

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНП «ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО»

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

НАДІЖКО ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА

УДК: 616.988:[578.834.1+578.825.11]-001-008.6-092.19

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОЦІНКА СТАНУ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ЗА УМОВ ПОСТКОВІДНОГО
СИНДРОМУ ТА ПОСТТРАВМАТИЧНОГО СТРЕСОВОГО РОЗЛАДУ З
АКТИВАЦІЄЮ ГЕРПЕСВІРУСУ 6 ТИПУ**

галузь знань: 22 - Охорона здоров'я

спеціальність: 222 - Медицина

подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.М.Надіжко

Науковий керівник: Зубченко Світлана Олександрівна, доктор медичних наук, професор кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»

ЛЬВІВ – 2026

АНОТАЦІЯ

Надіжко О. М. Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина – ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» Міністерства охорони здоров'я України, Львів, 2026.

Дисертаційна робота присвячена оцінці стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому (Post COVID-19 condition, PCC, U09.9 за МКХ-10) та посттравматичного стресового розладу (ПТСР) з активацією герпесвірусу людини 6 типу (HHV6), оптимізації діагностики зумовленої герпесвірусом імунопатології і підбору відповідної терапії.

Медико-соціальна значущість питання підкреслюється тим, що близько 30% людей після гострого COVID-19 (в т.ч. безсимптомного), відмічають певні порушення, які тривають 12 і більше тижнів, не пояснюються альтернативним діагнозом і верифікуються як постковідний синдром. Водночас у період повномасштабної війни зростає кількість пацієнтів з ПТСР. В основі формування ПТСР лежать нейроендокринні та імунні порушення, що призводять до дисрегуляції імунної відповіді. Після перенесеного COVID-19 і під впливом стресу відбувається реактивація імунотропних вірусів, зокрема - герпесвірусу людини 6 типу. Зміна імунної відповіді за умов PCC і ПТСР на тлі реактивованого HHV6 може стати причиною маніфестації імунопатологічних синдромів і тяжких системних захворювань. Поряд з цим існують суперечливі дані та певна обмеженість інформації щодо стану імунної відповіді у пацієнтів з PCC, ПТСР і їх коморбідністю за умов активації HHV6, а також щодо необхідності призначення противірусної та імуномодуючої терапії.

Таким чином, велика кількість імунокомпрометованих осіб з PCC і ПТСР на тлі реактивації латентних імунотропних герпесвірусів, зокрема HHV6, і низка

дискутабельних питань, які на цей момент залишаються відкритими і потребують додаткового вивчення, обумовили актуальність даного дослідження.

Метою роботи є вивчення особливостей імунної відповіді за умов постковідного синдрому, ПТСР і їх комбінації тлі ННV6-інфекції, розробка терапевтичної тактики ведення таких пацієнтів і прогнозування ризику формування імунопатологічних синдромів.

Дане дослідження за своїм дизайном є когортним проспективним і складалось з 4-х основних етапів.

Для формування групи дослідження проводився клінічний огляд пацієнтів із стратифікацією за наявними симптомами, що вперше з'явилися після перенесеного COVID-19 і не були пояснені альтернативними діагнозами і/або після перенесеного стресу і наявністю післястресових розладів, тривалістю більше 1 місяця. З цією метою була розроблена і затверджена авторська «АНКЕТА КЛІНІЧНИХ ДАНИХ» (Додаток 1.1), яка містила детальну інформацію щодо анамнезу пацієнта, скарг, симптомів тощо. Верифікацію ПТСР здійснювали на підставі опитувальника - Department of Health and Human Services, USA, guideline PTSD Revised 2020 (Додаток 1.2).

Були використані наступні методи дослідження: клінічні (анамнестичний, анкетування, огляд); загальноклінічні лабораторні (загальний аналіз крові, біохімічне обстеження); молекулярно-генетичні (ПЛР у трьох біологічних середовищах), імуноферментний аналіз (визначення специфічних антитіл до ННV6), метод проточної цитометрії, статистичні методи для обробки отриманих результатів з використанням програмного забезпечення STATISTICA for Windows, версія 23 (TIBCO Software Inc., США).

