

На правах рукописи

ГОЛОВАЧЕВА
Екатерина Георгиевна

КОНЦЕПТУАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ
ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ГРИППЕ, ИММУНОКОРРЕКЦИЯ
В ТЕРАПИИ И ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКЕ

14.03.10 - клиническая лабораторная диагностика
14.01.09 - инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Научные консультанты:	доктор медицинских наук профессор Калинина Наталия Михайловна доктор медицинских наук профессор Осидак Людмила Викторовна
Официальные оппоненты:	Бубнова Людмила Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, лаборатория иммуногематологии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА, руководитель Серебряная Наталья Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» МЗ РФ, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики Бабаченко Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, отдел респираторных (капельных) инфекций, ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», ведущий научный сотрудник, руководитель
Ведущее учреждение:	ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ

Защита состоится «.....» 2015 года в часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54. и на сайте <http://www.arcerm.spb.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2015 года

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

М.В. Санников

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Грипп является опасной и неуправляемой инфекцией с постоянной изменчивостью антигенной структуры и биологических свойств возбудителя при трансмиссии от одного вида хозяина к другому. Грипп характеризуется высокой вероятностью ургентных состояний и развития осложнений, что может приводить к летальному исходу у пациентов любого возраста (Chien Y.S., 2010; Киселев О.И., 2012; Осидак Л.В. и др., 2014).

Своевременная диагностика и прогнозирование угрожаемых и критических состояний при гриппозной инфекции у детей и взрослых продолжают оставаться актуальной научной и клинической проблемой, сохраняется необходимость оптимизации терапии и вакцинопрофилактики гриппа (Киселев О.И., 2014; Афанасьева О.И., 2012; Cassetti M.C. et al., 2006).

Иммунологическая реактивность организма является основным фактором, определяющим степень тяжести клинической манифестации и исход гриппозной инфекции. В ходе взаимодействия вируса гриппа с клетками-мишенями, его презентации иммунокомпетентным клеткам, начинается выработка гуморальных факторов врожденной защиты (лизозима, цитокинов, системы комплемента), определяющих формирование иммунного ответа преимущественно по гуморальному или клеточному типу (Железникова Г.Ф., 2007; Voehme K.W. 2004; Zhang Y.H. et al., 2013).

В основу концепции поляризации иммунного ответа легло открытие среди Т-лимфоцитов у мышей, а затем и у человека двух субпопуляций Т-хелперов (Th1 и Th2), которые продуцируют разный спектр цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-6, характерных для Th1 типа) и (IL-4, IL-10, характерных для Th2 типа), оказывающих противоположное влияние на основные звенья иммунного ответа (Mossmann T.R., 1986).

Дифференцировка наивных Т-лимфоцитов на Th1 и Th2 тип, определяющих направленность иммунного ответа, зависит от дозы антигена, силы сигнала, проводимого через Толл-подобные рецепторы, экспрессии на мембранах макрофагов антигенов МНС II, Fc-рецепторов для IgG. Особенности костимулирующего действия факторов активации генов раннего иммунного ответа обусловлены не только антигенным вариантом возбудителя возбудителя, но и генетическими особенностями индивида (Сологуб Т.В. и др., 2009; Щеплягина Л.А., 2009; McElhaney J.E. et al., 2005).

Наиболее эффективным иммунным ответом при поражении организма внутриклеточными возбудителями, каковым является вирус гриппа, считается клеточный иммунитет Th1 типа, тогда как гуморальный ответ Th2 типа не всегда способен обеспечить санацию организма, и чаще ассоциирован с прогрессированием заболевания (Железникова Г.Ф., 2009; Chien Y.S., 2010; Zhang Y.H., 2013).

Степень тяжести гриппа во многом обусловлена системными проявлениями воспаления, которые характеризуются лихорадкой, реакцией кроветворной системы, ускоренным обменом веществ с нарушением редокс-баланса. Изменение иммунологической реактивности, связанной с иммуносупрессией и гиперпродукцией провоспалительных цитокинов (цитокиновый шторм), при срыве

компенсаторных механизмов может приводить развитию синдрома системной воспалительной реакции (ССВР) и полиорганной недостаточности. Поэтому является актуальной своевременная диагностика и прогнозирование течения гриппа в период отсутствия функциональных органных нарушений (Устьянцева И.М., 2006; Сергеева В.А., 2011; Киселев О.И., 2014; Suoqin Jin et al., 2014).

Степень разработанности темы исследования.

Известно, что для гриппа характерна активация Th1 типа иммунного ответа с выработкой провоспалительных цитокинов TNF- α , IFN- γ . Показано, что увеличение продукции про- и противовоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-8, IL-10, TNF- α на фоне недостаточной продукции IFN- α и IFN- γ играет важную роль в иммунопатогенезе тяжелого и осложненного гриппа (Оразаев Н.Г., 2007; Cheung S.Y. et al., 2002; Образцова Е.В., 2007).

Индивидуальные различия в выраженности иммунных реакций, регулируемых медиаторами воспаления, обусловлены полиморфизмом генов цитокинов и их рецепторов (Силков А.Н., 2013; Романова Е.Н., 2014). Сниженная функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов крови, основных клеток врожденной резистентности, является одной из важных причин развития бактериальных осложнений при гриппе (Doherty T.M., 1995; Хаитов Р.М., 2001).

Однако недостаточно изучены коррелятивные связи медиаторов воспаления с показателями гуморального и клеточного иммунитета, а также с биохимическими изменениями в системе перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в зависимости от клинического течения гриппа (Гусева М.Н., 2005; Friedman M.J. et al., 2004; Chien Y.S. et al., 2010).

В исследованиях последних лет показано, что присутствие аутоантител в сыворотке крови не всегда может свидетельствовать об аутоиммунной природе заболевания, а зависит от концентрации субстрата-вещества, вызвавшего его образование, и характеризует их регуляторные функции в иммунном ответе (Лютфалиева Г.Т., 2012). Существуют немногочисленные наблюдения о негативном влиянии высокого содержания anti-IFN- α антител в сыворотке крови, а также рецепторного антагониста IL-1ra, которые отражают дисбаланс иммунной системы при остром гепатите С, аутоиммунной патологии. Диагностическая и патогенетическая роль этих показателей при гриппе мало изучена (Ikeda Y., 1991; Волкова Л.В., 2008; Волощук Л.В., 2011).

В многолетних комплексных исследованиях, проведенных сотрудниками ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, была показана клиническая эффективность цитокиновых препаратов в терапии гриппа (Афанасьева О.И., 2012; Волощук Л.В., 2011). Однако данные, свидетельствующие о влиянии этих препаратов на девиацию иммунного реагирования при гриппозной инфекции, в зависимости от клинического течения гриппа во взаимосвязи с другими звеньями иммунитета не представлены.

После введения инактивированной вакцины против гриппа иммунитет сохраняется не более 12 месяцев, поэтому необходим поиск путей стимуляции иммунного реагирования на вакцинацию для формирования более эффективной

специфической защиты от гриппа, а также возможности активации механизмов врожденного иммунитета (Ерофеева М.К., 2001; Harper S.A., 2009; Govorkova E.A., 2006).

Таким образом, актуальным является выявление особенностей эндогенной регуляции межклеточных взаимодействий при гриппе, основанных на поляризации иммунного ответа по Th1 или Th2 типу во взаимосвязи с другими звеньями иммунитета. Это позволит установить новые диагностические критерии прогнозирования характера течения заболевания и найти подходы к разработке тактики направленной иммунокоррекции для усовершенствования и оптимизации терапии и иммунопрофилактики гриппа.

Цель исследования.

Обоснование концептуально-диагностических закономерностей вариантов иммунного ответа при гриппе для прогнозирования характера течения заболевания, оптимизации терапии и вакцинопрофилактики.

Задачи исследования:

1. Разработать рациональный способ определения Th1, Th2 или смешанного Th1/Th2 типов иммунного ответа при гриппе и выявить закономерности их влияния на степень тяжести заболевания во взаимосвязи с основными параметрами гуморального, клеточного иммунитета и окислительно-метаболических процессов.
2. Оценить значимость рецепторного антагониста IL-1ra и anti-IFN- α антител в регуляции иммунного ответа и клинического течения гриппа.
3. Определить диагностические критерии прогнозирования характера клинического течения при гриппе на основании выявленных концептуально-диагностических закономерностей иммунного ответа.
4. Изучить влияние на поляризацию иммунного ответа при гриппе ряда этиотропных препаратов, рекомбинантных цитокинов и индукторов интерферона для оптимизации терапии.
5. Обосновать целесообразность применения препарата рекомбинантного интерферона гамма для повышения иммуногенности вакцины против птичьего гриппа H5N1.

Научная новизна и теоретическая значимость

Впервые на основании выявленных взаимосвязей основных параметров гуморального, клеточного иммунитета и окислительно-метаболических процессов, отражающих степень декомпенсации иммунной системы, обоснованы концептуально-диагностические закономерности влияния типов иммунного ответа при гриппе у детей и взрослых на степень тяжести заболевания и развитие осложнений.

Разработан рациональный способ определения Th1, Th2 или смешанного Th1/Th2 типов иммунного ответа при гриппе на основании предложенных коэффициентов поляризации (КП), полученных в результате расчета соотношения показателей содержания в сыворотке крови цитокинов $KП1=IL-4/IFN\gamma$ и $KП2=IL-10/IFN-\gamma$.

Впервые при гриппе установлена патогенетическая значимость высокого уровня концентрации рецепторного антагониста IL-1ra и anti-IFN- α антител при тяжелом и осложненном течении заболевания у пациентов с различным типом иммунного ответа.

Впервые установлена взаимосвязь Th2 типа иммунного ответа с изменениями ряда иммунологических и биохимических параметров, отражающих степень декомпенсации иммунной системы, что существенно раскрывает и дополняет представление об иммунопатогенезе тяжелых форм и осложненного течения гриппа.

Доказано, что тяжелая степень тяжести заболевания и/или развитие осложнений при гриппе ассоциированы с Th2 типом иммунного ответа, определяемом при КП1 и КП2 больше 3, что обусловлено дисбалансом цитокиновых реакций, уменьшением относительного содержания субпопуляций лимфоцитов-киллеров (CD3+CD8+, CD3-CD16+), снижением функциональной активности интерферонпродуцирующих клеток и усилением свободнорадикальных процессов.

Показано, что при гриппе раннее применение противовирусных и иммунокорректирующих препаратов приводит к переключению иммунного ответа с Th2 на Th1 тип, что способствует устранению дисбаланса окислительно-метаболических процессов и сокращению продолжительности заболевания.

Впервые показано адъювантное влияние на иммунный ответ препарата рекомбинантного IFN- γ при однократном введении вакцины ОрниФлю против птичьего гриппа H5N1, что приводит к более эффективному формированию специфических антител и стимуляции врожденного иммунитета.

Практическая значимость работы.

В результате проведенных исследований выявлены концептуально-диагностические закономерности влияния типов иммунного ответа на клиническое течение гриппа независимо от возраста.

Высокая степень положительной корреляции дисбаланса цитокиновых реакций, клеточного и гуморального иммунитета и усиления окислительно-метаболических процессов с Th2 типом иммунного ответа позволяет использовать предложенные коэффициенты поляризации для прогнозирования заболевания тяжелой степени тяжести и развития осложнений при гриппе.

Разработаны и защищены патентами способы прогнозирования тяжести заболевания и обострения хронической бронхолегочной патологии при гриппе на основании динамики предложенных коэффициентов поляризации, что определяет индивидуальную тактику направленной иммунокоррекции в терапии.

Представлено клинко-иммунологическое обоснование эффективности противовирусных препаратов (Осельтамивир, Умифеновир), индукторов интерферона (Деринат, Циклоферон) и рекомбинантных цитокинов (Виферон, Генферон, Гриппферон, Беталейкин) за счет направленной иммунокоррекции в сторону Th1 типа у пациентов с Th2 и смешанным Th1/Th2 типом иммунного ответа при гриппе.

Предложен новый способ усиления иммуногенности вакцины против птичьего гриппа H5N1 (ОрниФлю) с помощью сочетанного введения препарата рекомбинантного IFN- γ (Ингарон), что позволяет перейти на однократную вакцинацию и решить важную медицинскую и социально-экономическую проблему при организации массовой вакцинопрофилактики гриппа.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Иммунопатогенез гриппа определяется формированием иммунного ответа по трем типам: Th1, Th2 и смешанному Th1/Th2, которые характеризуются различными коэффициентами соотношения показателей содержания в сыворотке крови цитокинов IL-4 и IL-10 к IFN- γ и обуславливают особенности клинического течения гриппозной инфекции.

