

Міністерство освіти і науки України
Національний університет «Києво-Могилянська академія»
Факультет природничих наук
Кафедра лабораторної діагностики біологічних систем

Магістерська робота

Освітній ступінь — магістр

на тему: **«УРАЖЕНІСТЬ ПЕРСИСТУЮЧИМИ ВІРУСНИМИ
ІНФЕКЦІЯМИ ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ»**

Виконала: студентка 2-го року навчання
Спеціальності 091 Біологія

Стінська Олександра Русланівна

Керівники:

Талько В.В.
доктор медичних наук, професор

Білько Д. І.
кандидат біологічних наук, доцент

Рецензент

Магістерська робота захищена
з оцінкою _____

Секретар ЕК Пахаренко М. В.
« ____ » _____ 2023 р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1 Бронхіальна астма	8
1.1.1 Поширеність захворювання	9
1.1.2 Етіологія захворювання.....	10
1.1.3 Фактори ризику розвитку БА.....	13
1.1.4 Патогенез хвороби	16
1.1.5 Патогенез нападу і патогенез хвороби.....	21
1.1.6 Перебіг захворювання.....	22
1.2 Вплив персистуючих вірусних інфекцій на перебіг бронхіальної астми..	22
1.2.1 Вплив носійства вірусу Епштейна-Барр на перебіг бронхіальної астми	23
1.2.2 Вплив цитомегаловірусної інфекції на перебіг бронхіальної астми	24
1.2.3 Вплив токсоплазмозу на перебіг бронхіальної астми	25
1.2.4 Вплив вірусів простого герпесу першого/другого типів на перебіг бронхіальної астми.....	25
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	27
2.2.1 Імуноферментне визначення антитіл класу IgG до антигенів персистуючих вірусних інфекцій на прикладі антигенів ВЕБ	28
2.2.1.1 Принцип аналізу	28
2.2.2 Обладнання та матеріали.....	29
2.2.3 Рекомендації щодо збору, транспортування та зберігання зразків.....	30
2.2.4 Проведення ІФА для виявлення антитіл до персистуючих вірусних інфекцій на прикладі ядерного антигена ВЕБ.....	31

	3
2.2.5 Застереження та техніка безпеки.....	33
2.2.6 Облік результатів та їх інтерпретація	34
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	36
3.1 Результати досліджень.....	36
3.1.1 Рівень інфікованості вірусом Епштейна-Барр хворих на бронхіальну астму	38
3.1.2 Рівень інфікованості цитомегаловірусом хворих на бронхіальну астму.....	39
3.1.3 Рівень інфікованості токсоплазмою хворих на бронхіальну астму.....	41
3.1.4 Рівень інфікованості вірусами простого герпесу першого/другого типів хворих на бронхіальну астму	42
3.1.5 Рівень інфікованості мікстами вірусів хворих на бронхіальну астму	43
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	47
ВИСНОВКИ.....	51
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	52

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БА	–	бронхіальна астма
ВЕБ	–	вірус Епштейна-Барр
ВООЗ	–	Всесвітня організація охорони здоров'я
ІФА	–	імуноферментний аналіз
ННЦРМ	–	Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»
ЦМВ	–	цитомегаловірус
Ig	–	імуноглобуліни

ВСТУП

Ураженість персистуючими вірусними інфекціями хворих на бронхіальну астму (БА), є актуальною та складною проблемою сьогодення, що потребує ретельного дослідження.

Бронхіальна астма є хронічним захворюванням дихальних шляхів, що характеризується нападами задишки, кашлю та набряку слизової оболонки бронхів. Це захворювання може бути спричинене різноманітними чинниками, зокрема такими як генетична схильність, дієта, інфекції та ін. [1].

Персистуючі вірусні інфекції можуть бути однією з причин загострення БА. Вказані інфекції характеризуються тим, що вони можуть залишатися в організмі людини на тривалий час, зокрема, в дихальних шляхах, і викликати різні реакції імунної системи, що може призвести до загострення захворювання [2].

Близько 15 % населення нашої планети страждає на алергічні захворювання. У структурі алергічних захворювань важливе місце займають алергічні ураження дихальних шляхів, серед яких БА, яка, у свою чергу, є найбільш тяжким. В останні роки частота і тяжкість бронхіальної астми помітно зросли в усіх економічно розвинених країнах, при цьому спостерігається більш ранній початок захворювання. Завдяки бурхливому розвитку клінічних, імунологічних, експериментальних та інструментальних методів дослідження в останні роки з'явився великий обсяг інформації, що характеризує варіанти етіології та патогенезу БА з іншого погляду [1].

БА є широко розповсюдженим захворюванням, що має тенденцію до зростання, прогресування та злякисного перебігу. Збільшується кількість людей, які отримують кортикостероїдну терапію (більшість госпіталізуються з приводу астми), і, на превеликий жаль, серед них зростає і смертність від захворювання. Здебільшого БА спостерігається переважно у великих промислових містах з високою щільністю населення та наявності великої кількості хімічних підприємств [3].

БА набула соціально-економічного значення, та виходить далеко за межі медичної проблеми. Це пов'язано із ураженням переважно у молодому віці, у найактивніший період життя людини, що призводить до втрачених днів непрацездатності та підвищення смертності. Механізм, за яким персистуючі віруси сприяють загостренню БА, ще не повністю зрозумілий. Однак відомо, що віруси можуть стимулювати вироблення запальних цитокінів та хемокінів, призводячи до інтенсифікації процесу запалення в дихальних шляхах. Крім того, віруси можуть активувати імунну систему, зокрема викликати збільшення числа еозинофілів, які відіграють важливу роль у запаленні дихальних шляхів при БА [3].

В той час коли вплив алергенів на розвиток астми вивчено досить детально, роль персистуючих вірусних інфекцій вивчена недостатньо. У зв'язку з цим дана робота спрямована на вивчення цього питання. Дослідження цієї проблеми дуже важливе для вдосконалення лікування та профілактики бронхіальної астми.

Мета роботи - дослідити поширеність персистуючих вірусних інфекцій у хворих на бронхіальну астму, які перебувають на обліку в клініко-епідеміологічному реєстрі (КЕР) Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» (ННЦРМ).

Завдання роботи:

1. Відбір хворих на бронхіальну астму з клініко-епідеміологічного реєстру ННЦРМ.
2. Визначити титри антитіл класу IgG вірусів герпесу першого/другого, четвертого (Епштейна-Барр) і п'ятого (цитомегаловірус) типів та токсоплазм у пацієнтів, які проходять плановий медичний огляд
3. Обчислити частку хворих, що обстежені на вірусних інфекцій, та мають діагноз бронхіальну астму.
4. Охарактеризувати носійство вірусних інфекцій в обстежених пацієнтів в аспекті титрів і коінфікування

Об'єкт наукового дослідження – наукового дослідження є персистенція цитомегаловірусної інфекції, вірусу Епштейна-Барр, токсоплазмозу та герпесу першого/другого типів у хворих на бронхіальну астму.

Предмет наукового дослідження – оцінка ураженості персистуючими інфекціями хворих на бронхіальну астму

Роботу виконано на базі лабораторії клінічної імунології та ізосерології відділу клінічної імунології ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України».

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Бронхіальна астма

Бронхіальна астма (БА) є захворюванням дихальних шляхів, яке характеризується тривалим синдромом, викликаним клітинами і медіаторами залишається. В результаті цього бронхи залишаються гіперреактивними, що призводить до повторюваних симптомів, таких як свистяче дихання, відчуття стиснення у грудях, кашель, особливо вночі та рано вранці. Ці епізоди, як правило, пов'язані з варіабельною (мінливою) бронхообструкцією, яка може самостійно змінюватися або полегшуватися під впливом лікування. [3, 4].

У розвитку БА відіграють роль як внутрішні, так і зовнішні фактори. Серед внутрішніх факторів особливе значення мають спадкова схильність (атопія), яка часто проявляється як генетично обумовлена здатність до збільшеного утворення імуноглобулінів класу Е, а також розподілу гістосумісних антигенів, що впливають на біохімію і нервову забезпечення бронхів. [5, 6]

Серед зовнішніх факторів середовища, що впливають на розвиток бронхіальної астми, можна виділити наступні.

По-перше це неінфекційні алергени такі як пил, хутро тварин, пилок рослин, різні виробничі речовини, лікарські засоби та інші.

По-друге це інфекційні агенти які можуть сприяти запаленню дихальних шляхів.

По-третє механічні і хімічні іританти, такі як металевий, деревний, силікатний та бавовняний пил, дим, пари кислот, лугів і т.д.

По-четверте фізичні і метеорологічні фактори, які включають зміни температури і вологості повітря, коливання барометричного тиску, вплив магнітного поля та інші.

По-п'яте нервово-психічні чинники, що можуть сприяти появі

астматичних симптомів.[5.6]

Вплив зовнішнього середовища сприяє активації внутрішніх чинників і сприяє розвитку бронхіальної астми.

1.1.1 Поширеність захворювання

За даними ВООЗ, бронхіальна астма - друга за поширеністю після хронічної обструктивної хвороби легень патологія дихальної системи у людини. Поширеність БА в різних країнах світу коливається від 1 до 18 % [1, 4, 5].

Відмінною рисою сьогодення є зріст кількості хворих на бронхіальну астму у середньому віці. Якщо раніше перші прояви хвороби найчастіше виникали у віці до 20 років, то в останні роки спостерігається великий відсоток захворювань на БА у віці після 40 років [6].

Протягом останніх 25 років в Україні не проводилися спеціальні епідеміологічні дослідження щодо поширеності бронхіальної астми. Проте, орієнтована поширеність цієї хвороби в країні становить приблизно 5-6%.[5].

Хочеться зазначити, що на нашій планеті більше 100 000 000 осіб з захворюванням БА. Проте незважаючи на досить велике поширення захворювання ускладнення БА зведені до мінімуму, наприклад в країнах Заходу завдяки безперервному протизапальному лікуванню. В нашій країні захворювання поширене переважно у середньо тяжких та тяжких формах. Частка БА становить близько 0,6-2 % від усіх патологій органів дихання. За даними статистики, на БА хворіють 1-10 % населення різних країн світу. Щорічно летальних наслідків хвороби фіксується близько 2 мільйонів [5].

Дані епідеміологічних досліджень хворих на БА неодноразово публікувалися протягом останніх десятиліть.

Розподіл бронхіальної астми в різних регіонах світу нерівномірний. Захворюваність на БА у Великобританії, на Кубі Новій Зеландії та інших країнах відносно висока. Вважається, що концентрація алергенів на островах

вища із за рослини, які ростуть на островах, і алергени, які переносяться океанськими течіями. У Сполучених Штатах БА вражає близько 1-3 % населення з варіаціями залежно від географічного регіону.

За даними ВООЗ, астма вражала близько 3 % дорослих і 3,7 % дітей у Сполучених Штатах у 1970-х роках, а вже у 1984 році було відомо, що ураження БА досягло близько 20-30 % населення. У Франції відсоток захворюваності сягав 75 % з 5-6 мільйонів людей, які мали алергічні захворювання, спостерігається також і патологія системи дихання, здебільшого БА. У Швеції відсоток захворюваності на БА складає близько 1 % населення, у Німеччині відсоток захворюваності відносно невеликий і складає 0,6 % населення, у Болгарії 1,3-1,4 %. [5].

В Україні поширеність БА зростає вдвічі. У 1974 р. поширеність і захворюваність на БА становили 121,5 і 15,3 на 100 тис. населення, а в 1982 р. — 203,3 і 17,5 відповідно. Так, приміром, в Івано-Франківській області поширеність БА зростає на 1,01%, а захворюваність на 0,14 %, а у промислових зонах відповідно на 1,42 % і 0,58 %. Була виявлена пряма залежність між рівнем впливу хлористого водню у навколишньому середовищі та частотою загострень астми. Досить високим рівнем ураження БА відзначаються промислові міста по всьому світу, що стала основою для виокремлення «йокогамської», «нью-орлеанської» астми. У європейських містах спостерігалися «спалахи» БА через тимчасові викиди в повітря великої кількості вихлопних газів промислових підприємств, що містять високоалергенні речовини [5].