Було обстежено 124 пацієнти з постковідним синдромом, яких залежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі (легкий, середньої тяжкості та тяжкий) та наявності реактивованого ННV6 поділили на підгрупи (по 20 осіб). Було обстежено 79 пацієнтів з ПТСР і виділено дві групи: 20 пацієнтів з реактивацією ННV6, 26 пацієнтів – без реактивації ННV6. Додатково виокремили дві групи пацієнтів з поєднаною патологією РСС та ПТСР (20 пацієнтів з реактивацією

HHV6, 3 пацієнти без реактивації HHV6). Контрольну групу склали 20 здорових осіб без реактивації HHV6. За віковим розподілом пацієнти дослідних груп вірогідно не відрізнялися і були порівнювані. В усіх групах більша частина пацієнтів знаходилася у молодій і середнього віку категоріях 26-65 років (відповідно по 40,0% і 50,0%).

На першому етапі виявили, що у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 найчастішими скаргами були: постійна втома та підвищена втомлюваність – у 100,0% осіб, порушення сну – 85,5%, підвищене потовиділення та болі в голові у 85,5,0%, порушення мобільності та байдужість, тривожність, депресивні думки – у 80,6%, порушення пам'яті та зниження концентрації уваги у 69,4% пацієнтів. Меншою мірою в пацієнтів з ПТСР спостерігались субфебрилітет і тахікардія – у 45,0%, задишка – у 35,0%, випадіння волосся і кашель - по 30,0%, стиснення в грудній клітці – у 10,0% пацієнтів та інші скарги. При загальному лабораторному обстеженні крові в пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 визначено зниження рівнів сегментоядерних лейкоцитів ($p=0,0183$), лімфоцитів ($p=0,0368$) і підвищення рівнів моноцитів ($p=0,0001$), а також ШОЕ ($p=0,0009$) порівняно з контрольною групою здорових осіб. Порівняльний аналіз імунологічних показників серед груп дослідження продемонстрував, що у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 відносна кількість $CD56^+$ НК клітин була вірогідно нижчою порівняно з контролем ($p<0,022$), а кількість Т клітин ($CD3^+$) клітин проявляла тенденцію до зниження порівняно з контролем ($p=0,298$). Кількість $CD4^+CD25^+127^-$ клітин (Т-регуляторних клітин, Т-reg) у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 була вірогідно вищою порівняно з особами контрольної групи ($p=0,019$), але нижчою від цього показника у пацієнтів без реактивації вірусу ($p=0,017$). Спостерігалась тенденція до зниження кількості $CD4^+$ та $CD8^+$ у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV-6 порівняно з групою без реактивації HHV6 і контролем. Однак кількість $CD19^+$ у пацієнтів з реактивацією HHV6 була нижчою ($p=0,626$) порівняно з контрольною групою і незначно вищою порівняно з пацієнтами без реактивації HHV-6. Отже, кількість основних популяцій лімфоцитів ($CD3^+$, $CD19^+$, $CD56^+$) і субпопуляцій Т лімфоцитів при

ПТСР з реактивацією HHV6 була нижчою щодо контролю і групи без реактивації HHV6, за винятком CD4⁺CD25⁺127⁻ клітин, що вказувало на пригнічення клітинного імунітету, розбалансування хелперно-супресорного типу регуляції і підвищення ризику автоагресії за гуморальним і цитотоксичним механізмами.