2. Th2 тип иммунного ответа ассоциирован с тяжелым и осложненным течением гриппа, коррелирует с высоким уровнем концентрации провоспалительных цитокинов, рецепторного антагониста IL-1ra и anti-IFN- α антител в начале заболевания на фоне уменьшения относительного содержания лимфоцитов-киллеров CD3+CD8+, CD3-CD16+, при увеличении активности окислительно-метаболических процессов, что необходимо учитывать при диагностике и прогнозировании.

3. Применение этиотропных и цитокиновых препаратов на ранних сроках гриппа способствует переключению иммунного ответа на Th1 тип и нормализации баланса окислительно-метаболических процессов, что обуславливает сокращение продолжительности клинических синдромов и предупреждает развитие осложнений.

4. Сочетанное применение препарата IFN- γ с вакциной против птичьего гриппа H5N1 способствует активации, как клеточного, так и гуморального звена, способствуя более эффективному формированию специфических антител и стимуляции активности врожденного иммунитета.

Реализация и внедрение результатов исследования.

Способы прогнозирования степени тяжести гриппа, обострения бронхиальной астмы и/или муковисцидоза при гриппе у детей, способ лечения гриппа, осложненного пневмонией, у взрослых защищены патентами и внедрены в клиническую практику у детей в ДГБ Святой Ольги и ДГКБ №5 им.Н.Ф.Филатова, а также отделения РВИ у взрослых ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России г. Санкт-Петербурга.

Подготовлена для утверждения Новая медицинская технология «Способы прогнозирования тяжелых форм острых респираторных вирусных инфекций и обострения бронхиальной астмы и/или муковисцидоза при гриппе у детей».

Научные положения и выводы включены в образовательную программу клинической ординатуры по специальности «Инфекционные болезни» в ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России. Материалы диссертации включены в методические пособия для врачей, в том числе «Острые респираторные инфекции у

детей и подростков: практическое руководство для врачей» под ред. Л.В. Осидак, 2014.

Возможные области применения и формы внедрения. Клиническая лабораторная диагностика, клиническая иммунология, инфектология, вакцинопрофилактика. Экономический эффект от внедрения будет определяться снижением частоты развития осложнений гриппа, а также сокращением длительности пребывания в стационаре.

Методология и методы исследования. Для реализации цели исследования и обоснования основных положений были использованы аналитический обзор литературы, современные методы клинической лабораторной диагностики и методы статистической обработки данных.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Достоверность полученных результатов исследований определяется достаточным и репрезентативным объемом выборок обследованных пациентов и проведенных исследований с использованием современных методов клинической лабораторной диагностики и подтверждена методами статистической обработки данных, адекватных поставленным задачам.

Основные материалы диссертации представлены на Российских национальных конгрессах «Человек и лекарство» (Москва, 2006, 2009), VII Российском съезде врачей-инфекционистов (Санкт-Петербург, 2008), V- XIII конгрессах детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей (диагностика и лечение)» (Москва, 2007-14гг), на XIV и XV Всероссийском научном форуме с международным участием им. академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» 2011 и 2015 года, на Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей» (Москва, 2012, 2013, 2014).

По теме диссертации опубликовано 62 работы, из них 39 статей в рецензируемых журналах, включенных в список ВАК, 4 патента на изобретение, издано 5 методических пособий и руководств для врачей.

Личное участие автора. Диссертант лично участвовал в планировании и организации работы, проведении и интерпретации лабораторных исследований, обработке, анализе, обобщении и представлении полученных данных.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа изложена на 278 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 196 отечественных и 146 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 4 рисунками, 84 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Материалы и методы

Исследование проводилось в лабораториях ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России в сотрудничестве с отделом лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ имени А.М.Никифорова МЧС России в период с 2003 по 2013 гг.

1.1. Характеристика обследованных групп

В работе проанализированы клинико-лабораторные данные 1900 детей и 690 взрослых пациентов, с верифицированным гриппом, поступивших в базовые клиники ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России в Санкт-Петербурге. Референсные значения были получены при обследовании перед проведением вакцинации у 97 здоровых детей разного возраста и 103 взрослых без наличия фоновой патологии. Полученные показатели согласуются с данными других авторов (Кетлинский С.А., 1998; Демьянов А.В., 2003).

Поскольку статистически значимых гендерных, а также возрастных различий по уровням продукции цитокинов у больных гриппом не было выявлено, группы пациентов были разделены на детей в возрасте от 1 мес. до 17 лет 11 мес. 29 дн. и взрослых в возрасте от 18-ти до 80-ти лет. В результате проведенного дискриминантного анализа диагностически значимых показателей цитокинов пациенты были распределены по типам иммунного ответа.

При изучении взаимосвязи типов иммунного ответа с другими показателями иммунитета, имеющих возрастные особенности, детей разделяли на группы младшего возраста с 1 мес. до 6-ти лет и старшего возраста с 7 до 17 лет.

1.2. Материалы для лабораторного исследования и препараты.

Материал назофарингеальных соскобов, полученных специальными щеточками, погружали в забуференный физраствор и центрифугировали. Осадок клеток использовали для выявления антигенов возбудителей респираторного заболевания иммунофлюоресцентным методом (ИФЛ) и для определения нуклеиновых кислот (РНК, ДНК) респираторных вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В надосадочной жидкости, получаемой после центрифугирования, определяли содержание специфических секреторных антител (СА), секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и цитокинов (TNF- α , IFN- α и - γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, IL-1ra) методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Для определения влияния на поляризацию иммунного ответа при гриппе изучались противовирусные препараты (Осельтамивир Ф.Хоффманн-Ля Рош (Швейцария), Умифеновир ОАО «Дальхимфарм» (г. Хабаровск)) и рекомбинантные цитокины (Виферон ООО Ферон, Москва; Генферон® Лайт ЗАО «БИОКАД», Россия; Гриппферон ЗАО "Фирн-М", Москва; Беталейкин ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, СПб; Ингарон НПП ООО Фармаклон, Москва), а также индукторы интерферона (Деринат ЗАО «ФП «ТЕХНОМЕДСЕРВИС», г. Москва, Циклоферон ООО «НПФФ Полисан», СПб).

Оценка лечебной эффективности препаратов (по динамике выраженности и продолжительности симптомов заболевания в зависимости от типа иммунного ответа пациентов) проводилась согласно регламентированному стандарту требований ВОЗ, Европейским Предписаниям по GCP и директивам Фармкомитета

Минздрава России для проведения рандомизированных клинических испытаний. Группы наблюдения формировали методом случайной выборки, всегда имелось заключение этической комиссии института и информированное согласие. Препараты назначались в составе комплексной терапии, необходимой для лечения пациентов.

Влияние препарата рекомбинантного IFN- γ (Ингарон, ООО «НПП "Фармаклон"», Россия) на иммуногенность вакцины ОрниФлю (ФГУП НПО «Микроген» Минздрава России, Москва), содержащей гемагглютинин 15 мкг/доза вакцинного штамма NIBRG-14 вируса гриппа H5N1, было изучено у 20 взрослых волонтеров.

1.3. Методы обследования

Клинические: ежедневный осмотр больных с двукратным измерением температуры, ЧСС, ЧД и АД с оценкой выраженности синдромов заболевания по общепринятым характеристикам.

Выраженность клинических симптомов интоксикации оценивалась в баллах на основании шкалы В.В. Щекотова (2005г.), что соответствовало умеренной (++) или выраженной (+++) интоксикации. При изучении клинического соответствия направленности иммунного ответа (ИО) у детей и взрослых при гриппе рассматривалось гладкое и осложненное течение (пневмонии).

Лабораторные и инструментальные (при необходимости) методы обследования проводились дважды в динамике наблюдения.

Лабораторные методы включали общеклинические исследования:

- общий анализ крови (ОАК), общий анализ мочи (ОАМ).

Исходя из показателей лейкограммы определялся – лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) Я.Я. Кальф-Калифа (1941).

$$ЛИИ = \frac{Ми + Ю + Пя + С + Пл}{Мон + Лим + Э}, \quad (1)$$

где Ми – миелоциты; Ю – юные клетки; Пя – палочкоядерные клетки; С – сегментоядерные клетки; Пл – плазматические клетки; Мон – моноциты; Лим – лимфоциты; Э – эозинофилы. Имеет оптимальные значения в пределах 0,50 - 0,75. Если показатель ЛИИ меньше 0,32 – низкий уровень эндогенной интоксикации. Если ЛИИ больше 0,92 – высокий уровень.

Иммунологические методы

Интерфероновый статус и цитокиновый профиль определяли в парных сыворотках крови и пробах венозной крови с гепарином. У вакцинированных волонтеров для индукции цитокинов IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-1ra использовался фитогемагглютинин (ФГА) («DIFCO», США) в дозе 10 мкг ФГА/100 мл среды Игла, для индукции IL-1 β , IL-8, TNF- α – пирогенал (1 мкг/100 мл среды Игла). Для индукции IFN- α использовался вирус болезни Ньюкастла NDV (Newcastle disease virus) вакцинный штамм Канзас (ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ, Санкт-Петербург).

У всех пациентов содержание интерлейкинов 1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α и anti-IFN- α антител в сыворотке крови и супернатантах определяли

методом ИФА с использованием тест-систем производства ООО «Цитокин» Санкт-Петербург.

Для оценки интерферонпродуцирующей способности ИКК использованы следующие показатели:

ИС IFN (α или γ соответственно) – индекс стимуляции продукции IFN, дающий представление о степени активности клеток-продуцентов, их способности отвечать синтезом IFN на введение индуктора, характеризующий резервные возможности IFN-продуцирующих клеток. ИС IFN определяли путем деления уровня индуцированной продукции (ИП IFN) на величину показателя спонтанной продукции IFN in vitro (СП IFN).

ИАЛ IFN – индекс активации лимфоцитов – показатель, дающий представление об индивидуальной IFN-продуцирующей активности лимфоцитов человека, в пересчете на тысячу лимфоцитов, является частным от деления показателя ИП IFN (IFN- α или IFN- γ) на абсолютное число лимфоцитов пациента: у здоровых детей уровни СП IFN- γ 10 – 50 пг/мл, ИП IFN- γ – 150 – 450 пг/мл. ИС IFN- γ – 9-45. ИАЛ IFN- γ > 40. Уровень IL-10 в плазме крови 2–50 пг/мл (Образцова Е.В., 2007).

Исследование гуморального иммунитета:

- определение концентрации иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, IgE в сыворотке крови, а также sIgA в мазках из носа методом ИФА.

Исследование клеточного иммунитета включало:

- определение относительного и абсолютного числа Т-лимфоцитов методом проточной цитометрии: общий пул зрелых лимфоцитов CD3+, основные субпопуляции: Т-хелперы CD3+CD4+, цитотоксические лимфоциты – CD3+CD8+, их соотношение CD3+CD4+/CD3+CD8+; NK-клетки – (CD3-CD16+), CD3-CD16+56+, активированные NK-клетки – CD3-CD8+, В-лимфоциты – CD3-CD19+, маркер готовности к апоптозу CD95+.

Определение бактерицидной активности нейтрофилов (НСТ-тест) у детей (В.Н.Park, 1968 в модификации Виксмана М.Е. и Маянского А.Н., 1979) по методу Киселевой Е.П. и соавт. (1994) на автоматическом спектрофотометре при длине волны 640 нм.

Исследование цитотоксической активности NK-клеток и пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на ФГА, ВШВГ и В-клеточный поквид-митоген (PWM) в реакции бласттрансформации (РБТЛ) у вакцинированных волонтеров проводилось методом проточной ДНК-цитометрии.

Биохимические исследования.

Интенсивность окислительно-метаболических процессов у детей оценивали спектрофотометрически по содержанию общего антиоксиданта (ОАО) в сыворотке крови, супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах и конечного продукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Стальная И.Д., 1977).

Все использованные методики обследования детей и взрослых стандартизированы и сертифицированы.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica for Windows 6.0. и SPSS Statistics 17.0 с использованием методов вариационной статистики (Реброва О.Ю, 2002; Сергиенко В.И., 2006).

Данные представлены в виде средних $M \pm m$ или медианы (Me) и интерквартильным размахом, ограниченным 25% 75% квантилями (ИКР). Нормальность распределения выборки оценивали при помощи критерия Колмогорова-Смирнова, в рамках корреляционной связи вычисляли коэффициент Пирсона и Спирмена (r). Различие признаков анализировали с помощью t-критерия Стьюдента-Фишера в доверительном интервале более 95% при нормальном распределении. В случае ненормального распределения вариационного ряда достоверность различий, а также сравнение непрерывных величин (оценка одной и той же группы в динамике лечения) определяли с помощью непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Для выделения различных диапазонов варьирования, связанных с продукцией цитокинов, их повышением и снижением, использовали методы квартильного анализа по Мостеллеру и Тьюки ($p < 0,05$). Для доказательства надежности диагностических показателей определяли чувствительность (Se-sensitivity), специфичность (Sp-specificity) и прогностическую ценность положительного результата теста (PVP-predictive value positive).

