних електроннощільних утворів у формі депозитів.

Таким чином, ультраструктурні зміни ефекторних клітин фагоцитозу та зміни мішеневих клітин свідчать про значні перебудови імунної відповіді у тварин з хронічною гіперімунокомплексемією.

Основні наукові положення даного розділу опубліковані у таких працях:

Чоп'як В. В., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г., Садляк О. В., Качмарська М. О., Никитюк Г. П. Гіперімунокомплексний синдром в експерименті та клініці. // Вісник наукових досліджень. – 2007. – №1. – С. 5-8 [189].

Садляк О. В., Чоп'як В. В., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г. Хронічний гіперімунокомплексний синдром: коригуючий вплив корвітину на метаболізм L-аргініну в лімфоцитарно-ендотеліальних взаємодіях. // Імунологія та алергологія. – 2007. – №1. – С. 63-66 [158].

РОЗДІЛ IV

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1. Оцінка молекулярно-генетичних досліджень хламідійної інфекції в хворих

Молекулярно-генетична діагностика на основі полімеразно-ланцюгової реакції дозволяє на основі високої специфічності та значної чутливості верифікувати діагноз хламідійної інфекції [18].

Метою цього розділу досліджень було оцінити виявлення *Chlamydia trachomatis* та *Chlamydia pneumoniae* в крові та відповідних зішкрябах хворих на уrogenітальний хламідіоз, реактивний артрит та хворобу Рейтера, кератокон'юктивіт, хворобу Рейтера хламідійного генезу, а також хворих на хронічний бронхіт, пневмонію, бронхіальну астму та неревматичні вади серця хламідійного генезу. Було використано сучасну ДНК-діагностику цих збудників на основі ланцюгово-полімеразної реакції.

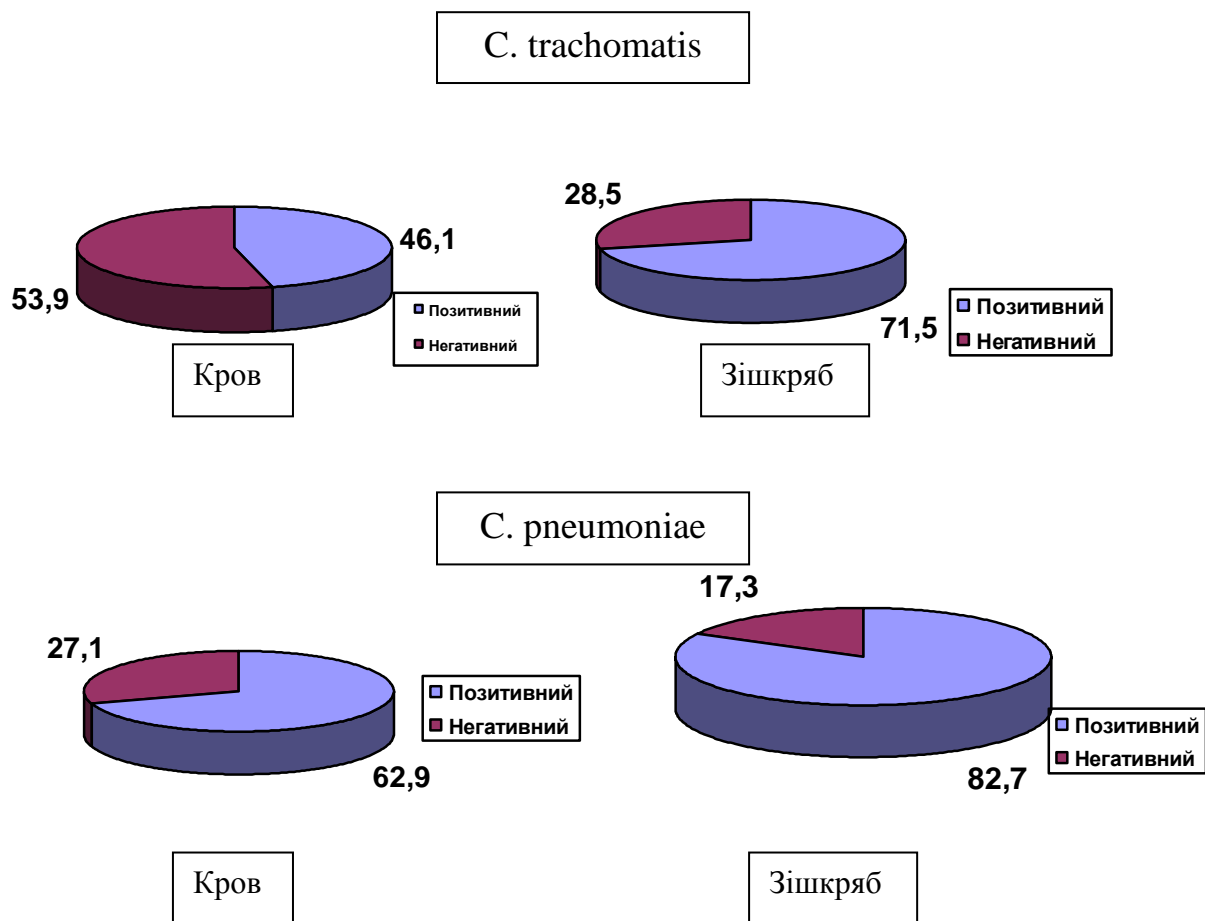
ДНК-діагностику *C. trachomatis* було проведено в 124-ох хворих на уrogenітальні хвороби, кератокон'юктивіти, неактивні артрити, хворобу Рейтера, в яких був спровокований хламідійний анамнез і були позитивні інші хламідійні маркери.

ДНК-діагностику *C. pneumoniae* було проведено в 24-ох хворих на хронічний бронхіт, пневмонії, бронхіальну астму, неревматичні вади серця в яких був ускладнений хламідійний анамнез та позитивні маркери хламідійної інфекції.

На рисунку 4.1. вказано виявлення ДНК-хламідійних інфекцій в крові, уретральному, цервікальному та фарингіальному зішкрябах хворих на хламідійну інфекцію методом ПЛР-діагностики.

Як видно з рисунку *C. trachomatis* у крові хворих на хламідійну інфекцію виявлялась у 46.1% хворих на уrogenітальний хламідіоз, реактивний артрит,

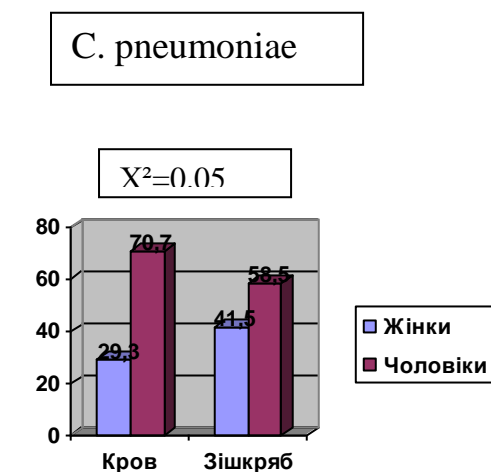
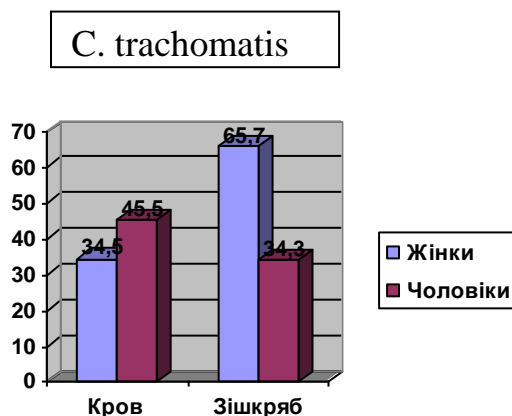
кератокон'юктивіт та хворобу Рейтера з підозрою на хламідійний генез, а уретральному, цервікальному та кон'юнктивальному зішкрябах у 71,5% випадків. У той же час *S. pneumoniae* була верифікована у хворих з підозрою на хламідійний генез хронічного бронхіту, пневмонії, бронхіальної астми, вад серця в крові – 62,9% хворих, а в фарінгіальному зішкрябі – 82,7% хворих.



4.1. Виявлення ДНК *Chlamidia trachomatis* та *Chlamidofila pneumoniae* в крові, уретральному, цервікальному та фарінгіальному зішкрябах хворих на хламідійну інфекцію методом ПЛР-діагностики

За умов гіперімунокомплексемії у хворих на хронічний хламідіоз ДНК *C. trachomatis* виявились вірогідно частіші у крові $\chi^2=0,05$ цієї групи хворих в порівнянні з хворими без гіперімунокомплексемії, зішкрябах вірогідності виявити у цих групах не вдалося.

Аналіз статевих особливостей ДНК- діагностики хламідійних інфекцій показано на рисунку 4.2. Як видно з рисунку, ДНК *S. trachomatis* виявилась частіше в крові хворих чоловіків, а в зішкрябах – у жінок, хоча без вірогідності.



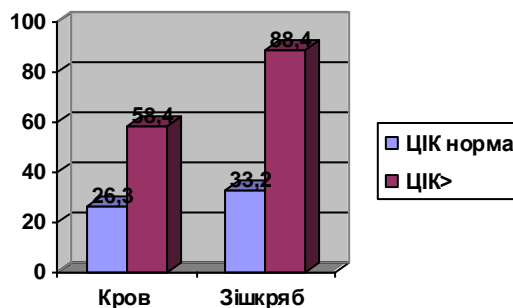
4.2. Виявлення у жінок та чоловіків ДНК *Chlamydia trachomatis* та *Chlamydia pneumoniae* в крові, уретральному (чоловіків), цервікальному (жінки) та фарингіальному (жінки та чоловіки) зішкрябах хворих на хламідійну інфекцію методом ПЛР-діагностики

Аналогічно ДНК-позитивна *C. pneumoniae* в крові хворих чоловіків на бронхіт, пневмонії, бронхіальну астму, неревматичні вади серця хламідійного генезу була виявлена вірогідно частіше, ніж у жінок ($\chi^2 = 0,05$), у зішкрябах хворих вірогідність відсутня.

Вікових особливостей з виявлення ДНК хламідій в досліджуваних хворих виявити не вдалося.

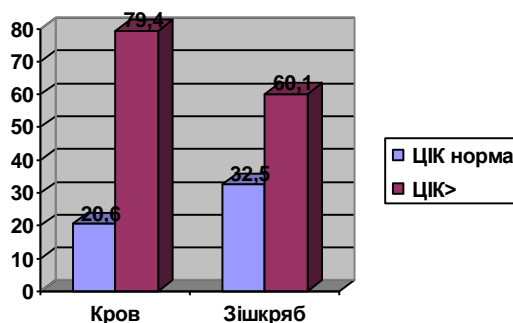
C. trachomatis

$\chi^2=0.05$



C. pneumoniae

$\chi^2=0.05$



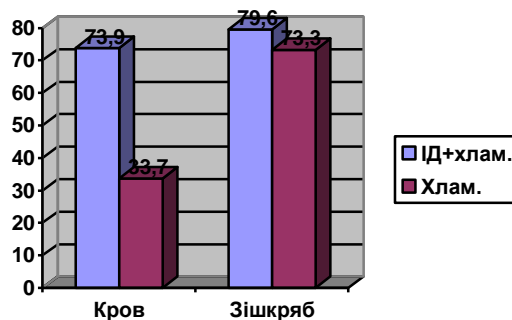
4.3. Виявлення ДНК *Chlamydia trachomatis* та *Chlamydofila pneumoniae* в крові, уретральному, цервікальному та фарингіальному зішкрябах хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та без неї методом ПЛР-діагностики

На рис. 4.3. вказані особливості ДНК-діагностики хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та без неї. Як видно з рисунка, у хворих з гіперімунокомплексемією виявлення ДНК *C. trachomatis* було вірогідним в

зішкрябах, а *C. pneumoniae* – в крові, у порівнянні з хворими без імунокомплексмії.

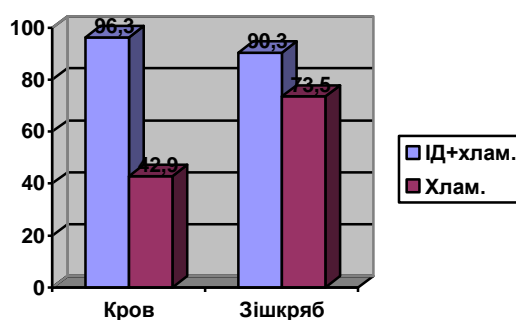
C. trachomatis

$$\chi^2=0.05$$



C. pneumoniae

$$\chi^2=0.02$$



4.4. Виявлення *Chlamydia trachomatis* та *Chlamydia pneumoniae* в крові, уретральному, цервікальному та фарингіальному зішкрябах хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту методом ДНК-діагностики

На рисунку 4.4. зображені особливості виявлення ДНК хламідій у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту. Як видно з рисунка, у групі хворих з ІД *C. trachomatis* ($\chi^2 = 0,05$) та *C. pneumoniae* ($\chi^2=0, 02$) були

діагностовані вірогідно частіше в крові таких хворих, у зішкрябах різниця виявлення специфічної ДНК була невірогідною.

Вірогідних відмінностей у виявленні у виявленні ДНК *S. trachomatis* у хворих на хворобу Рейтера та хворих на хламідіоз з проявами ІД в крові та зішкрябах не встановлено.

Таким чином, ДНК-діагностика хламідійної інфекції є ефективним діагностичним верифікаційним методом цих збудників. Частіше ДНК хламідій виявлялось у крові чоловіків (*S. pneumoniae*), а в зішкрябах – у жінок (*S. trachomatis*). У хворих на хламідіоз за умов імунодефіциту позитивна ДНК цих збудників частіше виявлялась у крові. При гіперімунокомплексному синдромі *S. pneumoniae* теж була частіше присутня в крові хворих на хламідійну інфекцію.

4.2. Оцінка стану систем фагоцитозу та комплементу хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту

Відомо, що за умов хламідійної інфекції є значні порушення клітинного природженого імунітету, а також системи комплементу, особливо за умов імуноскомпроментованого організму.

Метою цього розділу була оцінка стану системи фагоцитозу, її функціональної здатності та загальної комплементарної активності в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

Було обстежено 150 хворих на хламідіоз: з них 82 жінки, 68 чоловіків, у віці до 35 років – 57 хворих, 35 і більше років - 93 хворих, з гіперімунокомплексним синдромом – 55 хворих, з проявами імунодефіциту - 39 хворих, з хворобою Рейтера – 11 хворих. Контрольну групу склала 31 практично здорова особа, відповідного віку та статі.

Оцінку стану системи фагоцитозу проводили за захоплюючою здатністю фагоцитів, окисно-відновною активністю нейтрофілів спонтанним та стимульованим НСТ-тестом, а також рівнем ЦІК в крові. Стан системи

комplementу оцінювався за загальною complementарною активністю сироватки за 50% гемолізом еритроцитів.

Таблиця 4.5

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної complementарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію та здорових обстежених ($M \pm m$)

Показники		Здорові n=31	Хворі n=150	P
Нейтрофіли	Г/л	3.56 ± 0.23	3.11 ± 0.13	0.01
ФП	%	65.41 ± 6.46	47.25 ± 5.34	0.001
ФП	Г/л	2.35 ± 0.37	1.48 ± 0.46	0.05
НСТ сп.	%	8.64 ± 2.43	12.03 ± 5.73	-
НСТ сп.	Г/л	0.30 ± 0.10	0.37 ± 0.07	-
НСТ ст.	%	26.82 ± 4.33	27.34 ± 5.06	-
НСТ ст.	Г/л	0.97 ± 0.22	0.84 ± 0.12	-
НСТ ст/сп	-	3.24 ± 0.10	2.81 ± 0.22	0.05
Заг. компл.т	СН 50	59.03 ± 4.82	50.53 ± 3.15	0.01
ЦІК	г/л	4.44 ± 0.90	6.72 ± 0.51	0.001

У таблиці 4.5 вказані показники системи фагоцитозу, рівня ЦІК та загальної complementарної активності сироватки в хворих на хламідійну інфекцію та здорових обстежених.

Як видно з таблиці, абсолютна кількість нейтрофілів у хворих на хламідійну інфекцію була вірогідно нижча., ніж у здорових осіб ($P < 0.01$). Фагоцитарний показник за відносним ($P < 0.001$) та абсолютним ($P < 0.05$) значенням теж був знижений у хворих, у порівнянні зі здоровими. Важливим

виявилось зниження індексу стимуляції НСТ-тесту в хворих на хламідійну інфекцію з 2.81 ± 0.22 до 3.24 ± 0.10 ($P < 0.05$), що супроводжувалося вираженим зростанням рівня ЦК до 6.72 ± 0.51 г/л ($P < 0.001$) та розвитком імунокомплексного синдрому в хворих у порівнянні зі здоровими. У той же час, активність комплементу у хворих на хламідійну інфекцію вірогідно знижувалася у порівнянні з контрольною групою ($P < 0.01$).

У 42,0% хворих на хламідійну інфекцію встановлено зниження фагоцитарного показника, у 26,8% хворих - НСТ-індексу, в 29,5% хворих – загальної комплементарної активності сироватки крові, в той же час у 21,4% хворих було встановлено підвищення відносної кількості НСТ-позитивних нейтрофілів.

У таблиці 4.6. проведено порівняння показників системи фагоцитозу, рівня ЦК та загальної комплементарної активності сироватки в хворих жінок та чоловіків, хворих на хламідійну інфекцію.

Як видно з таблиці, показники фагоцитарної активності та системи комплементу не мали статевих особливостей у обстежених хворих, лише рівень ЦК у хворих чоловіків був вищим в сироватці крові і становив 6.99 ± 0.29 г/л у порівнянні з жінками, хворими на хламідійну інфекцію - 6.43 ± 0.15 г/л ($P < 0.05$).

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію жінок та чоловіків (M±m)

Показники		Жінки n=82	Чоловіки n=68	P
Нейтрофіли	Г/л	3.12 ± 0.31	3.10 ± 0.35	-
ФП	%	48.73 ± 2.74	45.63 ± 3.92	-
ФП	Г/л	1.53 ± 0.45	1.42 ± 0.46	-
НСТ сп.	%	11.92 ± 3.67	12.15 ± 3.79	-
НСТ сп.	Г/л	0.32 ± 0.07	0.37 ± 0.08	-
НСТ ст.	%	26.77 ± 6.78	27.62 ± 7.36	-
НСТ ст.	Г/л	0.83 ± 0.21	0.85 ± 0.24	-
НСТ ст/сп	-	2.79 ± 1.63	2.81 ± 1.61	-
Заг. компл.	СН 50	51.52 ± 9.19	49.61 ± 11.12	-
ЦІК	г/л	6.43 ± 0.15	6.99 ± 0.29	0.05

У таблиці 4.7. запропоновані вікові особливості стану фагоцитозу , рівня ЦІК та загальної комплементарної активності в хворих на хламідійну інфекцію до 35-ти років, а також 35 років і більше.

Як видно з таблиці, у хворих 35 і більше років були вірогідно нижчими фагоцитарні показники за відносним значенням - 45.63 ± 2.09 % , у порівнянні з відповідними показниками хворих до 35 років - 54.0 ± 3.52 % (P<0.01). Інші показники системи комплементу, фагоцитозу не мали вірогідних відмінностей у цих вікових групах.

Проведене порівняння хворих на хламідійну інфекцію, викликану *Chlamidia trachomatis* та *Chlamidia pneumoniae*, за досліджуваними показниками систем фагоцитозу, комплемента та рівня ЦК. Отримані результати не показали вірогідних їх змін у групах досліджених хворих.

Таблиця 4.7

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років ($M \pm m$)

Показники		До 35 років n=57	35 років і більше n=93	P
Нейтрофіли	Г/л	3.07 ± 0.36	3.14 ± 0.31	-
ФП	%	54.0 ± 3.52	45.63 ± 2.09	0.01
ФП	Г/л	1.55 ± 0.47	1.44 ± 0.45	-
НСТ сп.	%	11.43 ± 5.67	12.34 ± 5.73	-
НСТ сп.	Г/л	0.34 ± 0.17	0.38 ± 0.18	-
НСТ ст.	%	26.53 ± 6.51	27.52 ± 7.35	-
НСТ ст.	Г/л	0.81 ± 0.21	0.86 ± 0.23	-
НСТ ст/сп	-	2.81 ± 1.29	2.79 ± 1.79	-
Заг. компл.	C50	51.72 ± 10.1	49.90 ± 10.13	-
ЦК	г/л	5.58 ± 1.39	5.75 ± 1.27	-

У таблиці 4.8. вказані особливості стану системи фагоцитозу, рівня ЦК та комплементарної активності сироватки крові хворих на хламідійну інфекцію з проявами гіперімуннокомплексемії та без неї.