На другому етапі проведена оцінка клінічних характеристик, загальнолабораторних та імунологічних показників пацієнтів з РСС з/без реактивації HHV6 після легкого, середнього і важкого перебігу COVID-19 в анамнезі. Виявлено, що у пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 найчастішими скаргами були: підвищена втомлюваність у 100,0 % осіб, порушення сну, постійна втома та підвищене потовиділення у 85,0 %, порушення мобільності, болі в голові та втрата нюху у 80,0 %, кашель і порушення пам'яті та уваги у 70,0 % пацієнтів. У половини пацієнтів (50,0%) спостерігались байдужість, тривожність, депресія та меншою мірою від 15,0 % до 45,0% були скарги на стиснення в грудній клітці, втрату смаку, випадіння волосся та інші скарги. При загальному лабораторному обстеженні крові в пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 визначено вірогідне зниження рівнів сегментоядерних лейкоцитів (p=0,0001) і підвищення рівнів лімфоцитів і моноцитів (p=0,0001), а також ШОЕ (p=0,0001) порівняно з контрольною групою здорових осіб. Зміни імунологічних показників порівнювали в групах залежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі та реактивації HHV6. У пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 в цілому виявлено, що при усіх формах перебігу COVID-19 кількість CD3⁺ клітин і CD56⁺ NK клітин були нижчими порівняно з пацієнтами без реактивації HHV6 та контролем. Однак, вірогідно нижчі показники були у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6. Рівні клітин були вірогідно нижчими - CD3⁺ (p=0,009), CD56⁺ (p=0,0001), CD4⁺ (p=0,045), CD8⁺ (p=0,008) і CD4⁺25⁺127⁻ (p=0,008) порівняно з контролем. Отже при реактивації HHV-6 поглиблювався Т клітинний дефіцит, що виник після перенесеного, особливо важкого перебігу COVID-19. Визначене зменшення кількості Т-reg клітин у пацієнтів з реактивацією HHV6 у постковідний період підтверджувало

припущення про роль «біфазності» T-reg у розвитку глибшої імунопатології за умов HHV-6.

Водночас на тлі реактивації HHV6 спостерігалось підвищення CD19⁺ клітин після легкого (p=0,004), середнього (p=0,002) і тяжкого (p=0,0001) перебігу COVID-19 в анамнезі порівняно з пацієнтами з РСС без реактивації герпесвірусу і значуще підвищення порівняно зі здоровими особами контрольної групи.

Перша частина третього етапу (III-a) полягала у вивченні експресії системи рецептор/ліганд Fas/FasL на цитотоксичних НК у пацієнтів з ПТСР з/без реактивації HHV6. Встановлено, що на цитотоксичних НК у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 експресія Fas (CD56⁺95⁺) була нижчою (p=0,165), а експресія CD56⁺178⁺ (FasL) вірогідно нижчою (p=0,047) показників контрольної групи та з тенденцією до підвищення порівняно з групою без реактивації HHV6. Дисфункція системи Fas/FasL призводить як до розладів протівірусної імунної відповіді, так і до посилення нейрозапалення. У пацієнтів з ПТСР і реактивацією HHV6 загальна кількість НК (CD56⁺) була вірогідно нижчою (p=0,038) порівняно з групою без реактивації HHV6 і контрольною групою, що вказувало на пригнічення клітинного імунітету, зокрема здатності НК клітин доводити клітини-мішені до апоптозу.

У другій частині третього етапу (III-b) досліджували експресію цитотоксичних маркерів Fas (CD56⁺95⁺), FasL (CD56⁺178⁺), регуляторного маркера CD56⁺38⁺ та інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) на цитотоксичних НК клітинах у пацієнтів із РСС з/без реактивації HHV6.

Виявлено, що у пацієнтів з РСС з реактивацією HHV6 експресія CD56⁺95⁺ (Fas) була нижчою порівняно з пацієнтами без реактивації HHV6. Показники, визначені після перенесеного легкого і середнього перебігу COVID-19, є вірогідно нижчими (p<0,01) порівняно з контролем. Після тяжкого перебігу COVID-19 в анамнезі рівень експресії Fas був вірогідно нижчим порівняно з показником у пацієнтів після легкого (p<0,01) і середнього перебігу (p<0,01) і недостовірно нижчим показника у контрольній групі. Відтак, знижена експресія

CD56⁺95⁺ на NK клітинах, особливо у пацієнтів після легкого та середнього перебігу COVID-19 в анамнезі вказувала на зниження їх цитотоксичної функції щодо інфікованих клітин. Однак, після важкого перебігу вона майже дорівнювала показнику контрольної групи.

У пацієнтів із перенесеним легким COVID-19 на тлі реактивації HHV6 експресія CD56⁺178⁺ (FasL) мала тенденцію до зниження порівняно з контрольною групою, а в пацієнтів після середнього і важкого перебігу COVID-19 в анамнезі – тенденцію до підвищення порівняно з пацієнтами з РСС без реактивації HHV6 і особами контрольної групи. Щодо експресії FasL у всіх групах пацієнтів з РСС, незалежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі та контрольній групі, статистичних відмінностей не спостерігалось.