Для разделения на группы по типу иммунного ответа (ИО) был применен дискриминантный анализ с использованием линейных дискриминантных функций Фишера после логарифмирования исходных данных лабораторных показателей.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2.1. Система цитокинов и поляризация иммунного ответа при гриппе

Для определения типа иммунного ответа при гриппе по Th1, Th2 или смешанному Th1/Th2 типу автором были предложены коэффициенты поляризации (КП), полученные в результате расчета соотношения показателей содержания в сыворотке крови цитокинов IL-4 и IL-10 к IFN- γ (КП1=IL-4/IFN- γ и КП2=IL-10/IFN- γ). Анализ других звеньев иммунного реагирования и клинического течения гриппа у детей и взрослых проводился в зависимости от направленности поляризации ИО (табл.1).

Таблица 1

Уровни цитокинов в сыворотке крови больных гриппом в зависимости от поляризации иммунного ответа

Показатели пг/мл	Направленность поляризации иммунного ответа					
	Th1		Th2		Th1/Th2	
	Me	ИКР	Me	ИКР	Me	ИКР
IL-4	35	26-48	89*	67-95	50*#	42-64
IL-10	45	35-56	73*	58-79	55*#	42-68
IFN- γ	50	42-62	27*	20-38	22*#	15-25
КП1=IL-4/IFN- γ	1,0	0,8-1,4	3,3*	3,0-3,7	2,3*#	2,1-2,9
КП2=IL-10/IFN- γ	1,3	0,8-1,9	3,1*	2,9-3,5	2,4*#	1,8-2,8

Примечание: Me – медиана; ИКР – интерквартильный размах; Th1/Th2 – смешанный тип ИО; различия показателей статистически значимы ($p < 0,001$) по отношению к поляризации ИО: * – по Th1 типу; # – по Th2 типу

Показано, что у пациентов разных возрастных групп преимущественная поляризация иммунного ответа по Th1 типу характеризуется значениями КП1 и КП2 в пределах 0,8-1,4 и 0,8-1,9 соответственно.

При преимущественной поляризации по Th2 типу значения коэффициентов были в пределах 3,0-3,7 и 2,9-3,5 соответственно за счет значительного увеличения содержания IL-4 и IL-10 в сыворотке крови больных гриппом. Смешанный Th1/Th2 тип иммунного ответа определялся при значениях КП1 от 2,1 до 2,9 и КП2 от 1,8 до 2,8, что было статистически значимо выше значений коэффициентов при поляризации по Th1 типу, но ниже, чем при поляризации по Th2 типу ($p < 0,001$).

При гриппе с умеренно выраженной интоксикацией у большинства пациентов выявлялась преимущественная поляризация иммунного ответа по Th1 типу – в 63,0% и 72,0% случаев у детей и взрослых, однако у детей статистически значимо чаще, чем у взрослых отмечалась, и поляризация по Th2 типу – 21,8% и 10,4% соответственно (табл.2).

Таблица 2

Частота выявления типов иммунного ответа при различном клиническом течении гриппа, абс./%

Наблюдаемые группы	Тип иммунного ответа	Клиническое течение гриппа		
		Без осложнений		С бронхолегочными осложнениями
		Выраженность интоксикации		
		Умеренная(++)	Выраженная(+++)	
Дети	Th1	772/63,0	139/33,5 *	0/0 *, **
	Th2	267/21,8 #	228/54,9 * , #	198/76,2*, **
	Th1/Th2	186/15,2	48/11,6	62/23,8
	Всего n=1900	1225/100,0	415/100,0	260/100,0
Взрослые	Th1	249/72,0	79/43,9 *	0/0 *, **
	Th2	36/10,4	58/32,2 *	128/78,0 *, **
	Th1/Th2	61/17,6	43/23,9	36/22,0
	Всего n=690	346/100,0	180/100,0	164/100,0

Примечание: различия статистически значимы ($p < 0,05$) по отношению к показателям *– при (++); ** – при (+++); # – у взрослых больных

При выраженной интоксикации во всех возрастных группах поляризация иммунного ответа по Th2 типу регистрировалась статистически значимо чаще, чем при заболевании с умеренной интоксикацией, причем чаще у детей, чем у взрослых – 54,9% и 32,2% соответственно.

Смешанный тип иммунного ответа наблюдался с одинаковой частотой примерно в 20,0% случаев у пациентов разного возраста независимо от выраженности интоксикации и наличия осложнений.

При развитии бронхолегочных осложнений, как у детей, так и у взрослых в большинстве случаев отмечалась поляризация по Th2 типу – 76,3 и 78,0%

соответственно. Смешанный Th1/Th2 тип иммунного ответа встречался в 23,7 и 22,0% случаев соответственно, тогда как Th1 тип иммунного ответа отсутствовал.

Было показано, что у пациентов с гладким течением среднетяжелой формы гриппа, независимо от возраста, повышается в основном содержание сывороточного IFN- α на фоне выраженного снижения способности лейкоцитов к индуцированной продукции IFN- α и IFN- γ .

При гриппе с увеличением возраста способность клеток-продуцентов к индуцированной продукции IFN обоих типов статистически значимо повышалась. Однако, если у детей первого года жизни уровни спонтанной и индуцированной продукции IFN- α были выше, чем в других возрастных группах, то индуцированная продукция IFN- γ была статистически значимо более низкой, но при этом сохранялась способность клеток к спонтанной продукции IFN- γ , что свидетельствует об адекватном иммунном реагировании у данной группы пациентов.

Индуцированная продукция IFN- γ с увеличением возраста была более выражена, чем IFN- α , что может свидетельствовать о праймировании Т-лимфоцитов во время предыдущих заболеваний. При этом увеличивался индекс стимуляции (ИС IFN- γ).

У детей младше 6-ти лет при гладком течении гриппа содержание цитокина IL-4, а также его соотношение с IFN- γ превышало показатели у здоровых людей почти в 2 раза и было статистически значимо выше, чем у старших детей, что не противоречит концепции других авторов о преимущественной поляризации дифференцировки Т0-лимфоцитов в сторону Th2 типа у младших детей (Гусева М.Н., 2005, Miller et al, 2008).

У пациентов старше 7 лет и взрослых при гриппе величина КП1 и КП2 в пределах $1,0 \pm 0,2$ свидетельствовала о преимущественной поляризации иммунного ответа по Th1 типу с активацией клеточного звена.

При развитии бронхолегочных поражений у детей всех возрастных групп отмечалась преимущественная поляризация иммунного ответа по Th2 и смешанному типам. При этом индуцированная продукция IFN- α *in vitro* была статистически значимо ниже, чем при неосложненном заболевании, что свидетельствовало о нарушении активации механизмов врожденной иммунной защиты и способствовало присоединению вторичной инфекции.

Одной из причин осложненного течения гриппа у пациентов любого возраста может быть неадекватная иммунная реакция организма с развитием дисбаланса продукции ранних цитокинов и их антагонистов.

Было показано, что заболевание гриппом средней тяжести с гладким течением у пациентов любого возраста сопровождается умеренным повышением содержания IL-1 β в сыворотке крови при Th1 типе иммунного ответа, тогда как при смешанном Th1/Th2 и Th2 типах ИО концентрация IL-1 β увеличивалась более чем в 6 раз (табл. 3).

При осложненном течении гриппа регистрировалось статистически значимо более высокое содержание IL-1 β и IL-1ra, чем у пациентов с соответствующим типом ИО при отсутствии осложнений. У взрослых содержание IL-1ra было статистически значимо выше, чем у детей.

Содержание цитокинов и их антагонистов у пациентов с разным типом иммунного ответа при гриппе в начале заболевания

Показатели содержания цитокинов и их антагонистов (пг/мл) М±m						
У здоровых	Группы	При гладком течении			С бронхолегочными осложнениями	
		Th1 Д n=384 В n=241	Th2 Д n=226 В n=113	Th1/Th2 Д n=100 В n=90	Th2 Д n=103 В n=100	Th1/Th2 Д n=32 В n=64
IL-1β Д 15,8±2,4# В 30,7±2,2	Д	57,6±4,5	88,6±5,3 *	84,1 ±3,2 *	125,5±3,8 **	75,3± 5,2 ** #
	В	49,2±3,2	93,4±4,8 *	76,6±4,1 *	120,8 ±9,6 **	112,2±7,8 **
IL-1ra Д132,3±13,7# В174,6±12,8	Д	242,5±11,2	390,7±21,8 *	353,8±14,6 *	483,2±21,5 ** #	411,9±23,1 ** #
	В	279,4±34,5	420,7±20,2	326,6±36,7	843,2±92,5 **	701,3±85,4 **
IL-1ra/IL-1β Д 8,9±1,2# В 5,9±1,1	Д	4,1±0,4	4,3±0,5	3,9±0,2	3,8±0,6 #	5,4±0,4 #
	В	5,6±0,5	4,5±0,4	4,3±0,2	7,1±0,3 **	6,3±0,4 **
IFN-α Д 25,4±3,2 В 27,5±2,9	Д	41,2 ±2,2	35,3 ±1,2 *	34,6 ±1,4 *	21,2 ±3,5 #	25,4 ±2,4 #
	В	39,4 ±2,1	31,2 ±1,3 *	35,4 ±1,2 *	20,3 ±2,7 **	27,3 ±2,6 **
anti-IFN-α нг/мл Д 13,8±1,5# В 18,1±1,2	Д	219,5±25,3	313,3±20,2 *	345,3± 27,3 *	489,5±25,3 #	413,3±20,2 #
	В	264,2±22,4	448,2±29,1 *	483,9±30,2 *	560,4±39,6 *	616,3±55,1

Примечание: Д – дети; В – взрослые; различия статистически значимы (p<0,05) по отношению к показателям при ИО: *– поTh1 типу при гладком течении; **– к соответствующим показателям при гладком течении; # – к показателям у взрослых

Содержание TNF-α в сыворотке крови при гладком течении гриппа у взрослых с преимущественной поляризацией ИО по Th1 типу было статистически значимо выше, чем у детей, составив 36,7±1,5 и 28,4±2,2 пг/мл, соответственно. При развитии пневмонии у пациентов с преимущественной поляризацией ИО по Th2 типу содержание TNF-α превышало референсные значения в 3 раза у детей и в 5 раз у взрослых.

При развитии бронхолегочных осложнений у взрослых пациентов со смешанным Th1/Th2 и Th2 типом ИО отмечалось значительное увеличение содержания IL-8 в сыворотке крови 103,5±5,7 и 128,3±13,2 пг/мл соответственно, что было статистически значимо выше, чем у детей 85,4±8,5 и 185,4±16,5 пг/мл соответственно.

Содержание IL-6 у детей повышалось примерно в 2 раза, составляя 46,2±3,1 и 52,5±2,5 соответственно, а у взрослых пациентов – в 3 раза, составляя 57,6±2,7 и

67,8±3,1 пг/мл соответственно, что свидетельствовало о более выраженной активации клеток, ответственных за его синтез.

При преимущественной поляризации иммунного ответа по Th2 типу при гладком течении гриппа содержание IL-10 было статистически значимо выше, чем при иммунном ответе по Th1 типу, составив 62,3±3,2 пг/мл у детей и 78,1±3,1 пг/мл у взрослых (табл. 4).