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та без неї (M±m)

Показники		Хламідіоз (ЦІК в нормі) n=95	Хламідіоз (ЦІК- більше норми) n=55	P
Нейтрофіли	Г/л	3.15 ± 0.32	3.05 ± 0.34	-
ФП	%	54.72 ± 5.35	33.25 ± 7.90	0.001
ФП	Г/л	1.72 ± 0.32	1.02 ± 0.37	0.001
НСТ сп.	%	10.22 ± 1.27	13.58 ± 1.53	0.02
НСТ сп.	Г/л	0.35 ± 0.03	0.41 ± 0.02	0.05
НСТ ст.	%	27.28 ± 6.30	27.25 ± 8.23	-
НСТ ст.	Г/л	0.85 ± 0.20	0.82 ± 0.26	-
НСТ ст/сп	-	2.70 ± 1.00	3.01 ± 2.32	-
Заг. компл.	СН 50	56.66 ± 5.61	39.74 ± 6.72	0.05
ЦІК	г/л	5.98 ± 0.46	7.07 ± 0.47	0.001

Як видно з таблиці, у хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексним синдромом були знижені в абсолютних ($P < 0.01$) і відносних ($P < 0.01$) числах фагоцитарний показник, а також абсолютний ($P < 0.05$) і відносний ($P < 0.02$) показник спонтанного НСТ-тесту, що підтверджувалось значною гіперімунокомплексемією до 7.07 ± 0.47 г/л у цієї групи хворих в порівнянні з хворими без гіперімунокомплексного синдрому, у яких рівень ЦІК становив 5.98 ± 0.46 г/л ($P < 0.001$). Крім того, в хворих з гіперімунокомплексним синдромом спостерігалось вірогідне зниження

загальної комплементарної активності сироватки до 39.74 ± 6.72 СН 50 ($P < 0.05$).

У таблиці 4.9 вказані характерні зміни системи фагоцитозу, рівня ЦК та загальної комплементарної активності крові хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

Таблиця 4.9

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту ($M \pm m$)

Показники		ІД+хламідіоз n=39	Хламідіоз n=111	P
Нейтрофіли	Г/л	2.99 ± 0.36	3.16 ± 0.29	0.01
ФП	%	42.22 ± 7.13	54.2 ± 5.87	0.05
ФП	Г/л	1.28 ± 0.18	1.59 ± 0.17	0.01
НСТ сп.	%	10.35 ± 7.70	12.02 ± 4.38	-
НСТ сп.	Г/л	0.31 ± 0.24	0.38 ± 0.14	-
НСТ ст.	%	24.52 ± 2.65	29.75 ± 2.46	0,02
НСТ ст.	Г/л	0.73 ± 0.007	0.87 ± 0.06	0.05
НСст/сп	-	3.98 ± 0.57	2.55 ± 0.61	0.01
Заг. компл.	СН 50	46.10 ± 5.35	55.73 ± 3.37	0.05
ЦК	г/л	7.29 ± 0.42	6.41 ± 0.32	0.002

Як видно з таблиці, в хворих з імунодефіцитом спостерігалось зниження кількості нейтрофілів ($P < 0.01$), абсолютного ($P < 0.01$) та відного ($P < 0.05$) числа фагоцитарного показника, абсолютного ($P < 0.05$) та відносного ($P < 0.02$) показника стимульованого НСТ-тесту, комплементарної активності ($P < 0.05$)

сироватки крові, в той же час - підвищення індексу стимуляції НСТ-тесту ($P < 0.01$) та рівня ЦІК в крові ($P < 0.002$) в цієї групи хворих у порівнянні з хворими без проявів імунодефіциту.

Аналіз порівняння даних показників за Пірсоном показав, що у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту було виявлено підвищення фагоцитарного показника у 46,4% хворих ($P < 0.001$), спонтаного НСТ-тесту – у 35,7% хворих ($P < 0.01$), загального комплементу у 57,1% хворих ($P < 0.05$), а зниження досліджуваних показників було встановлено у 21,4% хворих за НСТ-тестом, а у 28,6% - за індексом стимуляції НСТ-тесту ($P < 0.05$), у 57,1% - рівня ЦІК ($P < 0.05$).

Таблиця 4.10

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові в жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту ($M \pm m$)

Показники		ІД+хламідіо з (жін.) n=19	ІД+хламідіоз (чол.) n=20	P
Нейтрофіли	Г/л	2.97 ± 0.27	3.03 ± 0.52	-
ФП	%	46.21 ± 2.12	33.88 ± 4.76	0.05
ФП	Г/л	1.39 ± 0.58	1.05 ± 0.54	-
НСТ сп.	%	11.84 ± 8.03	7.22 ± 6.24	-
НСТ сп.	Г/л	0.36 ± 0.25	0.23 ± 0.20	-
НСТ ст.	%	24.42 ± 7.44	24.77 ± 8.55	-
НСТ ст.	Г/л	0.72 ± 0.23	0.74 ± 0.28	-
НСТ ст/сп	-	3.39 ± 2.83	5.23 ± 3.01	-
Заг. компл.	СН 50	48.47 ± 11.84	41.11 ± 12.71	-
ЦІК	г/л	6.20 ± 0.58	7.42 ± 0.39	0.001

У таблиці 4.10. показані особливості системи фагоцитозу рівня ЦК, комплементу жінок та чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

Як видно з таблиці, особливості збільшення рівня ЦК у чоловіків у порівнянні з жінками хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту зберігаються, але різниця їх наростає ($P < 0.001$). У то же час, в цієї групи чоловіків знижується фагоцитарний показник у відносних числах до $33.88 \pm 4.76 \%$ в порівнянні з жінками ($P < 0.05$).

Таблиця 4.11

Особливості показників системи фагоцитозу та загальної комплементарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту до 35-и, 35 і більше років ($M \pm m$)

Показники		ІД+хламідіоз до 35 n=22	ІД+хлам 35 і більше n=17	P
Нейтрофіли	Г/л	2.98 ± 0.32	3.00 ± 0.40	-
ФП	%	44.45 ± 20.04	40.82 ± 15.50	-
ФП	Г/л	1.35 ± 0.64	1.26 ± 0.55	-
НСТ сп.	%	12.72 ± 7.79	8.82 ± 7.46	-
НСТ сп.	Г/л	0.39 ± 0.24	0.27 ± 0.23	-
НСТ ст.	%	26.45 ± 6.90	23.29 ± 8.06	-
НСТ ст.	Г/л	0.79 ± 0.24	0.69 ± 0.24	-
НСТ ст/сп	-	3.10 ± 2.09	4.55 ± 3.36	-
Заг. компл.	СН 50	44.77 ± 11.15	47.0 ± 13.39	-
ЦК	г/л	7.02 ± 0.36	7.91 ± 0.17	0.05

У таблиці 4.11 вказані зміни системи фагоцитозу, рівня ЦІК та загальної комплементарної активності сироватки хворих на хламідійну інфекцію з проявами хламідіозу в залежності від вікового розподілу

Як видно з таблиці, в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту в віковій групі 35 і більше років спостерігалось наростання рівня ЦІК до 7.91 ± 0.17 г/л у порівнянні з групою до 35-ти років - 7.02 ± 0.36 г/л ($P < 0.05$). Інші зміни даних показників у цих досліджуваних групах не встановлені.

У таблиці 4.12. вказані показники фагоцитозу, рівня ЦІК та комплементу хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та порівнянні з відповідними показниками на хворобу Рейтера.

Як видно з таблиці, в хворих на хворобу Рейтера поглиблювалось зниження абсолютного ($P < 0.02$) і відносного ($P < 0.05$) числа фагоцитарного показника з активізацією відносного числа спонтанного НСТ-тесту ($P < 0.05$) і падінням індексу стимуляції НСТ-тесту ($P < 0.05$) у порівнянні з хворими на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту. Гіперімунокомплексний синдром у хворих на хворобу Рейтера наростав і рівень ЦІК становив - 7.84 ± 0.55 г/л у порівнянні з хворими на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту - 6.40 ± 0.69 г/л ($P < 0.05$).

Таким чином, встановлено, що хворі на хламідійну інфекцію мають зниження фагоцитарного показника, індексу стимуляції НСТ-тесту, розвиток гіперімунокомплексного синдрому з падінням рівня загального комплементу. Гіперімунокомплексний синдром поглиблював ці зміни у хворих. За умов імунодефіциту на тлі хламідійної інфекції спостерігалось подальше зниження фагоцитарного показника, стимульованого НСТ-тесту, наростання гіперімунокомплексного синдрому з проявами гіпокомплементемії.

Особливості показників системи фагоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів та загальної комплементарної активності сироватки крові в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та хворобу Рейтера (M±m)

Показники		ІД +хламідіоз n=22	хв.Рейтера n=11	Р
Нейтрофіли	Г/л	2.98 ± 0.35	2.89 ± 0.44	-
ФП	%	41.09 ± 4.63	30.09 ± 4.85	0.002
ФП	Г/л	1.25 ± 0.20	0.85 ± 0.14	0.05
НСТ сп.	%	10.22 ± 2.81	16.45 ± 1.45	0.05
НСТ сп.	Г/л	0.31 ± 0.23	0.46 ± 0.28	-
НСТ ст.	%	23.77 ± 7.77	27.63 ± 10.11	-
НСТ ст.	Г/л	0.71 ± 0.25	0.78 ± 0.32	-
НСТ ст/сп	-	3.92 ± 0.78	2.31 ± 0.60	0.05
Заг. компл.	СК50	45.81 ± 12.86	39.90 ± 10.50	-
ЦІК	г/л	6.40 ± 0.69	7.84 ± 0.55	0.005

У чоловіків цієї групи фагоцитарний показник та рівень ЦІК зазнав глибших змін у порівнянні з жінками, а також вікова група хворих 35 і більше років мала більш виражений гіперімунокомплексний синдром. У хворих на хворобу Рейтера було встановлено більш значне зниження фагоцитарного показника, індексу стимуляції НСТ-тесту з наростанням гіперімунокомплексного синдрому в порівнянні з хворими на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

4.3. Фенотипування лімфоцитів та активізаційні та їх маркери хворих на хламідійну інфекції з проявами імунодефіциту

Клітинний адаптаційний імунітет активно включений в протихламідійний захист в організмі людини [8]. Встановлені певні зрушення цього імунного нагляду за умов хронічної хламідійної інфекції [143].

Метою цього розділу дослідження була оцінка змін лімфограми, а також ранніх і пізніх маркерів активації лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію та особливості цих клітин за умов імуноскомпроментованого організму.

Було обстежено 150 хворих на хламідіоз: з них 82 жінки, 68 чоловіків, у віці до 35 років – 37 хворих, 35 і більше років - 93 хворих, з гіперімунокомплексним синдромом – 55 хворих, з проявами імунодефіциту - 39 хворих, з хворобою Рейтера – 11 хворих. Контрольну групу склала 31 практично здорова особа, відповідного віку та статі.

Для оцінки лімфограми використовували моноклональні антитіла до певних молекул на різних популяціях та субпопуляціях лімфоцитів (CD3+/-, CD4+/-, CD8+/-, CD16+/56+/-, CD19+/-, CD4+/25+/-, CD25+/-, CD HLA DR+/-) із застосуванням проточної цитометрії та світової мікроскопії.

У таблиці 4.13. вказані зміни лімфограми та активізаційних маркерів лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію, а також здорових обстежених.

Як видно з таблиці, в хворих на хламідійну інфекцію виявлено зниження CD4+/CD8+ регуляторного індексу ($P < 0.01$), абсолютної кількості CD4+/25+ ($P < 0.05$) лімфоцитів з одночасним підвищенням CD16+/56+ ($P < 0.02$) лімфоцитів та абсолютної та відносної кількості активованих CD25+ ($P < 0.001$) клітин. Крім того, у 35,7 % хворий на хламідійну інфекцію встановлено зниження абсолютної кількості Т-хелперів та у 33,0 % хворих регуляторного індексу, а підвищення у 11,6 % хворих відносної кількості цитотоксичних лімфоцитів та у 45,5 % хворих активованих форм лімфоцитів.

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію та здорових обстежених
(M±m)**

Показники		Здорові n=31	Хворі n=150	P
Лімфоцити	Г/л	2.26 ± 0.23	1.84 ± 0.15	-
CD3+	%	68.38 ± 6.13	65.38 ± 7.44	-
CD3+	Г/л	1.47 ± 0.31	1.21 ± 0.35	-
CD4+	%	36.35 ± 5.34	33.58 ± 6.61	-
CD4+	Г/л	0.78 ± 0.19	0.61 ± 0.17	-
CD8+	%	24.61 ± 5.04	27.31 ± 4.97	-
CD8+	Г/л	0.52 ± 0.14	0.55 ± 0.15	-
CD4+/CD8+	-	1.51 ± 0.18	1.29 ± 0.19	0.01
CD4+/25+	%	7.61 ± 1.64	8.55 ± 2.90	-
CD4+/25+	Г/л	0.16 ± 0.04	0.10 ± 0.03	0.05
CD16+/56+	%	10.93 ± 3.38	14.81 ± 3.44	-
CD16+/56+	Г/л	0.24 ± 0.10	0.28 ± 0.02	0.02
CD19+	%	12.03 ± 3.74	15.06 ± 3.59	-
CD19+	Г/л	0.26 ± 0.10	0.22 ± 0.07	-
CD25+	%	15.51 ± 2.86	21.12 ± 3.18	0.001
CD25+	Г/л	0.33 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.001
CD HLA DR+	%	17.67 ± 4.10	21.34 ± 7.48	-
CD HLA DR+	Г/л	0.38 ± 0.11	0.38 ± 0.05	-

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію жінок та чоловіків (M±m)**

Показники		Жінки n=82	Чоловіки n=68	P
Лімфоцити	Г/л	1.83 ± 0.44	1.85 ± 0.46	-
CD3+	%	65.93 ± 7.73	64.52 ± 7.14	-
CD3+	Г/л	1.22 ± 0.36	1.20 ± 0.35	-
CD4+	%	32.81 ± 5.85	34.48 ± 7.38	-
CD4+	Г/л	0.60 ± 0.18	0.62 ± 0.16	-
CD8+	%	28.80 ± 3.98	25.54 ± 5.54	-
CD8+	Г/л	0.52 ± 0.14	0.47 ± 0.16	0.05
CD4+/CD8+	-	1.15 ± 0.23	1.45 ± 0.65	-
CD4+/25+	%	9.01 ± 2.75	7.98 ± 1.06	0.02
CD4+/25+	Г/л	0.16 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.05
CD16+/56+	%	11.25 ± 3.55	10.28 ± 3.17	-
CD16+/56+	Г/л	0.20 ± 0.07	0.19 ± 0.08	-
CD19+	%	11.79 ± 3.43	12.41 ± 3.77	-
CD19+	Г/л	0.21 ± 0.08	0.22 ± 0.07	-
CD25+	%	20.89 ± 4.16	21.42 ± 4.29	-
CD25+	Г/л	0.37 ± 0.10	0.38 ± 0.09	-
CD HLA DR+	%	21.15 ± 5.37	21.77 ± 5.61	-
CD HLA DR+	Г/л	0.37 ± 0.10	0.38 ± 0.08	-

В таблиці 4.14. вказані особливості фенотипування лімфоцитів та активізаційних маркерів у жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію.

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років
(M±m)**

Показники		До 35 років n=57	35 років і більше n=93	P
Лімфоцити	Г/л	1.83 ± 0.45	1.84 ± 0.45	-
CD3+	%	65.12 ± 7.91	65.38 ± 7.24	-
CD3+	Г/л	1.20 ± 0.37	1.21 ± 0.35	-
CD4+	%	33.77 ± 6.63	33.47 ± 6.66	-
CD4+	Г/л	0.61 ± 0.18	0.61 ± 0.17	-
CD8+	%	27.71 ± 4.62	27.05 ± 5.25	-
CD8+	Г/л	0.51 ± 0.16	0.5 ± 0.15	-
CD4+/CD8+	-	1.26 ± 0.41	1.31 ± 0.54	-
CD4+/25+	%	8.89 ± 2.93	8.33 ± 2.92	-
CD4+/25+	Г/л	0.15 ± 0.04	0.15 ± 0.04	-
CD16+/56+	%	12.01 ± 1.10	9.68 ± 1.01	0,05
CD16+/56+	Г/л	0.2 ± 0.08	0.2 ± 0.07	-
CD19+	%	12.03 ± 3.42	12.10 ± 3.71	-
CD19+	Г/л	0.21 ± 0.07	0.22 ± 0.08	-
CD25+	%	21.24 ± 4.28	21.05 ± 4.20	-
CD25+	Г/л	0.38 ± 0.09	0.38 ± 0.15	-
CD HLA DR+	%	21.29 ± 5.68	21.52 ± 5.37	-
CD HLA DR+	Г/л	0.37 ± 0.09	0.38 ± 0.10	-

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та
без неї (M±m)**

Показники		Хламідіоз (ЦІК в нормі) n=95	Хламідіоз (ЦІК більше норми) n=55	P
Лімфоцити	Г/л	1.98 ± 0.24	1.60 ± 0.15	0.01
CD3+	%	65.5 ± 7.13	64.83 ± 8.16	-
CD3+	Г/л	1.31 ± 0.16	1.05 ± 0.18	0.05
CD4+	%	32.80 ± 5.46	35.20 ± 8.18	-
CD4+	Г/л	0.64 ± 0.04	0.56 ± 0.03	0.005
CD8+	%	27.67 ± 4.54	26.42 ± 5.68	-
CD8+	Г/л	0.54 ± 0.04	0.43 ± 0.06	0.001
CD4+/CD8+	-	1.21 ± 0.07	1.46 ± 0.05	0.003
CD4+/25+	%	8.53 ± 2.41	8.42 ± 3.67	-
CD4+/25+	Г/л	0.16 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.05
CD16+/56+	%	11.29 ± 3.31	9.83 ± 3.39	-
CD16+/56+	Г/л	0.22 ± 0.07	0.15 ± 0.06	-
CD19+	%	12.11 ± 3.66	12.13 ± 3.50	-
CD19+	Г/л	0.23 ± 0.08	0.19 ± 0.07	-
CD25+	%	20.69 ± 3.91	21.64 ± 4.59	-
CD25+	Г/л	0.40 ± 0.04	0.34 ± 0.02	0.01
CD HLA DR+	%	19.78 ± 1.80	24.07 ± 2.4	0.05
CD HLA DR+	Г/л	0.38 ± 0.10	0.38 ± 0.09	-

Як видно з таблиці 4.14 у чоловіків виявлено зниження абсолютної кількості CD8+ лімфоцитів ($P < 0.05$), а також абсолютної ($P < 0.05$) і відносної ($P < 0.02$) кількості CD4+/25+ лімфоцитів.

У таблиці 4.15 вказано особливості даних лімфограми та активізаційних маркерів лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію до 35 років в порівнянні з відповідними показниками хворих у віці 35 і більше років.

Як видно з таблиці, в хворих у віковій групі 35 і більше років встановлено зниження відносної кількості CD16+/56+- лімфоцитів до $9,68 \pm 1,01$ % у порівнянні з цими клітинами в групі хворих на хламідійну інфекцію в групі до 35-ти років, кількість яких складала $12,01 \pm 1,10$ % ($P < 0.05$).

Аналіз імунокомплексного синдрому в хворих на хламідійну інфекцію показав певні особливості впливу цього синдрому на фенотипування лімфоцитів та їх активізаційні маркери, що вказано в таблиці 4.16.

Як видно з таблиці, в хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексним синдромом встановлено зменшення абсолютної кількості загальних лімфоцитів ($P < 0.01$), Т-лімфоцитів ($P < 0.05$) та їх субпопуляцій – хелперів ($P < 0.005$), цитотоксичних лімфоцитів ($P < 0.001$), регуляторних лімфоцитів ($P < 0.05$) та CD25+ активованих клітин ($P < 0.01$). В той же час, хелперно-цитотоксичний індекс ($P < 0.003$) та відносна кількість пізніх маркерів активації лімфоцитів - CD HLA DR+ ($P < 0.05$) зростала.

Особливі зміни кількісної оцінки популяцій та субпопуляцій лімфоцитів, їх активізаційних маркерів встановлено у хворих на хламідійну інфекцію з провами імунодефіциту, що видно з таблиці 4.17.

Як видно з таблиці, хворі на хламідійну інфекцію з провами імунодефіциту мали зниження загальної кількості лімфоцитів ($P < 0.001$), абсолютної кількості популяції CD3+ лімфоцитів ($P < 0.001$), та CD16+/56+ ($P < 0.01$), а також субпопуляцій Т-лімфоцитів - CD4+ лімфоцитів ($P < 0.001$) та CD8+ лімфоцитів ($P < 0.05$), що супроводжувалось вірогідним зниженням CD4+/CD8+ індексу ($P < 0.05$) до 1.07 ± 0.04 у порівнянні з відповідним показником хворих на хламідійну інфекцію без проявів імунодефіциту, який у

них складав 1.20 ± 0.06 , крім того виявлено зниження абсолютної кількості активованих клітин - CD25+ ($P < 0.01$) та CD HLA DR+ ($P < 0.05$) лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту, порівняно з хворими без його проявів.