Експресія активізаційного маркера CD56⁺38⁺ на NK клітинах після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 в анамнезі з реактивацією HHV6 у всіх групах була вищою ($p < 0,01$) порівняно з контрольною групою, окрім цього, при середньому перебігу була вищою порівняно з легким ($p < 0,01$). Відтак, чим тяжчою була форма перебігу COVID-19 в анамнезі, тим збільшувалось число клітин, які експресують CD38⁺. Підвищення експресії CD38⁺ на NK клітинах пацієнтів після важкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 відображало прогресуюче виснаження імунної системи.

Експресія інгібіторного рецептора TIM-3 (CD56⁺366⁺) на NK клітинах була вірогідно нижчою незалежно від форми перебігу COVID-19 в анамнезі на тлі реактивації HHV6 порівняно з контролем, що свідчило про виснаження цих клітин. Встановлено також, що експресія TIM-3 (CD56⁺366⁺) у пацієнтів з РСС після легкого COVID-19 в анамнезі була нижчою, ніж після середнього COVID-19 ($p < 0,01$) і в п'ять разів нижчою, ніж у контрольній групі ($p < 0,01$).

Згідно отриманих результатів, у пацієнтів з ПТСР і РСС на тлі реактивації HHV-6, особливо після важкого перебігу COVID-19 в анамнезі, розвивається дисбаланс між нормальними протівірусними функціями NK, CD8⁺ клітин і їх практичною реалізацією. Таким чином, зростає ризик пошкодження структури

та функціонування ЦНС і формування імунopatологічних порушень, з великою ймовірністю – автоімунних.

Відтак, на четвертому етапі пацієнтам з реактивацією ННV-6 було запропоновано протягом 12 тижнів лікування інозин пранобексом, який чинить пряму противірусну та імуномодулюючу дію. Продемонстровано, що клінічна ефективність лікування інозин пранобексом у пацієнтів з ПТСП, РСС і коморбідною патологією ПТСП+РСС на тлі реактивації ННV6 склала 60,4%, що характеризувалось покращенням загального стану пацієнтів, зменшенням клінічних симптомів, отже – якості життя і підтверджувалось позитивними змінами лабораторних показників. Вірусологічна ефективність препарату склала - 62,9%, що підтверджене вірогідним зниженням копій ДНК ННV6 у всіх середовищах. Щодо імунологічної ефективності – у пацієнтів з ПТСП на тлі реактивації ННV6 після лікування експресія рецептора Fas (CD56⁺CD95⁺) і ліганда FasL (CD56⁺CD178⁺) на НК-клітинах збільшилась майже до рівня здорових осіб контрольної групи (p=0,003, p=0,0003, відповідно). Рівні експресії рецепторів PD-1 (CD8⁺CD279⁺) і ліганду PD-1L (CD8⁺CD274⁺) на CD8⁺ цитотоксичних лімфоцитах після лікування вірогідно підвищились (p=0,017, p=0,029 відповідно), аналогічно як і регуляторного маркера на CD4⁺ T-reg лімфоцитах (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) (p=0,029). У пацієнтів з РСС незалежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі після проведеного курсу лікування спостерігали подібні результати. Однак, вони демонстрували лише тенденцію до збільшення експресії на НК-клітинах рецептора Fas (CD56⁺CD95⁺) і вірогідного збільшення FasL (CD56⁺CD178⁺) (p=0,0002); тенденціями до збільшення на CD8⁺ - цитотоксичних клітинах рецептора PD-1 (CD8⁺CD279⁺) і PD-1L (CD8⁺CD274⁺), однак вони ще залишались дещо нижчими порівняно зі здоровими особами. Регуляторний маркер на CD4⁺ T-reg лімфоцитах (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) теж після лікування підвищився (6,08±4,65), однак без статистичної різниці стосовно осіб контрольної групи і показників до лікування. У пацієнтів з коморбідною патологією РСС+ПТСП з реактивацією ННV6 імунологічна ефективність була менше виражена, ніж у попередніх групах, що проявлялось позитивним

тенденціями до збільшення вищезгаданих показників після 3-х місячного лікування. Проте, отримані результати пацієнтів з РСС+ПТСР все ще залишались нижчими показників контрольної групи. Такі зміни вказували, що група пацієнтів з коморбідною патологією потребує більш тривалого етіотропного (противірусного) та патогенетичного (імунорегуляторного) лікування. Призначення тривалого курсу лікування (три місяці) інозин пранобексу продемонструвало безпеку, що характеризувалась збереженням більшості показників біохімічного аналізу крові у межах нормальних величин здорових осіб, а переносимість препарату була відзначена хворими як «добра» 80,0 %, «задовільна» - 20,0 %.