1.1.2 Етіологія захворювання

Фактори ризику астми можна розділити на дві категорії: ті, що сприяють розвитку захворювання, і ті, що сприяють появі симптомів. Деякі фактори можуть одночасно впливати на обидва аспекта. Перша категорія включає особливості факторів, з яких висувається генетична прогресивність. Друга

категорія, як правило, стосується факторів зовнішнього середовища, що оточує людину. [5,6]

Існує такий собі зв'язок серед факторів, які впливають як на патогенез хвороби, так і на появу симптомів або загострення хвороби. Наприклад, професійна сенсibiliзація може відноситися до обох категорій. Вплив алергенів на розвиток астми добре вивчений, проте він залежить від типу алергену, тривалості та інтенсивності експозиції, віку та генетичної хвороби.[6].

Переважає більшість дослідників вважають, що саме генетичні предиктори відіграють головну роль у патогенезі БА. Так, дійсно, спадковість є однією із найважливіших причин БА, адже у дітей, батьки яких хворіють на астму, ризик виникнення БА у 2-3 рази вищий, ніж у дітей здорових батьків. Проте, спираючись на літературні джерела [5,6] можна виділити 3 основних групи причин бронхіальної астми:

- 1) чинники, які спричиняють розвиток захворювання - спадкові та екологічні фактори;
- 2) алергени, відповідальні за алергічне запалення бронхів, вони ж і підтримують це запалення.;
- 3) тригери – чинники, що викликають задуху або загострення астми.[5]

Остаточним чинником для розвитку бронхіальної астми у більшості випадках є вплив різноманітних алергенів зовнішнього середовища, і найбільш поширеним є домашній пил. У пацієнтів, чутливих до пилового кліща, напади астми зазвичай проявляються вночі або ж вранці [6].

Вовна і слина тварин (котів, собак, морських свинок, хом'яків та інших гризунів) є тригерами розвитку БА. Алергени, що містяться в слині і вовні кішок, є найсильнішими з усіх алергенів, вони стійкі в оточуючому середовищі (навіть після контакту з тваринами), також ці алергени здатні проникати глибоко в легені. Кінська лупа, сушена їжа для декоративних риб і навіть комахи, особливо таргани, також є поширеними джерелами зараження [6].

Також до тригерів БА астми відносять й спори цвілі в повітрі, системах кондиціонування, а також у вологих і темних приміщеннях: підвалах, гаражах, ванних кімнатах, душових.. Цвіль міститься у великій кількості і у харчових продуктах [6].

Пилок квітучих рослин викликає розвиток нападів сінної лихоманки у 30-40 % хворих. У більшості рослин пилок дуже легкий, вітає у повітрі і дуже просто може потрапити у дихальні шляхи.

Ліки, антибіотики, передусім пеніциліни, макроліди, сульфаніламід, вітаміни та аспірин також можуть відтворити напади у багатьох пацієнтів. Контакт з препаратом можливий не лише під час прийому, а й коли хворий знаходиться біля фармацевтичного заводу. Негативний вплив має і рівень забруднення житлового такими їх сполуками. Сучасні технології у будівництві кардинально змінили якість повітря в будинках, більш забруднивши його [6].

Окрім всіх вище перерахованих чинників, спровокувати загострення астми можуть і фізичні навантаження, і психічні навантаження, і навіть зміна погодних умов [5].

До найбільш поширених чинників, які спричиняють БА, відносять і вірусні інфекції. Респіраторні віруси пошкоджують слизову оболонку, особливим чином миготливий епітелій дихальних шляхів, роблячи оболонку більш проникною для алергенів та токсичних речовин, і тим самим посилюючи гіперреактивність бронхів. Багато людей з БА мають схильність до досить частих епізодів гострих респіраторних захворювань. Присутність хронічних вогнищ, насамперед в носоглотці, підвищує сенсibiliзацію організму [6].

Менш значними тригерами є дим від палаючої деревини, фізична активність (наприклад, біг та інші види вправ), інтенсивний емоційний стрес, холодне повітря та зміни погоди [4].

Генетична природа розвитку БА підтверджена виділенням гену астми у двох країнах (Великобританії та Японії). Особливу роль у патогенезі БА

відіграє високий вміст у видихуваному повітрі оксидів азоту та озону [6].

1.1.3 Фактори ризику розвитку БА

Стать. БА вражає обидві статі, але згідно з дослідженнями, у жінок ця хвороба спостерігається частіше [7]. Я вважаю, що це може бути пов'язано не тільки з соціальними ай з біологічними факторами, що впливають на жінок більше, ніж на чоловіків. Одним із таких факторів є гормональні зміни, зокрема вагітність, менструальний цикл і менопауза. Дослідження показали, що під час ризик розвитку бронхіальної астми збільшується на 20-30% [8]. А що стосовно чоловіків, то хочу відзначити, що головну роль у ризику розвитку бронхіальної астми, як би примітивно це не звучало але, це забруднене повітря [9]. Чоловіки частіше працюють на виробництвах, пов'язаних зі збільшеним ризиком для здоров'я легенів, таких як хімічна промисловість, будівельний сектор і транспорт. Крім того, деякі дослідження показали, що чоловіки, які займаються важкою фізичною працею, мають більшу схильність до розвитку астми [10] Також відзначають, ще спільних факторів ризику для розвитку бронхіальної астми: генетична схильність, вік, куріння і інші захворювання дихальних шляхів [11].

Вік. Здебільшого на БА інфекційної етіології хворіють люди більш зрілого віку, в переважній більшості ті, кому за 40 років. Атопічна БА зазвичай розвивається у молодих людей ще до 30 років. У переважній більшості БА починає розвиватись у віці понад 40 років [5].

Спадковість. Роль генетичних предикторів розвитку БА загальноновизнана. Результати досліджень показують, що висока поширеність спостерігається у певних родинах. Генетична схильність до алергічних захворювань помітна у близько 20-54 % хворих на астму. Передусім, це успадкування, яке спостерігається у 40-80 % хворих на БА. БА як спадкова хвороба виявлена у 30,8 % хворих на атопічну астму, та близько 21 % у хворих на інфекційну астму. Незначний відсоток складає хімічна астма, - 6,8 %

хворих. Крім астми, сімейні алергічні захворювання були в 3,5 рази частіше у пацієнтів з atopічною астмою, ніж у пацієнтів з інфекційною астмою, і в чотири рази більше, ніж у хворих на хімічну астму. Саме алергічна схильність, в більшості випадках, відзначається у хворих на atopічну БА [5].

Передвісники астми. Гострий і хронічний бронхіти були і є головними провісниками БА у хворих з різними формами. У 36,7 % випадків на інфекційну астму, у 26 % хворих на atopічну астму та у найменшому відсотку (близько 3,8 %) хворих на хімічну астму були напади кашлю після пневмонії. Приступи сінної лихоманки у пацієнтів з atopічною астмою відносно часто проявлялися спочатку як алергічний риніт [5].

Хвороби верхніх дихальних шляхів. Верхні дихальні шляхи є досить важливою захисною і відбивною зоною, що в свою чергу регулює функцію бронхів. Рецептори які знаходяться в носі, носоглотці та пазухах, сприяють бронхоконстрикції під час дії на них.[6]

Різні синусити, фарингіти та поліпи в носі були виявлені у більш ніж половини хворих на інфекційну астму, ніж у хворих на інші форми астми. Так само діагностується хронічний алергічний риніт у хворих на різні форми БА [6].

Медикаментозна алергія. Клініка медикаментозної алергії (це може бути кропивниця, бронхоспазм, і навіть анафілактичний шок) виявилась майже у половини хворих на БА (у 44,7 %); відносно невеликий відсоток – у пацієнтів з atopічною астмою (близько 7,7 %); середній відсоток клінічних проявів алергії займає хімічна астма (11,1 % хворих). Найчастіше медикаментозні алергічні реакції викликали антибіотики пеніцилінового ряду, менше - різні антибіотики, жарознижуючі та вітаміни групи В [6].

Метеорологічні фактори. Щодо коливань погоди, слід зазначити високу чутливість хворих на БА. Саме зміни погоди зазвичай є поштовхом до загострення астми. Особи, які страждають на БА, як правило, сильно реагують на погану погоду, особливо на холодний вітер. Це пов'язано з тим, що вітер може переносити алергени, пил, забруднене повітря та інші речовини, які

можуть спричинити астматичну реакцію. Деякі пацієнти не терплять перебування на відкритому повітрі, і навіть в приміщеннях зберігають підвищену чутливість до різких змін погоди. Тому зрозуміло, що хворі відчують себе краще в місцях з стабільним мікрокліматом. Дослідження показують, що у хворих, які занурюються в шахту або піднімаються на висоту, загальний стан покращується [6].

Іноді хворі бажають провести свою літню відпустку в більш південних регіонах України і можуть мати загострення астми, що має зв'язок з адаптацією до умов, де знаходиться хворий, а також загострення може проявлятися при поверненні на постійне місце проживання під час реадaptaції. Зокрема, згубно позначається перебування хворих на півдні та повернення до міст на півночі, де погода вже нестабільна [4].

Несприятливими факторами навколишнього середовища є підвищена концентрація розбіжних речовин у повітрі, загазованість, особливо у величезних містах, туман [6].

Професійні фактори. Близько 2 % пацієнтів появилення БА пов'язане з професійною сенсibiliзацією. У ряді випадків виникнення і посилення БА поєднують з впливом несприятливих чинників виробництва. На сьогодні можна навести багато речовин, що можуть призвести до розвитку професійної астми. Захворюваність дуже висока на виробництві, де використовуються металеві вироби хромовані, ванадій і платина, фарби та текстиль (вовна) [5,6].

Виробництво пластмас, миючих засобів і фармацевтичних препаратів, особливо антибіотиків, нейролептиків і гормонів є особливо небезпечними. Також існують випадки астми у сільських жителів під час застосування отрутохімікатів [4].

Фізичні зусилля. Майже у всіх хворих на БА спостерігається підвищений ступінь постнавантажувальної бронхіальної обструкції, хоча у поодиноких випадках цей провокуючий чинник є переважаючим. Порушення бронхіальної прохідності визначається зниженням індексу Тіфно та зміною залишкового об'єму легень. Збільшується функціональна залишкова ємність

легень, так званий закритий об'єм. Це визначає перебіг бронхіального колапсу до досягнення максимального рівня видиху. Функціональні зміни при обструктивному зовнішньому диханні супроводжуються порушеннями вентиляційно-перфузійного співвідношення. Зменшується дифузія O_2 і викид CO . Такі зміни зазвичай притаманні для виражених симптомів астми. Дуже чутливими є підвищений вміст лактату в крові та знижений рН. Такі зміни кислотно-лужного стану стрімко нормалізуються після виходу з астматичної задухи [6].

Механізми розвитку астми внаслідок фізичного навантаження продовжують інтенсивно досліджуватися. Є думка, що виражена гіпервентиляція і подразнення дихальних шляхів холодним повітрям призводять до рефлекторного бронхоспазму [6].

Потенційними причинами можуть бути ацидоз та гіпокапнія. Однак вірогідних фактів немає, і тригер є невідомим. Вважається, що виділення медіаторів астми має важливу роль у розвитку бронхоспазму під час фізичного навантаження. Думка про втручання в біосинтез простагландинів, що виділяються під час неспецифічного впливу (гіпервентиляція, гіпоксія, холод тощо), не підтвердилася. Виявлено неефективність фізичних вправ [6].

Психоемоційні фактори. Щодо впливу психоемоційних чинників на перебіг астми є добре відомим, і велика кількість дослідників визнають астму психосоматичним розладом [5].

Нині є випадки загострення БА, тригерами яких були негативні емоції. У літературі вперше описано напад астми у пацієнтів, що відчували сильний стрес. Наприклад, напад БА був спровокований травмуючою подією - пацієнт побачив смертельну автокатастрофу, напад був на вулиці. У той же час відомі інциденти сприятливого позитивного впливу психотерапії, особливо гіпнотерапії, у хворих на бронхіальну астму [6].