Таблиця 4.17

Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту

Показники		ІД+хламідіоз n=39	Хламідіоз n=111	P
Лімфоцити	Г/л	1.31 ± 0.07	2.02 ± 0.37	0.001
CD3+	%	60.25 ± 9.96	66.67 ± 6.16	-
CD3+	Г/л	0.82 ± 0.16	1.35 ± 0.29	0.001
CD4+	%	30.46 ± 6.29	33.13 ± 5.50	-
CD4+	Г/л	0.40 ± 0.09	0.66 ± 0.15	0.001
CD8+	%	29.03 ± 3.96	27.85 ± 4.28	-
CD8+	Г/л	0.38 ± 0.05	0.56 ± 0.12	0.05
CD4+/CD8+	-	1.07 ± 0.04	1.20 ± 0.06	0.05
CD4+/25+	%	12.26 ± 2.58	8.01 ± 2.02	-
CD4+/25+	Г/л	0.10 ± 0.02	0.16 ± 0.04	-
CD16+/56+	%	10.39 ± 4.24	11.10 ± 3.11	-
CD16+/56+	Г/л	0.13 ± 0.05	0.22 ± 0.03	0.01
CD19+	%	10.89 ± 3.93	11.99 ± 3.24	-
CD19+	Г/л	0.14 ± 0.05	0.24 ± 0.03	-
CD25+	%	23.03 ± 4.23	20.17 ± 3.61	-
CD25+	Г/л	0.30 ± 0.05	0.40 ± 0.04	0.01
CD HLA DR+	%	24.82 ± 3.48	19.96 ± 2.34	0.05
CD HLA DR+	Г/л	0.32 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.05

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів в жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами
імунодефіциту (M±m)**

Показники		ІД+хламідіоз (жін.) n=19	ІД+хламідіоз (чол.) n=20	P
Лімфоцити	Г/л	1.32 ± 0.09	1.3 ± 0.087	-
CD3+	%	63.21 ± 10.68	60.22 ± 8.43	-
CD3+	Г/л	0.84 ± 0.17	0.78 ± 0.15	-
CD4+	%	29.68 ± 5.89	32.11 ± 7.13	-
CD4+	Г/л	0.39 ± 0.09	0.41 ± 0.10	-
CD8+	%	29.52 ± 3.64	28.0 ± 4.63	-
CD8+	Г/л	0.38 ± 0.03	0.32 ± 0.02	0,05
CD4+/CD8+	-	1.03 ± 0.04	1.16 ± 0.08	0.05
CD4+/25+	%	11.73 ± 2.70	13.44 ± 1.94	-
CD4+/25+	Г/л	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.05
CD16+/56+	%	10.42 ± 4.15	10.33 ± 4.69	-
CD16+/56+	Г/л	0.13 ± 0.05	0.13 ± 0.06	-
CD19+	%	10.21 ± 3.47	12.33 ± 4.66	-
CD19+	Г/л	0.13 ± 0.04	0.16 ± 0.06	-
CD25+	%	22.94 ± 4.11	23.222 ± 4.738	-
CD25+	Г/л	0.30 ± 0.05	0.3 ± 0.051	-
CD HLA DR+	%	24.63 ± 6.09	25.22 ± 7.62	-
CD HLA DR+	Г/л	0.32 ± 0.08	0.32 ± 0.08	-

У таблиці 4.18 вказані особливості змін лімфограми та активізаційних маркерів у жінок та чоловіків хворих на хламідійну інфекцію.

Як видно з таблиці, у чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту встановлено зниження абсолютної кількості CD8+ лімфоцитів ($P < 0.05$), а у жінок більш виражене падіння CD4+/CD8+ індексу ($P < 0.05$) та абсолютної кількості регуляторних лімфоцитів ($P < 0.05$) до 0.14 ± 0.01 у порівнянні з відповідним показником у чоловіків, який склав 0.17 ± 0.01 . Варто зазначити, що порівняно з хворими на хламідійну інфекцію без проявів імунодефіциту в чоловіків поглиблювався дефіцит цитотоксичних лімфоцитів, а регуляторні Т-лімфоцити навпаки були нижчими у жінок.

Вікові особливості в групі хворих на хламідійну інфекцію з проявами хламідіозу мали незначні особливості, які видно з таблиці 4.19.

Як видно з таблиці, у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту до 35-ти років мали вищий абсолютний показник CD4+/25+ лімфоцитів, який становив 0.18 ± 0.01 Г/л у порівнянні з відповідним показником у групі хворих 35 і більше років - 0.15 ± 0.01 ($P < 0.05$).

Враховуючи, що хвороба Рейтера поглиблює прояви імунодефіциту, під'єднуючи механізми автоімуноагресії, цікавим виявилось порівнянні цієї групи хворих з групою хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту на основі особливостей фенотипування лімфоцитів та їх активізаційних маркерів, що представлено в таблиці 4.20.

Як видно з таблиці, у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту встановлено зменшення абсолютної і відносної кількості CD4+ лімфоцитів ($P < 0.001$) та CD4+/CD8+ індексу ($P < 0.001$), одночасно зі збільшенням абсолютної ($P < 0.01$) і відносної ($P < 0.05$) кількості CD8+ лімфоцитів та регуляторної субпопуляції Т-лімфоцитів ($P < 0.001$).

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту до
35-и, 35 і більше років (M±m)**

Показники		ІД+хламідіоз до 35 n=22	ІД+хлам 35 і більше n=17	P
Лімфоцити	Г/л	1.32 ± 0.06	1.30 ± 0.10	-
CD3+	%	62.27 ± 9.40	62.23 ± 10.59	-
CD3+	Г/л	0.83 ± 0.15	0.82 ± 0.18	-
CD4+	%	30.0 ± 6.08	30.76 ± 6.59	-
CD4+	Г/л	0.4 ± 0.09	0.40 ± 0.10	-
CD8+	%	26.90 ± 3.67	30.41 ± 3.60	-
CD8+	Г/л	0.35 ± 0.05	0.39 ± 0.04	-
CD4+/CD8+	-	1.12 ± 0.25	1.04 ± 0.36	-
CD4+/25+	%	12.54 ± 2.20	12.11 ± 2.84	-
CD4+/25+	Г/л	0.18 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.05
CD16+/56+	%	10.18 ± 5.52	10.52 ± 3.35	-
CD16+/56+	Г/л	0.13 ± 0.07	0.13 ± 0.05	-
CD19+	%	11.72 ± 3.22	10.35 ± 4.34	-
CD19+	Г/л	0.15 ± 0.04	0.13 ± 0.05	-
CD25+	%	22.90 ± 5.3	23.11 ± 3.56	-
CD25+	Г/л	0.30 ± 0.06	0.30 ± 0.04	-
CD HLA DR+	%	25.90 ± 7.38	24.11 ± 5.96	-
CD HLA DR+	Г/л	0.34 ± 0.09	0.31 ± 0.07	-

Таблиця 4.20

**Особливості показників лімфограми та активізаційних маркерів
лімфоцитів у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та
хворобу Рейтера (M±m)**

Показники		ІД+хламідіоз n=22	хв. Рейтера n=11	P
Лімфоцити	Г/л	1.30 ± 0.09	1.318 ± 0.286	-
CD3+	%	62.31 ± 10.86	59.455 ± 8.226	-
CD3+	Г/л	0.81 ± 0.18	0.799 ± 0.259	-
CD4+	%	29.54 ± 5.43	46.091 ± 4.482	0.001
CD4+	Г/л	0.38 ± 0.03	0.604 ± 0.127	0.001
CD8+	%	29.54 ± 3.39	17.182 ± 3.188	0.05
CD8+	Г/л	0.38 ± 0.05	0.225 ± 0.058	0.01
CD4+/CD8+	-	1.01 ± 0.25	2.775 ± 0.596	0.001
CD4+/25+	%	12.5 ± 2.56	4.182 ± 1.601	0.001
CD4+/25+	Г/л	0.16 ± 0.02	0.056 ± 0.028	0.001
CD16+/56+	%	10.5 ± 4.32	8.909 ± 3.646	-
CD16+/56+	Г/л	0.13 ± 0.06	0.115 ± 0.046	-
CD19+	%	11.13 ± 4.41	16.091 ± 3.807	-
CD19+	Г/л	0.14 ± 0.05	0.21 ± 0.059	-
CD25+	%	22.68 ± 4.43	25.545 ± 5.681	-
CD25+	Г/л	0.29 ± 0.057	0.333 ± 0.087	-
CD HLA DR+	%	24.727 ± 6.174	28.273 ± 4.429	-
CD HLA DR+	Г/л	0.321 ± 0.079	0.37 ± 0.09	-

Таким чином, у хворих на хламідійну інфекцію встановлено зниження цитотоксичних, регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів та підвищення НК-клітин та активованих лімфоцитів. Особливо вираженя зміни субпопуляцій Т-лімфоцитів виявлені у чоловіків. Гіперімунокомплексний синдром супроводжувався зниженням загальної кількості лімфоцитів, Т-лімфоцитів, Т-хелперів, особливо цитотоксичних Т-лімфоцитів та регуляторних субпопуляцій. За умов формування імунодефіцитного синдрому в хворих на хламідійну інфекцію встановлено також зниження загальної кількості лімфоцитів, Т-лімфоцитів, Т-хелперів, цитотоксичних лімфоцитів, НК-клітин, активованих лімфоцитів. У чоловіків цієї групи особливо була знижена кількість цитотоксичних лімфоцитів, а кількість регуляторних лімфоцитів зменшувалась, особливо у хворих вікової групи 35 і більше років. У хворих на хворобу Рейтера кількісні зміни популяцій і субпопуляцій лімфоцитів мали свої особливості у порівнянні з хворими на імунодефіцит з проявами хламідійної інфекції: зниження кількості цитотоксичних лімфоцитів, наростання імунорегуляторного індексу лімфоцитів і значне зниження регуляторної субпопуляції Т-лімфоцитів.

4.4. Цитокіновий баланс у сироватці хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту

Відомо, що за умов хламідійної інфекції цитокіни, які виділяються імунокомпетентними клітинами впливають на елімінацію хламідій, можуть впливати на персистенцію та колонізацію цих збудників [115].

Метою цього розділу нашого дослідження було оцінити стан продукції запальних та протизапальних цитокінів у хворих на хламідійну інфекцію, а також у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

Було обстежено 91 хворий на хламідіоз: з них 43 жінки, 58 чоловіків, у віці до 35 років – 37 хворих, 35 і більше років - 54 хворих, з гіперімунокомплексним

синдромом – 55 хворих, з проявами імунодефіциту - 33 хворих, з хворобою Рейтера – 11 хворих. Контрольну групу склала 31 практично здорова особа, відповідного віку та статі.

Для оцінки рівня цитокінів: IL-2, IL-4, IL-10, INF- α , INF- γ , TNF- α та в сироватці крові було використано імуноферментний аналіз.

У таблиці 4.21. вказані особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію та здорових обстежених.

Таблиця 4.21

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію та здорових обстежених (M \pm m)

Показники		Здорові N=31	Хворі n=91	P
INF- α	пг/мл	24.67 \pm 6.23	27.43 \pm 10.2	-
INF- γ	пг/мл	57.55 \pm 25.74	121.43 \pm 33.18	-
TNF- α	пг/мл	3.58 \pm 1.86	9.74 \pm 2.15	0.001
IL-2	пг/мл	58.09 \pm 3.23	50.35 \pm 4.04	0.05
IL-4	пг/мл	20.66 \pm 2.54	20.96 \pm 3.99	-
IL-10	пг/мл	38.35 \pm 3.50	38.38 \pm 7.05	-
INF- γ /IL-2 (Th1)	-	1.09 \pm 0.46	2.04 \pm 0.53	0,05
IL-10/IL-4 (Th2)	-	1.88 \pm 0.25	1.94 \pm 0.74	-

Як видно з таблиці, в хворих встановлено підвищення рівня в сироватці крові TNF- α до 9.74 \pm 2.15 у порівнянні зі здоровими обстеженими (P <0.01) в той же час рівень IL-2 був частково нижчим від норми і становив 50.35 \pm 4.04

($P < 0.05$). Особливо цікавим було зростання регуляторного індексу Т-хелперів 1-го типу - $INF-\gamma/IL-2$, рівень якого складав 2.04 ± 0.53 ($P < 0.05$). У 40,4 % хворих на хламідійну інфекцію встановлений підвищений рівень у сироватці крові альфа-інтерферону, у 10,5 % хворих - гама-інтерферону, у 57,1 % хворих - альфа тумор-некротичного фактору та у 10,5 % хворих – інтерлейкіну-4. а у 14,0% хворих –зниження рівня інтерлейкіну-2.

Проведене порівняння змін рівнів цитокінів у сироватці крові жінок та чоловіків хворих на хламідійну інфекцію, що вказано в таблиці 4.22.

Таблиця 4.22

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію жінок та чоловіків ($M \pm m$)

Показники		Жінки n=43	Чоловіки n=58	P
INF-α	пг/мл	27.68 ± 11.06	27.38 ± 9.38	-
INF-γ	пг/мл	64.31 ± 34.62	58.16 ± 31.59	-
TNF-α	пг/мл	11.15 ± 2.33	7.79 ± 3.34	0.005
IL-2	пг/мл	45.69 ± 7.62	56.0 ± 4.78	-
IL-4	пг/мл	20.58 ± 4.11	21.35 ± 3.85	-
IL-10	пг/мл	38.91 ± 6.79	37.74 ± 7.53	-
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	1.96 ± 0.48	1.23 ± 0.32	0.01
IL-10/IL-4 (Th2)	-	2.00 ± 0.71	1.88 ± 0.80	-

Як видно з таблиці, у хворих жінок на хламідійну інфекцію спостерігалось підвищення рівня в сироватці крові $TNF-\alpha$ ($P < 0.005$) та індексу $INF-\gamma/IL-2$ (Th1) ($P < 0.01$).

У таблиці 4.23. вказані особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років.

Як видно з таблиці, вірогідних змін у вікових групах хворих на хламідійну інфекцію не встановлено.

Таблиця 4.23

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років (M±m)

Показник		До 35 років n=37	35 років і більше n=54	P
INF-α	пг/мл	27.41 ± 8.22	27.6 ± 9.64	-
INF-γ	пг/мл	61.69 ± 35.81	61.72 ± 31.54	-
TNF-α	пг/мл	10.3 ± 5.31	9.27 ± 5.09	-
IL-2	пг/мл	51.83 ± 11.77	48.77 ± 10.66	-
IL-4	пг/мл	21.17 ± 4.25	20.71 ± 3.82	-
IL-10	пг/мл	38.97 ± 8.13	37.96 ± 6.17	-
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	1.62 ± 1.61	1.68 ± 1.49	-
IL-10/IL-4 (Th2)	-	1.96 ± 0.79	1.94 ± 0.72	-

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та без неї (M±m)

Показники		Хламідіоз (ЦІК в нормі) n=36	Хламідіоз (ЦІК більше норми) n=55	P
INF-α	пг/мл	28.24 ± 8.98	27.53 ± 7.42	-
INF-γ	пг/мл	55.59 ± 28.81	67.12 ± 27.47	-
TNF-α	пг/мл	9.93 ± 2.71	9.38 ± 4.62	-
IL-2	пг/мл	51.32 ± 18.13	49.93 ± 14.24	-
IL-4	пг/мл	21.40 ± 3.48	20.57 ± 4.27	-
IL-10	пг/мл	37.56 ± 4.91	39.04 ± 9.03	-
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	1.34 ± 0.24	1.93 ± 0.29	0.05
IL-10/IL-4 (Th2)	-	1.81 ± 0.53	2.04 ± 0.87	-

У таблиці 4.24. вказані особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та без неї.

Як видно з таблиці, у хворих на хламідійну інфекцію з гіперімуноімунокомплексним синдромом встановлено зниження імунорегуляторного індексу хелперів 1-го типу INF-γ/IL-2 - 1.93 ± 0.29 при порівнянні даного показника у хворих без гіперімунокомплексемії рівень якого складав 1.34 ± 0.24 (P<0.05)

У таблиці 4.25. вказані зміни рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту (M±m)

Показники		ІД+хламідіоз n=33	Хламідіоз n=58	P
INF-α	пг/мл	18.33 ± 4.92	30.17 ± 8.10	0.01
INF-γ	пг/мл	51.82 ± 15.12	83.76 ± 11.35	0.05
TNF-α	пг/мл	12.48 ± 3.30	8.64 ± 1.29	0.05
IL-2	пг/мл	53.81 ± 9.20	31.19 ± 5.02	0.01
IL-4	пг/мл	18.02 ± 5.37	21.31 ± 2.60	-
IL-10	пг/мл	45.35 ± 5.35	36.88 ± 3.71	0.02
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	1.17 ± 0.89	3.25 ± 0.13	0.001
IL-10/IL-4 (Th2)	-	2.80 ± 1.08	1.74 ± 0.28	-

Як видно з таблиці, у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту встановлено зниження рівня в сироватці крові INF-α (P<0.01) та INF-γ (P<0.05) та імуnoreгуляторного індексу Th1 - INF-γ/IL-2 (P<0.001) з одночасним збільшенням концентрації в сироватці крові TNF-α (P<0.05) та IL-10 (P<0.02). У даної групи хворих встановлено у 66,7% хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту зниження рівнів альфа-інтерферону (P<0.001), в 50,1% хворих - гама-інтерферону (P<0.01), в 66,7% хворих - інтерлейкінів-2 (P<0.001), в 44,4 % хворих - інтерлейкіну-4 (P<0.05) та 55,6% хворих імуnoreгуляторного індексу Т-хелперів першого типу (P<0.001) з одночасним збільшенням рівнів у 72,2% хворих інтерлейкіну-10 (P<0.001) та у

61.1% хворих - імунорегуляторного індексу Т-хелперів другого типу ($P < 0.001$), в порівнянні з хворими лише на хламідійну інфекцію.

У таблиці 4.26., в якій представлені порівняння статевих особливостей змін рівнів цитокінів у сироватці крові жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунodefіциту вірогідних змін не встановлено

Таблиця 4.26

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунodefіциту ($M \pm m$)

Показники		ІД+хламідіоз (жін.) n=16	ІД+хламідіоз (чол.) n=17	P
INF-α	пг/мл	18.43 \pm 6.45	18.13 \pm 4.93	-
INF-γ	пг/мл	96.35 \pm 28.07	58.58 \pm 18.53	-
TNF-α	пг/мл	13.73 \pm 6.67	9.99 \pm 3.11	-
IL-2	пг/мл	30.71 \pm 11.89	32.15 \pm 10.35	-
IL-4	пг/мл	18.26 \pm 5.45	17.55 \pm 3.70	-
IL-10	пг/мл	43.68 \pm 4.35	48.68 \pm 5.97	-
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	3.79 \pm 2.20	2.18 \pm 1.66	-
IL-10/IL-4 (Th2)	-	2.65 \pm 1.02	3.09 \pm 1.22	-

У таблиці 4.27. представлено особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на ІД та хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років ($M \pm m$).

Проведене порівняння особливостей рівнів цитокінів у сироватці хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту в залежності від віку до 35-ти років, а також 35 і більше вірогідних змін не встановлено.

Таблиця 4.27

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на ІД та хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років (M±m)

Показники		ІД+хламідіоз до 35 років n=12	ІД+хламідіоз 35 і більше років n=21	Р
INF-α	пг/мл	18.46 ± 4.65	18.23 ± 5.07	-
INF-γ	пг/мл	84.73 ± 20.23	82.98 ± 25.59	-
TNF-α	пг/мл	12.27 ± 3.41	12.65 ± 5.23	-
IL-2	пг/мл	32.47 ± 10.65	30.17 ± 13.49	-
IL-4	пг/мл	17.53 ± 5.85	18.42 ± 5.25	-
IL-10	пг/мл	45.81 ± 3.76	44.98 ± 6.53	-
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	3.09 ± 1.36	3.38 ± 1.06	-
IL-10/IL-4 (Th2)	-	2.91 ± 0.10	2.71 ± 0.11	-

У таблиці 4.28. вказано закономірності змін рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та хворих на хворобу Рейтера.

Як видно з таблиці, в хворих на хворобу Рейтера встановлено виражене підвищення рівня IL-2, IL-4 та імуnoreгуляторного індексу Th2 - IL-10/IL-4 в сироватці крові з одночасним зниженням рівня IL-10, у порівнянні з хворими на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту.