Результати нашого дослідження свідчать про значущу роль реактивації HHV6 у зниженні активності імунної відповіді у пацієнтів з РСС (незалежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі) і ПТСР, зниженні апоптичної активності імунокомпетентних клітин, розбалансовуванні активізаційно-регуляторних механізмів, що стало базисним щодо створення і запровадження графічно-логістичних моделей прогнозу формування імунопатологічних синдромів. Була доведена доцільність проведення тривалого курсу противірусної імуномодулюючої терапії інозин пранобексом відповідних пацієнтів.

Ключові слова. Постковідний синдром, COVID-19, стрес, посттравматичний стресовий розлад (ПТСР), вірус герпесу людини 6 типу (HHV6), клінічні характеристики, імунна відповідь, клітинний імунітет, субпопуляції Т лімфоцитів, НК клітини, Т цитотоксичні клітини, коморбідність, противірусна та імуномодулююча терапія, інозин пранобекс, прогноз.

ANNOTATION

Nadizhko O.M. . Assessment of the Immune Response Status under Conditions of Post-COVID Syndrome and Post-Traumatic Stress Disorder with Activation of Human Herpesvirus Type 6. - Qualification scientific work, manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 Medicine (field of knowledge 22 “Health care”). - State Non-Profit Enterprise “Danylo Halytsky Lviv National Medical University”, Enterprise of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2026.

The dissertation is devoted to the assessment of the immune response status under conditions of post-COVID syndrome (Post-COVID-19 condition, PCC, ICD-10 code U09.9) and post-traumatic stress disorder (PTSD) associated with activation of human herpesvirus type 6 (HHV-6), as well as to the optimization of diagnostics of herpesvirus-induced immunopathology and the selection of appropriate therapy.

The medical and social significance of this issue is underscored by the fact that approximately 30 % of individuals after acute COVID-19 (including asymptomatic infection) report certain disorders that persist for 12 weeks or longer, are not explained by an alternative diagnosis, and are verified as post-COVID condition. At the same time, during the period of full-scale war, the number of patients with PTSD is increasing. The development of PTSD is based on neuroendocrine and immune disturbances that lead to dysregulation of the immune response. After recovering from COVID-19 and under the influence of stress, reactivation of immunotropic viruses occurs, in particular HHV-6. Alterations in the immune response in the context of PCC and PTSD on the background of HHV-6 reactivation may lead to the manifestation of immunopathological syndromes and severe systemic diseases. At the same time, data on the immune response status in patients with post-COVID syndrome, PTSD, and their comorbidity under HHV-6 activation are contradictory and somewhat limited, and the available evidence concerning the need for antiviral and immunomodulatory therapy is scarce.

Thus, the large number of immunocompromised individuals with PCC and PTSD against the background of reactivation of latent immunotropic herpesviruses, particularly HHV-6, as well as open questions requiring further investigation, determine the relevance of this study. The aim of the work is to investigate the characteristics of the immune response in conditions of PCC, PTSD, and their combination in the context of HHV-6 infection, to develop therapeutic management strategies for such patients, and to predict the risk of developing immunopathological syndromes.

The present study was designed as a prospective cohort study and comprised four main stages.

To form the study groups, patients underwent a clinical examination with stratification based on symptoms that appeared for the first time after recovering from COVID-19 and were not explained by alternative diagnoses, and/or following exposure to stress with post-traumatic stress disorder persisting for more than one month. For this purpose, an original “CLINICAL DATA QUESTIONNAIRE” (Appendix 1.1) was developed and approved, containing detailed information on the patient’s medical history, complaints, symptoms, and other relevant data. Verification of PTSD was carried out using the Department of Health and Human Services, USA, guideline PTSD Revised 2020 questionnaire (Appendix 1.2).