Таблица 4

Показатели цитокинов в сыворотке крови и их соотношения, определяющие поляризацию иммунного ответа при гриппе у детей и взрослых

Показатели содержания цитокинов в сыворотке крови пг/мл (M±m)						
У здоровых	Группы	При гладком течении			С бронхолегочными осложнениями	
		Th1 Д n=384 В n=241	Th2 Д n=226 В n=113	Th1/Th2 Д n=100 В n=90	Th2 Д n=103 В n=100	Th1/Th2 Д n=32 В n=64
IFN-γ Д 25,9±2,7# В 46,1±3,2	Д	45,2 ±2,2	30,3 ±1,2 *	28,6 ±1,4 *	20,2 ±2,5 **	24,5 ±2,4
	В	69,4 ±2,1	43,5±1,8 *	38,1±1,6 *	26,4 ±1,9 **	25,5±1,8 **
IL-4 Д 35,2±2,1# В 21,3±1,1	Д	45,8±0,3	62,7±1,2 *	57,4±1,3 *	86,1±3,1 ** #	73,4±2,7 ** #
	В	36,7±0,4	54,2±1,4 *	43,6±1,2 *	67,4±2,3 **	48,6±2,4
IL-10 Д 29,2±1,8 # В 17,8±3,1	Д	44,5±2,1	62,3±3,2 *	54,3± 2,3 *	102,4±4,0 ** #	96,8±5,9 ** #
	В	24,2±1,4	78,1±3,1 *	52,9±2,9 *	89,5±3,3 **	73,3 ±3,1 **
КП1 Д 1,3±0,1# В 0,4±0,01	Д	1,1±0,3	2,9±0,2 * #	1,4±0,2	4,3±0,3 ** #	3,1±0,1 ** #
	В	0,7±0,2	0,8±0,1	0,9±0,1	2,4±0,1 **	2,1±0,1 **
КП2 Д 0,9±0,2# В 0,6±0,02	Д	0,9±0,2	3,1±0,3 * #	2,3±0,3 * #	5,1±0,5 ** #	3,9±0,2 ** #
	В	0,6±0,1	1,5±0,1 *	1,4±0,2	3,7±0,4 **	2,6±0,3 **

Примечание: Д–дети; В– взрослые; различия статистически значимы (p<0,05) по отношению к показателям при ИО: *– поTh1 типу при гладком течении; **– к соответствующим показателям при гладком течении; # – к показателям у взрослых

При Th1/Th2 и Th2 типе иммунного ответа у пациентов с развитием бронхолегочных осложнений содержание IL-10 у детей было статистически значимо более высоким, чем у взрослых, составляя 96,8±5,9 и 102,4±4,0 пг/мл против 73,3±3,1 и 89,5±3,3 пг/мл соответственно.

Высокая продукция противовоспалительного цитокина IL-10 ослабляет чрезмерные воспалительные реакции, но, в то же время, подавляет протективный иммунный ответ Th1 типа, что делает менее эффективной иммунную защиту. КП2 при гладком течении гриппа с поляризацией иммунного ответа по Th1 типу был

0,9±0,2 у детей и 0,6±0,1 у взрослых, статистически значимо увеличиваясь при Th2 типе ИО до 3,1±0,3 и 1,5±0,1 соответственно.

При развитии бронхолегочных осложнений КП2 статистически значимо увеличивался у детей при поляризации по Th2 типу до 5,1±0,5 и при смешанном иммунном ответе до 3,9±0,2, что позволило использовать данные показатели для прогнозирования тяжести течения гриппа и развития осложнений у детей. У взрослых это соотношение статистически значимо было ниже, чем у детей и составляло 3,7±0,4 и 2,6±0,3 соответственно.

При гладком течении гриппа у детей статистически значимое увеличение содержания в сыворотке крови IL-4 на фоне сниженного уровня IFN-γ приводило к увеличению КП1 до 2,9±0,2, что соответствовало поляризации иммунного ответа по Th2 типу и могло приводить к активации В-лимфоцитов с повышением синтеза IgE.

При развитии бронхолегочных осложнений КП1 статистически значимо был выше у детей, чем у взрослых при Th2 и смешанном иммунном ответе, составив 4,3±0,3 и 3,1±0,1 против 2,4±0,1 и 2,1±0,1 соответственно, что позволило использовать эти данные для прогнозирования характера течения гриппа. При расчете показателей надежности диагностических критериев выявлена высокая чувствительность (Se) 89,0%, специфичность (Sp) 76,0%, диагностическая эффективность (Ac) 90,0%, прогностическая ценность положительного результата (PVP) 85,0%.

При изучении содержания в носовых секретах цитокина IL-1β и его рецепторного антагониста IL-1ra, а также IL-8, IL-6, IFN-α и IFN-γ было показано, что их содержание, как и в сыворотке крови, было статистически значимо ниже у детей, чем у взрослых при всех вариантах иммунного реагирования. При поляризации иммунного ответа по Th2 типу наиболее высокими были уровни IL-1ra и IL-6. Увеличение содержания IL-8 на местном уровне способствует миграции нейтрофилов и макрофагов в верхние дыхательные пути, обуславливая выраженность катарального синдрома. Обращало на себя внимание низкое содержание IFN-α и IFN-γ в носовых секретах у детей и взрослых с гриппом среднетяжелой формы при любом типе иммунного реагирования, что не позволило использовать этот метод для оценки нарушения продукции интерферонов на системном уровне.

Установлено, что условием формирования осложненного течения являлся неадекватный цитокиновый ответ в начале заболевания, как во входных воротах гриппозной инфекции, так и на системном уровне, ассоциированный с Th2 типом иммунного ответа, на фоне увеличения содержания IL-10 и IL-1ra, что может преждевременно тормозить развитие иммунных реакций.

Показано изменение цитокиновых реакций при гриппе у детей с фоновой патологией. У пациентов с заболеваниями ЦНС имело место значительное повышение содержания в сыворотке крови провоспалительного цитокина IL-1β 285,1(165,5-302,1) пг/мл при норме 15,6(10,1-23,4) пг/мл, что клинически выражалось в длительной гипертермии с проявлением судорожного синдрома. Показатель рецепторного антагониста IL-1ra у этих детей также был выше, чем у

пациентов без фоновых заболеваний 428,7(384,6-447,5) и 376,5(354,8-398,6) пг/мл соответственно.

За счет этих изменений коэффициент соотношения $IL-1\alpha/IL-1\beta$ при первом исследовании у пациентов всех наблюдаемых групп был в 2-3 раза ниже, чем у здоровых детей, составив 1,7(1,4-1,9) у больных с патологией ЦНС, 2,5(2,1-3,1) - с патологией ССС, 3,4(2,9-4,1) у детей с обменными нарушениями и 2,5(1,8-2,9) у детей с гриппом без фоновых заболеваний против 8,6(7,4-9,8) у здоровых детей.

Было показано, что развитие бронхолегочных осложнений при гриппе у детей, как без фоновых заболеваний, так и с наличием патологии ЦНС и ССС, сопровождалось повышением содержания провоспалительных цитокинов $IL-8$, $TNF-\alpha$ и $IL-6$, что клинически выражалось в развитии общих изменений, характерных для системной воспалительной реакции при тяжелых формах гриппозной инфекции.

Кроме того, у детей с фоновой патологией ЦНС при первом обследовании отмечалось также высокое содержание $IL-8$ и $TNF-\alpha$ – 176,9(164,0-187,9) и 45,2(20,4-65,2) пг/мл соответственно, без значимого снижения величины показателя $IL-8$ в последующем, а содержание $TNF-\alpha$ даже статистически значимо увеличивалось, составляя 66,9(51,0-86,0) пг/мл при втором исследовании.

Такая же тенденция наблюдалась и в отношении динамики провоспалительного цитокина $IL-6$.

Высокое содержание $IL-1\beta$ при гриппе у детей с фоновыми заболеваниями ЦНС и ССС коррелировало с выраженным и продолжительным интоксикационным синдромом с высокой лихорадочной реакцией ($39,5^{\circ}C-40,0^{\circ}C$).

При гриппе у пациентов с бронхиальной астмой, протекающем без обострения фонового заболевания, в остром периоде определялось высокое содержание $IL-4$ в сыворотке крови 67,4(56,3-82,3) пг/мл, со статистически значимым повышением его содержания до 93,0 (51,6-114,5) пг/мл на фоне дефицита циркуляции $IFN-\gamma$. При этом КП1 был 1,5(1,2-1,7) в первые дни заболевания гриппом и повышался в динамике не более чем в 2 раза до 2,5(2,2-3,6), что свидетельствовало об адекватном иммунном ответе по смешанному $Th1/Th2$ типу. Клинически это соответствовало быстрому выздоровлению без развития осложнений.

При сохранении бронхообструкции на фоне резкого нарастания $IL-4$ и увеличения КП1 в 5-6 раз грипп являлся этиологическим и патогенетическим фактором обострения бронхиальной астмы.

Было установлено, что при умеренно выраженной интоксикации у детей среднее содержание $TNF-\alpha$ было в пределах нормы, а у взрослых уровень этого цитокина был выше показателей у здоровых в 2 раза, составив $21,3 \pm 2,4$ пг/мл и $30,8 \pm 3,1$ пг/мл соответственно.

При выраженной интоксикации, особенно у детей, отмечалось увеличение содержания $TNF-\alpha$, $IL-6$, $IL-8$, $IL-10$ и сочеталось с низким содержанием $IFN-\gamma$ в сыворотке крови. При этом $KП2=IL-10/IFN-\gamma$ увеличивался до $2,5 \pm 0,3$ у детей и до $2,3 \pm 0,1$ у взрослых, что коррелировало с $Th2$ типом иммунного ответа у пациентов исследуемых групп.

Содержание IL-1 β было выше нормального уровня практически у всех пациентов независимо от выраженности интоксикации, что являлось положительным фактором для благоприятного клинического течения заболевания, поскольку IL-1 β является основным эндогенным медиатором, ответственным за активацию иммунных реакций против вирусного антигена.

Соотношение IL-1ra/IL-1 β в начале заболевания гриппом статистически значимо увеличивается при выраженности интоксикации независимо от возраста. При умеренной интоксикации отношение IL-1ra/IL-1 β у детей равно $3,1 \pm 0,2$ и $2,9 \pm 0,7$ у взрослых, а при выраженной интоксикации – $4,7 \pm 0,6$ и $4,9 \pm 0,4$ соответственно. Это может свидетельствовать о том, что процессы торможения иммунного реагирования, обусловленные IL-1ra, преобладают у пациентов с выраженной интоксикацией, препятствуя своевременному завершению воспалительных реакций и способствуя усилению интоксикации.

Выявлено, что в начале заболевания при неосложненном гриппе у половины детей и взрослых при Th1 типе ИО содержание sIgA в носовых смывах был в пределах нормального уровня, тогда как при Th2 и смешанном Th1/Th2 типе ИО только в 1/3 случаев.

Средние значения содержания sIgA в начале заболевания и в периоде реконвалесценции при Th1 и смешанном типе ИО, как у детей, так и у взрослых, как правило, увеличивались, тогда, как при Th2 статистически значимо снижались.

У всех пациентов, больных гриппом, отмечалась тенденция к снижению уровня IgA и в сыворотке крови, особенно выраженная у детей с преимущественным иммунным ответом по Th2 типу и в меньшей степени при смешанном иммунном реагировании, что видимо, являлось одним из компенсаторных механизмов активации гуморального иммунитета.

При Th2 типе ИО обращал на себя внимание факт более выраженной реакции IgM у детей любого возраста, содержание которого в сыворотке крови составило $2,7 \pm 0,1$ г/л у детей до 6-ти лет и $3,4 \pm 0,2$ г/л у старших детей при норме 0,7-1,5 и 0,4-2,0 г/л соответственно, что свидетельствовало о первичной встрече с вирусом гриппа. С увеличением возраста при поляризации ИО по Th2 типу отмечалось повышенное содержание IgG ($19,6 \pm 1,2$ г/л при норме 7,7-15,1 г/л) на фоне содержания IgA на нижней границе нормы ($1,6 \pm 0,3$ г/л при норме 0,9-3,2 г/л), что возможно было связано с повторным инфицированием.

Содержание общего IgE в сыворотке крови был изучен в трех возрастных группах детей: 1-2 года, 3-6 лет и 7-17 лет. При первом исследовании уровень общего IgE у большинства детей был в пределах возрастных норм. При повторном обследовании в период ранней реконвалесценции у пациентов в каждой возрастной группе с Th1 типом иммунного ответа наблюдалось незначимое увеличение числа детей с повышенным содержанием общего IgE (с 21,8 до 39,7%; с 23,1 до 32,7% и с 25 до 40,0% соответственно).

Следует отметить, что у детей в возрасте 3-6 лет с ИО по Th2 типу в 60,0% случаев в начале заболевания и в 80,0% случаев в периоде реконвалесценции содержание общего IgE было выше возрастной нормы, что наблюдалось статистически значимо чаще, чем в других возрастных группах.

Этот факт объясняет причину более частого развития вирусиндуцированной бронхообструкции у детей данного возраста.

Увеличение в начале заболевания гриппом содержания IL-10 в сочетании с высоким содержанием IgE и IL-8 в сыворотке крови детей любого возраста является прогностически неблагоприятным фактором, при котором чаще всего развиваются бронхолегочные осложнения.

2.2. Характеристика клеточного звена иммунитета у больных гриппом в зависимости от направленности иммунного реагирования

У детей с неосложненным течением гриппа с преимущественной поляризацией иммунного ответа по Th1 типу в большинстве случаев (64,9%) содержание лейкоцитов определялось в пределах нормы с небольшим палочкоядерным сдвигом формулы.