Особливості рівнів цитокінів у сироватці крові хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та хворобу Рейтера (M±m)

Показники		Хламідіоз+ІД n=22	хв.Рейтера n=11	P
INF-α	пг/мл	19.88 ± 13.4	30.9 ± 8.56	-
INF-γ	пг/мл	85.9 ± 46.93	100.9 ± 20.38	-
TNF-α	пг/мл	12.33 ± 7.06	12.56 ± 6.92	-
IL-2	пг/мл	33.28 ± 6.74	82.85 ± 13.70	0.001
IL-4	пг/мл	18.21 ± 5.18	28.25 ± 2.81	0.02
IL-10	пг/мл	44.82 ± 5.92	28.75 ± 8.58	0,01
INF-γ/IL-2 (Th1)	-	3.29 ± 2.45	1.21 ± 0.24	-
IL-10/IL-4 (Th2)	-	2.71 ± 0.72	1.01 ± 0.28	0.05

Таким чином, у хворих на хламідійну інфекцію спостерігалось зростання рівня тумор-некротичного фактору альфа та імунорегуляторного індексу Т-хелперів першого типу зі зростанням рівня інтерлейкіну-2, у хворих з гіперімунокомплексним синдромом, а особливо у жінок ці процеси цитокінової перебудови за умов хламідійної інфекції більш виражені, але не залежать від віку хворих. Імунодефіцит на тлі хламідійної інфекції зумовлює зниження рівня альфа- та гама –інтерферонів, а також імунорегуляторного індексу Т-хелперів першого типу зі зростанням рівня в сироватці крові інтерлейкіну-2 та –10 у порівнянні з хворими лише з проявами хламідійної інфекції без імунодефіциту. Ці зміни цитокінів у даних хворих не залежали від віку та статі,

але у порівнянні з відповідними показниками хворих на хворобу Рейтера, у яких активізувався синтез інтерлейкіну-4 та знизився синтез інтерлейкіну-10 і відповідно зменшився імунорегуляторний індекс Т-хелперів другого типу.

4.5 Зміни гуморальних показників імунної системи хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту

Відомі дані з активної специфічної гуморальної імунної відповіді при контакті з хламідійною інфекцією, що супроводжується синтезом імуноглобулінів класу М (первинний контакт), класу G (хронічна персистенція), класу А (реактивація інфекції). Щораз частіше в останні роки аналізуються результати цієї відповіді в імунокомпроментованих осіб, які свідчать про послаблення активності синтезу відповідних специфічних протиінфекційних антитіл, які можуть характеризувати ступінь розвитку імунної недостатності у хворих на хламідійну інфекцію. Особливо цікавими є дані про інтенсивний синтез у таких осіб низькоавідних антитіл. Важливими гуморальними неспецифічними факторами, які підтверджують наявність хламідійної інфекції, а також автоімунного компонента в її розвитку є показники MOMP, HSP-60 [91,120,151].

Метою цього розділу було вивчення специфічної гуморальної антихламідійної відповіді імунної системи у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту, здорових осіб, а також особливості синтезу специфічних ранніх маркерів хламідійної інфекції та підєднання автоімунного процесу в її розвитку.

Було обстежено 150 хворих на хламідіоз: з них 82 жінки, 68 чоловіків, у віці до 35 років – 37 хворих, 35 і більше років - 93 хворих, з гіперімунокомплексним синдромом – 55 хворих, з проявами імунодефіциту - 39 хворих, з хворобою Рейтера – 11 хворих. Контрольну групу складала 31 практично здорова особа, відповідного віку та статі.

Для оцінки специфічної та неспецифічної гуморальної імунної відповіді використовувались імуноферментний аналіз кількісної присутності антихламідійних антитіл класу IgM, IgA, IgG, індекс специфічної продукції IgG, відсоток низькоавідних антитіл, а також рівень основного мембранного білка до хламідійної інфекції (MOMP) та гарячого шокowego протеїну 60 (HSP-60).

У таблиці 4.29 вказані зміни рівнів антихламідійний антитіл, їх авідності та деяких гуморальних маркерів хламідійної інфекції у хворих на хламідійну інфекцію та практично здорових осіб.

Таблиця 4.29

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію та здорових обстежених (M±m)

Показники		Здорові n=31	Хворі n=91	P
IgM Chl.tr.	МО	0.09 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.001
IgA Chl.tr.	МО	0.23 ± 0.12	0.55 ± 0.2=19	0.005
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	0.44 ± 0.16	2.40 ± 0.97	0.001
Інд.спец.IgG	-	0.55 ± 0.13	3.00 ± 1.22	0.001
Низькоавідні АТ	%	40.22 ± 6.81	84.41 ± 20.23	0.01
MOMP	пг/мл	0.07 ± 0.01	1.48 ± 0.37	0.02
HSP-60	пг/мл	0.32 ± 0.11	0.87 ± 0.26	0.001

Як видно з таблиці 4.29, синтез протихламідійних антитіл класу IgM (P <0.001), класу IgA (P <0.05) до Chlamydia trachomatis, імуглобуліну G до сумарного антигену хламідійних інфекцій (P <0.001), індекс специфічного Ig (P<0.001)низькоавідних антитіл(P <0.01) основного мембранного хламідійного

протеїну($P < 0.02$), а також гарячого шокового протеїну($P < 0.001$) були значно вищими у порівнянні зі здоровими обстеженими.

В таблиці 4.30. вказані особливості фенотипування лімфоцитів та активізаційних маркерів у жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію.

Таблиця 4.30

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію жінок та чоловіків ($M \pm m$)

Показники		Жінки n=13	Чоловіки n=38	P
IgM Chl.tr.	МО	0.22 ± 0.11	0.24 ± 0.11	-
IgA Chl.tr.	МО	0.69 ± 0.07	0.49 ± 0.10	0.05
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	2.33 ± 0.92	2.53 ± 1.05	-
Інд.спец.IgG	-	2.92 ± 1.15	3.16 ± 1.31	-
Низькоавідні АТ	%	85.77 ± 10.17	88.20 ± 13.35	-
МOMP	пг/мл	1.49 ± 0.39	1.45 ± 0.34	-
HSP-60	пг/мл	0.77 ± 0.36	0.87 ± 0.58	-

Як видно з таблиці, у жінок хворих на хламідійну інфекцію спостерігається більш значна специфічна продукція антихламідійних антитіл класу IgA - 0.69 ± 0.07 МО, у порівнянні з чоловіками - 0.49 ± 0.10 МО ($P < 0.05$).

Аналіз вікових особливостей продукції специфічних антихламідійних антитіл та деяких гуморальних маркерів хламідійної інфекції у обстежених пацієнтів вказані в таблиці 4.31.

Як видно з таблиці, у хворих на хламідійну інфекцію у віці 35 і більше років продукція гарячого шокowego протеїну 60 була більш інтенсивна - 1.21 ± 0.24 у порівнянні з хворими у віці до 35-ти років, у яких рівень HSP-60 становив 0.83 ± 0.19 ($P < 0.05$).

Таблиця 4.31

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію до 35-и, 35 і більше років ($M \pm m$)

Показники		До 35 років n=57	35 років і більше n=93	P
IgM Chl.tr.	МО	0.22 ± 0.09	0.23 ± 0.12	-
IgA Chl.tr.	МО	0.53 ± 0.27	0.56 ± 0.30	-
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	2.30 ± 1.08	2.49 ± 0.90	-
Інд.спец.IgG	-	2.87 ± 1.35	3.11 ± 1.12	-
Низькоавідні АТ	%	87.97 ± 8.47	85.90 ± 10.98	-
MOMP	пг/мл	1.48 ± 0.37	1.48 ± 0.37	-
HSP-60	пг/мл	0.83 ± 0.19	1.21 ± 0.24	0.05

Нами був проведений аналіз специфічних та неспецифічних гуморальних показників імунної системи у хворих на хламідіоз з гіперімунокомплексемією та без неї, що видно з таблиці 4.32.

Як видно з цієї таблиці, у хворих на хламідіоз з гіперімунокомплексемією спостерігались вищі рівні фактору MOMP - 1.76 ± 0.11 у порівнянні з хворими без цього синдрому - 1.50 ± 0.09 ($P < 0.05$), а також ранього фактору автоагресії - HSP-60 - 0.95 ± 0.45 в порівнянні з відповідним показником групи хворих на хламідіоз без гіперімунокомплексемії - 0.70 ± 0.08 ($P < 0.01$)

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексемією та без неї (M±m)

Показники		Хламідіоз (ЦІК в нормі) n=95	Хламідіоз (ЦІК більше норми) n=55	P
IgM Chl.tr.	МО	0.24 ± 0.10	0.22 ± 0.12	-
IgA Chl.tr.	МО	0.56 ± 0.31	0.53 ± 0.27	-
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	2.49 ± 0.95	2.36 ± 1.06	-
Інд.спец.IgG	-	3.11 ± 1.19	2.95 ± 1.26	-
Низькоавідні АТ	%	75.91 ± 10.37	86.83 ± 11.93	-
MOMP	пг/мл	1.50 ± 0.09	1.76 ± 0.11	0.05
HSP-60	пг/мл	0.70 ± 0.08	0.95 ± 0.45	0.01

Особливо цікавим виявилось порівнянні специфічних та неспецифічних гуморальних показників імунної системи у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту, що вказано в таблиці 4.33.

Аналіз специфічного антитілоутворення до хламідійних інфекцій показав, що хворі на хламідіоз проявами імунодефіциту мають нижчий рівень специфічних IgG - 1.61 ± 0.38 МО в порівнянні з хворими лише на хламідіоз - 2.63 ± 0.89 (P <0.001), а також їх індекс - 2.01 ± 0.67 у порівнянні з групою хворих на хламідіоз - 3.29 ± 0.42 (P <0.01). В той же час кількість низькоавідних антитіл - 88.94 ± 5.73 % (P <0.05), а також HSP-60 - 1.17 ± 0.22 пг/мл (P <0.001) були вищими у хворих на хламідіоз з проявами імунодефіциту, в порівнянні з відповідними показниками групи хворих на хламідіоз.

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту (M±m)

Показники		ІД+хламідіоз до 35 n=39	Хламідіоз n=111	P
IgM Chl.tr.	МО	0.19 ± 0.12	0.23 ± 0.10	-
IgA Chl.tr.	МО	0.46 ± 0.29	0.56 ± 0.29	-
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	1.61 ± 0.38	2.63 ± 0.29	0.001
Інд.спец.IgG	-	2.01 ± 0.67	3.29 ± 0.42	0.01
Низькоавідні АТ	%	88.94 ± 5.73	74.33 ± 7.5	0,05
MOMP	пг/мл	1.51 ± 0.33	1.47 ± 0.38	-
HSP-60	пг/мл	1.17 ± 0.22	0.76 ± 0.15	0,001

Статеві особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та деяких гуморальних маркерів цієї інфекції у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту вказані в таблиці 4.34.

Як видно з таблиці, у хворих чоловіків на хламідіоз з проявами імунодефіциту спостерігались вищий рівень фактору HSP-60 в крові - 1.61 ± 0.34 у порівнянні з жінками - 0.96 ± 0.36 ($P < 0.01$), що свідчить про більш виражену автоімунну схильність чоловіків за умов тяжкого розвитку хламідійної інфекції.

Особливості рівнів спец. антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в жінок і чоловіків хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту. (M±m)

Показники		ІД+хламідіоз (жін.) n=19	ІД+хламідіоз (чол.) n=20	P
IgM Chl.tr.	МО	0.16 ± 0.06	0.24 ± 0.12	-
IgA Chl.tr.	МО	0.46 ± 0.14	0.48 ± 0.18	-
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	1.57 ± 0.69	1.69 ± 0.81	-
Інд.спец.IgG	-	1.97 ± 0.64	2.11 ± 0.77	-
Низькоавідні АТ	%	83.0 ± 7.57	88.83 ± 4.62	-
МOMP	пг/мл	1.55 ± 0.33	1.41 ± 0.32	-
HSP-60	пг/мл	0.96 ± 0.36	1.61 ± 0.34	0.01

Вікові особливості змін гуморальних досліджуваних імунологічних показників у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту вказані в таблиці 4.35.

Як видно з таблиці, вірогідна різниця за вказаними гуморальними показниками спостерігалась у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту у віці 35 і більше років у порівнянні з відповідними хворими до 35-ти років спостерігалось лиш за показником HSP-60, який був вірогідно вищим у групі хворих 35 і більше років і становив 1.49 ± 0.10 в порівнянні з хворими до 35-ти років 1.17 ± 0.12 ($P < 0.01$).

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту до 35-и, 35 і більше років ($M \pm m$)

Показники		ІД+хламідіоз до 35 n=22	ІД+хлам 35 і більше n=17	P
IgM Chl.tr.	МО	0.15 ± 0.08	0.21 ± 0.04	-
IgA Chl.tr.	МО	0.42 ± 0.19	0.49 ± 0.11	-
IgG Chl.tr.+pn.+ps	МО	1.40 ± 0.24	1.75 ± 0.25	-
Інд.спец.IgG	-	1.75 ± 0.80	2.19 ± 1.07	-
Низькоавідні АТ	%	38.7 ± 17.42	31.9 ± 14.48	-
МOMP	пг/мл	1.49 ± 0.35	1.52 ± 0.32	-
HSP-60	пг/мл	1.17 ± 0.12	1.49 ± 0.10	0.01

Нами було проведено порівнянні рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та деяких гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та хворобу Рейтера, що представлено в таблиці 4.36.

Як видно з таблиці лише індекс специфічного IgG у хворих на хворобу Рейтера був вищим і становив 3.26 ± 1.59 у порівнянні з хворими на хламідіоз з проявами імунодефіциту ($P < 0.05$)

Особливості рівнів специфічних антихламідійних антитіл, їх авідності та гуморальних маркерів хламідійної інфекції в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту та хворобу Рейтера (M±m)

Показники		ІД+хламідіоз n=22	хв.Рейтера n=11	P
IgM Chl.tr.	МО	0.18 ± 0.06	0.33 ± 0.14	-
IgA Chl.tr.	МО	0.46 ± 0.32	0.73 ± 0.18	-
IgG Chl.tr.+pn.+psit.	МО	1.65 ± 0.77	2.61 ± 1.27	-
Інд.спец.IgG	-	2.07 ± 0.46	3.26 ± 1.59	0.05
Низькоавід АТ	%	82.53 ± 14.39	70.03 ± 13.71	-
MOMP	пг/мл	1.54 ± 0.33	1.39 ± 0.37	-
HSP-60	пг/мл	1.1 ± 0.22	1.08 ± 0.39	-

Таким чином, проведені імунологічні дослідження гуморальної ланки імунної системи у хворих на хламідійну інфекцію загалом. У хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту специфічний антитілогенез активно підвищений, особливо у жінок. За умов імунодефіциту синтез специфічних IgG та їх індексу є зниженим з наростанням рівня низькоавідних антитіл. Хворі на хламідіоз з проявами імунодефіциту більш активно мають маркери автоагресії в віці 35 і більше років особливо чоловіки. В той же час хворі на хворобу Рейтера і хворі на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту практично не відрізнялись один від одного, лише індекс специфічного IgG був частково нижчий у хворих на імунодефіцит в порівнянні з хворими на хворобу Рейтера.

Основні наукові положення даного розділу опубліковані в наукових працях:

Чоп'як В. В., Синенька М. Ю., Синенький О. В., Гайдучок І. Г. Лікування реактивних артритів хламідійного та герпетичного генезу. // Мистецтво лікування. – 2005. – № 3. – С. 100-104 [191].

Федоров Ю. В., Чоп'як В. В., Гайдучок і. Г. Молекулярно-генетичні та серологічні дослідження ймовірної патогенетичної ролі *Chlamidia pneumoniae* і *Cytomegalovirus* при кальцинуючій хворобі клапанів серця. // Серце і судини. – 2005. – №3 – С. 70-75 [173].

Чоп'як В. В., Потьомкіна Г. О., Пукаляк Р. М., Ліщук-Якимович Х. О., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г., Білянська Л. М., Білянський Ю. В. Клінічні форми перебігу вторинного імунодефіциту хламідійного генезу. // Імунологія та алергологія. – 2006. – №4. – С. 115-116 [190].

Гайдучок І. Г. Імунозалежні механізми у хворих на хламідійну інфекцію // Імунологія та алергологія. – 2007. – №2. – С. 68-71 [38].

Chopyak V., Bandrivska A., Mazur M., Lishchuk K., Gajduchoc I., Khomyk I. Triplet therapy of bronchial astma associated with *Chlamidia pneumoniae*. // Abst. II Congress on Immunopatology and Respiratory Allergy (Moscow) Russia. – 2004 – P. 277 [215].

Chopyak V., Potomkina H., Lishchuk K., Pukalyak R., Zajchenko Y., Gajduchoc I., Du Buske I., Du Buske L. Complex therapy of IgE – dependent astma. // Allergy. – V. 62, Sup. – 83. – P. 208 [216].

РОЗДІЛ V. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

У світі щороку реєструється біля 90 мільйонів нових випадків хламідіозу. Інфікування *S. trachomatis* на сьогодні є найчастішим серед інфекцій, що передаються статевим шляхом, і вражає чоловіків та жінок активного фертильного віку від 20 до 40 років. В промислово розвинутих країнах 30% населення протягом свого життя 2-3 рази інфікується цим збудником. У Німеччині щороку реєструється близько 1 млн., а в США – 4 млн. осіб, інфікованих хламідіями. Урогенітальні хламідійні інфекції та їхні ускладнення щорічно обходяться Великобританії в 50 млн. англійських фунтів [121]. Витрати у США становлять 1,4 млрд. доларів, притому, що 80% цієї суми витрачається на жіночу частину населення. У Великобританії під час дослідження 1042 жінок було виявлено, що доля інфікованих *S. trachomatis* у групі осіб 15-19 років складає 21,1%, а в групі осіб 30-39 років – 2,8% [131]. Справжня картина поширення хламідійної інфекції невідома у зв'язку з тим, що випадки захворювання на хламідіоз, в основному, не реєструється в більшості країн світу. *S. pneumoniae*, яка зумовлює 15-25% патології дихальної системи, частіше всього поширена у вигляді безсимптомного носійства: до 90% усіх штамів виділяються із слизових оболонок ротоглотки в осіб без ознак якогось захворювання. Описані випадки отиту, пневмонії, менінгоенцефаліта, ендокардита, аортита хламідійної етіології [155]. У 1988 р. фінські дослідники Saikku P. et al. виявили більш значне поширення інфекції, зумовленої *S. pneumoniae* (штам TWAR), серед хворих на ІХС, ніж в здоровій популяції. Автори знайшли підвищені титри антитіл класів IgG і/або IgA до *S. pneumoniae* у 68% хворих з гострим інфарктом міокарда і в 50% хворих з хронічною ІХС, тоді як в контрольній групі високі титри було виявлено лише в 17% обстежених [200]. Подібні результати були отримані й іншими авторами, що дозволило обговорювати роль *S. pneumoniae* у розвитку атеросклерозу.

Узагальнених даних щодо поширеності хламідійних інфекцій, їх різних клінічних форм, розвитку ускладнень в Україні не проводилось [7]. У повсякденній клінічній практиці ці інфекції зустрічаються досить часто, що відзначають лікарі-урологи, гінекологи, дерматологи, пульмонологи, офтальмологи, кардіологи, неврологи та багато інших спеціалістів.

Особливу увагу привертає різке збільшення кількості змішаних форм хламідіозу, його поєднання з іншими патогенними та умовно патогенними бактеріями. Важливо відзначити, що при мікст-інфекції хламідії, особливо в період персистенції, часто залишаються не виявленими.

Медико-соціальні аспекти хламідіозів визначаються не лише фізичними стражданнями хворого, але й серйозними наслідками хвороби: непліддям, викиднями, важкими захворюваннями новонародженого, зумовленими *S. trachomatis*, розвитком атипової пневмонії, бронхіту, бронхіальної астми і серцево-судинних захворювань, зумовленими *S. pneumoniae*. Поруч із щорічним ростом кількості хворих, ці інфекції характеризується високою частотою несприятливого перебігу, в тому числі розвитком хронічних форм [145].

Патогенез хронізації хламідійної інфекції активно вивчався протягом останніх двадцяти років [143, 150]. Але значною мірою отримані дані патогенетичних особливостей хронічних хламідіозів та підходів до застосування антибактеріальної та імунотропної патогенетичної терапії є різнонаправленими і потребують поглибленого імунологічного підґрунття. У зв'язку з тим, що основним механізмом розвитку хронічного хламідіозу є гіперімунокомплексний синдром, найчастішими ускладненнями хронічної хламідійної інфекції є аутоіммунні прояви з гіперімунокомплексними ускладненнями, важливою є фундаментальна оцінка наслідків дії цього патологічного процесу на систему моно- та полінуклеарних фагоцитів першої імунорегуляторної ланки в формуванні імунної відповіді [187].