1.1.4 Патогенез хвороби

БА є хронічним запальним захворюванням дихальних шляхів, в якому беруть участь клітини і медіатори. Симптоми астми можуть проявлятися епізодично, відбувається постійно і присутнє у всіх клінічних формах астми та у всіх вікових групах хворих. Запалення найбільше спостерігається на бронхах середнього калібру, але у багатьох хворих також можна спостерігати за верхніми дихальними шляхами та носа. У процесі розвитку запального процесу в бронхіальній астмі беруть участь різні типи клітин, такі як еозинофіли, Т-лімфоцити, дендритні клітини, макрофаги та нейтрофіли. Ці клітини сприяють синтезу медіаторів виключно, таких як хемокіни, лейкотрієни, цитокіни, гістамін, оксид азоту та простагландин D₂. Крім того, клітини дихальних шляхів, такі як епітеліальні клітини, гладкі м'язи, фібробласти, міофібробласти, ендотелій та нервові волокна, також беруть участь у виробленні медіаторів. Запалення викликає порушення структури дихальних шляхів, що характеризується як ремоделювання дихальних шляхів.[5].

Це включає процеси, такі як утворення фіброзу під епітелієм, збільшення кількості та розмірів гладких м'язів, збільшення проліферації кровоносних судин, збільшення кількості келихоподібних клітин і збільшення розмірів підслизових залоз. У хворих з важким перебігом захворювання, ці структурні зміни призводять до звуження бронхів, яке не повністю зворотнє під впливом наявних терапевтичних засобів[5].

Звуження дихальних шляхів (бронхіальна обструкція) є основним патофізіологічним механізмом, який викликає симптоми захворювання. Це звуження відбувається через скорочення гладких м'язів бронхів, пошкодження слизової хвороби, потовщення стінки бронхів та гіперсекрецію слизу. Гіперреактивність бронхів, яка є характерною для астми, є функціональним порушенням, проявляється як підвищена хворобливість до звуження дихальних шляхів під впливом чинників, які не викликають такої реакції у здорових людей. Звуження дихальних шляхів обмежує потік повітря в них, що

призводить до розвитку симптомів хвороби. Важливо, що гіперреактивність бронхів та ступінь можуть зменшитися під впливом лікування. [5].

Отже, головною частиною механізму розвитку БА є гіперактивність бронхів. Такі відхилення можуть бути як первинним, так і вторинним. Якщо взяти до уваги первинну реактивність бронхів то вона буває вродженою і набутою. В той час коли набута зазвичай формується внаслідок впливу інфекційних, хімічних, механічних і фізичних факторів, вторинна зміна реактивності бронхів є наслідком зміненої реактивності різних систем організму безпосередньо: імунні, ендокринні та неврологічні зміни. Орієнтуючись на вищесказане впливає висновок, що реактивність бронхів залежить та змінюється від неімунологічних та імунологічних факторів [5].

У механізмі розвитку БА виділяють дві стадії запальної реакції.

Перша «початкова» - виправна, тривалість якої становить близько 30 хвилин. - 2-3 години при бронхоспазмі - негайна реакція;

Друга «пізня» або «пізній початок» - через бронхіальну гіперреактивність, відстрочена відповідь - починається впродовж 3-4 год після впливу і зберігається до 24 год [5].

Патогенез БА включає три стадії патофізіологічного процесу:

- 1) імунологічну - стадія алергічних реакцій;
- 2) патохімічна - викид біологічно активних речовин (БАР);
- 3) патофізична - судоми, набряк та зміна тонуусу бронхів, надлишок виділення мокротиння, в основному, внаслідок порушення функцій, слизової оболонки тощо [5].

Імунологічні механізми. У більшості хворих на БА зміни реактивності бронхів спричиняють порушення в імунній системі. Їх систематизують за класифікацією Джелла і Кумбса - I, III і IV типи реакцій гіперчутливості зі зміною клітинного та гуморального імунітету [4, 5].

Атопічний або тип I. Цей тип супроводжується збільшенням вмісту IgE (реагінів, тобто антитіл, що виробляються у відповідь на екзоалергени, наприклад, на пилок рослин, вовну тварин тощо). Утворений реагін

прикріплюється до опасистих клітин (первинні клітини-ефектори), і по мірі їх нагромадження розвивається імунна фаза БА. Далі відбувається вже патохімічна фаза процесу, здійснюється дегрануляція топасистих клітин. При цьому вивільняється чимала кількість речовин, що мають вазоактивні, бронхоспазматичні і хемотоксичні якості. Клітини під впливом первинних медіаторів виділяють вторинні медіатори, у тому числі, лейкотрієни, простагландини, тромбокساني, фактор активації тромбоцитів тощо речовини [4, 5].

Вплив БАР збільшує проникність мікроциркуляторного русла, починає розвиватись набряк, бронхоспазм серозне запалення, та інші ознаки патофізичної фази, виникнення ядухи. Клінічні ознаки - це насамперед порушення прохідності бронхів, а також розвиток нападу ядухи [5,6].

Коли виникає реакція першого типу, вважають, що основну роль відіграє надмірний синтез реакіну, відсутність секреторного IgA та зниження функції Т-супресора в лімфоцитах. [6]

Коли виникає реакція типу I, вважається, що основну роль відіграють надмірний синтез реакіну, відсутність секреторного IgA та зниження функції Т-супресора в лімфоцитах. [5,6]

Імунокомплексний тип або реакція III типу (феномен Артюса) розгортається під впливом екзо- і ендоалергенів. При реакції III типу формуються антитіла, які в основному відносяться до класу імуноглобулінів класів IgG і IgM. Згубна дія сформованих комплексів антиген-антитіло реалізується переважно тому, що активація комплементу тягне за собою вивільнення лізосомальних ферментів. Пошкоджується базальна мембрана, спазмується гладка мускулатура бронхів, розширюється кровоносні суди, а також підвищується мікроциркуляторна проникність [1].

Клітинний тип або реакція IV типу (клітинний), згубний вплив надають сенсibilізовані лімфоцити, що належать до гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ) [1].

Під впливом лімфокінів виникають набряк слизових оболонок,

бронхоспазм, гіперпродукція слизового бронхіального секрету (патофізіологічна фаза астми) [1].

Неімунологічні механізми. Завдяки набутим та родженим біологічним вадам можлива переміна реактивності бронхів, що призводить до розвитку нападів ядухи. Неіmunні механізми впливають на первинні та вторинні ефекторні клітини, або на рецептори клітин гладенької мускулатури бронхів, кровоносних судин, а також бронхіальних залоз [1].

Клітини-мішені, особливо стовбурові, змінюють свою чутливість під дією різних механічних, хімічних та фізичних подразників. Зміна реактивності опасистих клітин супроводжується надлишковим виробництвом БАР, таких як лейкотрієн та гістамін. Спазм бронхів, набряк слизових оболонок, порушується виділення бронхіальних залоз, ці всі явище є відповіддю на виділення біоактивних речовин(лейкотрієн та гістамін та інші). Все це перемінює прохідність бронхів, що і провокує напад ядухи [1].

Різкі аромати, прохолодне повітря, пил, дим, вологість, глибоке дихання, різкі зміни атмосферного тиску, нервово-психічні та інші подразники провокують підвищення тонуусу або спазм бронхіальної мускулатури внаслідок порушення збудливих рецепторів бронхолегеневого апарату властивостей ацетилхоліну [4].

В механізми розвитку відхилень бронхіальної прохідності специфічну роль відіграють дефіцит глюкокортикоїдів і дизоваріальні порушення (гіперестрогенемія і гіпопрогестеронемія). Нестача глюкокортикоїдів сприяє розвитку гіперчутливості опасистих клітин, зниженню синтезу катехоламінів, активації простагландинів, таких як ПГ₂, і порушень імунної системи, що є складним впливом на патогенез БА. Гіперестрогенемія і гіпопрогестеронемія в основному діють на α - і β -адренергічні рецептори, підсилюють активність α -рецепторів і знижують активність β -рецепторів [3].

Адренергічний дисбаланс спостерігається також при порушенні бронхіальної прохідності іншими механізмами, що виявляється в переважанні системи гуанілатциклази над системою аденілатциклази. До того ж

змінюється вміст внутрішньоклітинного ферменту фосфодіестерази, що посилює надходження іонів кальцію в клітину і перешкоджає обміну простагландинів [4].

1.1.5 Патогенез нападу і патогенез хвороби

Приступ БА є наслідком негайної алергічної реакції, що локалізована в тканинах бронхіального дерева. При атопічній формі напад астми є наслідком алергічної реакції з циркулюючими гуморальними антитілами (головним чином, IgE-асоційованим реагіном), які закріплюються на опасистих клітинах (сенсibiliзованих) бронхолегеневого апарату. Речовина анафілаксія, гістамін та інші нешвидко діючі речовини БАР, що виділяються під впливом комплексів антиген-антитіло, беруть участь у виникненні нападу БА [7].

У механізмі розвитку БА беруть участь всі гілки нервової системи. Бронхіальний та легеневий рецепторний апарат, відділи вегетативної нервової системи (симпатичний та парасимпатичний), гіпоталамо-гіпофізарна система, кора головного мозку [7].

При інфекційній алергії наслідком є уповільнена алергічна реакція в механізмі якої основна роль належить процесам подразнення епідермісу та сполучних структур алергенами і формування різноманітних запальних явищ. Первинною стадією алергічної реакцією саме клітинного типу є пряма взаємодія між сенсibiliзованими лімфоцитами з алергеном на поверхні сенсibiliзованих клітин. Цей тип реакції з'являється у відповідь на мікробні антигени і може виникати у зв'язку з очищеними білками та простими хімічними речовинами [4, 7].

У кожної людини, що хворіє на БА, можна виявити присутність навіть не одного, а кількох патогенетичних механізмів.

БА можна фактично віднести до фазових захворювань. Адже вона містить в собі так звані фази: деградації, спокою, а також стабілізації. Зазвичай їх не називають стадіями, адже стадії виходили б одна з іншої (тобто

зливались між собою). У випадку БА спостерігається рівень тяжкості захворювання, а не стадії. Тут немає чіткого відношення між самим нападом, структурними змінами та певними симптомами. Напади БА можуть супроводжуватися різноманітною симптоматикою з невеликими незворотніми структурними змінами. Збільшення функціональних розладів, в свою чергу, поєднується з легкими структурними змінами [4].

1.1.6 Перебіг захворювання

Інфекційно-алергічний тип характеризується тривалим розвитком, починаючи з 30-річного віку, і пов'язаним із гострим та хронічним запальним захворюванням і розвитком ураження бронхолегеневого апарату, носу і придаткових пазух. Початок цієї форми БА подібний до класичного початку хвороби, проте вона має нечіткий і початок, і кінець. Ядуха може тривати від декількох днів до декількох тижнів. Присутній постійний кашель, який супроводжується виділенням слизово-гнійного харкотиння, що важко відокремлюється. Бронхолітики досить повільно зменшують напад. Поза судомами завжди чути сухі потріскування [12].

Атопічна форма має таку характеристику: ранній розвиток хвороби (перші 10 років), генетична обтяженість, наявність алергічних проявів. Епізоди швидко зникають, часто стихають (особливо в перші 5-10 років життя), мають легкий перебіг, напади задухи та ускладнення рідкісні, напади зазвичай класичні та швидко послаблюються симпатоміметичними препаратами. Під кінець з'являється кашель, який закінчується виділенням слизової цупкої мокроти [13].