The following research methods were employed: clinical methods (anamnesis, questionnaire survey, physical examination); general laboratory methods (complete blood count, biochemical analysis); enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of specific antibodies to HHV-6; molecular genetic methods (PCR in three biological specimens); flow cytometry; and statistical methods for data analysis using STATISTICA for Windows, version 23 (TIBCO Software Inc., USA).

Total of 124 patients with post-COVID syndrome were medically examined and, depending on the severity of COVID-19 in their medical history (mild, moderate, and severe) and the presence of HHV-6 reactivation, were divided into subgroups (20 patients each). 79 patients with PTSD were medically examined and divided into two groups: 20 patients with HHV-6 reactivation and 26 patients without HHV-6

reactivation. Additionally, two groups of patients with combined PCC and PTSD were identified: 20 patients with HHV-6 reactivation and 3 patients without HHV-6 reactivation. The control group consisted of 20 healthy persons without HHV-6 reactivation. According to age distribution, patients in the study groups did not differ significantly and were comparable. In all groups, the majority of patients belonged to the young and middle-aged categories (26–65 years), accounting for 40.0 % and 50.0 %, respectively.

At the first stage, it was found that in patients with PTSD on the background of HHV-6 reactivation, the most common complaints were: persistent fatigue and increased tiredness - in 100.0 % of individuals, sleep disturbances - 85.5 %, excessive sweating and headaches - 85.5 %, impaired mobility, apathy, anxiety, and depressive thoughts - 80.6 %, and memory impairment with decreased concentration - 69.4 % of patients. Less frequently observed in patients with PTSD were low-grade fever and tachycardia - 45.0 %, shortness of breath - 35.0 %, hair loss and cough - 30.0 % each, chest tightness - 10.0 % of patients, as well as other complaints. In the general laboratory blood examination of patients with PTSD on the background of HHV-6 reactivation, a decrease in the levels of segmented neutrophils ($p = 0.0183$) and lymphocytes ($p = 0.0368$) and an increase in monocyte levels ($p = 0.0001$), as well as ESR ($p = 0.0009$), were observed compared with the control group of healthy individuals. Comparative analysis of immunological parameters among the study groups demonstrated that in patients with PTSD on the background of HHV-6 reactivation, the relative number of CD56⁺ NK cells was significantly lower compared with controls ($p < 0.022$), while the number of T cells (CD3⁺) showed a tendency to decrease compared with controls ($p = 0.298$). The number of CD4⁺CD25⁺127⁻ cells (regulatory T cells, T-reg) in patients with PTSD and HHV-6 reactivation was significantly higher compared with the control group ($p = 0.019$), but lower than in patients without viral reactivation ($p = 0.017$). A trend toward decreased numbers of CD4⁺ and CD8⁺ cells was observed in patients with PTSD on the background of HHV-6 reactivation compared with both the group without HHV-6 reactivation and the control group. However, the number of CD19⁺ cells in patients with HHV-6

reactivation was lower ($p = 0.626$) compared with the control group and slightly higher than in patients without HHV-6 reactivation. Thus, the counts of the main lymphocyte populations ($CD3^+$, $CD19^+$, $CD56^+$) and T lymphocyte subpopulations in PTSD patients with HHV-6 reactivation were lower compared with controls and the group without HHV-6 reactivation, with the exception of $CD4^+CD25^+127^-$ cells, indicating suppression of cellular immunity, imbalance in helper-suppressor regulation, and an increased risk of autoaggression via humoral and cytotoxic mechanisms.