Лікування хламідійної інфекції супроводжується високою (до 30%) частотою виникнення рецидивів, часто спостерігається резистентність до

існуючих препаратів, внаслідок особливостей імунного статусу хворих, виникає необхідність застосування високих доз антибактеріальних препаратів(2-4). Такі підходи створюють умови до поглиблення імунодефіцитних порушень у хворих на хламідійну інфекцію та формування у них серйозних клінічних ускладнень автоімунного, алергічного, імунопроліферативного та навіть онкогенного характеру, з пошкодженням різних систем організму [193].

Отже, медико-соціальна значимість поширення хламідіозів серед людей працездатного віку, необхідність розробки ранніх діагностичних підходів до виявлення цієї інфекції, особливо хронічних його форм, їх особливості у жінок та чоловіків та людей молодого віку, а також рекомендацій щодо імунопатогенетичних напрямків у лікуванні хронічних форм хламідіозів, які характеризуються проявами імунодефіцитів у цих хворих, визначають актуальність проведеного дослідження.

Метою цього наукового дослідження було вивчення особливостей функціонально-структурних змін фагоцитів за умов гіперімунокомплексного синдрому в експерименті та його роль в розвитку хронічної хламідійної інфекції в хворих з проявами імунодефіциту.

Завдання дослідження:

1. Оцінити фагоцитарну, окисно-відновну, NO-залежну активність фагоцитів крові щурів за умов хронічного гіперімунокомплексного синдрому.
2. Охарактеризувати електронно-мікроскопічні особливості змін фагоцитів крові та ендотеліоцитів аорти щурів за умов хронічної гіперімунокомплексного синдрому.
3. Виявити особливості стану фагоцитарної ланки імунної системи хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексним синдромом та за умов імунодефіцитних проявів.
4. Проаналізувати адаптивну імунну відповідь – лімфоцитарну та антитілозалежну в хворих на хламідіоз, а також у поєднанні з гіперімунокомплексним синдромом та імунодефіцитом.
5. Оцінити цитокіновий регуляторний баланс у хворих на хламідійну

інфекцію з супутнім гіперімунокомплексним синдромом та проявами імунодефіциту.

6. Охарактеризувати імунологічні маркери імунодефіциту та автоімунних ускладнень у хворих на хламідійну інфекцію.

Нами була виконана експериментальна та клінічна частини роботи. Експериментальна частина включала моделювання гіперімунокомплексно процесу в 22 щурів і оцінка у них розвитку гіперімунокомплексного синдрому та аналізу стану фагоцитарної системи на основі кількісних особливостей нейтрофілів та моноцитів їх захоплюючої здатності з оцінкою раннього і пізнього фагоцитарного показника та числа, окисно-відновної функції, NO – залежних процесів у цих клітинах та сироватці крові дослідних тварин та морфо-структуральні зміни фагоцитів та ендотеліоцитів.

Клінічна частина включала обстеження 150 хворих на хламідійну інфекцію, які були на амбулаторному та стаціонарному спостереженні в Львівському медичному центрі клінічної імунології та алергології з 2002 по 2007 рік. Серед обстежених хворих 39 мали прояви імунодефіциту, а у 11 з них була діагностована хвороба Рейтера. Всім хворим було проведено поглиблене клінічне обстеження, загальні інструментальні дослідження за показами і ретельний пошук інфекційних збудників, зокрема *S. trachomatis* та *S. pneumoniae* за допомогою ПЛР аналізу. Поглиблено оцінювався стан фагоцитарної ланки імунної системи, а також формування імунокомплексного синдрому та оцінкою комплементарної активності сироватки. У всіх хворих було проведено фенотипування лімфоцитів з аналізом їх “ранніх” і “пізніх” активізаційних маркерів. Поглиблено проаналізовано специфічну гуморальну імунну відповідь за допомогою оцінки рівня відповідних антитіл IgM, IgG, IgA. Оцінена авідність антитіл, а також проаналізовані специфічний мембранний маркер MOMP цієї інфекції, а також неспецифічний маркер автоімунних ускладнень хламідіозу – HSP 60. У всіх обстежених була проведена оцінка основних імуnoreгуляторних цитокінів і проаналізована їх особливості у Th1 та Th2 субпопуляціях лімфоцитів.

Враховуючи, що хламідійна інфекція за даними авторів (Возианов О. Д. И соавт., 2002, Ганарян М. О. и соавт. , 2004) [35,39] у 18-46% випадків супроводжується гіперімунокомплексним синдромом і може становити основу розвитку імунодефіцитних та аутоімунних ускладнень цієї інфекції нами в експерименті було змодельовано синдром хронічного гіперімунокомплексного синдрому і детально оцінено функціональну здатність системи фагоцитозу в цих тварин.

Підтвердженням коректної моделі хронічної імунокомплексемії було стійке збільшення рівня середніх патогенних ЦК в сироватці крові у 46 % та особливо електронно-мікроскопічні дослідження мішеневих клітин – ендотеліоцитів та загалом аорти, яка досліджувалась.

Під впливом хронічної персистенції ЦК встановлено, що “пізній” фагоцитарний показник ($P < 0,001$), абсолютний ($P < 0,001$) та відносний ($P < 0,01$) показники спонтанного НСТ тесту, індекс стимуляції НСТ ($0,001$), а також рівень циркулюючих середніх імуних комплексів ($P < 0,01$) були підвищеними в групі тварин з ХГК. У той же час пізнє фагоцитарне число, активність комплементу сиворатки крові були зниженими в цих тварин. Такі зміни фагоцитарної ланки імуної відповіді експериментальних тварин за умов ХГК можуть свідчити про активне персистування патогенних середніх імуних комплексів комплемент залежних з активацією запізнілої захоплюючої здатності фагоцитів, посиленням окисно-відновних процесів у цих клітинах з виснаженням кількісної захоплюючої активності фагоцитів навіть у пізній фазі і послабленням кілінгового окисно-відновного потенціалу фагоцитів.

Гіперімунокомплексний синдром поглиблював у дослідних тварин пізню захоплюючу здатність, що характеризувалось зниженням відповідного фагоцитарного показника ($P < 0,02$) та фагоцитарного числа ($P < 0,001$), а також слабшою окисно-відновною активністю стимульованого НСТ-тесту ($P < 0,05$) і, відповідно, низьким індексом стимуляції. Важливо зазначити, що тварини з хронічною гіперімунокомплексемією мало більш значне зниження комплементарної активності сиворатки ($P < 0,01$), що може свідчити про

вираженішу агресивність таких ЦК і збільш значний ризик розвитку автоімунних ускладнень.

Особливо цікавими виявились результати показників синтезу оксиду азоту в нейтрофілах, моноцитах та сироватці крові щурів з хронічною гіперімунокомплексемією. У дослідних тварин за умов гіперімунокомплексного синдрому спостерігалось вірогідне зниження рівня конституційної NO-синтази в нейтрофілах ($P < 0,01$) сироватці крові ($P < 0,05$) одночасно з наростанням рівня індукбельної NO-синтази в нейтрофілах ($P < 0,01$) та моноцитах ($P < 0,05$). Зміни рівня метаболітів синтезу NO теж мали свої особливості. Так рівень NO_2 - аніонів знижується в нейтрофілах ($P < 0,01$) і моноцитах ($P < 0,01$) з наростанням їх рівня в сироватці крові ($P < 0,05$). Аналогічні тенденції прослідковуються і за рівнем NO_3 -аніонів, але без вірогідної різниці в сироватці крові. Вказані особливості обміну оксиду азоту в клітинах фагоцитарної системи можуть свідчити про значний імунозапальний потенціал у сироватці крові щурів з хронічною гіперімунокомплексемією, що супроводжується збільшенням рівня індукбельної NO-синтази. У той же час рівень метаболітів оксиду азоту також збільшується, хоча менш значимо, ймовірно створюючи умови для NO залежного і оксидазного стресу. Ці фактори засвідчують про сприятливі умови активації прозапальних цитокінів і утворення аутоантигенів, а також у подальшому підтриманні гіперімунокомплексемії.

Важливо зазначити, що у дослідних тварин з підтвердженою серологічною гіперімунокомплексемією спостерігалось значне наростання рівня індукбельної NO-синтази в сироватці крові ($P < 0,001$), що може вказувати на значне включення прозапальних цитокінів, особливо TNF- α . За цих умов поглиблюються прояви імунодефіциту та формується сприятливе тло для млявого автоімунного ушкодження.

Це підтверджувалось морфо-функціональними змінами головних ефекторних клітин ХГІС - нейтрофілів та моноцитів сироватки крові дослідних щурів при електронно-мікроскопічних дослідженнях. Нейтрофіли характеризувались тотальним набряком цитоплазми, структурованістю

хроматину, збільшенням кількості первинних та вторинних лізосом, піноцитозних везикул. Моноцити мали прояви розриву та набухання ядерної мембрани та мітохондрій у дослідних тварин.

Таким чином, можна стверджувати, що тривала персистенція ЦК в сировотці крові є результатом порушення захоплюючої та окисно-відновної активності нейтрофілів та моноцитів крові з формуванням фагоцитарного імунодефіциту. Особливо значимими були зниження окисно-відновного потенціалу цих клітин та послаблення гальмуючих механізмів NO-залежного метаболічного стресу в них, що підтверджується морфо-функціональними змінами клітин-ефекторів фагоцитозу та клітин-мішеней ендотеліоцитів.

Екстраполювати ці виражені зміни в ланці природженого клітинної імунного нагляду над хламідійною інфекцією з хронічним перебігом та проявами імунодефіциту дозволяють переконливі результати досліджень вітчизняних та зарубіжних вчених [79, 135, 159, 254]. Вони можуть бути маркерами формування стійких імунодефіцитних порушень фагоцитарної ланки хворих на хламідійну інфекцію, а також предикторами формування автоімунних ускладнень хламідіозу, особливо з ушкодженням дрібних судин та суглобів, а в подальшому з формуванням синдрому Рейтера.

На основі клінічних критеріїв та молекулярно-діагностичних досліджень були нами верифіковані різні клінічні форми хламідійної інфекції: уrogenітальний хламідіоз (56 хворих), реактивні артрити (54 хворих) та кератокон'юктивіти (11 хворих) хламідійного генезу, бронхіальна астма (10 хворих), хронічні обструктивні хвороби легень (7 хворих), пневмонії (5 хворих), неревматичними вадами серця (7 хворих) та з виявленою, *S. pneumoniae*. Серед обстежених було 39 хворих з проявами імунодефіциту: атиповий перебіг, резистентність до антибактеріальної терапії, опортуністичні змішані інфекції, мікози, персистуючі автозні стоматити, піодермії, фурункульози, флегмони, абсцеси, пневмонії (2 протягом року) сепсис в анамнезі. Крім того серед них було 11 хворих на хворобу Рейтера.

Підтвердженням хламідійного генезу ряду захворювань у обстежених хворих було виявлення на основі молекулярно-генетичних досліджень методом ПЛР: в крові - 53,9 %, у зішкрябах – 71,5 % хворих ; *S. pneumoniae*: в крові – 72,9 %, в зішкрябах – 82,7%. Негативний результат у ряді досліджень хворих можна пояснити і зіслатись на можливі дефекти при заборі матеріалу, чутливість методу, включення тканинно - гематологічних бар'єрів(для крові) тощо.

Статеві особливості виявлення ДНК хламідій вказують, що у чоловіків у крові вони виявляються частіше, ніж у жінок ($X^2= 0,01$), а в зішкрябах – частіше у жінок ($X^2=0,05$). За умов гіперімунокомплексноо синдрому позитивні ДНК хламідії виявлялись вірогідно частіше, ніж у хворих з гіперімунокомплексемією. У хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту ДНК хламідій виявлялась вірогідно частіше, ніж у хворих без імунодефіциту ($X^2= 0,02$). При порівнянні цих даних у зішкрябах вірогідної різниці між цими групами не встановлено. При порівнянні групи хворих з імунодефіцитом та хворих на хворобу Рейтера встановлено, що позитивна ДНК хламідій у зішкрябах зустрічається вірогідно частіше зустрічається в першій групі хворих ($X^2= 0,05$). Вірогідної різниці з по виявлення ДНК хламідій в крові між цими групами не встановлено. Таким чином, присутність в крові хламідійної ДНК частіше у чоловіків може бути пов'язано зі слабшими гематотканинними бар'єрами у них. Активне виявлення ДНК хламідій за умов гіперімунокомплексного синдрому може бути результатом виснаження клітиннозалежних кліренсних процесів у імунній системі, що переключається з частішим виявленням хламідійних ДНК при проявах імунодефіциту. Автоімунні ускладнення за умов імунодефіциту не впливають на частоту виявлення хламідійних ДНК в крові і частота виявлення ДНК хламідій у зішкрябах вірогідно нижча у хворих на хворобу Рейтера, ніж у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту. Отримані дані можуть вказувати на компенсаторне відновлення місцевого імунітету в хворих на хворобу Рейтера.

Оцінка фагоцитарної ланки імунної системи в хворих на хламідійну інфекцію показала зниження фагоцитарного показника ($P < 0,05$), індекса стимуляції НСТ-тесту ($P < 0,05$) на тлі комплементарнозалежного гіперімунокомплексного ($P < 0,01$) синдрому, який був більш виражений у чоловіків ($P < 0,05$). Синдром гіперімунокомплексемії поглиблював захоплюючу та спонтанну окисно-відновну активність фагоцитів. У хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту система фагоцитозу зазнавала вірогідної депресії в поглинальній активності ($P < 0,01$), резервній здатності до окисно-відновних процесів ($P < 0,05$) на тлі наростання гіперімунокомплексемії ($P < 0,02$) та споживання комплементу ($P < 0,05$). У чоловіків на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту спостерігався вірогідно нижчий фагоцитарний показник ($P < 0,05$), та вищий рівень ЦІК ($P < 0,001$). У хворих на хворобу Рейтера спостерігалось зниження фагоцитарного показника ($P < 0,05$), індексу стимуляції ($P < 0,05$) та підвищення рівня ЦІК ($P < 0,001$).

Вказані особливості фагоцитарної системи у хворих на хламідійну інфекцію характеризуються послабленням захоплюючої та частково клінінгової активності цих клітин. У хворих на хламідійну інфекцію з гіперімунокомплексним синдромом долучається посилена активність спонтанних окисно-відновних процесів у фагоцитах. У хворих на хламідійну інфекцію з імунодефіцитом ці процеси поглиблюються з виснаженням резервної здатності моно- і полінуклеарів крові. Хвороба Рейтера характеризується більш вираженим зниженням фагоцитарного показника, депресією індексу стимуляції НСТ - тесту, наростанням гіперімунокомплексного синдрому.

Таким чином, отримані дані вказують, що фагоцитарна ланка імунної відповіді у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту є виснаженою, що може сприяти хронічній персистенції патогенних ЦІК, особливо у чоловіків і у хворих після 35 років. Гіперімунокомплексний синдром може бути патогенетичною ланкою автоімунних ускладнень

хламідійної інфекції з проявом імунодефіциту, які ведуть до розвитку хвороби Рейтера.

У результаті аналізу лімфограми хворих на хламідійну інфекцію встановлено зниження регуляторного індексу ($P < 0,01$), регуляторної субпопуляцій Т-лімфоцитів ($P < 0,05$), підвищення НК-клітин ($P < 0,02$) та активованих ІЛ-2 лімфоцитів. Особливо виражені зміни регуляторної субпопуляцій Т-лімфоцитів ($P < 0,05$) виявлені у чоловіків, крім того в них було вірогідно нижче число цитотоксичних лімфоцитів ($P < 0,05$). Гіперімунокомплексний синдром у хворих на хламідійну інфекцію супроводжувався зниженням загальної кількості Т-лімфоцитів ($P < 0,05$), Т-хелперів ($P < 0,005$), особливо цитотоксичних Т-лімфоцитів ($P < 0,001$), регуляторної субпопуляції ($P < 0,05$) та збільшення регуляторного індексу ($P < 0,02$). За умов формування імунодефіцитного синдрому в хворих на хламідійну інфекцію встановлено поглиблення зниження загальної кількості лімфоцитів ($P < 0,001$), Т-лімфоцитів ($P < 0,001$), Т-хелперів ($P < 0,001$), цитотоксичних лімфоцитів ($P < 0,05$), НК-клітин ($P < 0,01$) ранньо- ($P < 0,01$) і пізньоактивованих ($P < 0,05$) лімфоцитів, у чоловіків цієї групи особливо була знижена абсолютна кількість цитотоксичних лімфоцитів ($P < 0,05$), а абсолютна кількість регуляторних лімфоцитів зростала ($P < 0,05$), особливо у хворих вікової групи 35 і більше років ($P < 0,01$). Індекс кореляції кількості імунорегуляторних лімфоцитів з цією групою складає 0,6. У хворих на хворобу Рейтера кількісні зміни популяцій і субпопуляцій лімфоцитів мали свої особливості у порівнянні з хворими на імунодефіцит з проявами хламідійної інфекції: збільшення Т-хелперів ($P < 0,001$), зниження кількості цитотоксичних Т-лімфоцитів ($P < 0,01$), наростання імунорегуляторного індексу лімфоцитів ($P < 0,001$) і значне зниження регуляторної субпопуляції Т-лімфоцитів ($P < 0,001$).

Такі зміни в кількісному складі лімфоцитів та їх субпопуляцій свідчать про розвиток лімфоцитарного імунодефіциту особливо в забезпеченні протиінфекційного захисту до внутрішньоклітинних інфекцій, послабленні

клітинних гальмуючих механізмів, що створює передумови до розвитку автоімунних ускладнень за умов персистенції хламідійної інфекції.

У хворих на хламідійну інфекцію спостерігалось зростання рівня тумор-некротичного фактору альфа ($P < 0,001$) та імунорегуляторного індексу Т-хелперів першого типу ($P < 0,05$), зі зростанням рівня інтерлейкіну-2 ($P < 0,05$), особливо в жінок, у хворих з гіперімунокомплексним синдромом ці зміни цитокінової перебудови поглиблюються, але не залежать від віку хворих. Встановлено взаємозв'язок між числом регуляторних Т-лімфоцитів та регуляторним співвідношенням Т-хелперів II типу ($r = 0,71$), а також відсотком низькоавідних антитіл ($r = 0,50$). Крім того, рівень ІЛ-2 обернено пропорційно корелював з числом регуляторних Т-лімфоцитів ($r = 0,51$) та рівнем ІЛ-10 ($r = 0,50$). Імунодефіцит на тлі хламідійної інфекції зумовлює зниження рівня альфа- ($P < 0,01$) та гама-інтерферонів ($P < 0,05$), а також імунорегуляторного індексу Т-хелперів першого типу ($P < 0,001$) зі зростанням рівня в сироватці крові інтерлейкіну-2 ($P < 0,05$) та -10 ($P < 0,02$) у порівнянні з хворими лише з проявами хламідійної інфекції без імунодефіциту. Крім того, імунодефіцит корелював з рівнем ІЛ-10 – $r = 0,53$. Ці зміни цитокінів у даних хворих не залежали від віку та статі, але у порівнянні з відповідними показниками хворих на хворобу Рейтера, у яких активізувався синтез інтерлейкіну-4 ($P < 0,02$) та знизився синтез інтерлейкіну-10 ($P < 0,01$) і відповідно зменшився імунорегуляторний індекс Т-хелперів другого типу ($P < 0,05$).

Таким чином, зміни цитокінового балансу свідчать про активну гуморальну неспецифічну імунну відповідь за умов хламідійної інфекції, що створює сприятливе тло для хронізації процесу, за умов імунодефіциту в хворих на хламідійну інфекцію розвивається авто агресивні ускладнення з можливим ушкодженням репродуктивної сфери та суглобів.

Аналіз проведених імунологічних досліджень гуморальної ланки імунної системи у хворих на хламідійну інфекцію загалом, а також у хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту показали, що специфічний антитілогенез у хворих з проявами хламідійної інфекції активно підвищений за

всіма класами імуноглобулінів, особливо у жінок за рівнем продукції IgA ($P < 0,05$). За умов проявів імунодефіциту в хворих на хламідійну інфекцію синтез специфічних IgG ($P < 0,001$) та їх індексу ($P < 0,01$) є зниженими з наростанням рівня низькоавідних антитіл ($P < 0,05$). Хворі на хламідіоз з проявами імунодефіциту мають підвищені маркери автоагресії в віці 35 і більше років ($P < 0,01$) і особливо чоловіки ($P < 0,01$). В той же час хворі на хворобу Рейтера і хворі на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту практично не відрізнялись один від одного, лише індекс специфічного IgG ($P < 0,05$) був частково нижчий у хворих на імунодефіцит в порівнянні з хворими на хворобу Рейтера.

Отже, в хворих на хламідійну інфекцію з проявами імунодефіциту специфічна гуморальна імунна відповідь є зниженою за рахунок зменшення синтезу імуноглобулінів, у першу чергу, імуноглобуліна класу G та його індексу, а також кореляцію низькоавідних антитіл з цією групою хворих ($r = +0,5$), що вірогідно відрізняє таких хворих від групи хворих на хламідійну інфекцію. Специфічний гуморальний маркер хламідійної інфекції виявляється практично в всіх обстежених хворих, але вищий його рівень спостерігався в хворих з гіперімунокомплексним синдромом. Неспецифічний предиктор HSP 60 – автоімунного синдрому є особливо підвищеним у хворих на хворобу Рейтера.