При этом величина лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), отражающего выраженность эндогенной интоксикации, была $1,4 \pm 0,2$.

При гладком течении гриппа у детей с поляризацией иммунного ответа по Th2 типу в 38,6% выявляли выраженный лейкоцитоз с нейтрофилезом и в 23,9% случаев лейкопению в сочетании с лимфопенией. У этих пациентов величина ЛИИ составила $2,2 \pm 0,4$, что было статистически значимо выше, чем при Th1 типе и коррелировало с тяжелым течением заболевания. При развитии бронхолегочных осложнений ЛИИ при Th2 типе ИО и при смешанном типе значимо увеличивался, составляя $3,5 \pm 0,3$ и $2,4 \pm 0,4$ соответственно.

В начале заболевания показатель спонтанного НСТ-теста при гладком течении при поляризации по Th1 типу в среднем был $118,4 \pm 2,3$ ед/млн.кл, тогда как при поляризации по Th2 типу $78,0 \pm 2,3$ ед/млн.кл, что свидетельствовало о снижении функциональной активности нейтрофилов и клинически проявлялось тяжелой формой заболевания. У пациентов с бронхолегочными осложнениями при поляризации по Th2 типу показатели спонтанного и индуцированного НСТ-теста были статистически значимо меньше нижней границы нормы, что составляло $42,2 \pm 2,1$ и $102,4 \pm 3,2$ ед/млн.кл соответственно.

При ИО по Th2 и смешанному Th1/Th2 типам относительное содержание CD3+ колебалось в нормальных пределах, ближе к нижней границе нормы. При этом относительное содержание лимфоцитов CD3+CD4+ статистически значимо превышало верхние границы референсных значений и составляло $45,0 \pm 1,2\%$ и $44,0 \pm 1,1\%$ соответственно при первом исследовании и $42,8 \pm 1,3\%$ и $43,2 \pm 1,3\%$ соответственно - при повторном исследовании.

У пациентов разных возрастных групп относительное содержание цитотоксических лимфоцитов CD3+CD8+ при ИО по Th2 типу было статистически значимо меньше нормы, составляя $22,4 \pm 1,3\%$ при первом исследовании и $26,2 \pm 0,9\%$ при втором. При смешанном Th1/Th2 типе ИО относительное содержание CD3+CD8+ было в пределах нормы, однако статистически значимо ниже, чем при поляризации по Th1 типу. При этом соотношение CD3+CD4+/CD3+CD8+ было статистически значимо выше нормы и составляло $2,5 \pm 0,2$ при первом и $2,1 \pm 0,2$ при повторном исследовании. Относительное содержание НК-клеток CD3-CD16+ при Th2 ($12,0 \pm 0,6\%$) и смешанном Th1/Th2 ($14,5 \pm 0,7\%$) типах ИО в пределах

нормальных значений, но статистически значимо ниже, чем при поляризации по Th1 типу ($21,3 \pm 1,6\%$).

Установлено, что при гриппе у детей с Th2 типом ИО наиболее интенсивны процессы свободно-радикального окисления (СРО) на фоне истощения антиоксидантной защиты (АОЗ), что определяет степень тяжести заболевания и требует обязательного включения антиоксидантной терапии.

Содержание малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и величина его прироста в ответ на стимуляцию $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в начале заболевания у детей с Th2 типом ИО превышало норму 2-3 раза и было статистически значимо выше, чем у детей с другими типами иммунного ответа, тогда как показатели антиоксидантной защиты (ОАО и СОД) были ниже нормы и статистически значимо ниже, чем у пациентов сравниваемых групп.

По совокупности результатов исследования клинически значимыми данными анамнеза для предварительной диагностики иммунного ответа по преимущественно Th2 типу, предрасполагающего к развитию осложнений при гриппе, являются возраст пациента до 6-ти лет и старше 60-ти лет, наличие сопутствующей патологии, такой как аллергопатология и ХНЗЛ, заболевания ЦНС и ССС, обменные нарушения.

Дополнительное проведение лабораторного обследования с расчетом диагностических коэффициентов КП, КП2, ЛИИ, ИС IFN- γ , соответствующими Th2 типу поляризации иммунного ответа при гриппе, позволяет с высокой степенью точности (88,1-96,7%) прогнозировать степень тяжести гриппа и развитие бронхолегочных осложнений и/или обострение бронхолегочной патологии у пациентов разного возраста, с целью проведения индивидуальной дифференцированной иммунокорригирующей терапии.

2.3. Влияние противовирусной и иммунокорригирующей терапии на поляризацию иммунного ответа при гриппе у детей и взрослых

В эпидемические по гриппу сезоны 2008-13гг. было проведено изучение влияния на основные клинико-иммунологические показатели у детей и взрослых противовирусных препаратов: ингибитора нейраминидазы Осельтамивира (Тамифлю) и ингибитора слияния Умифеновира (Арбидол).

Содержание IFN- α в сыворотке крови обследованных детей в начале заболевания гриппом было значимо выше, чем у здоровых детей. Однако при Th2 типе иммунного ответа в начале заболевания уровень IFN- α был на верхней границе референсных значений, что в остром периоде расценивается как недостаточность иммунного реагирования на инфекцию.

У пациентов, получавших противовирусные препараты, в период реконвалесценции отмечалось статистически значимое снижение IFN- α при Th1 и смешанном Th1/Th2 типах иммунного ответа с $65,4(54,7-73,2)$ до $52,3(30,3-45,6)$ пг/мл и с $54,6(42,6-58,3)$ до $40,8(36,4-49,5)$ пг/мл соответственно, что свидетельствовало о снижении антигенной нагрузки на организм.

У детей с Th2 типом ИО, не получавших противовирусную терапию, отмечалось статистически значимое увеличение показателя IFN- α с $35,6(27,6-42,8)$ до $51,8(39,7-58,6)$ пг/мл, а у детей с другими типами ИО изменений продукции IFN-

α не отмечалось, что объяснялось продолжающейся активацией вирусом гриппа интерферонпродуцирующих клеток.

У детей, получавших противовирусную терапию, наблюдалось статистически значимое увеличение содержания IFN- γ в сыворотке крови при Th1 типе иммунного ответа с 38,6(34,1-47,8) до 46,2(44,3-58,6) пг/мл и при смешанном типе Th1/Th2 с 32,5(28,6-38,3) до 43,3(35,6-49,5) пг/мл. При Th2 типе иммунного ответа значимой динамики не отмечалось. У детей, получавших только базовую терапию, наблюдалась некоторая тенденция к снижению этого показателя.

У детей при смешанном иммунном ответе на фоне приема препаратов отмечалось статистически значимое снижение уровня IL-10 с 63,7(55,9-76,2) до 37,6(31,2-51,1) пг/мл, что способствовало статистически значимому снижению КП2 с 2,1(1,8-2,5) до 1,8(1,3-2,1). Эти изменения клинически соответствовали уменьшению выраженности интоксикационного синдрома, а также сокращению продолжительности заболевания (Рис.1).

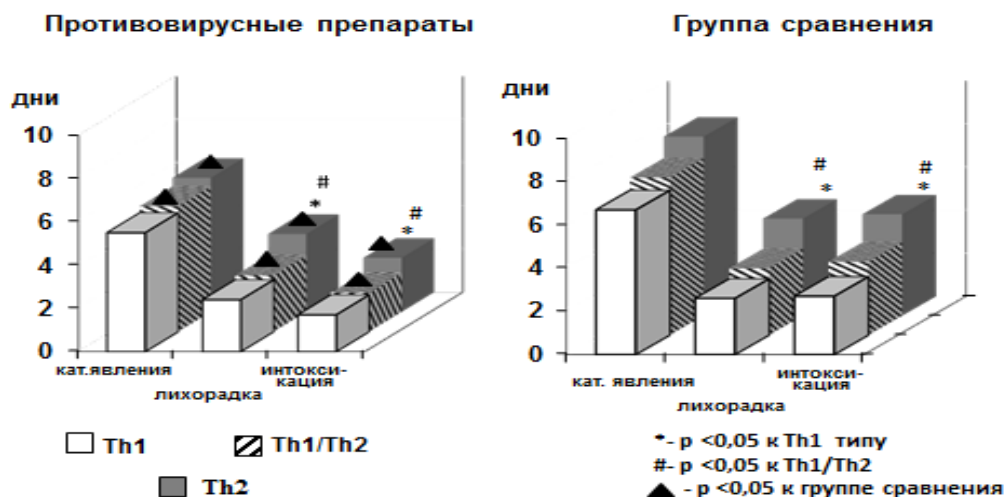


Рисунок 1. Клиническая эффективность противовирусных препаратов при гриппе у детей в зависимости от типа иммунного ответа

У взрослых пациентов с верифицированным гриппом, получавшим Осельтамивир, были получены сходные данные.

Раннее применение противовирусных препаратов Осельтамивир и Умифеновир способствовало изменению баланса цитокинов, в сторону Th1 типа, за счет чего статистически значимо увеличивалось число пациентов с преимущественным клеточным типом иммунного реагирования у детей с 59,1 до 84,5%, у взрослых с 56,5 до 78,3%. В контрольной группе отмечалось статистически значимое уменьшение числа детей с Th1 типом ИО с 53,8 до 36,5% за счет перехода в группы с другими типами иммунного ответа.

Дети, получавшие иммунокорректирующие препараты в комплексной терапии гриппа, были разделены на три группы: I – получавшие рекомбинантный IFN α -2b (Виферон, Генферон, Гриппферон); II – получавшие индукторы IFN (Деринат, Циклоферон); III – получавшие плацебо изучаемых препаратов.

Было показано, что применение у детей рекомбинантного IFN α -2b и индукторов IFN, способствует повышению уровня антиоксидантной защиты и снижению интенсивности свободнорадикального окисления, что, соответственно, сопровождается более быстрым выздоровлением детей, однако, у пациентов с Th2 типом ИО индукторы интерферона не оказывают достаточного антиоксидантного эффекта, поэтому рекомендуется дополнительное введение антиоксидантных препаратов.

У детей всех групп наблюдения, получавших, как препараты рекомбинантного IFN, так и индукторов интерферона отмечался статистически значимый прирост содержания sIgA в материалах назофарингеальных соскобов, что коррелировало с увеличением уровня IgA в сыворотке крови, в отличие от группы контроля, где эти показатели продолжали снижаться.

Было показано, что применение препаратов рекомбинантного IFN α -2b, и индукторов интерферона изменяло баланс цитокинов Th2 и смешанного Th1/Th2 типов в сторону Th1 типа, способствуя развитию более адекватного иммунного ответа на вирусную инфекцию. При этом статистически значимо увеличивалось число пациентов в группе с преимущественным клеточным типом иммунного ответа у детей I группы с 56,2 до 77,2%, у детей II группы с 60,3 до 81,6%, тогда как в контрольной группе их число снижалось с 62,2 до 40,6%. У детей с Th2 типом ИО не было отмечено статистически значимого увеличения индуцированной продукции интерферонов обоих типов, что может объясняться значительным истощением функциональной активности клеток-продуцентов, что доказывает нецелесообразность применения индукторов интерферона у больных с Th2 типом иммунного ответа (табл.6).

Таблица 6

Назначение препаратов при гриппе в зависимости от типа иммунного ответа

Препараты	Без патологии			Фоновая патология		
	Th1	Th1/Th2	Th2	Th1	Th1/Th2	Th2
Противовирусные	+	+	+	+	+	+
Рекомбинантный IFN	±	+	+	+	+	+
Индукторы IFN	±	+	-	+	+	-

Таким образом, в острый период гриппа показана необходимость применения противовирусных препаратов и рекомбинантных интерферонов при любом типе ИО, тогда как применение индукторов IFN показано пациентам при смешанном Th1/Th2 иммунном ответе, а также лицам с фоновой патологией в анамнезе при Th1 типе ИО.

2.4. Оценка эффективности рекомбинантного IL-1 β у взрослых пациентов при гриппе, осложненном пневмонией

Изучение лечебной эффективности Беталейкина, вводимого подкожно в составе комплексной терапии, проведено у 62 больных гриппом, осложненных пневмонией, вошедших в состав двух репрезентативных групп наблюдения (основная – 31 человека, и группа сравнения – 31 человек), сформированных

методом случайной выборки. У пациентов было проведено 4-х кратное исследование IL-1 β и IL-1ra в сыворотке крови: до начала лечения, на 2, 5-6 день после начала и на 10-12 день – в период реконвалесценции.