1.2 Вплив персистуючих вірусних інфекцій на перебіг бронхіальної астми

Персистенція, що з латинської означає тривале зберігання патогенних

вірусів в організмі людини, може призводити до захворювання або залишатися без наслідків. Вчені підтвердили, що майже всі віруси здатні до формування і підтримки персистенції в організмі. Механізми виникнення та активації вірусу з персистоючого стану були об'єктом досліджень. Виявлено, що на початковій стадії інфекційного процесу вірус зберігається у комплексі антиген-антитіло. Під впливом імунної системи, коли рівень специфічних антитіл зростає, вірус "приховується" у вигляді імунних комплексів. Однак це лише початок складного процесу адаптації до популяції людини, в якому важливу роль відіграють клітинні компоненти імунної системи, зокрема макрофаги, які відповідають за нейтралізацію та усунення вірусу. Неповнота процесу усунення сприяє тому, що вірусні комплекси залишаються в організмі і "переносяться" до місць постійного знаходження.[14]

1.2.1 Вплив носійства вірусу Епштейна-Барр на перебіг бронхіальної астми

Вірус Епштейна-Барра (ВЕБ) належить до родини герпесвірусів, який відомий своїми здатностями викликати множинні захворювання, включаючи захворювання дихальних шляхів. Деякі дослідження показують, що ВЕБ може бути пов'язаний з погіршенням симптомів бронхіальної астми [15].

Одне з таких досліджень, що було проведене в 2002 році, виявило, що у дітей з БА, які мають імунну відповідь на ВЕБ, більш важкі симптоми захворювання, ніж у тих, хто не має імунної відповіді на ВЕБ [16].

Інші дослідження, зокрема дослідження, проведені в 2005 та 2014 роках, показали, що у хворих на БА дорослих, які мають імунну відповідь на ВЕБ, погіршується контроль захворювання, а також збільшується частота загострень [17].

На даний час не існує конкретного лікування для вірусу Епштейна-Барр, але можна контролювати симптоми БА, зокрема збільшення частоти прийому

лікарських засобів, збільшення дози інгаляційних кортикостероїдів.

Загальною концепцією, яку можна взяти з цих досліджень, є те, що ВЕБ може бути одним з багатьох факторів, які погіршують контроль захворювання на БА, Хворі на БА, які мають імунну відповідь на ВЕБ, можуть потребувати більш інтенсивного лікування для контролю захворювання.

Дослідження ще продовжуються, для кращого розуміння механізмів погіршення симптомів бронхіальної астми при ВЕБ-інфекції, та розробки нових методів лікування та профілактики.

1.2.2 Вплив цитомегаловірусної інфекції на перебіг бронхіальної астми

Цитомегаловірус (ЦМВ) - один з найпоширеніших вірусів, який може викликати серйозні захворювання. ЦМВ є особливо небезпечним для людей з зниженою функцією імунної системи, таким як пацієнти зі СНІДом, а також для тих, у кого були пересажені органи.

Дослідження показують, що ЦМВ може мати вплив на симптоми бронхіальної астми. ЦМВ-інфекція може призводити до загострення симптомів астми та збільшення частоти гострих нападів [18]. Загалом, вплив ЦМВ на бронхіальну астму є складним та потребує додаткових досліджень.

Дослідження проведені в Ірані та Південній Кореї показали, що у пацієнтів з БА частіше виявляють ЦМВ-інфекцію порівняно зі здоровими людьми. У хворих на БА за наявності ЦМВ-інфекції частіше відбуваються загострення та спостерігається більш тяжкий перебіг захворювання [19,20].

Існують дослідження, які вказують на те, що наявність ЦМВ-інфекції не впливає на тяжкість та частоту загострень бронхіальної астми [21, 22]. У дослідженні, проведеному в Італії, не виявлено статистично значущої різниці у частоті загострень бронхіальної астми у пацієнтів з ЦМВ-інфекцією та без неї [21].

1.2.3 Вплив токсоплазмозу на перебіг бронхіальної астми

Деякі дані досліджень з визначення зв'язку між токсоплазмозом та БА свідчать про позитивний вплив лікування токсоплазмозу на симптоми БА, деякі, навпаки, про негативний.

Токсоплазмоз - інфекційне захворювання, що спричинюється одноклітинним паразитом *Toxoplasma gondii*, який може викликати захворювання у будь-яких видів теплокровних тварин та у людини [23]. Проведене в Ірані дослідження виявило у пацієнтів з БА підвищені рівні антитіл до *Toxoplasma gondii* [24]. Інші дослідження виявили, що інфекція *Toxoplasma gondii* може спричинити погіршення симптомів БА та збільшити частоту гострих нападів [25]. Встановлено позитивний вплив лікування токсоплазмозу на перебіг бронхіальної астми. Наприклад, лікування токсоплазмозу упродовж 6 тижнів знизило рівень IgE у пацієнтів з БА, що свідчить про зменшення запальної відповіді [26].

1.2.4 Вплив вірусів простого герпесу першого/другого типів на перебіг бронхіальної астми

Дослідження показали, що більшість хворих на БА характеризуються наявністю імунодефіцитного стану, що збільшує ризик зараження вірусними інфекціями [27].

Простий герпес першого та другого типів є однією з таких інфекцій. Вірус герпеса спричиняє висипання на шкірі та слизових оболонках, здатний також викликати різноманітні ускладнення. Встановлено, що у хворих на БА ризик зараження герпесом є вищим порівняно зі здоровими людьми [28].

Вплив герпесу на БА здатний спричинити запалення бронхів та збільшити ризик погіршення дихання. Крім того, герпес може знизити ефективність лікування БА та спричинити рецидиви захворювання [29].

Узагальнюючи все вищесказане можна зробити висновок, що, дійсно, БА виходить за межі медичної проблеми. Персистуючі вірусні інфекції можуть бути поширені серед хворих на БА і впливати на перебіг захворювання.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом наукового дослідження є персистенція цитомегаловірусної інфекції, вірусу Епштейна-Барр, токсоплазмозу та герпесу першого/другого у хворих на бронхіальну астму.

Досліджували за допомогою визначення наявності антитіл класу IgG до антигенів персистуючих вірусних інфекцій. Антитіла класу IgG є основним компонентом імунної системи, що утворюються під впливом антигенів в організмі. Їх наявність та рівень в крові свідчить про активну імунну відповідь на конкретний вірус чи паразита [30].

Цитомегаловірусна інфекція, вірус Епштейна-Барр, токсоплазма та вірус простого герпесу першого/другого типів можуть активувати імунну систему, провокуючи запалення в дихальних шляхах, що може призвести до посилення симптомів БА. А також можуть впливати на функцію дихальних шляхів, зменшуючи їх проникність та підвищуючи ризик розвитку астматичних нападів [31, 32].

Предмет наукового дослідження - оцінка ураженості персистуючими інфекціями хворих на БА.

Здійснено вибірку хворих на бронхіальну астму, у загальній кількості 268 осіб, які включені до клініко-епідеміологічного реєстру (КЕР) ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України».

Методи – імуноферментний аналіз з визначення антитіл класу IgG до вірусів Епштейна-Барр, простого герпесу першого та другого типів, цитомегаловірусу і токсоплазми. Статистичний метод обробки даних.

2.2.1 Імуноферментне визначення антитіл класу IgG до антигенів персистуючих вірусних інфекцій на прикладі антигенів ВЕБ

Імуноферментний аналіз (ІФА) метод дослідження, який використовується для виявлення антитіл або антигенів у зразках біологічного матеріалу, таких як кров, слина або тканини. Цей метод заснований на використанні специфічних антитіл, які здатні зв'язуватися зі специфічними антигенами

2.2.1.1 Принцип аналізу

Визначення антитіл класу IgG до антигенів ВЕБ засноване на застосуванні двоетапного методу «непрямого» твердофазного ІФА. Цей метод використовує фермент, який взаємодіє зі спеціальними антитілами, забезпечуючи виявлення або вимірювання імунної реакції на антигени ВЕБ.

Процедура включає такі кроки: спочатку, досліджуваний зразок і відповідний антиген поміщаються в лунки планшета з антитілами. Якщо антитіла присутні в зразку, вони зв'язуються з антигеном на твердій фазі. Потім лунки промиваються для видалення незв'язаних компонентів, залишаючи лише комплекси антиген-антитіло. Далі, до IgG антитіл додають моноклональні антитіла з пероксидазою хрому (кон'югат), які зв'язуються з імунними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти видаляються під час відмивки. Після цього додають перекис водню до розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), що дозволяє виявити комплекси антиген-антитіло. Інкубацію тривалістю 30 хв зупиняють, додавши стоп-реагент. За допомогою спектрофотометра вимірюють оптичну густину (ОГ) в лунках при довжинах хвиль 450/620-695 нм. Кількість антитіл прямо пропорційна інтенсивності жовтого забарвлення [33].

2.2.2 Обладнання та матеріали

- дезінфікуючий розчин
- медичні рукавички
- дозатори напівавтоматичні багатоканальні зі змінними наконечниками, що дозволяють відбирати об'єми рідини 5-300 мкл;
- дозатори напівавтоматичні одноканальні зі змінними наконечниками, що дозволяють відбирати об'єми рідини 5-5000 мкл;
- пристрій для промивки планшетів;
- дистильована вода;
- папір фільтрувальний лабораторний;
- циліндр мірний місткістю 100 і 1000 мл
- холодильник побутовий;
- спектрофотометр вертикального сканування, що дозволяє проводити вимірювання оптичної щільності розчинів в лунках при основній довжині хвилі 450 нм і довжині хвилі порівняння в діапазоні 620-655 нм; допускається вимір тільки при довжині хвилі 450 нм;
- термостат, який підтримує температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- ІФА-планшет. У кожній лунці планшету засорбований рекомбінантний (відповідно набору тест-системи) антиген вірусу.
- позитивний контроль – розчин імуноглобулінів людини, специфічних до антигену вірусу, з консервантом;
- негативний контроль – негативна сироватка крові людини з консервантом;
- розчин для розведення сироватки – буферний розчин з екстрактом молока, детергентом та консервантом;
- розчин кон'югату (готовий для використання) – буферний розчин моноклональних антитіл до IgG людини, кон'югованих з пероксидазою хрому, із стабілізаторами та консервантом;
- розчин ТМБ – розчин тетраметилбензидин, H_2O_2 , стабілізатор, консервант;

- стоп-реагент – розчин 0,5 М H_2SO_4 .

2.2.3 Рекомендації щодо збору, транспортування та зберігання зразків

Для збору крові з вени пацієнта використовують стерильну пробірку, яка повинна бути належним чином позначена та містити інформацію про ідентифікаційні дані пацієнта та дату забору зразка. Цільну кров можна зберігати протягом 24 год при температурі 2-8 °С, варто уникати її заморожування.

Сироватку або плазму крові рекомендується зберігати при 2-8 °С протягом 3 діб. Якщо потрібно зберегти їх більше, допускається заморожування при температурі -20 °С або -70 °С.

Перед використанням заморожених зразків слід розморозити і залишити при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Як зразки розмерзнуться їх рекомендовано перемішати, для досягнення однорідності. Бажано уникати повторного заморожування-розморозування досліджуваних зразків. Якщо зразки помутніли, їх можна очистити від нерозчинних домішок шляхом центрифугування при швидкості 3000 обертів за хвилину близько 10-15 хвилин. Рекомендується не брати в роботу проби які зазнали гемолізу.

Для транспортування зразків сироваток використовують ізольовані контейнери. Для цього необхідно промарковані пробірки помістити в поліетиленовий пакет, щільно закрити та покласти по центру термоконтейнера. Заморожені холодоагенти слід розкласти на дні термоконтейнера уздовж бічних стінок, а зразки сироваток покласти на них.

2.2.4 Проведення ІФА для виявлення антитіл до персистуючих вірусних інфекцій на прикладі ядерного антигена ВЕБ

1. Для початку готуємо необхідну кількість лунок для аналізу, в яких засорбований рекомбінантний антиген у нашому випадку ядерний ВЕБ (кількість досліджуваних зразків та чотири лунки для контролів), вставляємо їх в рамку ІФА-планшета;
2. Заповнюємо бланк проб;
3. Далі готуємо розчин для промивання
4. Вносимо у кожен лунку планшета по 90 мкл буферного розчину;
5. Також в кожен лунку вносимо по 10 мкл контролів специфічних до ядерного антигену ВЕБ та проби пацієнтів : А1 – позитивний контроль, В1, С1, D1 – негативний контроль, в решту лунок – досліджувані зразки. Піпетуємо суміш в лунках, важливо не допустити піноутворення, відбувається зміна кольору розчину в лунках з коричнево-зеленого на синій.