Експериментальний хронічний гіперімунокомплексний синдром характеризувався морфофункціональним пошкодженням фагоцитів, особливо послаблених резервних ферментативних можливостей фагоцитів та наростанням NO-залежних індукцибельних механізмів у нейтрофілах та сироватці крові.

У хворих із хронічною хламідійною інфекцією провідною ланкою патогенезу був саме гіперімунокомплексний синдром, який поглиблював зміни фагоцитарної ланки, зумовлював дисбаланс лімфоцитарного та цитокінових імунорегуляторних факторів, зміну активності специфічного антитілогенезу та сприяв формуванню різних типів імунодефіциту в хворих на хламідійну

інфекцію. Перебіг хронічної хламідійної інфекції, з імунодефіцитними проявами зумовлював розвиток стійких змін фагоцитарної та антитілозалежної імунної відповіді з формуванням гуморальних та лімфоцитарних механізмів автоагресії на тлі хламідіозу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведені нові теоретичні узагальнення результатів дослідження і по-новому вирішено наукове завдання, що полягає у з'ясуванні механізмів фагоцитарних порушень і хронічної персистенції ЦК, яка супроводжує хронічну хламідійну інфекцію.

Запропоновані нові підходи до оцінки імунопатогенезу хламідіозу та його взаємозв'язки з гіперімунокомплексним синдромом та імунодефіцитом.

1. Експериментальна хронічна персистенція ЦК у сироватці крові – результатом порушення захоплювальної, окисно-відновної активності нейтрофілів і моноцитів крові з проявами фагоцитарного імунодефіциту, який за умов серопозитивної гіперімунокомплексемії характеризувався зниженням “пізнього” фагоцитозу та резервного потенціалу окисно-відновних процесів.

2. Метаболізм оксиду азоту в нейтрофілах та сироватці крові дослідних тварин характеризувався активацією індучибельних процесів із послабленням гальмівних факторів NO-залежного стресу в фагоцитах, що підтверджувалося морфофункціональними змінами ефektorних клітин – нейтрофілів та моноцитів, а також мішеневих клітин – ендотеліоцитів.

3. Особливості фагоцитарної системи у хворих на хламідійну інфекцію з імунодефіцитними проявами характеризуються послабленням “пізньої” захоплювальної та “потенціальної” кілінгової активності цих клітин, особливо в чоловіків та хворих віком 35 і більше років.

4. Фенотипування лімфоцитів та їх субпопуляцій за умов хронічної хламідійної інфекції з проявами імунодефіциту свідчило про послаблення гальмівних лімфоцитарних механізмів, що створювали умови автоімунних ускладнень.

5. Зміни цитокінового балансу свідчили про включення прозапальних факторів за умов хламідійної інфекції з гіперімунокомплексним синдромом, що створювало сприятливі умови для хронізації процесу, а дисрегуляція цитокінів

Th-1 та Th-2 – для розвитку імуноавтоагресивних ускладнень.

6. У хворих на хронічну хламідійну інфекцію специфічний антитілогенез був посилений, особливо в жінок, за рахунок IgA, а у хворих із проявами імунодефіциту специфічна гуморальна імунна відповідь була послабленою зі зменшенням синтезу специфічно відповідних IgG та низькою авідністю цих антитіл.

7. Гуморальний предиктор ускладнення хламідійної інфекції – HSP 60 був підвищений у хворих на хворобу Рейтера, частіше у хворих чоловічої статі та у віковій групі 35 і більше років.

8. На основі клінічних та лабораторних імунологічних досліджень у 33,6% був встановлений гіперімунокомплексний синдром, який супроводжував всі випадки стійких проявів імунодефіциту – в 26,0% хворих, зокрема різних їх типів: фагоцитарний, лімфоцитарний, антитілозалежний, змішаний, а в 28,2% серед цих хворих – автоімунне ускладнення.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО ТА ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати проведених досліджень дозволять:

- визначити вікові та статеві особливості хворих на хламідійну інфекцію, а також умови розвитку в них імунодефіциту;
- оцінити імунологічні критерії формування імунодефіциту на тлі хламідійної інфекції у хворих;
- діагностувати патогенетичні типи імунодефіциту (фагоцитарний, лімфоцитарний, антитілозалежний) та його клінічні форми (інфекційна, інфекційно-автоімунна) в хворих на хламідійну інфекцію;
- рекомендувати ранні діагностичні маркери автоімунних ускладнень хламідійної інфекції;
- диференційовано підійти до призначення патогенетичної імуотропної терапії в хворих на хронічний хламідіоз із проявами імунодефіциту.

Теоретичні та практичні узагальнення роботи викладені в інформаційному листі (№227-2004) та актах впровадження, які використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри загальної і клінічної патофізіології Одеського державного медичного університету, кафедрах патологічної фізіології, внутрішньої медицини з клінічною імунологією та алергологією Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, на кафедрах патофізіології та ендокринології, клінічної імунології, алергології Донецького державного медичного університету ім. О. М. Горького, кафедрі клінічної імунології та алергології Київського національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Адаменко Г.П. Кооперативное взаимодействие поли- и мононуклеарных фагоцитов крови человека: влияние совместного культивирования клеток на их хемолуминисценцию и секрецию миелопероксидазы // Иммунология. – 2000. - №4. – С.26-29.
2. Адаскевич В.П. Инфекции, передаваемые половым путем. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА – М.: Мед. книга, 1999. – С.127-161.
3. Айзятупова Е.М. Діагностика та лікування гормональних порушень у жінок з безплідністю, які перенесли хламідійну інфекцію: Дис. канд. мед.наук. – Х., 2001. – 164 с.
4. Аладышева В.В., Потекаев Н.Н. Урогенитальный хламидиоз. Перспективы лечения вильпрафеном // Рос. журн. кож. и венер. болез. – 2002. - №5. – С.67-69.
5. Анкинская А.С. Проблемы хронической (персистирующей) хламидийной инфекции // Акушер. и гинек. – 1999. - №3. – С.8-11.
6. Анчупане И.С., Милтиныш А.П. Смешанные хламидийные инфекции и их иммунокоррекция // Вестн. дермат. и венер. – 2000. - №1. – С.28-30.
7. Арал С.О. Заболевания, передаваемые половым путем, определяющие факторы и последствия // ИППП. – 2001.- №4. – С.4-8.
8. Бажора Ю.І., Кресюн В.Й. Клінічна імунологія: проблеми і значення для практичної медицини // Одес. мед. журн. – 1999. - №3. – С.74-77.
9. Базарный В.В., Левчик Н.К., Белых О.А. Особенности клеточного иммунитета больных урогенитальным хламидиозом в зависимости от уровня поражения половых путей // Иммунология. – 2001. - №3. – С.45-46.
10. Бартенева Н.С. Вопросы иммунитета при хламидийных инфекциях. В кн.: Хламидийные инфекции / Под ред. А.А. Шаткина. – М., 2006. – С.14-20.

11. Бартенева Н.С. Хламидийные инфекции / Под ред. А.А. Шаткина. – М., 2001. – С.14-20.
12. Баткаев С.А., Липова Е.В. Урогенитальный хламидиоз (учебное пособ.). – М., 1999. – 40 с.
13. Белозоров А.П. Новая классификация микроорганизмов порядка Chlamydiales // Дермат. та венер. – 2001. - №2(12). – С.10-13.
14. Белозоров О.П., Федец О.И., Милюткина Е.И. Сравнительный анализ некоторых новых методов диагностики урогенитального хламидиоза // Дермат. та венер. – 2001. - №1(11). – С.42-43.
15. Белоцкий С. М. Воспаление и иммунный ответ в таблицах и рисунках. – М.: Гончарь, 2006. – 64 с.
16. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. – К.: Наукова думка, 2005. – 790 с.
17. Битти В.Л., Моррисан Р.П., Бирн Д.И. Персистенция хламидий: от клеточных культур до патогенеза хламидийной инфекции. // В кн.: Заболевания, передающиеся половым путем. - 2005. - №6. - С.3-24.
18. Богданова Е.А., Уварова Е.В., Файзуллин Л.З. Частота выявления урогенитального хламидиоза у девочек различных возрастных групп. Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний // Сбор. науч. труд. – М., 1998. – С.41-42.
19. Бойцов А.Г., Порин А.А., Ластовка О.Н. Оценка эффективности серодиагностики хламидийной инфекции с помощью иммуноферментного анализа // Вест. дермат. и венер. – 2002. - №1. – С.43-45.
20. Бондаренко Г.М. Цитокиновый статус синовиальной жидкости при болезни Рейтера // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2003. - №4. – С.77-79.
21. Бондаренко Г.М., Мавров Г.И., Кондакова А.К. Обнаружение ДНК Chlamydia trachomatis в моноцитах периферической крови при болезни Рейтера // Дермат. та венер. – 2003. - №1(19). – С.54-58.

22. Бордюк О.О., Татарин В.Я., Боднарчук Б.Ю. Спосіб покращення імунного статусу людини. // Лікарська справа. – 1997. - №2. – С.15-20.
23. Брагина Е.Е., Дмитриев Г.А., Кисина В.И. Структурно-функциональные особенности жизненного цикла хламидий *in vivo* // Вест. дермат. и венер. – 2000. - №6. – С.18-21.
24. Брагина Е.Е., Орлова О.Е., Дмитриев Г.А. Некоторые особенности жизненного цикла хламидий. Атипичные формы существования. // В кн.: Заболевания, передающиеся половым путем. - 1998.- №4. - С.32-37.
25. Брунс Й. Дисфункция иммунной системы // Биолог. терап. – 2003. - №2. – С.6-11.
26. Бугерук В.В. Використання КВЧ-терапії в комплексному лікуванні хронічної імунної недостатності у хворих із хламідійною і герпесвірусною інфекціями // Одес. мед. журн. – 2000. - №1(57). – С.69-74.
27. Бугерук В.В. Клініко-імунологічні особливості хронічної імунної недостатності, асоційованої з персистентними хламідійною й герпесвірусними інфекціями // Одес. мед. журн. – 2001. - №5. – С.35-38.
28. Бухарин О.В., Кузьмин М.Д., Иванов Ю.Б. Роль микробного фактора в патогенезе мужского бесплодия // Журн. микробиол. – 2000. - №2. – С.106-110.
29. Бучнева Н.Н. Роль персистентной герпетической и хламидийной инфекции в хронизации соматических заболеваний у детей, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами: Дис. ... канд.мед.наук / Москов. НИИ педиатр. и детск. хирур. - 2001. – 148 с.
30. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестн. Рос. АМН. – 2000. - №4. – С.5-10.
31. Вацик М.М, Вплив препарату ербісол на окремі показники системи імунітету при неплідності, зумовленій запальними захворюваннями жіночої репродуктивної сфери хламідійної етіології // Галиц. лікар. вісн. – 2003. – Т.10. - №4. – С.10-13.

32. Ващенко С.Н. Сравнительная характеристика методов полимеразной цепной реакции и прямой иммунофлюоресценции в динамике хламидийной и уреоплазменной инфекции // Иммунол. и алергол. - 2002.-№4.-С.12-15.
33. Возианов А.Ф., Дранник Г.Н., Монтаг Т.С. HLA-фенотип и состояние иммунной системы у больных с хроническим мочеполовым хламидиозом //Дермат. та венер. – 2003. - №1(19). – С.3-7.
34. Возианов А.Ф., Дранник Г.Н., Руденко А.В. Девиация функциональной активності Т-хелперов I и II типов как фактор иммунопатогенеза хронического урогенитального хламидиоза // Intern. J. Immunorehab. – 2000. - №2(1). – С.95-101.
35. Возіанов О.Ф., Ващенко В.В., Дріяньська В.Є. Стан імунної системи у хворих на хронічний сечостатевий хламідіоз // Дермат. та венер. – 2002. - №1 (15). – С.3-7.
36. Волощенко Ю.В., Горошников С.Б. Проблема імунодіагностики інфекційних хвороб в Україні // Ліки України. – 2001. - №2. – С.10-11.
37. Гаєвська М.Ю. Циркуючі імунні комплекси за умов норми та патології // Вісник наук. досл. – 2002. - №4. – С.37-40.
38. Гайдучок І. Г. Імунозалежні механізми у хворих на хламідійну інфекцію // Імунологія та алергологія. – 2007. – №2. – С. 68-71.
39. Гапарян М.О., Штыкунова Е.В. Актуальность проблемы хламидийной инфекции // Российский медицинский журнал. – 2004. - №4. – С.48-50.
40. Гасанова Т.А. Хламидийная инфекция и репродуктивная функция // Вестник дерматологии и венерологии. – 2001. - №1. – С.11-15.
41. Гастон С.Х. Иммунологические аспекты реактивных артритов, вызванных хламидиями // ИППП. – 2001. - №5. – С. 4-9.
42. Глазкова Л.К., Акилов О.Е. Практические аспекты персистирующей хламидийной инфекции// ИППП. - 2003. - №4. - С.29-34.

43. Глазкова Л.К., Герасимова Н.М. Клинико-иммунологические критерии развития нарушений репродуктивной функции у женщин с генитальной хламидийной инфекцией // ИППП. – 1997. - №2. – С.18-20.
44. Глазкова Л.К., Герасимова Н.М. Урогенитальная хламидийная инфекция / Под ред. Е.В. Соколовского. – СПб, 1998. – С.111-148.
45. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика. – 1999. – 459 с.
46. Гнедой С.Н., Соболев А.Ю., Руденко А.В. Конструирование диагностических препаратов на основе рекомбинантных белков хламидий // Лабор. диагн. – 2003. - №3. – С.7-10.
47. Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. – М.: Медпрактика. – 2004. – 179 с.
48. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Генерация оксида азота лейкоцитами периферической крови в норме и при патологии // Пат. физиол. и exper. тер. – 2003. - №4. – С.11-13.
49. Гомберг М.А. Можно ли считать метаболическую активность хламидий критерием для назначения противохламидийной терапии? // Вест. дермат. и венер. – 2003. - №4. – С.23-25.
50. Гомберг М.А. Урогенитальный хламидиоз: руководство по ЗППП. – М.: ЦНИКВИ. – 2001. – 186 с.
51. Гомберг М.А., Ковалык В.П. Хламидиоз и простатит // ИППП. – 2002. - №4. – С.3-8.
52. Гомберг М.А., Соловьев А.М., Некрасов А.В. Иммуноterapia при хроническом персистирующем урогенитальном хламидиозе. // В кн: ЗППП. – 2004. - №4. – С.34-36.
53. Гомберг М.А., Соловьев А.М., Черноусов А.Д. Обоснование иммунотерапии при лечении рецидивирующего урогенитального хламидиоза // ИППП. – 2000. - №2. – С.30-34.

54. Горпиченко И.И., Добровольская Л.И. Хламидийная инфекция у больных с воспалительными заболеваниями половых органов // Лікув. справа. – 2001. - №4. – С.99-104.
55. Грибанов Г.А., Меньшиков И.В., Бедулева Л.В. Липидный состав и функциональная активность полиморфоядерных лейкоцитов периферической крови человека // Иммунология. – 2004. - №5. – С.268-274.
56. Гуревич П.С. Иммунокомплексные болезни // Арх. патол. – 1993. - №7. – С.37-43.
57. Делекторский В.В., Яшкова Г.Н., Каграманова Ж.А. Пособие по диагностике и лечению хламидиоза. – М. - Смоленск, 2000. – 124 с.
58. Джус М.Б. Хвороба Рейтера: імунологічні механізми розвитку та особливості діагностики: Автореф. дис. канд. мед.наук. – К., 1999. – 18 с.
59. Дмитриев Г.А. Урогенитальная хламидийная инфекция. Подходы к диагностике и терапии // ИППП. – 2002. - №2. – С.21-24.
60. Дмитриенко Н.П., Кишко Т.О., Шандаренко С.Г. О роли ксантиноксидазы в цитотоксическом действии нитратов и нитритов // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т.73, №6. – С.113-118.
61. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Одесса: АстроПринт. – 2006. – 603 с.
62. Дранник Г.Н., Гибнер С.М., Ващенко С.Н. Особенности продукции цитокинов как важный фактор иммунопатогенеза хронического мочеполового хламидиоза и обоснования целесообразности использования иммунотерапии // Здоровье мужчин. – 2004. - №3. – С.238-241.
63. Драннік Г.М., Дріянська В.Є., Ващенко С.М. Вплив манаксу на продукцію цитокінів (γ -ІФ, ІЛ-4, ІЛ-10) in vito лімфоцитами здорових донорів і хворих на хронічний сечостатевий хламідіоз // Імунол. та алергол. – 2004. - №1. – С.15-17.

64. Дриянская В.Е., Возианов А.Ф., Дранник Г.Н. Экспрессия проапоптотического маркера (CD95) и молекул адгезии (ICAM-1) на лимфоцитах у больных хроническим мочеполовым хламидиозом // Здоровье мужчин. – 2004. - №4. – С.64-72.
65. Дубенский В.В. Патогенетическое значение иммунных нарушений в развитии осложненных урогенитальных инфекций и болезни Рейтера и их коррекция с помощью препаратов интерферона и цитокинов (клинико-лабораторные исследования): Дис. д-ра мед. наук / Централ. НИКВИ. - 1999. – 242 с.
66. Дубенский В.В. Современные клинико-эпидемиологические и иммунологические аспекты болезни Рейтера // Вест. дермат. и венер. – 2003. - №1. – С.55-60.
67. Дубенский В.В., Редько Р.В. Персистирующая хламидийная инфекция у больного с дивертикулом уретры // Рос. журн. кожн. и венер. болезн. – 2002. - №1. – С.50-51.
68. Звягина Т.В., Велик И.Е., Кривошей А.А., Гринь В.К. Оксид азота как активная форма кислорода // Укр. мед. альман.-2001.-Т.4, №6.-С.203-206.
69. Звягина Т.В., Гамаюнов И.В., Губанова Е.А. Изменения метаболизма оксида азота при ревматических заболеваниях. // Укр. ревмат. журн. – 2002. - №3(9). – С.10-15.
70. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Менщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. – М.: МАИК “Наука/Интерпериодика”. – 2001. – 343 с.
71. Змушко Е.Н. Клиническая иммунология: Руководство для врачей / Е.И. Змушко, Е.С. Белозоров, Ю.А. Митин. – СПб.: Питер, 2001. – 576 с.
72. Ильин И.И. Урогенитальный хламидиоз // Медиц. вестн. – 1993. - №11. – С.89-114.

73. Иммуный статус, принципы его оценки и коррекция иммунных нарушений / Передерий В.Г., Земсков А.М, Бычкова Н.Г., Земсков В.М. – К.: Здоров'я. – 1995. – 211 с.
74. Иммунодиагностика и иммунокоррекция в клинической практике / Под ред. И.Д. Стлярова. – СПб.: СОТИС, 1999. – 176 с.
75. Иммунологический мониторинг для прогнозирования течения патологического процесса, обусловленного хламидийной инфекцией (метод. реком): – Екатирибург, 2000. – 28 с.
76. Иммунопатология и аллергология. Стандарты диагностики и лечения / Под ред. Р.М. Хаитова. – М.: ГЭОТА РМЕД, 2001. – 96 с.
77. Исаков В.А., Архипова Е.И., Ермоленко Д.К. Терапия урогенитального хламидиоза: Руководство для врачей. – СПб. – В. Новгород, 2004. – 76 с.
78. Люк Т.А. Особливості імуно-ендокринного гомеостазу та мікробіоценозу у жінок репродуктивного віку з хронічною трихомонадно-хламідійною інфекцією: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 2003. – 16 с.
79. Каграманова Ж.А., Сускова В.С. Клинико-иммунологические проблемы хламидиоза // Аллерг. и иммун. – 2005. – Т.4. - №1. – С.16-21.
80. Клиническая иммунология и аллергология: Пер. с англ. / Под ред. Г. Лолора, Т. Фишера, Д. Адельмана; Ред. пер. Е.Н. Образцова. – М.: Практика, 2000. – 806 с.
81. Ковалева Л.Н. Использование препарата Таваник в лечении урогенитального хламидиоза // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2002. - №3. – С.93-95.
82. Коваленко Т.М., Осадченко І.О., Ніконенко І.Р. та ін. Ендотеліальні клітини за умов культивування (порівняльний аналіз методичних підходів) // Фізіол. журн.-1999.-№4.-С.120-124.
83. Коваль С.Б. Реактивні зміни циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів при фізіологічному та ускладненому гестаційному процесі // Фізіол. журн.-2003.-Т.49, №1.-С.67-75.