Отмечено, что изначально высокий уровень IL-1 β имел место, как в основной, так и в группе сравнения, при этом величина этого показателя была статистически значимо выше при Th2 типе ИО и составляла в основной группе 115,6 \pm 9,5 и в группе сравнения 110,4 \pm 9,5 пг/мл. Начальный уровень содержания IL-1ra в сыворотке крови превышал значения IL-1 β в 7-9 раз, что позволяет предположить выраженную супрессию иммунного ответа (Рис.2.).

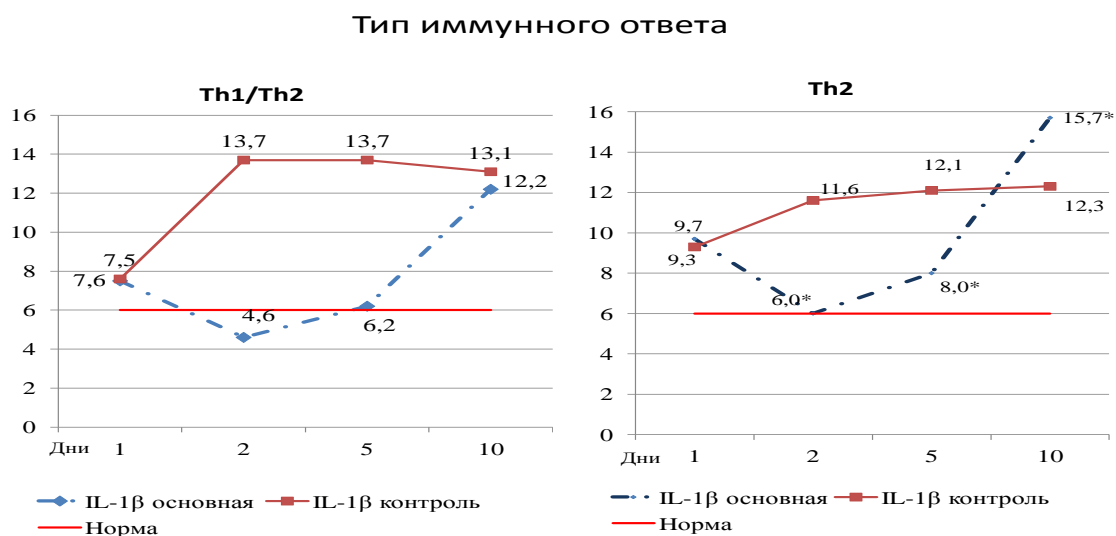


Рисунок 2. Динамика соотношения IL-1ra/IL-1 β на фоне применения Беталейкина в зависимости от типа иммунного ответа; * – $p < 0,05$ к контролю

У пациентов группы сравнения данные показатели находились примерно на одном уровне в течение всего заболевания при Th2 типе ИО, а при смешанном Th1/Th2 типе на фоне стабильного уровня IL-1 β отмечалось статистически значимое повышение уровня IL-1ra на 2 день с 728,4 \pm 52,6 до 931,5 \pm 63,5 пг/мл.

Уровень этого цитокина значимо не менялся до периода реконвалесценции, что соответствовало изменению коэффициента соотношения IL-1ra/IL-1 β с 7,6 \pm 0,8 до 13,7 \pm 1,3 ($p < 0,05$).

Клинически это соответствовало более продолжительному катаральному синдрому и более длительному периоду разрешения пневмонии, тогда как у пациентов, получавших Беталейкин, отмечалось статистически значимое сокращение в среднем на 2 дня продолжительности кашля и рентгенологических изменений в легких и, соответственно, острого периода заболевания.

При лейкоцитозе, обусловленном нейтрофилезом, имевшим место у больных обеих групп, у пациентов, получивших Беталейкин, увеличение уровня IL-1 β в сыворотке сочеталось со значимым снижением IL-1ra, что способствовало более адекватному иммунному ответу клеток врожденного иммунитета, как за счет активации их функциональной активности, так и за счет ингибирования супрессорного действия IL-1ra.

Показано, что наиболее эффективным применением препарата было в группе пациентов старше 50 лет со смешанным Th1/Th2 типом иммунного ответа с низкой начальной концентрацией в сыворотке крови. ИЛ-1 β (ниже 120 пг/мл) и ИЛ-1ra (ниже 700 пг/мл), у которых полное разрешение пневмонии к моменту выписки имело место в 100% случаев, в отличие от группы сравнения, где пневмония полностью разрешилась лишь в 52,9% случаев, а также у пациентов.

2.5. Способ повышения иммуногенности вакцины ОрниФлю препаратом Ингарон у взрослых

По параметрам иммуногенности вакцина ОрниФлю с содержанием ГА 15 мкг/доза после однократного введения не соответствовала национальным и европейским СРМР ЕМЕА (Committee for Human Medicinal Products of European Medicine Agency) (2001г.) критериям ежегодной регистрации сезонных инактивированных гриппозных вакцин (ИГВ) для лиц в возрасте 18-60 лет. Был предложен способ сочетанного парентерального введения рекомбинантного IFN- γ Ингарон (100000 \pm 10% МЕ/дозу), а затем вакцины ОрниФлю.

Показано усиливающее влияние препарата на иммуногенность вакцины при однократной иммунизации. Отмечалось увеличение уровня 4-х кратных сероконверсий \geq 1:20 (40% против 20%); повышение показателя кратности прироста геометрических титров антител (2,5 против 1,6); увеличение процента сероконверсий с выработкой защитного титра антител \geq 1:40 (24% против 10,5%) и прироста средних геометрических титров антител (12,6 против 8), что соответствовало критериям СРМР.

Через один месяц после сочетанного введения вакцины с Ингароном отмечено статистически значимое увеличение содержания TNF- α в сыворотке крови волонтеров с 9,3 \pm 2,7 до 28,8 \pm 9,3 пг/мл и увеличение IFN- γ с 57,9 \pm 3,9 до 67,2 \pm 2,1 пг/мл, превышающее референсные показатели. Также отмечалось статистически значимое увеличение уровней спонтанной продукции IFN- γ и индуцированной ВШВГ – 93(82-124) и 268(224-312) пг/мл соответственно, что подтверждает поляризацию иммунного ответа в сторону Th1 звена.

Статистически значимое увеличение продукции ИЛ-6 и TNF- α способствовало увеличению специфического антителообразования за счет усиления Ингароном экспрессии антигенов МНС как I-го так и II-го классов на разных клетках.

Через два месяца у волонтеров, привитых однократно ОрниФлю с Ингароном, отмечалось увеличение содержания (CD3-CD8+), усиление экспрессии «активационных маркеров» лимфоцитов (CD3+CD25+, HLA-DR+, CD4+HLA-DR+). Отмечено статистически значимое увеличение относительного содержания клеток с фенотипом CD16+CD56 до 18,1 \pm 2,2% и CD16-CD56+ до 1,3 \pm 0,3% против 8,2 \pm 2,4 и 0,8 \pm 0,1% после двукратного введения вакцины ОрниФлю. Увеличение цитотоксической активности НК-клеток свидетельствовало о стимуляции активности врожденного иммунитета.

Полученные данные показали высокую иммуногенность вакцины ОрниФлю при однократном введении в сочетании с рекомбинантным IFN- γ , что при снижении прививочной дозы антигена позволит решить социально-экономические задачи, направленные на реализацию вакцинопрофилактики при угрозе пандемии.

ВЫВОДЫ

1. На основании выявленной взаимосвязи параметров гуморального, клеточного иммунитета и окислительно-метаболических процессов при гриппе обоснованы концептуально-диагностические закономерности влияния типов иммунного ответа на тяжесть заболевания и развитие осложнений независимо от возраста.

2. Разработан способ определения типов иммунного ответа на основании коэффициентов поляризации (КП), полученных в результате расчета соотношения показателей содержания в сыворотке крови цитокинов IL-4, IL-10 и IFN- γ : $КП1=IL-4/IFN\gamma$ и $КП2=IL-10/IFN-\gamma$.

3. Иммунный ответ по Th1 типу при гриппе коррелирует с гладким течением заболевания средней степени тяжести и характеризуется значениями коэффициентов поляризации КП1 и КП2 в пределах от 0,8 до 2-х за счет увеличения уровня IFN- γ , при умеренно увеличенных показателях IL-1ra, anti-IFN- α антител, на фоне увеличения относительного содержания НК-клеток, CD3+CD8+ при соотношении CD3+CD4+/CD3+CD8+ меньше 2.

4. Иммунный ответ по Th2 типу ассоциирован с заболеванием тяжелой степени тяжести и/или развитием осложнений (пневмонии) независимо от возраста и характеризуется увеличением коэффициентов поляризации КП1 и КП2 больше 3 при увеличении содержания IL-4, IL-10 и снижении IFN- γ .

5. Выявлено, что наибольшие изменения параметров гуморального и клеточного иммунитета – высокий уровень содержания в сыворотке крови IL-1ra, anti-IFN- α антител, снижение иммуноглобулинов IgA в сыворотке и sIgA в мазках из носа на фоне и уменьшения относительного содержания НК-клеток и CD3+CD8+ при соотношении CD3+CD4+/CD3+CD8+ больше 2, а также максимальные изменения показателей окислительно-метаболических процессов ассоциированы с Th2 типом иммунного ответа.

6. Установлены диагностические критерии прогнозирования тяжести заболевания и развития осложнений при гриппе: Th2 тип иммунного ответа при значениях $КП1=IL-4/IFN\gamma$ и $КП2=IL-10/IFN-\gamma$ больше 3 в начале заболевания; высокое содержание в сыворотке крови цитокинов IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 (>80 пг/мл) и IL-1ra (>500 пг/мл); anti-IFN- α антител (>250нг/мл), увеличение лейкоцитарного индекса интоксикации больше 3.

У лиц с хроническими неспецифическими заболеваниями легких при увеличении в динамике КП1 в 5-6 раз, а КП2 как минимум в 2-3 раза на 2-3-й день заболевания гриппом возможно прогнозировать обострение хронического процесса с эффективностью 88,2%.

7. У пациентов с Th2 и смешанным Th1/Th2 типами иммунного ответа раннее применение противовирусных препаратов способствует переключению на Th1 тип за счет снижения антигенной нагрузки, что увеличивает число пациентов с преимущественным клеточным иммунным ответом с 59,1 до 84,5% у детей и с 53,8 до 78,3% у взрослых.

8. В острый период гриппа заместительная терапия препаратами рекомбинантного интерферона эффективна при всех типах иммунного ответа и оказывает влияние на формирование иммунного ответа по Th1 типу независимо от исходного содержания anti-IFN- α антител, тогда как применение индукторов интерферона не эффективно при Th2 типе иммунного ответа за счет низкой функциональной активности интерферонпродуцирующих клеток.

9. Введение рекомбинантного препарата IL-1 β у взрослых при терапии гриппа, осложненного пневмонией, ингибирует супрессорное действие избыточного количества IL-1 α и повышает функциональную активность клеток врожденного иммунитета. Оптимальными критериями назначения Беталейкина являются: смешанный Th1/Th2 тип иммунного ответа, содержание IL-1 β менее 120 пг/мл и IL-1 α выше 700 пг/мл в сыворотке крови с повышением коэффициента соотношения IL-1 α /IL-1 β больше 6.

10. Сочетанное применение препарата рекомбинантного IFN- γ повышает иммуногенность вакцины против птичьего гриппа H5N1 за счет активации гуморальной и клеточной составляющей специфического и врожденного иммунитета, что обосновывает переход на однократную вакцинацию и способствует повышению резистентности к другим инфекциям.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты исследования рекомендованы для внедрения в практику работы врачей-инфекционистов при оказании специализированной помощи в стационарах. При гриппе пациентам любого возраста, особенно детям до 6 лет и взрослым после 50 лет, рекомендовано определение типа иммунного ответа на 1-3 сутки от начала заболевания с исследованием содержания в сыворотке крови IL-4, IL-10, IFN- γ и расчетом коэффициентов поляризации $KП1=IL-4/IFN-\gamma$ и $KП2=IL-10/IFN-\gamma$, с целью раннего прогнозирования тяжелого течения заболевания и развития бронхолегочных осложнений.

При увеличении значений КП1 и КП2 в динамике заболевания более чем в 3-5 раз можно прогнозировать обострение бронхиальной астмы, при котором грипп является триггерным фактором обострения сопутствующей патологии.

2. При определении Th2 типа иммунного ответа (КП1 и КП2 больше 3; показатели СП IFN- γ = 20 - 35 пг/мл; ИП IFN- γ = 90 - 100 пг/мл; ИС IFN- γ меньше 3, ИАЛ IFN- γ меньше 30, а содержание IL-10 больше 100 пг/мл), рекомендовано применение противовирусных препаратов и препаратов интерферона для направленной иммунокоррекции с назначением антиоксидантной терапии.