ПРИМІТКА: Дуже важливо щоб час внесення зразків не перевищував 10 хвилин при використанні усіх лунок планшета.

6. Клейкою плівкою заклеюємо стрипи, та інкубуємо близько 30 хвилин за температури 37°C.
7. Після 30 хвилин обережно знімаємо липку плівку та промиваємо лунки 5 разів з використанням автоматичного промивача або 8-канального саплера дотримуючись цих пунктів:
 - вміст лунок видаляється;
 - лунки наповнюємо по 300 мкл розчином для промивання, і залишаємо на 30 секунд;
 - аспіруємо розчин з лунок, приблизний вміст об'єму, що має лишитись це близько 5 мкл;
 - 4 рази повторюємо процедуру промивання;

- по завершенню позбавляємось зайвої зайвої вологи, виконуючі постукування планшету по фільтрувальному папері.
- 8. Вносимо по 100 мкл розчину кон'югату в лунки після промивки.
ПРИМІТКА: Для внесення конюгату використовуємо ванночку для реагентів.
- 9. Знову накриваємо стрипи липкою плівкою і інкубуємо 30 хвилин за температури 37°C.
- 10. Після 30 хвилинної інкубації знімаємо плівку та знову промиваємо лунки 5 разів.
- 11. Далі вносимо по 100 мкл розчину ТМБ в кожну лунку, важливо не торкатись дна та стінок лунок.
ПРИМІТКА: Розчин ТМБ слід вводиться при темному освітленні.
- 12. Знову інкубуємо стрипи 30 хвилин але вже в темному місці і при кімнатній температурі 18-25°C. Не використовуємо клейку плівку.
- 13. Після 30 хвилин ми зупиняємо ферментативну реакцію за допомогою Стоп-реагенту, вносимо по 100 мкл в кожну лунку. Важливо дотримуючись такої ж послідовності, як і при внесенні розчину ТМБ.
- 14. Вимірюємо за допомогою рідера ОГ в кожній лунці при довжині хвилі 450/620-695нм протягом 5 хвилин після зупинення реакції. До проведення вимірювання важливо переконавшись у чистоті зовнішньої поверхні дна лунок та відсутності бульбашок.

Процедура аналізу(рис.2.1.):

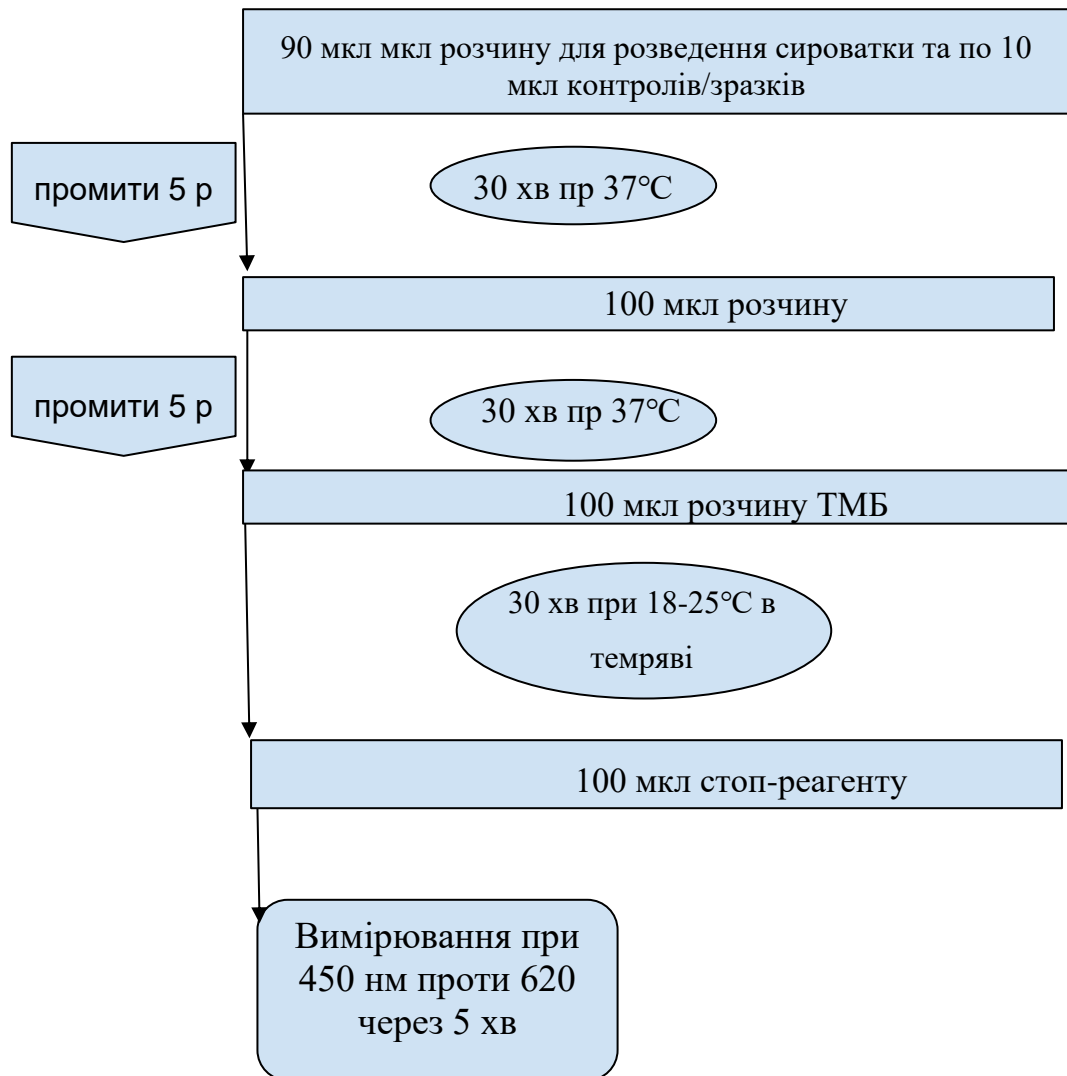


Рис.2.1. Схема проведення ІФА

2.2.5 Застереження та техніка безпеки

Перед проведенням аналізу необхідно уважно ознайомитись з інструкцією з використання, оскільки точність результатів залежить від того, наскільки точно виконуються процедури аналізу. При цьому необхідно дотримуватись деяких правил, таких як не використовувати компоненти ІФА-набору після закінчення строку придатності, не змішувати компоненти різних серій чи різних наборів з різними нозологіями, а також не використовувати реагенти інших виробників.[34].

Для досягнення найкращих результатів не рекомендується заморожувати набір та його компоненти ІФА. Після використання кожного реагенту необхідно закривати флакони за допомогою відповідних кришок. При промиванні, важливо контролювати наповнення та повну аспірацію розчину з лунок. Кожного разу для внесення зразків або реагентів необхідно використовувати новий наконечник піпетки. Необхідно уникати потрапляння прямих сонячних променів на реагенти ІФА-набору. Перед використанням розчин ТМБ має бути безбарвним. Якщо розчин має синій або жовтий колір, його не можна використовувати.[34].

Посуд, що використовується для розчину кон'югату, не може бути використаний для розчину ТМБ. Для роботи використовуйте тільки чистий, добре випраний дистильованою водою посуд. Не проводьте візуального огляду результатів аналізу без використання рідера. Будь-яке обладнання, що контактує з біологічним матеріалом або компонентами набору, вважається забрудненим і потребує очищення та знезараження. Компоненти після використання та залишки невикористаних компонентів мають бути утилізовані.[34].

2.2.6 Облік результатів та їх інтерпретація

Облік дослідних результатів, включаючи розрахунок середнього значення оптичної густини негативного контролю (N_c), встановлення рівня граничного значення (Cut off - CO) та визначення індексу позитивного зразка (IP_{sample})".

$$N_c = (N_{c1} + N_{c2} + N_{c3}) / 3; \quad CO = N_c + 0.2;$$

$$IP_{sample} = OD_{sample} / CO \quad \text{де } OD_{sample} \text{ – ОГ зразка.}$$

Тест вважають достовірними, якщо його результати відповідають вимогам, що зазначені у таблиці 2.2.1.

Таблиця 2.2.1 Значення при яких результат вважається достовірним.

Control +	$OG \geq 1,5$
Control -	$OG \leq 0,15$
Control -	$Nc \times 0.5 \leq Ncn \leq Nc \times 2.0$

Якщо будь-яке зі значенням оптичної густини негативного контролю виходить за межі вищого рівня, то це значення відхиляється, і середнє значення оптичної густини негативного контролю (Nc) розраховується беручи за основу залишкове значення оптичної густини негативного контролю. Якщо більше одного значення оптичної густини негативного контролю не відповідає вимогам, тест вважається некоректним і потребує повторного аналізу (табл. 2.2.2).

Таблиця 2.2.2 Межі результату.

$IP_{sample} > 1.1$	позитивний результат
$0.9 \leq IP_{sample} \leq 1.1$	сліпа зона(невизначений результат)
$IP_{sample} < 0.9$	негативний результат

Застосування індексу позитивності дозволяє провести напівкількісний порівняльний аналіз рівня специфічних антитіл у парних сироватках крові, які були отримані з різницею 2-4 тижні. Важливо відзначити, що індекс позитивності (IP_{sample}) в межах 1,1-7,0 пропорційного вмісту конкретних антитіл. Якщо IP_{sample} перевищує 7,0, для точної оцінки вмісту специфічних антитіл слід провести повторний аналіз зразка, який був попередньо розведений у 10 разів розчином для розведення сироваток. Якщо після повторного аналізу IP_{sample} перевищує 7,0, то для визначення остаточного результату необхідно помножити значення IP_{sample} на 10 [35].

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Результати досліджень

Статистична обробка даних показала, що значна кількість пацієнтів з бронхіальною астмою має антитіла до різних персистуючих вірусних інфекцій, таких як вірус Епштейна-Барр, цитомегаловірус, токсоплазма та герпес ½ типів.

У клініко-епідеміологічному реєстрі (КЕР) ННЦРМ було знайдено 268 осіб з діагнозом бронхіальна астма. До КЕР були також включені результати пацієнтів, що планово кожні 2 роки клініко-лабораторне обстеження. У базі даних пацієнтів, які були обстежені у лабораторії клінічної імунології та ізосерології ННЦРМ на антитіла до персистуючих інфекцій у період з 2016 по 2019 роки було виявлено лише 30 осіб.

Отже з отриманих даних, відсоток обсягу хворих на бронхіальну астму, що були обстежені на наявність персистуючих інфекції дуже малий і становить він лише 11,2% від загальної кількості хворих (рис 3.1). Це свідчить про те, що багато хворих на бронхіальну астму не проходять відповідні обстеження для виявлення цих інфекцій.



Рис.3.1. Охоплення хворих на бронхіальну астму, які були обстежені на персистуючі інфекції.

Беручи до уваги дані, представлені на рис.3.1. можна дійти висновку, що значна частина хворих на БА астму не проходить обстеження на персистуючі інфекції, що може вплинути на їхнє здоров'я та якість життя. Причиною цього може бути недостатня увага лікарів до питання виявлення персистуючих інфекцій у пацієнтів з БА, а також, можливо, недостатнє фінансування медичної системи для проведення таких обстежень.

Важливо розуміти, що персистуючі інфекції можуть призвести до загострення бронхіальної астми, погіршення її перебігу та підвищення ризику розвитку ускладнень. Тому слід зауважити, що додаткові обстеження на персистуючі вірусні інфекції хворих на бронхіальну астму є доцільним та корисним, адже це допоможе уникнути небезпеки для їхнього здоров'я. Далі будуть представлені діаграми, які надають інформацію про число хворих, що були носіями тієї чи іншої персистуючої вірусної інфекції: вірусу Епштейна-Барр, цитомегаловірусної інфекції, токсоплазмозу та простого герпесу першого/другого типів.