84. Ковальчук Л.В., Хараева З.Ф. Роль оксида азота в иммунопатогенезе стафилококковых инфекций // Иммунология.-2003.-№3.-С.186-188.
85. Кограмонова Ж.А., Сускова В.С. Клинико-иммунологические проблемы хламидиоза // Аллерг. и иммун.-2003.-№1.-С.16-24.
86. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. – М.: Авиценна, 2002. – 134 с.
87. Комплексне лікування хворих на сечостатевої хламідіоз із застосуванням джозаміцину, ехінацину та сілібініну: методичні рекомендації. – К., 2002. – 22 с.
88. Конопля А.И., Шатохин М.Н., Серегин С.П. Использование полиоксидония в комплексном лечении хронического простатита // Иммунология. - 2002. - №6. - С.382-385.
89. Коцюрuba А.В., Бідюк М.М, Чоп'як В.В. та ін. Хронічний гіперімунотоксичний процес та його взаємозв'язок з системами, що генерують вільні радикали // Фізіол. журн.-2000.-Т.46, №1.- С. 17-23.
90. Кочетова Т.В. Вплив комплексної терапії хламідійних ендocerвіцитів на стан перекисного окиснення ліпідів // Одес. мед. журн. – 2003. - №1(77). – С.87-89.
91. Кудрявцева Л.В., Мисюрина О.Ю., Генерозов Э.В. Клиника, диагностика и лечение хламидийной инфекции: Пособие для врачей. – М., 2001. – 128 с.
92. Кузнецова О.В. Роль ендотоксину грамнегативної мікрофлори в цитокіновій регуляції активності клітинних факторів неспецифічного імунного захисту, фібринолізу і протеолізу: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Тернопіль, 2002. – 19 с.
93. Кутовая В.В. Общая характеристика хламидий и их жизненный цикл // Дермат. та венер. – 2001. - №1(11). – С. 44-45.
94. Кутовая В.В. Урогенитальные хламидиозы (клинико-экономические особенности и лабораторная диагностика): Дис. ... канд. мед. наук. – К., 2000. – 159 с.

95. Лакатош В.П., Лазаренко Л.М., Корніліна О.М. Вплив комплексної терапії з використанням індукторів інтерферону на показники імунного та інтерферонового статусу в хворих на уrogenітальний хламідіоз // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2003. - №3. – С.96-97.
96. Лаповець Л.С, Луцик Б.Д. Посібник з лабораторної імунології. - Львів, 2002.-173 с.
97. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммуная недостаточность // М.: Медицинская книга, 2003.- 443 с.
98. Лебедюк М.М. Епідеміологія, клінічний патоморфоз хламідійної і змішаної уrogenітальної інфекції, комплексна діагностика, лікування, профілактика: Автореф. дис. д-ра мед. наук / Київ. націон. мед. універ. – 2004. – 18 с.
99. Лебедюк М.М., Шеремета В.В., Бардов П.В. Етіопатогенез, клінічний перебіг і сучасні підходи до лікування та трактування контролю вилікування від хламідійної уrogenітальної інфекції // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2002. - №2-3. – С.89-92.
100. Левчик Н.К. Иммунологический мониторинг при урогенитальной хламидийной инфекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Челябинская госуд. мед. акад.- 2004. – 24 с.
101. Левчик Н.К. Способ иммунодиагностики урогенитального хламидиоза // Клинич. лабор. диагн. – 1997. – №6. – С.64-72.
102. Липова Е.В. Урогенитальный хламидиоз: современные клинико-лабораторные подходы // Вест. дермат. и венер. – 2002. - №5. – С.46-50.
103. Литвиненко Г.И. Морфоцитохимические особенности лимфоцитов крови человека в разные фазы суточного и годового циклов в норме и при развитии иммунодефицитного состояния: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Новосибирский мед. инст. - 1998. – 16 с.
104. Ліпус О.І., Степаненко В.І. Характеристика імунопатологічних синдромів при хронічному простатиті та їх діагностично-прогностичне значення // Венерологія. – 2002. - №3. – С.71-76.

105. Лобзин Ю.В., Ляшенко Ю.И., Позняк А.Л. Хламидийные инфекции. - Санкт-Петербург, 2000.- 280 с.
106. Луб'яна С.С. Профіль прозапальних цитокінів ІЛ-1β, TNF-α у системі мати-плід у жінок із вагінальними інфекціями // Одес. мед. журн . – 2000. - №6(62). – С.37-40.
107. Луб'яна С.С. Профіль прозапальних цитокінів ІЛ-1β, TNF-α у системі мати-плід у жінок із вагінальними інфекціями // Одес. мед. журн . – 2000. - №6(62). – С.37-40.
108. Лупан И.Н. Клинико-иммунологические характеристики различных форм пиелонефрита, ассоциированного с хламидийной инфекцией, у девочек и их терапевтическая коррекция: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Челябинская гос. мед. акад. - 2001. – 20 с.
109. Мавров Г. И. Реактивные артриты в венерологии: современное состояние проблемы // Журн. дермат. и венер. – Х., 1997. - №3. – С.18-22.
110. Мавров Г.И. Клинико-морфологическая характеристика хламидийного сальпингита // Вестн. дермат., венер. – 2004. - №4. – С.18-22.
111. Мавров Г.И., Мальцева Т.В. Гистопатология маточных труб у больных с хламидийной инфекцией // Журнал АМН України. – 2003. – Vol.9. - №1. – С.185-193.
112. Мавров Г.И., Нагорный А.Е. Применение джозамицина в сочетании с препаратами растительного происхождения – эхинацином и силибинином для лечения урогенитального хламидиоза // Укр. журн. дермат., венер., космет. – К., 2002. - №1(4). – С.75-79.
113. Мавров Г.И., Тацкая Л.С., Шаповалова О.В. Экспресс-тесты для диагностики сифилиса, гонореи, хламидиоза и трихомониаза – предварительные результаты клинических испытаний // Дермат. та венер. – 2003. - №1(19). – С.61-64.

114. Мавров Г.И., Чинов Г.П. Роль хламидийной инфекции в патологии человека // Междун. мед. журнал. – 2003. - №4. – С.111-115.
115. Мавров Г.И., Чинов Г.П. Роль цитокинов в патогенезе хламидиоза // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2004. - №1. – С.53-59.
116. Мавров Г.И., Губенко Т.В., Бондаренко В.П. Вплив сечостатевого хламідіозу на репродуктивну здатність людини // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2002. - №2(5). – С.61-64.
117. Мавров Г.И., Чинов Г.П. Персистентна хламідійна інфекція: визначення поняття та наукове і практичне значення // Інфекційні хвороби. – 2003. - №4. – С.62-67.
118. Мавров И. И. Хламидийная инфекция: активное изучение проблемы // Журн. дермат. и венер. – 2001. - №12. – С.4-10.
119. Мавров И.И. Актуальные медико-социальные проблемы хламидийной инфекции //Дермат. та венер. – 2001. - №1(11). – С.37-41.
120. Мавров И.И. Хламидийная инфекция уrogenитального тракта // Венерические болезни: Руководство для врачей. – М.: Медицина, 1999. – С.390-412.
121. Мавров І.І. Соціальні та медичні аспекти хламідійної інфекції // Інфекційні хвороби. – 2004. - №2. – С.5-11.
122. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке // Биохимия.-1998.-т.63.-№7.-С.1007-1019.
123. Матвеева Н.К., Файзуллин Л.З., Альверс Н.В. Особенности состояния иммунной системы женщин с воспалительными заболеваниями гениталий хламидийной этиологии // Акушер. и гинеко. – 1995. - №2. – С.45-47.
124. Маянский А.Н. Митохондрии нейтрофилов: особенности физиологии и значение в апоптозе // Иммунология.-2004.-№5.-С.307-311.

125. Маянский Д.Н., Маянская С.Д. Роль нейтрофилов в ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда // Тер. архив.-2001.- №12.- С.84-88.
126. Мелькумов А.В. Клиника, лечение и ультраструктурный анализ хронической гонорейно-хламидийной инфекции у мужчин: Автореф. дис. канд. мед. наук. – М., 1997. – 16 с.
127. Мисула І.Р., Перепелиця М.П. Особливості імунологічних та метаболічних зрушень у дорослих і старих щурів при розвитку адренергічного ушкодження печінки // Вісн. наук. досл. – 2007. - №1. – С.105-108.
128. Михайленко А.А., Покровский В.И. Вторичная иммунная недостаточность // Тер. арх. – 2002. - №11. – С.5-9.
129. Мокрецов С.Е., Свирид С.Г. Імунотропна терапія хворих на уrogenітальні інфекції // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2003. - №1. – С.96-97.
130. Молочков В.А., Ильин И.И. Хронический уретрогенный простатит. – М., 2001. – 235 с.
131. Мортон Р.С., Кингхорн Дж. Р. Урогенитальная хламидийная инфекция: переоценка данных и гипотезы // ИППП. – 2000. - №2. – С.4-15.
132. Москаленко Д.А. Новые подходы к лечению урогенитальной хламидийной инфекции // Здоров'я України. – 2004. - №8(93). – С.19-25.
133. Нагоев Б.С., Шубич М.Ф. Значение теста восстановления нитросинего тетразолия для изучения функциональной активности нейтрофилов // Лаб. дело.-1981.-№6.-С.195-198.
134. Нагорний О.Є. Комплексне лікування хворих на генітальний хламідіоз з урахуванням стану неспецифічних факторів захисту організму: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Х., 2003.- 20 с.

135. Наконечна А.А., Дранник Г.М., Кушко Л.Я. Спосіб визначення вторинного імунодефіциту: (метод. реком.) / Націон. мед. універ. ім. О.О.Богомольця. – 1999. – 24 с.
136. Нестерова И.В. Алгоритмы обследования пациентов со вторичными иммунодефицитными состояниями, сопровождающимися ведущим синдромом вирусно-бактериальной инфекции // *Inter. J. Immunorehab.* – 2000. - №1. – С.81-93.
137. Нехороших З.М. Сучасне уявлення про хламідіози // *Одес. мед. журн.* – 2002. - №6(56). – С.8-11.
138. Нехороших З.Н., Маликова М.В., Кривошеин Ю.С. Разработка иммуноферментной тест-системы для диагностики хламидиозов и стандартизации диагностических препаратов // *Современная вакцинология: Матер. межд. конф.* – Пермь, 1998. – С.173-174.
139. Неццет О.П. Ендотелійзалежні механізми регуляції коронарного кровообігу // *Фізіол. журн.* – 2003. – Т.49, №4. – С.24-32.
140. Осипов С.Г., Еремеев В.В., Руднев В.И. Методы определения иммунных комплексов // *Лаб. дело.* – 1983. - №11. – С.3-7.
141. Паливода С.Н., Черепок А.А. Роль оксидативного стресса в нарушении метаболизма азота оксида при гипертонической болезни // *Серце і судини.*-2004.-№1 .-С.39-44.
142. Пирогова В.И. Клеточный иммунитет и интерфероновый статус при хламидиозе и смешанных генитальных инфекциях // *Inter. J. Immunorehab.* – 1997. - №4. – С.37-39.
143. Пищальников А.Ю. Врожденные дефекты гуморального звена иммунитета по данным регионального регистра первичных иммунодефицитов // *Иммунология.* – 2000. - №4. – С.58-60.
144. Пищальников А.Ю., Теплова С.Н. Регистр первичных иммунодефицитов южно-уральского региона // *Аллергология* – 2000. - №1. – С.25-29.

145. Позняк А.Л., Лобзин Ю.В., Сидорчук С.Н. Хламидийное поражение дыхательных путей // Эпид. и инфекц. болез. – 2002. - №5. – С.46-53.
146. Покровский В.И., Виноградов Н.А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // Тер. архив.-2005.- №1.-С.82-87.
147. Поліщук В.М., Кудря Г.В., Крєктун О.В. Препарати інтерферону в лікуванні хронічного хламідіозу // Вісн. наук. досл. – 2000. - №1(17). – С.69-70.
148. Потекаев Н.С., Пашинян М.Г., Пашинян А.Г. Вильпрафен (джозамицин) в терапии урогенитального хламидиоза // Вест. дермат. и венер. – М., 2000. - №1. – С.48-50.
149. Прилепская В.Н., Кодриков Н.И., Устюжанина Л.А. Хламидийная инфекция в гинекологии // Акушер. и гинек. – 2003. - №4. – С.11-13.
150. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.-М.: Медиасфера.-2002.- 312 с.
151. Ремезов А.П., Неверов В.А., Семенов Н.В. Хламидийные инфекции (клиника, диагностика, лечение). – Санкт-Петербург: Интерпресс, 2005. – 143с.
152. Респіраторний хламідіоз у дітей. Клініка, діагностика та лікування (метод. реком.) - Донецьк, 2002. – 20 с.
153. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. - М.: Мир.-2005.- 581 с.
154. Руденко А.В., Кругликов В.Т. Иммуноферментный анализ. 30 лет диагностической практики // Лабор. диагн. – 1999. - №3. – С.11-20.
155. Рудык Ю.С. К вопросу о роли Chlamidia pneumoniae в течении острого инфаркта миокарда // Дермат. та венер. – 2002. - №1(15). – С.10-14.
156. Савинова Т.Л. Клинико-иммунологические аспекты иммунокоррекции и вакцинопрофилактики у детей с приобретенным Т-

- клеточным иммунодефицитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Уральская госуд. мед. акад. - 1997. – 16 с.
157. Савичева А.М., Башмакова М.А. Урогенитальный хламидиоз у женщин и его последствия. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА. – 1998. – 182 с.
158. Садляк О. В., Чоп'як В. В., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г. Хронічний гіперімунокомплексний синдром: коригуючий вплив корвітину на метаболізм L-аргініну в лімфоцитарно-ендотеліальних взаємодіях. // Імунологія та алергологія. – 2007. – №1. – С. 63-66.
159. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммуная система, стресс и иммунодефицит. – М.: АПП Джангар, 2000. – 184 с.
160. Севастьянова Т.В. Диагностика, перебіг та лікування геніального хламідіозу в жінок з урахуванням імунного статусу: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 2001. – 16 с.
161. Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Карпюк В.Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии // Астма.-2001.-Т.2, №2.- С.5-14.
162. Синяченко О.В., Денисова Е.М., Шаповалова В.В. Поражение почек при болезни Рейтера // Вестн. дермат. и венер. – 2003. - №6. – С.44-47.
163. Синяченко О.В., Звягина Т.В. Оксид азота в терапевтической практике. - Донецк: ООО "Юго-Восток", ЛТД.-2001.- 258 с.
164. Славинский А.А. Цитоплазматическая зернистость нейтрофильных лейкоцитов (обзор литературы) // Клин. лаб. диагн.-2002.-№3.-С.39-43.
165. Собокаръ А.М. Хламидийная инфекция. – Полтава, 2001. – 107 с.
166. Соловьев А.И. Метаморфозы в «семействе» оксида азота // Лікув. та діагн. - 2003.- №3. - С.8-14.
167. Соловьев А.М. Клинические исследования эффективности и переносимости полиоксидония у больных хронической персистирующей хламидийной урогенитальной инфекцией. – М.: МГМСУ. – 2001. – С.65-67.

168. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник. // Сорос.образ.журн. - 2000. - Т.6, №12. - С.27-34.
169. Стокле Ж.-К., Мюлле Б., Андрианцитохайна Р. и др. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов // Биохимия. - 1998. - Т.63, №6. - С.976-983.
170. Стрижаков А.Н., Делекторский В.В., Малиновская В.В. Индуктор интерферона неовир в комплексном лечении хронических воспалительных заболеваний придатков матки хламидийной этиологии (клинико-электронно-микроскопическое исследование) // Антиб. и химиотер. – 2006. - №40(5). – С.41-44.
171. Тотолян А.А. Патогенетический подход к лабораторной диагностике иммунопатологических состояний: Дис. д-ра мед. наук / НИИ exper. мед. РАМН. - 1997. – 240 с.
172. Федоров Ю.В. Застосування методу триплетної терапії у лікуванні кальцинуючої хвороби клапанів серця // Ліки України. – 2001. - №10. – С.59-63.
173. Федоров Ю. В., Чоп'як В. В., Гайдучок і. Г. Молекулярно-генетичні та серологічні дослідження ймовірної патогенетичної ролі *Chlamidia pneumoniae* і *Cytomegalovirus* при кальцинуючій хворобі клапанів серця. // Серце і судини. – 2005. – №3 – С. 70-75.
174. Федоров Ю.В., Чоп'як В.В., Ягенський А.В. Зміни показників запалення у хворих на кальцинуючу хворобу серця зі серологічними ознаками хронічної інфекції, спричиненої *Chlamidia pneumoniae*, при комплексному застосуванні макролідів // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2000. - №4. – С.90-95.
175. Флегонтов В.В. Імуносупресивні властивості умовно-патогенних бактерій: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Харківський НДУ мікробіол. та вірусол. – 2004. – 18 с.
176. Фримель Г. Иммунологические методы / Пер. с. нем. Тарасова А.П.- М.: Медицина.-1987. - 472 с

177. Фролов В.М., Ліщинський П.Т., Гусакивська О.В. Спосіб лікування хронічного уrogenітального хламідіозу в жінок. – 2002. – 4 с.
178. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекции // Иммунология. – 2000. - №1. – С.61-64.
179. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Исмаев Х.И. Экологическая иммунология. – М.: Изд. ВНИРО, 1995. – 219 с.
180. Хламидийная инфекция в акушерстве и гинекологии (диагностика, клиника, лечение): Метод. пособ. – К., 2002. – 42 с.
181. Хламидийная инфекция в практике инфекциониста и дерматовенеролога (метод. реком.). – К., 2004. – 25 с.
182. Хламидийные инфекции (материалы 4-го Европейского конгресса по хламидиям Европейского общества по изучению хламидий // ИППП. – 2001. - №2. – С.32-36.
183. Хрянин А.А., Решетников О.В., Кривенчук Н.А. Эпидемиология хламидийной инфекции (*Chlamydia trachomatis*) в крупном промышленном центре Западной Сибири // Вест. дермат. и венер. -2001. - №1. – С. 54-57.
184. Центіло С.В. Клініко-імунологічні особливості уrogenітального хламідіозу і його лікування в екологічно несприятливому промисловому регіоні: Автореф. дис. канд. мед. наук / Київський націон. мед. універ. – 2002. – 16 с.
185. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С, Голубка Т.В. Аутоиммунные процессы и их роль в клинике внутренних болезней.-К.: Здоров'я.-1985.- 160 с.
186. Чернышов В.П., Лебедюк М.Н. Система фактора некроза опухолей, его растворимых рецепторов и показатели местного иммунитета у мужчин с хронической уrogenитальной патологией хламидийной этиологии // Укр. журн. дермат., венер., космет. – 2003. - №1. – С.63-67.

187. Чокіна О.М. Порівняльна характеристика ефективності деяких методів діагностики та лікування урогенітальної хламідійної інфекції: Дис. канд. мед. наук / Одес. держ. мед. універ. – 2001. – 128 с.
188. Чоп'як В.В. Системні васкуліти: імунозалежні механізми розвитку та принципи імунотерапії // Автореф. дис. д-ра. мед. наук.- К., 1998.-32 с.
189. Чоп'як В. В., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г., Садляк О. В., Качмарська М. О., Никитюк Г. П. Гіперімунокомплексний синдром в експерименті та клініці. // Вісник наукових досліджень. – 2007. – №1. – С. 5-8.
190. Чоп'як В. В., Потьомкіна Г. О., Пукаляк Р. М., Ліщук-Якимович Х. О., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г., Білянська Л. М., Білянський Ю. В. Клінічні форми перебігу вторинного імунодефіциту хламідійного генезу. // Імунологія та алергологія. – 2006. – №4. – С. 115-116.
191. Чоп'як В. В., Синенька М. Ю., Синенький О. В., Гайдучок І. Г. Лікування реактивних артритів хламідійного та герпетичного генезу. // Мистецтво лікування. – 2005. – № 3. – С. 100-104.
192. Шаткин А.А. Урогенитальные хламидиозы. Этиология. Эпидемиология и общая патология // Контактные инфекции, передающиеся половым путем. – К.: Здоров'я, 1989. – С.191-197.
193. Шаткин А.А. Хламидии и хламидиозы (вчера, сегодня, завтра) // Актуальные вопросы диагностики и лечения хламидийной инфекции. – М., 1990. – С.5-8.
194. Шаткин А.А., Мавров И.И. Урогенитальные хламидиозы //Здоров'я. – К., 2006. – 200 с.
195. Шеремета В.В., Лакатош В.П., Співак М.Я. Характеристика імуного та інтерферонового статусу хворих з різним перебігом урогенітального хламідіозу // Укр. журн. дермат., венер., комет. – 2003. - №1. – С.68-70.
196. Шеремета В.В., Лебедюк М.М. Персистуюча хламідійна урогенітальна інфекція: фактори і механізми виникнення,

- обґрунтування доцільності проведення подальших досліджень // Укр. журн. дермат., венер., космет. – К., 2002. – Т.2. - №5. – С.63-67.
197. Щегловитова О.Н., Максянина Е.В., Растегаева И.Н. Особенности интерферонового статуса при генитальных инфекциях // Вопросы вирусол. – 2001. - №2. – С.36-38.
198. Юрлов В.М., Пісковацький П.М., Сидорчук Т.В. Спосіб діагностики вторинного імунодефіциту. – 1998.- 4 с.
199. Якобисяк М. Імунологія / Пер. з пол. під ред. проф. В.В.Чоп'як. - Вінниця.: Нова книга, 2004.-672 с.
200. Яковлев В.М., Новиков А.И. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция. – М.: Медицина, 2000. – 172 с.
201. Якубович А.И., Малов И.В., Малышев В.В. Связь генетических маркеров с заболеваемостью хламидийной инфекцией у мужчин // Рос. журн. кожн. и венер. болез. – 2000. - №5. – С.37-39.
202. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии // Иммунология.-1997.-№3. - С.7-12.
203. Allan I., Hatch T., Pearce J. Influence of cysteine on chlamydial differentiation from reproductive // J. Gen. Microbiol. - 1995. – Vol.131. – P.3171-3177.
204. Barbour A., Amato J., Hackstadt L. Chlamidia trachomatis has penicillin-binding proteins but not detectable muramic acid. // Bacterial. - 2002. – Vol. 151. – P.420-428.
205. Beany W., Byrne G., Morrison R. Morphological and antigenic characterization of interferon gamma mediated Chlamydia trachomatis infection in vitro.// Proc. Acad. Sci. USA.- 2003. – Vol. 90. – P.3998-4402.
206. Beatty W., Morrison R., Byrne G. Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. // Microbiol. Rev. - 2004. – Vol. 58(4). – P.686-699.
207. Bokoch G., Diebold B.. Current molecular models for NADPH oxidase regulation by Rac GTPase // Blood. – 2002. – Vol.100. – P.2692-2696.