At the second stage, an assessment of the clinical characteristics, general laboratory, and immunological parameters of patients with PCC with or without HHV-6 reactivation following mild, moderate, or severe COVID-19 in their medical history was conducted. It was found that in patients with PCC on the background of HHV-6 reactivation, the most frequent complaints were: increased fatigue in 100.0% of individuals, sleep disturbances, persistent fatigue, and excessive sweating in 85.0%, impaired mobility, headaches, and loss of smell in 80.0 %, and cough and memory and attention impairments in 70.0 % of patients. In half of the patients (50.0%), apathy, anxiety, and depression were observed, while complaints such as chest tightness, loss of taste, hair loss, and other symptoms were reported less frequently, ranging from 15.0 % to 45.0 %. The general laboratory blood examination of patients with PCC on the background of HHV-6 reactivation, a significant decrease in the levels of segmented neutrophils ($p = 0.0001$) and an increase in lymphocyte and monocyte levels ($p = 0.0001$), as well as ESR ($p = 0.0001$), were observed compared with the control group of healthy individuals. Changes in immunological parameters were compared among groups depending on the severity of COVID-19 in their medical history and HHV-6 reactivation. Overall, in patients with PCC and HHV-6 reactivation, it was found that across all forms of COVID-19, the numbers of $CD3^+$ cells and $CD56^+$ NK cells were lower compared with patients without HHV-6 reactivation and controls. However, significantly lower levels were observed in patients with PCC after particularly severe COVID-19 with HHV-6 reactivation. Cell counts were significantly lower for $CD3^+$ ($p = 0.009$), $CD56^+$ ($p = 0.0001$), $CD4^+$ ($p = 0.045$), $CD8^+$ ($p = 0.008$), and $CD4^+CD25^+127^-$ ($p = 0.008$) compared with controls. Thus, HHV-6 reactivation

exacerbated the T-cell deficit that developed after particularly severe COVID-19. The observed reduction in T-reg cells in patients with HHV-6 reactivation during the post-COVID period confirmed the hypothesis regarding the “biphasic” role of T-reg cells in the development of more profound immunopathology under HHV-6 conditions.

At the same time, in the context of HHV-6 reactivation, an increase in CD19⁺ cells was observed after mild ($p = 0.004$), moderate ($p = 0.002$), and severe ($p = 0.0001$) COVID-19 in the medical history compared with patients with PCC without herpesvirus reactivation, and a significant increase compared with healthy individuals in the control group.

The first part of the third stage (III-a) involved the study of Fas/FasL receptor/ligand system expression on cytotoxic NK cells in patients with PTSD with or without HHV-6 reactivation. It was found that in patients with PTSD and HHV-6 reactivation, Fas (CD56⁺95⁺) expression on cytotoxic NK cells was lower ($p = 0.165$), while CD56⁺178⁺ (FasL) expression was significantly lower ($p = 0.047$) compared with control values and showed a tendency to increase compared with the group without HHV-6 reactivation. Dysfunction of the Fas/FasL system leads both to impaired antiviral immune responses and to enhanced neuroinflammation. In patients with PTSD and HHV-6 reactivation, the total number of NK cells (CD56⁺) was significantly lower ($p = 0.038$) compared with the group without HHV-6 reactivation and the control group, indicating suppression of cellular immunity, particularly the ability of NK cells to induce apoptosis in target cells.

In the second part of the third stage (III-b), the expression of cytotoxic markers Fas (CD56⁺95⁺) and FasL (CD56⁺178⁺), the regulatory marker CD56⁺38⁺, and the inhibitory receptor CD56⁺366⁺ (TIM-3) on cytotoxic NK cells was studied in patients with PCC with or without HHV-6 reactivation.

It was found that in patients with PCC and HHV-6 reactivation, the expression of CD56⁺95⁺ (Fas) was lower compared with patients without HHV-6 reactivation. Values measured after mild and moderate COVID-19 were significantly lower ($p < 0.01$) compared with the control group. In patients with a history of severe COVID-19, the Fas expression level was significantly lower compared with patients with a history

of mild ($p < 0.01$) and moderate ($p < 0.01$) disease, and non-significantly lower compared with the control group. Thus, reduced CD56⁺95⁺ expression on NK cells, particularly in patients with a history of mild and moderate COVID-19, indicated a decrease in their cytotoxic function against infected cells. However, in patients with a history of severe disease, expression levels were nearly equivalent to those in the control group.

In patients with a history of mild COVID-19 and HHV-6 reactivation, the expression of CD56⁺178⁺ (FasL) tended to decrease compared with the control group, whereas in patients with a history of moderate and severe COVID-19, it tended to increase compared with patients with PCC without HHV-6 reactivation and healthy controls. Regarding FasL expression in all PCC patient groups, regardless of the severity of COVID-19 in their medical history, no statistically significant differences were observed compared with the control group.