3.1.1 Рівень інфікованості вірусом Епштейна-Барр хворих на бронхіальну астму

Отримані дані свідчать про те, що персистуючі вірусні інфекції, зокрема вірус Епштейна-Барра, можуть бути поширеними серед хворих на бронхіальну астму. Кількість хворих, які мали антитіла до вірусу Епштейна-Барр(ядерного чи капсидного) становить 26 пацієнтів. Відносно обстежених хворих на персистуючі вірусні інфекції це дуже велика цифра. Адже вона становить більше половини, якщо бути точніше то 86,7 % пацієнтів мають антитіла до антигенів вірусу Епштейна-Барр (ядерного чи капсидного).

Це свідчить про те, що цей вірус є досить поширеним серед хворих на бронхіальну астму, і має великий вплив на їхнє здоров'я Варто зазначити, що вірус Епштейна-Барра є одним із можливих причин погіршення і в деяких випадках загострення БА. Тому обстеження та діагностика може мати важливе значення для попередження загострення та вибору оптимального підходу до лікування.(рис.3.2).

Вірус Епштейна-Барр



Рис 3.2. Відсоток хворих на БА, які мали антитіла до вірусу Епштейна-Барр.

3.1.2 Рівень інфікованості цитомегаловірусом хворих на бронхіальну астму

ЦМВ може передаватись від людини до людини через різні шляхи, включаючи слину, секрет репродуктивної системи, сечу, кров та інші.

У більшість людей, що інфікувались ЦМВ, не проявляють симптоми або мають легкі грипоподібні прояви, які швидко проходять. Однак у деяких вразливих груп населення інфекція ЦМВ може мати серйозні наслідки [36, 37].

Згідно з науковими дослідженнями, є кілька можливостей для профілактики і контролю цитомегаловірусної інфекції. Одна з них - це імунізація. Дослідження в галузі розробки вакцин проти ЦМВ тривають, і вже були досягнуті певні успіхи в цьому напрямку [38]. Крім того, дотримання гігієнічних заходів, таких як ретельне миття рук і уникати контакту з виділеннями інфікованих осіб, може бути ефективним заходом для запобігання передачі ЦМВ [39].

Для діагностики інфекції ЦМВ застосовуються методи, такі як

виявлення антитіл та полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР).

Згідно з отриманими даними, цитомегаловірусна інфекція у цій вибірці є найпоширенішою.

Лише 1 пацієнт з 30 мав негативний результат, а всі інші 29 мали діагностичні рівні антитіл. І відсоток становить 96,7% випадків (рис.3.3).

Цитомегаловірус

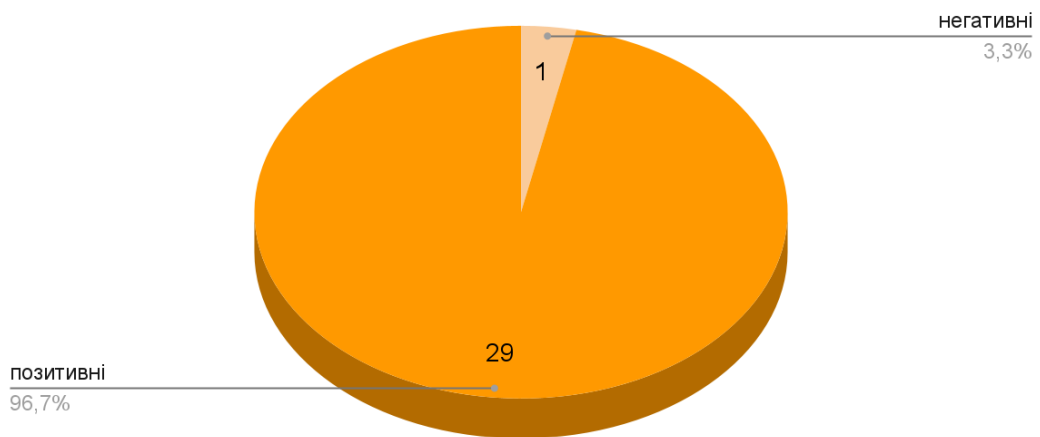


Рис.3.3. Частка хворих на БА, які мали антитіла до цитомегаловірусу.

Як ми бачимо відсоток поширеності цитомегаловірусної інфекції серед хворих на БА є дуже високим і це ще раз підкреслює важливість вивчення вірусних факторів, які можуть вплинути на розвиток та перебіг цієї хвороби.

Цитомегаловірусна інфекція може бути небезпечною для хворих на бронхіальну астму, після чого може призвести до загострення захворювання та зниження рівня функції легень. Даний вірус може викликати серйозні ускладнення у хворих зі зниженою імунною системою, що може бути проблемою для пацієнтів з бронхіальною астмою, які часто мають дефіцит імунної системи.[18]

На мою думку, систематичне обстеження хворих на БА на ЦМВ є важливим для своєчасного виявлення персистоючої інфекції та своєчасного лікування, щоби запобігти можливого розвитку ускладнень. Також можуть бути розроблені спеціальні протоколи лікування та профілактики ускладнень, спрямовані на зменшення впливу інфекції на розвиток та перебіг БА.

3.1.3 Рівень інфікованості токсоплазмою хворих на бронхіальну астму

Інфікованість токсоплазмами становить 46,7%, це лише 14 пацієнтів, які мали позитивний результат (рис.3.4).

Токсоплазмоз

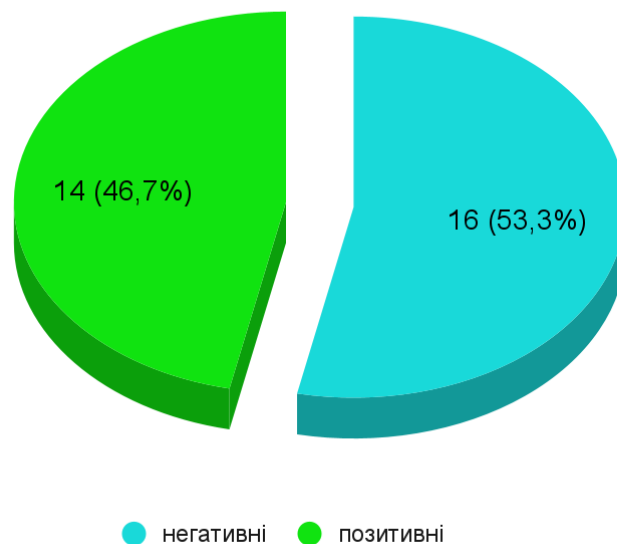


Рис.3.4. Частка хворих на БА, які мали антитіла до токсоплазми.

В принципі це був і очікуваний результат. Адже токсоплазмоз є тією інфекцією, яка передається головним чином через вживання недостатньо термічно обробленого м'яса [40]. Інші інфекції, такі як вірус Епштейна-Барр та

ЦМВ, передаються через контакт з інфікованою людиною, або повітряно-крапельним шляхом [39]. Отже, можна зробити висновок, що шлях передачі вірусних інфекцій може вплинути на їхню поширеність серед хворих на БА.

3.1.4 Рівень інфікованості вірусами простого герпесу першого/другого типів хворих на бронхіальну астму

Кількість пацієнтів, що були інфіковані вірусами простого герпесу першого/другого типів кількість пацієнтів займає середнє положення серед поширеності-66,7% (рис.3.5).

Герпесвірус



Рис.3.5. Частка хворих, які мали антитіла до вірусів простого герпесу першого/другого типів.

Досить вагомий відсоток ураження. Тому можна зробити висновки, що існує певний взаємозв'язок між наявною астмою та ураженням простим герпесом.

Один із можливих факторів, які можуть сприяти цьому зв'язку, - ослаблення імунної системи хворого на БА, що складає умови, сприятливі для інфікування вірусом простого герпесу. Слід зазначити, що деякі ліки здатні провокувати появу герпетичних висипань. Також хочу додати, що деякі дослідження показують, що інфекція вірусом простого герпесу може підвищити ризик розвитку бронхіальної астми. Хочу зазначити, хоча вірус простого герпесу може сприяти загостренню бронхіальної астми, це не є єдиною причиною розвитку цієї хвороби [28, 29].

3.1.5 Рівень інфікованості мікстами вірусів хворих на бронхіальну астму

Згідно отриманих даних лабораторії клінічної імунології і ізосерології ННЦРМ (2016-2019 рр.) було помічено, що персистуюча ВЕБ-інфекція у більшості випадків (83%) утворювала комбінації з іншими збудниками захворювань, так звані, мікси.

Міксити або мікси вірусів - це комбінації двох або більше вірусів, які можуть існувати взаємодіючи між собою [43]. Ці мікси можуть призводити до появи нових хвороб або погіршення клінічного перебігу вже існуючих захворювань, в нашому випадку такого захворювання як бронхіальна астма .

Міксити вірусів можуть виникати в результаті спільного зараження однієї особи кількома різними вірусами або через перенесення вірусів від однієї людини до іншої [44]. Наприклад, у випадку з вірусом Епштейна-Барр, мікси вірусів можуть включати також вірус цитомегалії, простий герпес або токсоплазму [45].

Хочу зауважити, що дослідження впливу мікстів вірусів, таких як Епштейна-Барр, цитомегаловірусу, простого герпесу та токсоплазми, на здоров'я людей з хронічними захворюваннями, такими як бронхіальна астма, можуть бути особливо важливими, оскільки ці захворювання можуть впливати на функцію дихальних шляхів та сприяти розвитку інших ускладнень

Зокрема, отримані дані показують, що найчастіше спостерігається мікст вірусів Епштейна-Барр, цитомегалії, простого герпесу та токсоплазм. (рис.3.6)

Це означає, що в більшості випадків, коли виявляються антитіла до вірусу Епштейна-Барр, супутньо спостерігається наявність інших вірусів, що можуть бути причиною супутніх захворювань.

Аналізуючи дані я дійшла висновку, що комбінація Епштейна-Барр+цитомегаловірус+простого герпесу+токсоплазм є найпоширенішою та займає перше місце адже рівень інфікування дорівнює 46,7 %(12 хворих з усієї вибірки).

Наступною за частотою виявлення була комбінація вірусів Епштейна-Барр+цитомегаловірус. Ця комбінація також є досить поширеною і може свідчити про супутнє захворювання, що викликано цими вірусами. Рівень інфікування сягає 33,3,% (9 хворих з усієї вибірки)

Комбінація Епштейна-Барр+цитомегаловіруси+віруси простого герпесу посіла третє місце за частотою виявлення. Рівень інфікування сягає 20% (5 хворих з усієї вибірки)

Змішані інфекції

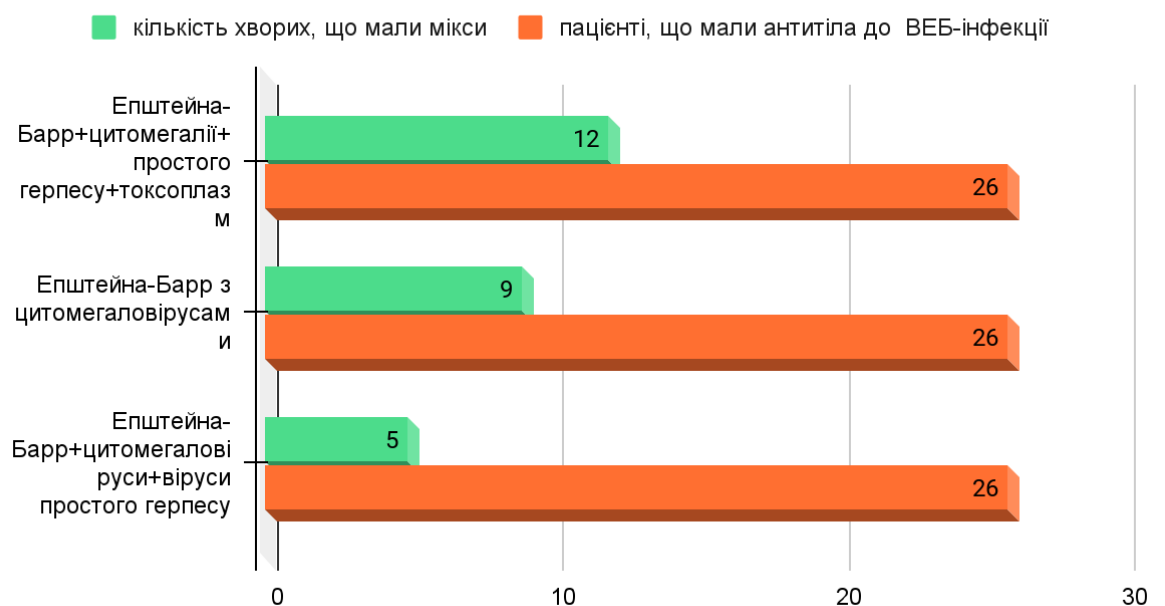


Рис. 3.6. Змішані інфекції

Міксти вірусів, включаючи Епштейна-Барр, цитомегаловірус, герпес першого та другого типів і токсоплазми, може мати значний вплив на перебіг БА, сприяючи запальному процесу в дихальних шляхах, погіршувати симптоми та збільшувати частоту загострень бронхіальної астми [46 - 48].