208. Borregaard N., Cowland J. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte // *Blood*. – 2003. – Vol.13. – P.117-186.
209. Brenwald N., Andrews J., Boswell F. and Wise R. CG5501 – In vitro study against clinical isolates including *Chlamydia* spp. and *Mycobacterium tuberculosis*. Poster F54, 36 // ICAAC, USA. - 2006. - P.109.
210. Brunham R. Maclean J., Binns B. *Chlamydia trachomatis*: its role in tuba infertility.// *J. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 152(6). – P.1275-1282.
211. Byrne G., Lehmann L., Landry G. Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma-interferon - mediated inhibition of intracellular *Chlamydia psittaci* replication in T24 cells.// *Infect. Immun.*- 1996. – Vol. 53. – P.347-351.
212. Cain T., Rank R. Local Th 1-like responses are induced by intravaginal infection of mice with the mouse pneumonitis biovar of *Chlamydia trachomatis*. // *Infect. Immun.* – 1995. – Vol.63. – P.1784-1789.
213. Cannetti C., Leung B., Culshaw S. 1L-18 enhances collagen-induced arthritis by recruiting neutrophils via TNF- α and leukotrien B4 // *J. Immunol.* - 2003.-Vol. 171.-P. 1009-1015.
214. Chen B., Stout R., Campbell W. Nitric oxide production: a mechanism of *Chlamydia trachomatis* inhibition in interferon-gamma-treated RAW264.7 cells. // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*- 1996.- Vol.14(2-3). – P.109-120.
215. Chopyak V., Bandrivska A., Mazur M., Lishchuk K., Gajduchoc I., Khomyk I. Triplet therapy of bronchial asthma associated with *Chlamydiae* pneumonie. // *Abst. II Congress on Immunopatology and Respiratory Allergy (Moscow) Russia.* – 2004 – P. 277.
216. Chopyak V., Potomkina H., Lishchuk K., Pukalyak R., Zajchenko Y., Gajduchoc I., Du Buske I., Du Buske L. Complex therapy of IgE – dependent asthma. // *Allergy.* – V. 62, Sup. – 83. – P. 208.
217. Cochrane C., Koffler D. Immune complexes in experimental animals and man // *Advans. Immunol.*- 1973.-Vol.254.- P.603-613.

218. Coxon A., Cullere X., Knight S. Fc gamma RIII mediates neutrophil recruitment to immune complexes. A mechanism for neutrophil accumulation in immune-mediated inflammation // *Immunity*.-2001.- Vol. 14, №6. - P. 693-704.
219. David-Watine B., Israel A., Kourilsky P. The regulation and expression of MHC class I genes.// *Immunol. Today*. - 2000.- Vol.11. – P. 287-292.
220. Dawn L., Chen C. Chlamydia and immunodeficitis // *Eur. J. Pharmacol.*- 2005.-Vol.521(1-3).- P.9-20.
221. De La Maza L., Peterson E., Fennie C. The anti-chlamydial and anti-proliferative activities of recombinant murine interferon gamma are not dependent on tryptophan concentrations.// *J. Immunol.*- 1995.- Vol.135. – P.4198-4200.
222. Diebold B., Bokoch G. Molecular basis for Rac2 regulation of phagocyte NADPH oxidase // *Nat. Immunol.*-2001.-Vol.2.-P.211-215.
223. Dijstelboem H., Van de Wankel J., Kallenberg G. Inflammation in autoimmunity: receptors for IgG revisited // *Trends. Immunol.* – 2001. – Vol.22. – P.510-516.
224. Dreses-Werringloer U., Jurgens B., Zeidler H. Persistence Chlamydia trachomatis is mediated by treatment with ciprofloxacin in vitro. // *Proc. 3rd Meet. Eur. Soc. Chlam. Res.*- Austria – 2006. – P.205-208.
225. Fernandes N., Jancar S., Crespo S. Blood and endothelium in immune complex-mediated tissue injury // *Trends. Pharmacol. Sci.*-2004.-Vol.25, №10.-P.512-517.
226. Fossati G., Moots R., Bucknall R. Differential role of neutrophil Fc gamma receptor IIIB (CD 16) in phagocytosis, bacterial killing, and responses to immune complexes // *Arthritis Rheum.*-2002.-Vol.46, №5.- P.1351-1361.
227. Ghaem-Maghamy S, Lewis D., Hay P. Characterization of immune responses to human genital chlamydial infections. *Proc. 3rd Meet. Eur. Soc. Chlam. Res.* – Austria. - 2006. – P.81.

228. Gomez-Cuerrero C, Lopez-Franco O., Suzuki Y. et al. Nitric oxide production in renal cells by immune complexes: Role of kinases and nuclear factor-kappaB // *Kidney Int.*-2002.-Vol.62, №6.-P.2022-2034.
229. Green L., David A., Glogowski J. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids // *Anal. Biochem.*-1982.-Vol. 126, №1.-P.131-138.
230. Hart S., Karen M., Dransfield I. Immune complexes bind preferentially to FcγRIIa (CD32) on apoptotic neutrophils, leading to augmented phagocytosis by macrophages and release of proinflammatory cytokines // *J. Immunol.*-2004.-Vol. 172.- P. 1882-1887.
231. Haruta K., Kobayashi S., Tajima M. Effect of immune complexes in serum from patients with rheumatoid vasculitis on the expression of cell adhesion molecules on polymorphonuclear cells // *Clin. Exp. Rheumatol.*-2001.-Vol.29, №1. - P.59-68.
232. Hess C, Schifferli S. Immune adherence revisited: novel players in an old man // *News Physiol. Sci.*-2003.-Vol.18.- P.104-108.
233. Holland S., Hudson A., Bobo L. Demonstration of chlamydial RNA and DNA during a culture-negative state.// *Infect. Immunol.* - 2000. – Vol. 60. – P.2040-2047.
234. Hudson A., McEntee C., Reacher M. Inapparent ocular infection by *Chlamydia trachomatis* in experimental and human trachoma. *Curr. Eye. Res.* – 2002. – Vol.27. – P.279-283.
235. Hunter Y. Chlamydial infection screen at deliver: a need for inform guidelines // *Amer. J.*-1998.-Vol.147(3).-P.256-258.
236. Ingietseme J., Uriri I., Chow M. Inhibition of intracellular multiplication of human strains of *Chlamydia trachomatis* by nitric oxide // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*- 1997.-Vol.232(3).-P.595-601.
237. Ingietseme J., Uriri I., Chow M. Inhibition of intracellular multiplication of human strains of *Chlamydia trachomatis* by nitric oxide // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*- 1997.-Vol.232(3).- P.595-601.

238. Ingietseme J., Uriri I., Hawkiner R. Integrin-mediated epithelial T-cell interaction enhanced nitric oxide production and increased intracellular inhibition of Chlamydia // *J. Leucocyte Biol.*- 1998.-№59(5).- P.656-662.
239. Jaffe E. Cultured and identification of large vessel endothelial cells /In.: *Biology of endothelial cells.*-Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1994. - P.1-13.
240. Jancar S., Crespo S. Immune complex-mediated tissue injury: a multistep paradigm // *Trends. Immunol.*-2005.-Vol.26, №1.- P.48-55.
241. Jung Y., Kim M., Lee K. LY294002 inhibits nitric oxide production in cultured murine astrocytes // *Pharmacol.Res.*-1999.-Vol.40, №5.- P.423-427.
242. Jyothi M., Khar A. Interleukin-2-induced nitric oxide synthase and nuclear factor-kappa B activity in activated natural killer cells and the production of interferon-gamma // *Scand. J. Immunol.*-2000.-Vol.52(2).- P.145-148.
243. Kaldi K., Szeberenyi J., Rada B. Contribution of phospholipase D and brefeldin A-sensitive ARF to chemoattractant-induced superoxide production and secretion of human neutrophils // *J. Leuk.Biol.*-2002.-Vol.71 .-P.695-700.
244. Ke X., Terashima M., Nariai Y. Nitric oxide regulates actin reorganization through cGMP and Ca calmodulin in RAW 264.7 cells // *Biochem. Biophys. Acta.*-2001.-Vol.1539(1-2). - P.101 -113.
245. Kitamoto S., Egashira K., Kataoka C. Increased activity of Nuclear Factor-kB participates in cardiovascular remodeling induced by chronic inhibition on nitric oxide in rats // *Circulations.*-2005.-Vol. 102(15).-P.806-812.
246. Kopec K. Carroll R. Phagocytosis is regulated by nitric oxide in murine microglia // *Nitric Oxide.*-2000.-Vol.4(2).-P. 103-111.
247. Kurdowska A., Noble J., Steinberg K. Anti-interleukin 8 autoantibody: interleukin 8 complexes in the acute respiratory distress syndrome.

- Relationship between the complexes and clinical disease activity // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*-2001.-Vol.163.-P.463-470.
248. Lam B., Gagnon L., Austen K. The mechanisms of leukotriene B₄ export from human polymorphonuclear leukocytes // *J.Biol.Chem.*-1990.-Vol.265, №23.-P. 13438-13442.
249. Lieatty W., Belanger T., Desai A. Chlamydial persistence: mechanism of induction and parallels to a stress-related response. // *Infect. Immunol.* - 1994. – Vol.62. – P.3705-3711.
250. Liu G., Wang W., Masuoka N. Effect of three flavonoids isolated from Japanese Polygonum species on superoxide generation in human neutrophils // *Planta Med.*-2005.-Vol.71(10).-P.933-937.
251. LeShingu M., Nonaka S., Nishimukai H. Activation of complement in normal serum by hydrogen peroxide and hydrogen peroxide-related oxygen radicals produced by activated neutrophils // *Clin. and Experim. Immunol.*-2002.-Vol.90.-P.72-78.
252. Malinski T. The Nitric Oxide-superoxide in dysfunctional endothelium // *Abstr. First Ukr. Congres Cell Biol.*-2004. - P.207-208.
253. Mansfield P. Regulation of polymorphonuclear leukocyte degranulation and oxidant production by ceramide through inhibition of phospholipase D // *Blood.*-2002.-Vol.100.- P.1434-1441.
254. Mansfield P., Shayman J., Boxer L. Regulation of polymorphonuclear leukocyte phagocytosis by myosin light chain kinase after activation of mitogen protein kinase // *Blood.*-2000.-Vol.95.-P.2407-2412.
255. Mantovani B., Chedraoui-Silva S. The role in the modulation by fluid-phase IgG of the production of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes stimulated with IgG immune complexes // *Braz. J. Med. Biol. Res.*-2006.-Vol.36, №12.-P. 1695-1672.
256. Mavrov I., Belozorov A., Malaya L. Free and immune complex bound antichlamydial antibodies in myocardial infection patients. // *Abstracts of 12th European Immunol. Meet. Barcelona.* - 1994.- P.204-209.

257. Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway // *Acta Physiol. Scand.*-1992.-Vol.145.-P.201-227.
258. Moscai A., Jakus Z., Vantus T. Kinase pathways in chemoattractant-induced degranulation of neutrophils: the role of p38 mitogen-activated protein kinase activated by Src family kinases // *J. Immunol.*-2002.-Vol.164.-P.4321-4331.
259. Moulder J., Levy N., Schulman R. Persistent infection of mouse fibroblasts (L cells) with *Chlamydia psittaci*: evidence for a cryptic chlamydial form. // *Infect. Immun.* – 1990. – Vol. 30. – P.874-883.
260. Nishimura M., Ishikawa Y., Satake M. Activation of polymorphonuclear neutrophils by immune complex: possible involvement in development of transfusion-related acute lung injury // *Trends. Med.*-2004.-Vol.14, №5.-P.359-367.
261. Norman M., Lister K., Yang Y. TNF regulates leukocyte-endothelial cell interactions and microvascular dysfunction during immune complex-mediated inflammation // *Br. J. Pharmacol.*-2005.-Vol.144, №2.-P.265-274.
262. Rani R., Corbitt G., Killough R. Is there any role for rapid testes for *Chlamydia trachomatis*? // *Int. J. STDAIDS.* – 2002. – V.13(1). – P.22-24.
263. Roebuck K. Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of transcription factors AP-1 and NF- κ B // *Int. J. Med.*-1999.-Vol.4.-P.223-230.
264. Rollingshoff M., Diefenbach A. The role of nitric oxide in innate immunity // *Immunol. Rev.*-2000.-Vol.3.-P.17-26.
265. Salvucci O., Kolb J., Dugas B. The induction of nitric oxide by interleukin-12 and tumor necrosis factor- α in human natural killer cells: relationship with the regulation of lytic activity // *Blood.*-1998.-Vol.92(6).-P.2093-20102.
266. Segal A. The NADPH oxidase of phagocytic cells is an electron pump that alkalinizes the phagocytic vacuole // *Protoplasma.*-1995.-Vol. 184.-P.86-103.

267. Selter M., Knowles R., Moncada S. Wide spread tissue distribution and changes in activity of Ca^{2+} - dependent NO-synthase // FEBS Lett. —2001.- Vol. 291, №1.-P.145-149.
268. Sengelov H., Voldstedlund M., Vinten J. Human neutrophils are devoid of the integral membrane protein caveolin // J. Leuk. Biol.-1999.-Vol.232, №1-2.-P.145-152.
269. Setiady Y., Pramoonjago P., Tung K. Requirements of NK cells and proinflammatory cytokines in dependent neonatal autoimmune ovarian disease triggered by immune complex // J. Immunol.-2004.-Vol.173(2).-P.1051-1058.
270. Shpacovitch V., Varga G., Strey A. Agonists of proteinase-activated receptor-2 modulate human neutrophil secretion, expression of cell adhesion molecules, and migration within 3-D collagen lattices // J. Cell Biol.-2004.- Vol.76.-P.388-398.
271. Shroder P., Klotz L-O., Duchczuk D. Epicatehin selectively prevents nitration but not oxidation reactions of peroxynitrite // Biochem. and Biophys. Res. Commun.-2001 .-Vol.285.-P.782-787.
272. Simon P., Karen M., Dransfield I. Immune complex bind preferentially to FcγRIIA (CD32) on apoptotic neutrophils, leading to augmented phagocytosis by macrophages and release of proinflammatory cytokines // J. Immunol.-2004.-Vol. 172.-P.1882-1887.
273. Skulnick M., Small G., Simor A. Comparison of the Clearview Chlamydia test, Chlamydiazyme and cell culture for detection of Chlamydia trachomatis in women a low prevalence of infection // J. Clin. Microbiol. – 2001.- V.29.- P.2086-2088.
274. Stamm W., Holmes K. Chlamydia trachomatis infections of the adult. / Sexually Transmitted Disease. New York: McGraw-Hill Information Services. - 2000. – P.181-194.
275. Statton N.J., Hirsch L., Harris F. Evaluation of the rapid Clearview Chlamydia test for direct detection of Chlamydiae from cervical specimens // J. Clin. Microbiol.- 2001. – V.29. – P.1551-1553.

276. Stokol T., O'Donnell P., Xiao L. Clq governs deposition of circulating immune complex and leukocyte Fcγ receptors mediate subsequent neutrophil recruitment // *JEM.*-2004.-Vol.200, №7.-P.835-836.
277. Stoute J., Odindo A., Owuor B. Loss of red blood cell-complement regulatory proteins and increased levels of circulating immune complexes are associated with severe malaria anemia // *J.Infect.Dis.*-2003.-Vol. 187 (3).-P.522-525.
278. Suarezpinzon W., Strynadka K., Schultz R. Mechanisms of cytokine-induced destruction of rat insulinoma cells - the role of nitric oxide // *Endocrinology.*-2004.-Vol.134.-P.1006-1010.
279. Su H, Caldwell H. CD4(+) T-cells play a significant role in adoptive immunity to *Chlamydia trachomatis* infections of the mouse genital tract. // *Infect. Immun.* - 2000. – Vol. 63. – P.3302-3308.
280. Sullivan K., Jaward A., Piliero L. Analysis of polymorphisms affecting immune complex handling in systemic lupus erythematosus. -2003.-Vol.42.-P.446-452.
281. Suzuki Y., Gomez-Guerrero C, Shirato I. Pre-existing glomerular immune complexes induce polymorphonuclear recruitment through an Fc-receptor-dependent respiratory burst: potential role in the perpetuation of immune nephritis // *J. Immunol.*-2003.-Vol.170.-№6.-P.3243-3253.
282. Svaine S., Rohn T., Quin M. Neutrophil priming in host defense: role of oxidants as priming agents // *Antioxid.Redox.Signal.*-2002.-Vol.4.-P.69-83.
283. Takabayashi A., Kawai Y. Nitric oxide induces a decrease in mitochondrial membrane potential of peripheral blood lymphocytes, especially in natural killer cells // *Antioxid. Redox Signal.*-2000.- Vol.2(4).-P.673-680
284. Tejeda A., Mathsson L., Ekdahl K. Immune complex-stimulated production of interleukin-12 in peripheral blood mononuclear cells is regulated by the complement system // *Clin. Exp. Pathol.*-2004.-Vol. 137, №3.-P.521-528.

285. Thomas M., Ever son S., Tusirey M., Ward M. Differential cytokines gene expression in the genital tracts of mice infected with Chlamydia trachomatis. Proc. 3rd Meet. Eur. Soc. Chlam. Res. – Austria. - 2006. – P.82-83.
286. Treenberg S., Grinstein S. Phagocytosis and innate immunity // Cur. Opin. Immunol.-2002.-Vol.14.-P.136-145.
287. Uesugi M., Hayashi T., Jasin H. Covalent cross-linking of immune complex by oxygen radicals and nitrite // J. Immunol.-1998.-Vol.161, №3.- P.1422-1427.
288. Viyashita N., Niki Y., Kishimoto T. In vitro and in vivo activities of AM-1155, a new fluoroquinolone, against Chlamydia spp. On Antimicrobial Agents and Chemotherapy. - 2007. - Vol.41. – P.1331-1334.
289. Wallereatch T., Gath I., Aulitzky W. Identification of the NO synthase isoforms expressed in human neutrophil granulocytes, megakaryocytes and platelets // Tromb. and Haemost.-1997.-Vol.77.-P.163-167.
290. Ward M. An update on the immunology of chlamydial infection. Proc 3rd Meet. Eur. Soc. Chlam. Res. - Austria. - 2006. – P.58-59.
291. Ward M. The immunobiology and immunopathology of chlamydial infections. APMIS. - 2005. – Vol.103. – P.769-796.
292. Weiss S. Tissue destruction by neutrophils // N. Eng.J.Med.-1999.-320.- P.365-376.
293. Werner E. GTPases and reactive oxygen species: switches for killing and signaling//J.Cell Sci.-2004.-Vol.117.-P.143-153.
294. Williams R. Immune complex in clinical and experimental medicine // Cambridge: Harvard Univer. Press.-1980.- 520 p.
295. Xiao S., Xu C, Jarvis J. Clq-bearing immune complexes induce IL-8 secretion in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) through protein tyrosine kinase- and mitogen-activated protein kinase-dependent mechanisms: evidence that the 126 kD phagocytic Clq receptor mediates immune complex activation of HUVEC // Clin. Exp. Immunol.-2001.- Vol.125, №3.-P.360-367.