Индукторы IFN в острый период гриппа рекомендованы пациентам с Th1 и смешанным Th1/Th2 типом иммунного ответа (КП1 и КП2 меньше 3; ИС IFN- γ больше 5, а также ИАЛ IFN- γ больше 40).

3. У взрослых пациентов, больных гриппом, при развитии пневмонии, рекомендовано определять содержание IL-1 β и IL-1 α и при увеличении коэффициента соотношения IL-1 α /IL-1 β больше 6, необходимо включение в стандартную терапию препарата рекомбинантного IL-1 β .

4. Рекомендовано сочетанное введение препарата рекомбинантного интерферона гамма для повышения иммуногенности инактивированной противогриппозной вакцины с целью перехода на однократную вакцинацию в предпандемический период.

Перспективы дальнейшей разработки темы

В качестве перспектив дальнейшей разработки темы планируется внедрение новых медицинских технологий по прогнозированию течения гриппа у детей и взрослых, а также определение критериев прогноза течения других вирусных инфекций с изучением генетического полиморфизма цитокинов и их антагонистов, влияющих на поляризацию иммунного ответа, с целью оптимизации терапии и предупреждения осложнений.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий

1. Румель, Н.Б. Роль специфических секреторных и сывороточных антител при острых респираторных заболеваниях различной этиологии у детей / Н.Б. Румель, **Е.Г. Головачева**, Л.В.Осидак, Е.Г.Королева, В.П.Дринеvский, А.Я. Мурадян, Е.Е. Покровская, Н.М. Калинина // Медицинская иммунология. – 2003. – Т.5, №5-6 – С. 609-614.
2. Королева, Е.Г. Респираторная микоплазменная инфекция у детей с отягощенным преморбидным фоном / Е.Г. Королева, Л.В. Осидак, К.К. Милькинт, **Е.Г. Головачева**, Н.Б. Румель, А.В. Орлов, Л.Б. Потапенко // Детские. – 2004. – № 4. – С. 17-22.
3. Афанасьева, О.И. Клинико-лабораторная характеристика и терапия ОРВИ со стенозирующим ларинготрахеитом у детей / О.И. Афанасьева, В.Ф. Суховецкая, Л.В. Осидак, К.К. Милькинт, **Е.Г. Головачева**, В.П. Дринеvский, И.В.Амосова // Детские инфекции. – 2005.–Т.4, №1.– С.32-36.
4. Образцова, Е.В. Препараты рекомбинантного ИФН- α 2 в лечении острых респираторных инфекций у детей / Е.В.Образцова, Л.В.Осидак, О.И.Афанасьева, **Е.Г. Головачева**, К.К. Милькинт, С.Ф. Протасова, В.П.Дринеvский // Детские инфекции. – 2005. – Т.4, №2. – С.46-50.
5. Осидак, Л.В. Лечебная и профилактическая эффективность средств, изготовленных из хвои сосны и ели, при ОРЗ у часто болеющих детей / Л.В. Осидак, Е.С. Эрман, Е.Г. Королева, **Е.Г. Головачева**, Е.В. Образцова, В.Б. Некрасова, В.С. Султанов, В.И. Рошин, Т.В. Никитина // Детские инфекции. – 2006. – Т.5, № 2. – С. 47-51.
6. **Головачева, Е.Г.** Интерфероновый статус у детей при острых респираторных инфекциях. Интерферонотерапия / Е.В. Образцова, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева** // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Приложение. – 2009. –№ 8. – С. 22-26.
7. Дондурей, Е.А. Арбидол в комплексной терапии сочетанного поражения респираторного и желудочно-кишечного трактов у детей / Е.А. Дондурей, Л.В.

- Осидак, **Е.Г. Головачева**, А. К. Голованова, Л. Н. Гладченко, Е.К. Костицина // Детские инфекции. – 2007. – №2. – С.39-44.
8. Королева, Е.Г. Циклоферон в терапии респираторной микоплазма пневмонии инфекции у детей с отягощенным преморбидным фоном / Е.Г. Королева, **Е.Г. Головачева**, А.В. Орлов, К.К. Милькинт, Е.В. Образцова, Л.В. Осидак, В.П. Дринецкий // Вестник Санкт-Петербургской государственной академии им. И.И. Мечникова. – 2007.– №4.– С.38-42.
9. Афанасьева, О.И. Особенности этиологии и клиники гриппа у детей в эпидемические сезоны 2004-2006гг. / О.И. Афанасьева, Е.Г. Королёва, К.К. Милькинт, **Е.Г. Головачёва**, М.Ю. Еропкин // Детские инфекции.– 2008. – Т.7, №2. – С.14-16.
10. Ерофеева, М.К. Профилактическая эффективность, реактогенность, безопасность и иммуногенность новой гриппозной вакцины Грифор® при однократной иммунизации взрослых от 18 до 60 лет / М.К. Ерофеева, И.Ю. Никоноров, В.Л. Максакова, Е.А. Охупкина, В.С. Вакин, Е.М. Войцеховская, А.А. Васильева, **Е.Г. Головачева**, М.Г. Позднякова, Е.В. Кузнецова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2008. – № 3. – С. 164-167.
11. **Головачёва, Е.Г.** Интерфероновый статус у детей при острых респираторных инфекциях. Интерферонотерапия / Е.А. Образцова, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачёва**, О.И. Афанасьева, К.К. Милькинт, Е.Г. Королева, С.А.Тарасов, М.В. Качанова, В.П. Дринецкий, И.А. Васильева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – № 8. – С. 22-26.
12. Дондурей, Е.А. Острые вирусные инфекции с сочетанным поражением респираторного и желудочно-кишечного трактов у детей. Интерферонотерапия / Е.А. Дондурей, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева** //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – № 8. – С. 31-35.
13. Афанасьева, О.И. Клиническая характеристика гриппа у детей в современном мегаполисе / О.И.Афанасьева, **Е.Г.Головачёва**, К.К.Милькинт, Л.В. Осидак, В.П. Дринецкий // Детские инфекции. – 2009. – Т.8, №3. – С.10-13.
14. **Головачёва, Е.Г.** Продукция интерферонов у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями / **Е.Г.Головачёва**, Л.В.Осидак, Е.В.Образцова, О.И. Афанасьева // Медицинская иммунология. – 2009. – Т.11, №2-3. – С.205-214.
15. Осидак, Л.В. Грипп как проблема XXI века / Л.В.Осидак, В.П.Дринецкий, М.К. Ерофеева, М.Ю. Еропкин, Н.И. Коновалова, Е.А. Смородинцева, **Е.Г.Головачева**, Е.А. Дондурей, Д.М. Байбус, Л.М. Цыбалова // Детские инфекции. – 2009. –Т.8, №3. – С. 3-9.
16. **Головачёва, Е.Г.** Препараты интерферона и его индукторов при гриппе и ОРИ у детей / Е.В.Образцова, Л.В.Осидак, **Е.Г.Головачева** // Детские инфекции. – 2010. – Т. 9, № 1. – С.35-40.
17. Дондурей, Е.А. Иммуномодулирующая терапия гриппа и острых респираторных инфекций у детей в условиях стационара / Е.А.Дондурей, Л.В. Осидак, В.Ф. Суховецкая, **Е.Г. Головачева**, В.В. Зарубаев, В.П. Дринецкий, Л.Н. Гладченко // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9, №2.– С.41-49.
18. **Головачёва, Е.Г.** Ингибитор нейраминидазы в терапии гриппа / О.И.Афанасьева, **Е.Г. Головачёва**, Л.В. Волощук, К.К. Милькинт, А.Л.

- Мукашина, Л. В. Осидак, В. П. Дриневский // *Детские инфекции*. – 2010. – Т.9, №3. – С.35-41.
19. Волощук, Л.В. Клинико-лабораторная характеристика гриппа 2009-2011 гг. в Санкт-Петербурге / Л.В. Волощук, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева**, А.Л. Мушкатина, П.В. Заришнюк, С.Н. Галкина, Г.Л. Днепровская, Л.Б. Гончарова, Т.М. Гудкова // *Инфекционные болезни*. – 2011. – Т. 9, № 2. – С.32-38.
20. Волощук, Л.В. Пандемический грипп 2009 года в Санкт-Петербурге / Л.В. Волощук, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева**, А.Л. Мушкатина, П.В. Заришнюк, С.Н. Матвеева, Г.Л. Днепровская, Л.Б. Гончарова, Т.М. Гудкова // *Детские инфекции*. – 2011. – № 3. – С. 3-11.
21. Осидак, Л.В. Сравнительное изучение эффективности препарата СНУП в терапии острых респираторных инфекций у детей /Л.В. Осидак, О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачёва**, К.К. Милькинт, Е.Г. Никитина, В.П. Дриневский // *Детские инфекции*. –2012. – №1.– С.58-63.
22. Осидак, Л.В. Применение препарата СНУП, спрей назальный 0,05% в комплексной терапии гриппа и острых респираторных инфекций / Л.В. Осидак, О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачёва**, К.К. Милькинт, Е.Г. Никитина // *Практическая медицина*. – 2011. – №5. – С.161-163.
23. **Головачёва, Е.Г.** Отягощённый преморбидный фон как фактор риска неблагоприятного течения гриппа у детей / О.И. Афанасьева, Е.Г. Королёва, В.П. Дриневский, **Е.Г. Головачева**, К.К. Милькинт, Е.Г. Никитина, В.С. Афанасьева // *Детские инфекции*. – 2011.–Т.10, №4.–С.25-28.
24. Осидак, Л.В. Виферон в терапии гриппа и других ОРВИ вирусной и вирусно-бактериальной этиологии у детей / Л.В. Осидак, Е.В. Образцова, **Е.Г. Головачева**, О.В. Афанасьева, В.Ф.Суховецкая, В.П. Дриневский, О.В. Киселева, Е.Б. Павлова // *Детские инфекции*. – 2012. – № 1. – С. 44-50.
25. Осидак, Л.В. Лечение ОРВИ у детей: возможности иммунокоррекции / Л.В. Осидак, Е.А. Дондурей, В.В.Зарубаев, **Е.Г. Головачева**, В.Ф.Суховецкая, В.П. Дриневский, О.В. Кашаева // *Современная педиатрия*. – 2012. – № 1(41). – С.33-38.
26. **Головачёва, Е.Г.** Иммуномодулятор дезоксирибонуклеат натрия природного происхождения как средство лечения гриппа и ОРВИ у детей (результаты доклинического и клинического исследования) / Л.В. Осидак, В.В. Зарубаев, Е.А. Дондурей, **Е.Г. Головачева**, В.Ф. Суховецкая, В.П. Дриневский, О.В. Кашаева // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. – 2012. – № 1. – С. 65-70.
27. Осидак, Л.В. Сравнительное изучение эффективности препарата СНУП в терапии острых респираторных инфекций у детей / Л.В.Осидак, О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачева**, К.К. Милькинт, Е.А. Никитина, В.П. Дриневский // *Детские инфекции*. – 2012. – Т.11, № 1. – С. 64-69.
28. Осидак, Л.В. Иммуномодулятор дезоксирибонуклеат натрия природного происхождения как средство лечения гриппа и ОРВИ у детей (результаты доклинического и клинического исследования) / Л.В. Осидак, В.В. Зарубаев, Е.А. Дондурей, **Е.Г. Головачева**, В.Ф. Суховецкая, В.П. Дриневский, О.В. Кашаева // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. – 2012. – № 1. – С. 65-70.