Найпоширенішою інфекцією виявилась цитомегаловірусна (96,7%). Далі в порядку спадання, вірус Епштейна-Барр (86,7%), вірус простого герпесу першого та другого типів (66,7 %); найменш поширеним виявився токсоплазмоз (46,7%) (рис.3.7).

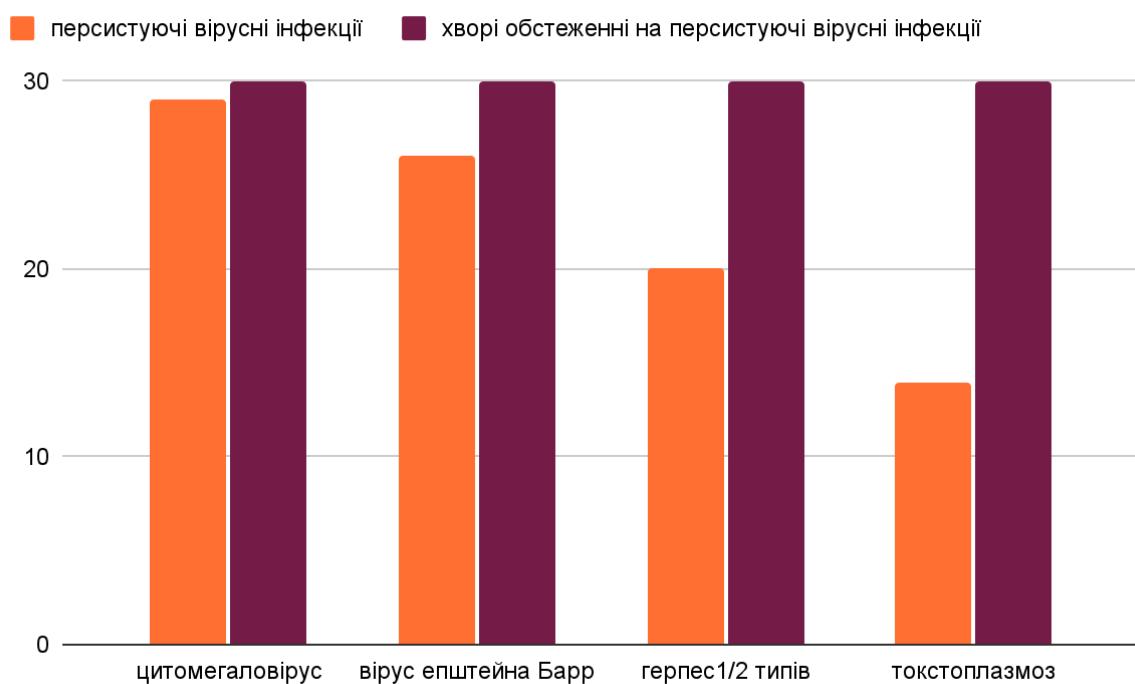


Рис. 3.7. Рівень інфікованості персистуючими інфекціями хворих на бронхіальну астму.

Результати проведеного дослідження вказують на достатньо високий відсоток інфікування. Практично кожен пацієнт, хворий на БА, мав ту чи іншу персистуючу інфекцію. Слід зазначити, що це дослідження не є еталонним, адже вибірка пацієнтів дуже мала, лише 30 осіб, які були обстежені у конкретному закладі. Вважаю, що результати дослідження, проведених у

більшій кількості пацієнтів на носійство персистуючої інфекції, також будуть вражаючими.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз даних літератури та результати проведеного дослідження підтверджують важливість проблеми у з'ясуванні ролі персистуючої інфекції у розвитку і перебігу БА, здатної ускладнювати розвиток та перебіг основного захворювання.

Імунологічна складова бронхіальної астми є ключовим фактором у розвитку та проявах цього захворювання. БА виникає через взаємодію різних компонентів імунної системи, зокрема вроджених і набутих імунних механізмів. Вірусні інфекції, можуть провокувати або погіршувати запальну відповідь у дихальних шляхах, сприяючи розвитку астматичних симптомів. Це стосується особливо дітей, оскільки їхня імунна система ще не повністю сформована і менш стійка до впливу вірусів [49].

Молекулярна складова виникнення та розвитку БА також є важливою для розуміння механізмів захворювання. Дослідження показують, що віруси можуть активувати та впливати на експресію генів, що викликають запальну відповідь у дихальних шляхах [50].

Наприклад, інтерферони, які виробляються в організмі під час вірусної інфекції, можуть активувати імунні клітини, такі як Т-клітини та Б-клітини, і сприяти розвитку запального процесу в дихальних шляхах. Крім того, віруси можуть сприяти збільшенню продукції протизапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-10, які можуть пригнічувати активність ефекторних клітин і знижувати запальну відповідь [51].

Окрім того, віруси можуть сприяти збільшенню проникнення алергенів через епітеліальний бар'єр, що також може поглиблювати запалення та гіперреактивність бронхів [52].

Отже, імунологічна та молекулярна складова бронхіальної астми, що стосується персистуючих вірусних інфекцій, є досить складною та взаємопов'язаних і на мою думку розуміння цих механізмів допоможе у

розробці більш ефективних методів діагностики, профілактики та лікування бронхіальної астми.

Існує кілька трендів у зміні захворюваності бронхіальної астми. Про це свідчать дослідження, проведені протягом останніх років.

Одним з головних трендів є збільшення загальної кількості випадків астми серед населення. За даними Центру контролю та профілактики захворювань США (CDC), з протоколу Центру статистики захворюваності на астму, за останні роки спостерігається стійке зростання числа хворих [53].

Другим трендом є зміна показників захворюваності серед різних вікових груп. В даний час спостерігається збільшення кількості випадків астми серед дітей та молодих дорослих. Захворюваність серед цих груп особливо зростає у високорозвинених країнах, де фактори ризику, такі як забруднення повітря, негативно впливають на стан дихальної системи [54].

Третім трендом є зміна у географічному розподілі захворюваності. Дослідження, проведені у різних країнах, вказують на те що існує певна регіональна варіація захворюваності на БА. Наприклад, дослідження, проведені в Європі, показали, що країни з високим рівнем забруднення повітря мають вищу поширеність астми серед населення[55].

Також варто відзначити, що зміна клімату може вплинути на поширеність астми, погіршитися кількість алергенів, таких як пилок рослин, які можуть спровокувати астматичні приступи. [56]

Основні причини зміни захворюваності на бронхіальну астму в останні роки пов'язані з надмірними факторами. Перш за все, зростання нападу астми може бути пов'язане зі збільшенням впливу забруднення повітря населеними районами. Засмічене повітря містить шкідливі речовини, такі як сажа, гази, аерозолі, які можуть подразнювати дихальні шляхи та сприяти розвитку астми Крім того, зміни у способі життя та дієті також можуть вплинути на захворюваність. Сучасний спосіб життя, пов'язаний із зменшенням фізичної активності, сильним споживанням оброблених продуктів та поганою якістю

харчування, може сприяти появі астми [57]. Крім того, певні харчові алергени можуть бути провокаторами астматичних приступів у вразливих осіб

На сьогоднішній день ми можемо спостерігати, що персистуючі вірусні інфекції можуть бути поширені серед хворих на БА. Результати дослідження показали, що хворі на БА мають високу інфікованість вірусами Епштейна-Барр та цитомегаловірусом, з відповідними показниками 86,7 % та 96,7 %. Віруси простого герпесу та токсоплазмозу були менш поширеними, з показниками відповідно 66,7 % та 46,7 %.

Крім того, також були виявлені комбінації вірусів (міксти).

Комбінація Епштейна-Барр+цитомегаловірус складала 33,3%, що робить її другою за частотою комбінацією.

Найбільш поширеною комбінацією була Епштейна-Барр+цитомегаловіруси+віруси простого герпесу та токсоплазма, що складала 46,7 %.

Дослідженням було встановлено, що у пацієнтів з БА виявляють міксти вірусів Епштейна-Барр, цитомегалії та простого герпесу значно частіше, ніж у здорових осіб [58].

Вірус Епштейна-Барр, як відомо, може викликати різноманітні захворювання дихальних шляхів, в тому числі гострий фарингіт, гострий тонзиліт, гостру респіраторну інфекцію та пневмонію [59]. Цитомегаловірус також може спричиняти захворювання дихальних шляхів, включаючи пневмонію та бронхіоліт. Простий герпес викликає простуду, яка також може сприяти розвитку БА [60].

Отже, результати проведеного дослідження свідчать про високу поширеність вірусного носійства, особливо вірусів Епштейна-Барр та цитомегаловірусу серед хворих на БА, а також про можливі комбінації інших вірусів у певних випадках.

Хоча вірус простого герпесу та токсоплазмоз були менш поширеними, їхнє виявлення може мати важливі наслідки для лікування хворих на бронхіальну астму, оскільки вони можуть призвести до подальшого

загострення захворювання та погіршення стану хворого.

Загалом, результати дослідження підкреслюють важливість ретельного моніторингу стану здоров'я хворих на БА та діагностики вірусних інфекцій, що можуть сприяти загостренню захворювання.

Для попередження розвитку та загострення вірусних інфекцій серед хворих на БА, важливо дотримуватися заходів профілактики, таких як регулярне миття рук, уникнення контакту із зараженими людьми, вакцинація.

Безумовно, лікарі мають враховувати можливість існування вірусної інфекції при призначенні лікування хворих на БА. У таких випадках необхідно передбачити не тільки засоби лікування астми, але й противірусні препарати, які зменшують ризик розвитку інфекції та загострення захворювання.

У підсумку, результати проведеного дослідження з виявлення вірусних інфекцій серед хворих на БА свідчать про необхідність подальшого, більш детального вивчення стану вірусної персистенції, що надасть можливість попередити загострення БА або ж полегшити стан вже інфікованого, і таким чином сприятиме оптимізації методів лікування та профілактики серед вказаного контингенту.

Отримані результати дають нам змогу зрозуміти, що дійсно поширення персистуючих вірусних інфекцій у людей хворих на БА показує високий відсоток. І ці результати підтверджують мою думку, що планові огляди, які проходять пацієнти з БА мають містити в собі, також обстеження на персистуючі вірусні інфекції. Обстеження на ці інфекції в плані профілактики, або виявлення їх у хворого, дасть змогу попередити загострення БА або ж полегшити симптоми, якщо хворий вже інфікований.

ВИСНОВКИ

1. В клініко-епідеміологічному реєстрі ННЦРМ було виявлено 268 пацієнтів, які мають діагноз- бронхіальна астма.
2. Тільки 30(11,2%) осіб з діагнозом бронхіальна астма були обстежені на наявність антитіл класу IgG до персистуючих інфекцій. Це свідчить про малу увагу медичних працівників до цієї проблеми.
3. В результаті серед хворих на бронхіальну астму найбільше антитіл класу IgG мали до цитомегаловірусу 96,7%. Далі за частотою виявлення йдуть вірус Епштейн-Барр 86,7%, віруси простого герпесу першого та другого типів 66,7% і токсоплазмоз 46,7%.
4. Під час статистичної обробки даних було виявлено мікси вірусів. З яких найчастіше спостерігалась комбінація вірусів Епштейна-Барр+цитомегаловірусу+простого герпесу+токсоплазм 46,7 %; другою за частотою був міксит вірусів Епштейна-Барр з цитомегаловірусами – 33,3 %, найменше по частоті виявлення була комбінація Епштейна-Барр+цитомегаловіруси+вірус простого герпесу, результат якої становить 20%.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бронхіальна астма URL: <http://ur.co.ua/54/3182-5-bronhial-naya-astma.html>(дата звернення 15.10.2022)
2. Бендас В.В. Буковинський державний медичний університет, м.Чернівці, Україна Персистенція вірусів в організмі людини та її роль в патології безпліддя
URL:http://www.rusnauka.com/35_NOBG_2013/Biologia/6_152655.doc.htm (дата звернення 17.10.2022)
3. П.Г. Кравчун, В.Д. Бабаджан, О.М. Шелест та ін МОДУЛЬ 1. Клінічна імунологія та алергологія. Тема 9. Бронхіальна астма: клінічні, імунологічні та лікувальні аспекти : метод. вказ. для студентів та лікарів-інтернів, Харків : ХНМУ, 2013. – 28 с
4. Інструкція про діагностику, клінічну класифікацію та лікування бронхіальної астми
URL:http://www.ifp.kiev.ua/doc/staff/dodat2_311_301299.htm (дата звернення 19.10.2022)
5. Регеда М.С., Регеда М.М., Фурдичко Л.О., Колішецька М.А.,Мироненко С.І.Бронхіальна астма. Монографія.–Вид.п'яте, доп. та перер.–Львів, 201.-С. 7-136.
6. Чучалін А.Г. Бронхіальна астма 2т ред. М.: Агар, 1997.С. 303–329
7. Tattersfield AE, Postma DS, Barnes PJ, Svensson K, Bauer CA, O'Byrne PM, et al. Exacerbations of asthma: a descriptive study of 425 severe exacerbations. The FACET International Study Group. Am J Respir Crit Care Med. 1999 May;160(5 Pt 1):594-9.
8. Murphy VE, Gibson PG. Asthma in pregnancy. Clin Chest Med. 2011 Sep;32(3):345-64.
9. Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, Vora H, Thomas D, Berhane K, et al. The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age N Engl J Med. 2004 Apr 8351(11):1057-67.

10. Vollmer WM, Markovitz EJ, Buist AS, McBurnie MA. Respiratory symptoms and lung function in relation to employment in an industrial setting. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Mar;143(3):507-13.
11. Boulet LP, FitzGerald JM, Reddel HK. The revised 2014 GINA strategy report: opportunities for change. *Curr Opin Pulm Med.* 2015 Jan;21(1):1-7.
12. Я.І. Федоню, Л.С Білик, Н.Х Микул. *Анатомія та фізіологія з патологією.* Тернопіль 2001. – 680с
13. Дикий Б.В., Росток-Резнікова Б.В. Немедикаментозні методи в реабілітації хворих на бронхіальну астму. Ужгород – 2013 37с.
14. Персистенція URL: <https://www.vz.kiev.ua/bomba-z-godinnikovim-mexanizmom/> (дата звернення 29.10.2022)
15. Вірусна інфекція Епштейна — Барр: гострі та хронічні прояви Шургая М. Редакція журналу «Український медичний часопис»
16. Tseliou E., et al. Epstein-Barr virus infection is not a major cause of severe asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol.* 2002
17. Johnston SL, et al. The role of viral infections in asthma and asthma exacerbations. *Lancet.* 2005. Cosmi L, et al. Asthma and infectious diseases. *Allergy.* 2014;69(10):1240-53.
18. Цитомегаловірусна інфекція URL: <https://kiai.com.ua/ua/archive/2006/3%284%29/article-52/citomegalovirusna-infekciya> (дата звернення 25.12.2022)
19. Yazdani, R., Ganjalikhani Hakemi, M., Eslaminejad, A., Sankian, M., & Varasteh, A. (2017). Cytomegalovirus Infection in Patients with Severe Asthma. *Tanaffos*, 16(1), 29-34.
20. Kim, S. H., Cho, B. Y., Park, C. S., Lee, J. H., Kim, T. B., Moon, H. B., ... & Park, J. S. (2015). Detection of cytomegalovirus DNA in peripheral blood leukocytes in asthmatic patients. *Annals of allergy, asthma & immunology*, 114(1), 40-44.e2.
21. Contoli, M., Message, S. D., Laza-Stanca, V., Edwards, M. R., Wark, P. A., Bartlett, N. W., ... & Johnston, S. L. (2006). Role of deficient type III

- interferon- λ production in asthma exacerbations. *Nature medicine*, 12(9),
22. Morikawa, K., Watanabe, M., Kanno, T., Tanno, Y., Takahashi, H., & Sakamoto, T. (2000). Cytomegalovirus infection and asthma exacerbation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105(5), 983-986.
23. Свінціцький А. С Гаєвські П. Внутрішні хвороби. Підручник, заснований на принципах доказової медицини 2018/19 1632с.
24. Fallah, E., Mahdavi, M., Badfar, G., & Soufizadeh, N. (2017). The relationship between *Toxoplasma gondii* infection and asthma. *Tropical Parasitology*, 7(1), 29–32.
25. Kojima, M., Matsui, K., Ishizuka, T., Sakamoto, T., Ohshima, N., Tashiro, H., & Nagai, H. (2008). *Toxoplasma gondii* infection enhances airway hyperresponsiveness in BALB/c mice. *Parasitology Research*, 103(5), 1091–1096
26. Yang, X. F., Guo, J., Chen, P., Sun, H., Wu, C. H., & Yan, B. R. (2014). Effect of treatment of *Toxoplasma gondii* infection on bronchial asthma. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 8(6), 1877–1881
27. Busse WW, Lemanske RF Jr, Gern JE. Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations. *Lancet*. 2010;376(9743):826-834
28. Cookson WO, Moffatt MF. Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(10):635-644.
29. Jartti T, Bønnelykke K, Elenius V, et al. The role of viruses in asthma. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(8):478-488.
30. Casadevall A, Pirofski LA. Antibody-mediated regulation of cellular immunity and the inflammatory response. *Trends Immunol*. 2003 Sep;24(9):474-8.
31. Djukanović, R., Harrison, T., Johnston, S. L., Gabbay, F., Wark, P., Thomson, N. C., ... & Holgate, S. T. (2006). The effect of inhaled IFN- β on worsening of asthma symptoms caused by viral infections. A randomized trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 173(11), 1090-1094.

32. Ong, E. K., Sutton, P., Bowden, N. A., & Walker, C. (2018). The immune response to respiratory bacteria in asthma. *Mucosal immunology*, 11(3), 784-797.
33. Харківський Національний Медичний Університет. "Методи клінічно-імунологічних досліджень." Харків, 2011р. - 550 с
34. Імунодіагностика: методичні вказівки / Укл. Н.І. Макаренко. - Харків: ХНМУ, 2011. - 18 с
35. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Annex 3. Collection, storage and shipment of specimens for laboratory diagnosis and interpretation of results//Geneva: World Health Organization; 2012 Dec
36. Цитомегаловірусні інфекції URL: <https://ukrayinska.libretexts.org> (дата звернення 24.04.23)
37. Центри з контролю та профілактики захворювань. «Цитомегаловірус (ЦМВ) та вроджена ЦМВ-інфекція: Про ЦМВ.» 2016.
38. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, et al. Congenital cytomegalovirus infection: The relative importance of primary and recurrent maternal infection. *J Infect Dis.* 1982
39. Griffiths PD, Stanton A, McCarrell E, et al. Cytomegalovirus glycoprotein-B vaccine with MF59 adjuvant in transplant recipients: A phase 2 randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2011
40. Токсоплазмоз URL: <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/infektsiyi/toksoplazmoz/> (дата звернення 25.04.23)
41. Епштейна — Барр вірусна інфекція URL: <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/infektsiyi/epshteyna-barr-virusna-infektsiya/> (дата звернення 25.04.23)
42. Lauring AS, Andino R. Quasispecies theory and the behavior of RNA viruses. *PLoS Pathog.* 2010 Feb 12;6(2)
43. Sánchez-Seco MP, Rosario D, Quiroz E, Guzmán G, Tenorio A. A generic nested-RT-PCR followed by sequencing for detection and identification of

- members of the alphavirus genus. *J Virol Methods*. 2001 Jul;95(1-2):153-61.
44. Gkrania-Klotsas E, Langenberg C, Sharp SJ, Luben R, Khaw KT, Wareham NJ. Association of seropositivity to herpes simplex virus type 1 with cognitive deficits in 18- to 49-year-olds: a population-based cross-sectional study. *PLoS One*. 2010 Feb 9;5(2)
45. Jackson DJ, Johnston SL. The role of viruses in acute exacerbations of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(6):1178-1187.
46. Busse, W. W., & Lemanske Jr, R. F. (2001). Asthma. *New England Journal of Medicine*, 344(5), 350-362.
47. Wark, P. A., Johnston, S. L., & Bucchieri, F. (2007). Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. *Journal of Experimental Medicine*, 201(6), 937-947.
48. Bochkov, Y. A., Hanson, K. M., Keles, S., Brockman-Schneider, R. A., Jarjour, N. N., & Gern, J. E. (2010). Rhinovirus-induced modulation of gene expression in bronchial epithelial cells from subjects with asthma. *Mucosal Immunology*, 3(1),
49. Contoli M, Message SD, Laza-Stanca V, et al. Role of deficient type III interferon-lambda production in asthma exacerbations. *Nat Med*. 2006;12(9):1023-1026.
50. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ*. 1995;310(6989):1225-1229.
51. Jackson DJ et al. (2012). Viral infections and asthma: an inflammatory network. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 125(5), 1020-1034.
52. Центр контролю та профілактики захворювань США (CDC). "Астма - Дані та статистика." Доступно за посиланням: <https://www.cdc.gov/asthma/asthmadata.htm>
53. Глобальна ініціатива проти бронхіальної астми (GINA). "Звіт про світову астму 2022. URL:<https://ginasthma.org/pocket-guide-for-asthma-management-and-prevention/> (дата звернення 25.03.2023)

54. Доклінг К.М., Коган Ф.М., Іщук В.А. та ін. "Оцінка впливу забруднення повітря на хворобливість дітей на бронхіальну астму." Український пульмонологічний журнал. 2017; 2 (58): 56-60.
55. D'Amato G, Vitale C, De Martino A, Viegi G, Lanza M, Molino A, Sanduzzi A, Vatrella A, Annesi-Maesano I, D'Amato M. Effects on asthma and respiratory allergy of Climate change and air pollution. *Multidiscip Respir Med.* 2015 Dec 22;10:39.
56. Дикий В.М., Ванцян О.О., Зацарний В.І. та ін. «Вплив забруднення повітря на здоров'я населення». Український медичний альманах. 2019; 22 (3): 21-25.
57. R. T. Rockett et al., "Viral infections in exacerbations of asthma in children," *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, vol. 13, no. 5, pp. 449-453, Oct. 1983
58. M. A. Epstein and B. G. Achong, "The EB virus," *The Lancet*, vol. 297, no. 7713, pp. 956-960, May 1971
59. R. E. Williams, "Cytomegalovirus," in *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, R. D. Feigin and J. D. Cherry, Eds. Philadelphia, PA: Saunders, 1981, pp. 1096-1102.
60. Graham BS, Snell JD Jr. Herpes simplex virus infection of the adult lower respiratory tract. *Medicine (Baltimore)*. 1983 Nov;62(6):384-93.