29. **Головачёва, Е.Г.** ВИФЕРОН® в терапии гриппа и других ОРВИ вирусной и вирусно-бактериальной этиологии у детей / Л.В. Осидак, Е.В.Образцова, **Е.Г. Головачева**, О.И. Афанасьева, В.Ф. Суховецкая, В.П. Дриневский, О.В. Киселева, Е.Б.Павлова // Детские инфекции. – 2012. – Т.11, № 1. – С. 44-50.
30. Осидак, Л.В. Противовирусная терапия и профилактика острых респираторных инфекций / Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева**, Е.А. Дондурей, О.И. Афанасьева, Е.В. Образцова, В.П. Дриневский, Е.С. Гончарова, В.Ф. Суховецкая, К.К. Милькинт // Детские инфекции. – 2012. – Т.11, спец. выпуск. – С. 16-23.
31. **Головачёва, Е.Г.** Иммунокорригирующая терапия у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями и гриппом / Л.В. Осидак, Е.А. Дондурей, В.В. Зарубаев, **Е.Г. Головачева**, О.Ю. Филатов, О.В. Кашаева, М.А. Гордеева, О.А. Паевская // Медицинский совет. – 2012. – № 1. – С. 72-81.
32. Осидак, Л.В. Лечение ОРВИ у детей: возможности иммунокоррекции / Л.В. Осидак, Е.А. Дондурей, В.В.Зарубаев, **Е.Г. Головачева**, В.Ф. Суховецкая, В.П. Дриневский, О.В. Кашаева // Современная педиатрия. –2012. – № 1 (41). – С. 33-38.
33. **Головачёва, Е.Г.** Цитокинсодержащие препараты в комплексной терапии гриппа и гриппоподобных заболеваний у взрослых / Л.В. Волощук, **Е.Г. Головачева**, А.Л. Мушкатина, Л.В. Осидак, П.В. Заришнюк, А.А. Го // Журнал инфектологии. – 2012. – Т.4, № 4. – С. 52-58.
34. Дондурей, Е.А. Грипп с желудочно-кишечными симптомами: причины развития, принципы терапии / Е.А. Дондурей, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева**, В.Ф.Суховецкая // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2013. – № 2. – С.61-67.
35. **Головачёва, Е.Г.** Клинико-иммунологическая эффективность Беталейкина у больных с гриппом и гриппоподобными заболеваниями, осложненными пневмонией / Л.В. Волощук, А.Л. Мушкатина, **Е.Г. Головачева**, Л.В. Осидак, П.В. Заришнюк, А.А. Го // Медицинская иммунология. – 2013. – Т.15, № 1. – С. 29-36.
36. Образцова, Е.В. Рекомбинантный интерферон в терапии острых поражений носоглотки вирусно-бактериальной этиологии у детей / Е.В. Образцова, Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева**, О.В. Киселева, Е.Б. Павлова, В.В. Малиновская, Е.М. Выжлова // Фарматека. – 2013. – № 15 (268). – С. 99-103.
37. **Головачёва, Е.Г.** Взаимосвязь цитокинового статуса и выраженности интоксикационного синдрома при гриппе / Л.В.Волощук, **Е.Г.Головачева**, А.Л. Мушкатина, Л.В. Осидак, П.В.Заришнюк, А.А. Го // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т.3, № 3. – С. 263-268.
38. **Головачёва, Е.Г.** Результаты изучения цитокинового профиля при гриппе, осложненном пневмонией / Л.В. Волощук, **Е.Г. Головачева**, А.Л. Мушкатина, Л.В. Осидак, П.В. Заришнюк, Е.Г. Рожкова, Т.Л. Тумина, А.А. Го // Медицинская иммунология. – 2014. – Т.16, № 3. – С. 265-272.
39. **Головачёва, Е.Г.** Прогнозирование обострения хронических бронхолёгочных заболеваний при гриппе у детей / О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачева**, В.С. Афанасьева, В.Ф. Суховецкая, Е.А. Никитина, Е.Г. Королева, А.В. Орлов, Л.Б. Вайнер, Л.А. Желенина // Журнал инфектологии. – 2015. – Т.7, №1. – С.53-58.

Патенты на изобретение

40. Патент на изобретение №2424768 Способ прогнозирования течения заболевания у детей при острых респираторных вирусных инфекциях / **Е.Г. Головачёва**, Е.В. Образцова, Л.В. Осидак, О.И. Афанасьева, Н.М. Калинина // заявка № 2009123616/14 от 19.06.2009.
41. Патент на изобретение №2518277 Способ лечения гриппа и гриппоподобных заболеваний, осложненных пневмонией / Л.В. Волощук, **Е.Г. Головачева**, Л.В. Осидак, А.Л. Мушкатина, А.А. Го // Заявка №2012128821/15(045197) от 09.07.2012.
42. Патент на изобретение № 2522276 Способ прогнозирования обострения бронхиальной астмы и/или муковисцидоза при гриппе у детей / О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачева**, Л.А. Желенина, В.Ф. Суховецкая // Заявка № 2013114649 от 01.04.2013.
43. Патент на изобретение № 2546540 Способ профилактики гриппа путем сочетанного применения интерферона гамма и инактивированной противогриппозной вакцины / О.И. Киселев, **Е.Г. Головачёва**, М.А. Стукова, М.К.Ерофеева, А.Д.Намгаладзе // заявка № 2011127864/041264 от 06.07.2011.

Другие научные издания

44. Осидак, Л.В. Интерфероновый статус у детей при гриппе и других ОРВИ. Интерферонотерапия / Л.В. Осидак, **Е.Г. Головачева**, Е.В. Образцова, И.А. Васильева, С.А.Тарасов // Вопросы современной педиатрии.–2006.–№ S.–С. 435а.
45. Осидак, Л.В. Этиотропная терапия как средство профилактики госпитальных респираторных инфекций у часто болеющих детей /Л.В. Осидак, Е.С. Эрман, **Е.Г. Головачева**, Е.В. Образцова, В.П. Дринецкий, В.Ф. Суховецкая, Г.В. Данини // Вопросы практической педиатрии. – 2007.– Т.2, №6.– С.10-16.
46. **Головачёва, Е.Г.** Клинико-иммунологические особенности острых респираторных инфекций у часто болеющих детей / Е.Г.Головачёва, Е.С.Эрман, Л.В.Осидак Е.В.Образцова, О.И.Афанасьева, К.К.Милькинт, А.И.Банников // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – Т.5, №2. – С.38-45.
47. **Головачёва, Е.Г.** Длительность активно приобретенной иммунной защиты от гриппа /О.К. Кузнецов, Л.А. Степанова, **Е.Г. Головачева**, О.В.Гашинская // Медицинский академический журнал. – 2010.– т.10, №1.– С.11-23.
48. Образцова, Е.В. Применение виферона - гель при острых респираторных вирусных инфекциях у детей / Е.В. Образцова, Л.В. Осидак, Е.Г.Головачёва, В.В.Зарубаев, О.В. Афанасьева, К.К. Милькинт // Педиатр. – 2011. – Т.2, №2. – С.53-60.
49. Эрман, Е.С. Основные принципы профилактики острых респираторных инфекций у часто болеющих детей/ Е.С.Эрман, **Е.Г.Головачева**, Л.В. Осидак, Е.В.Образцова, В.П. Дринецкий // Педиатр. –2011. – Т. 2, № 2. – С. 61-67.
50. Афанасьева, О.И. Опыт применения осельтамивира и варианты рациональной терапии у детей на современном этапе / О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачёва**, К.К. Милькинт, Л.В.Осидак, В.П.Дринецкий // Современные проблемы инфекционной патологии человека / Сб. научн. тр. межд. научн.-практ. конф. – Минск, 2009. – С.188-191.

51. Афанасьева, О.И. Клинико-иммунологические предикторы тяжёлых и пролонгированных форм гриппа у детей / О.И.Афанасьева, **Е.Г.Головачёва**, К.К.Милькинт, Е.А.Никитина, Т.А.Шутова, В.П.Дринеvский // Мат. научн. - практ. конф. «Старые» и «новые» инфекции у детей в современных условиях. – СПб, 2011. – С.32-38.
52. Образцова, Е.В. Новая лекарственная форма и ОРВИ у детей / Л.В.Осидак, **Е.Г.Головачёва**, В.В.Зарубаев, О.И.Афанасьева, К.К.Милькинт // Вестник Ферона. – Москва, 2011. – С. 10-16.
53. Ищенко, А.М. Новый отечественный препарат рекомбинантного интерферона «Интерфераль» в терапии гриппа и ГПЗ у взрослых / А.М. Ищенко, А.В. Петров, Л.В. Волощук, А.В. Демьянов, А.Л. Мушкатина, **Е.Г. Головачева**, С.Н. Галкина, П.В. Заришнюк, Л.В. Осидак, А.С. Симбирцев // Химическая и биологическая безопасность. – 2012. – Спец. выпуск, посвящ. ФЦП «Национальная система химической и биологической безопасности РФ (2009-2014 гг.). – С.7-13.
54. Осидак, Л.В. Лечение ОРВИ у детей: возможности иммунокоррекции / Л.В. Осидак, Е.А. Дондурей, В.В. Зарубаев, **Е.Г. Головачева**, В.Ф. Суховецкая, В.П. Дринеvский, О.В. Кашаева // Современная педиатрия (Украина). – 2012. – № 1(41). – С. 33-38.
55. Афанасьева, О.И. Терапевтическая эффективность осельтамивира в педиатрии / О.И. Афанасьева, **Е.Г. Головачева**, Е.А. Никитина, В.П. Дринеvский // Педиатр. – 2012. – Т.3, № 1. – С. 77-81.
56. Грипп: мукозальные вакцины, особенности вакцинопрофилактики, популяционный иммунитет, прогнозы появления и тяжести течения глобальных эпидемий / Глава 2.1 / О.К. Кузнецов, Л.А. Степанова, **Е.Г. Головачева**, О.В.Гашинская // Сб. статей под ред. О.К.Кузнецова. – СПб.: «Галарт», 2013. – С. 83-103.
57. **Головачева, Е.Г.** Влияние системы интерферона на направленность поляризации иммунного реагирования при гриппе у детей /Е. Г. Головачева, О. И. Афанасьева, Л. В. Осидак, Е. В. Образцова, Л. В. Волощук // Педиатр. –2014.– Том V, № 3. – С.51-57.

Методические пособия и практические руководства для врачей

58. Осидак, Л.В. Лесмин – хвойные таблетки (использование для оздоровления в комплексной терапии и профилактике гриппа и других ОРВИ) / Л.В.Осидак, В.П.Дринеvский, Е.С.Эрман, **Е.Г.Головачева**, В.П.Сухинин, В.В.Зарубаев, Л.М.Цыбалова, Л.С.Карпова, В.Б.Некрасова // СПб. – 2006.– 24 с.
59. Осидак, Л.В. Фитолон, использование для оздоровления и в качестве лечебно-профилактического средства / Л.В. Осидак, Е.С. Эрман, О.И. Афанасьева, Е.Г. Королёва, **Е.Г. Головачёва**, Н.Ж. Александрович, В.П. Дринеvский, Л.С. Карпова, В.Б. Некрасова // СПб.–2006.– 40 с.
60. Осидак, Л.В. Гриппферон / Л.В. Осидак, В.П. Дринеvский, П.Я.Гапонюк, В.В. Зарубаев, Е.В. Образцова, **Е.Г. Головачева**, О.И. Афанасьева, Е.С. Эрман, В.В. Краснова, Ю.Ю. Елисеева, Т.Н. Николаева, Н.В. Болотова, В.Б. Кузина // СПб, Москва. – 2009. – 58 с.

61. Острые респираторные инфекции у детей и подростков: практическое руководство для врачей / Л.В. Осидак, В.П. Дриневский, Л.М. Цыбалова, М.К. Ерофеева, И.Б. Жилинская, Е.В. Образцова, Е.А. Дондурей, **Е.Г. Головачева**, И.Ю. Никоноров; под ред. Л.В. Осидак. – 2-е изд., доп. – СПб.: ИнформМед.– 2010. – 216 с.
62. Острые респираторные инфекции у детей и подростков: практическое руководство для врачей / Л.В. Осидак, В.П. Дриневский, Л.М. Цыбалова, О.И. Афанасьева, М.К. Ерофеева, И.Б. Жилинская, Е.В. Образцова, Е.А. Дондурей, **Е.Г. Головачева**, М.М. Писарева, В.Ф. Суховецкая; под ред. Л.В. Осидак. – 3-е изд., доп. – СПб.: ИнформМед.– 2014. – 256 с.

Список сокращений

ДГБ – детская городская больница
 ДГКБ – детская городская клиническая больница
 ИКК – иммуно-компетентные клетки
 ИФА – иммуноферментный анализ
 ИО – иммунный ответ
 КП1 – коэффициент поляризации 1
 КП2 – коэффициент поляризации 2
 ОАО – общий антиоксидант
 ПОЛ – перекисное окисление липидов
 РВИ – респираторные вирусные инфекции
 СОД – супероксид дисмутаза
 ССС – сердечнососудистая система
 МДА – малоновый диальдегид
 НСТ-тест – тест с нитросиним тетразолием
 ЦНС – центральная нервная система
 anti-IFN- α – антитела к IFN- α
 CD – дифференцировочные кластеры
 CPMP EMEA – (Committee for Human Medicinal Products of European Medicine Agency)
 IFN – интерферон
 Ig – иммуноглобулин
 IL – интерлейкин
 IL-1ra – рецепторный антагонист интерлейкина -1
 НК-клетки – натуральные киллеры
 TNF- α – фактор некроза опухолей альфа
 PWM – поквид-митоген