The expression of the activation marker CD56⁺38⁺ on NK cells after mild, moderate, and severe COVID-19 with HHV-6 reactivation was higher in all groups ($p < 0.01$) compared with the control group. Additionally, in patients with moderate COVID-19, it was higher compared with mild cases ($p < 0.01$). Thus, the more severe the course of COVID-19 in the medical history, the greater the number of cells expressing CD38⁺. The increased CD38⁺ expression on NK cells in patients with a history of severe COVID-19 and HHV-6 reactivation reflected progressive immune system exhaustion.

The expression of the inhibitory receptor TIM-3 (CD56⁺366⁺) on NK cells was significantly lower, regardless of the severity of COVID-19 in the medical history, in the context of HHV-6 reactivation compared with controls, indicating exhaustion of these cells. It was also found that TIM-3 (CD56⁺366⁺) expression in patients with PCC after mild COVID-19 in the medical history was lower than after moderate COVID-19 ($p < 0.01$) and five times lower than in the control group ($p < 0.01$).

According to the obtained results, in patients with PTSD and PCC on the background of HHV-6 reactivation, particularly after a history of severe COVID-19, a dysregulation develops between normal antiviral functions of NK and CD8⁺ cells and

their actual execution. Thus, the risk of damage to CNS structure and function and the development of immunopathological disorders increases, with a high probability of autoimmune manifestations.

Consequently, at the fourth stage, patients with HHV-6 reactivation were offered a 12-week course of treatment with inosine pranobex, which exerts direct antiviral and immunomodulatory effects. It was demonstrated that the clinical efficacy of inosine pranobex in patients with PTSD, PCC, and comorbid PTSD+PCC on the background of HHV-6 reactivation was 60.4%, characterized by improvement in the overall condition of patients, reduction of clinical symptoms, and, consequently, enhancement of quality of life, which was confirmed by positive changes in laboratory parameters. The virological efficacy of the drug was 62.9%, which was confirmed by a significant reduction in HHV-6 DNA copies across all biological fluids. Regarding immunological efficacy, in patients with PTSD and HHV-6 reactivation, treatment led to an increase in the expression levels of the Fas receptor (CD56⁺CD95⁺) and FasL ligand (CD56⁺CD178⁺) on NK cells nearly to the levels of healthy controls ($p = 0.003$ and $p = 0.0003$, respectively). Expression levels of the PD-1 receptor (CD8⁺CD279⁺) and PD-L1 ligand (CD8⁺CD274⁺) on CD8⁺ cytotoxic lymphocytes significantly increased after treatment ($p = 0.017$ and $p = 0.029$, respectively), as did the regulatory marker on CD4⁺ T-reg lymphocytes (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) ($p = 0.029$). In patients with PCC, regardless of the severity of COVID-19 in their medical history, similar results were observed after the treatment course. However, they demonstrated only a tendency toward increased expression of the Fas receptor (CD56⁺CD95⁺) on NK cells and a significant increase in FasL (CD56⁺CD178⁺) ($p = 0.0002$); there was also a tendency toward increased expression of the PD-1 receptor (CD8⁺CD279⁺) and PD-L1 ligand (CD8⁺CD274⁺) on CD8⁺ cytotoxic cells; however, these levels remained somewhat lower compared with healthy individuals. The regulatory marker on CD4⁺ T-reg lymphocytes (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) also increased after treatment (6.08 ± 4.65), but without statistically significant differences compared with the control group and pre-treatment values. In patients with comorbid PCC+PTSD and HHV-6 reactivation, immunological efficacy was less pronounced than in the previous groups, manifested

as positive trends toward increases in the aforementioned parameters after a 3-month treatment course. Nevertheless, the values in PCC+PTSD patients remained lower than those in the control group. These changes indicate that patients with comorbid pathology require a longer course of etiological (antiviral) and pathogenetic (immunoregulatory) therapy. The prescription of a prolonged 3-month course of inosine pranobex was shown to be safe, with the majority of biochemical blood parameters remaining within normal ranges for healthy individuals, and the drug's tolerability was rated by patients as "good" in 80.0% and "satisfactory" in 20.0%.

The results of our study indicate a significant role of HHV-6 reactivation in reducing immune response activity in patients with PCC (regardless of the severity of COVID-19 in their medical history) and PTSD, decreasing apoptotic activity of immunocompetent cells, and disrupting activation-regulatory mechanisms. These findings formed the basis for the development and implementation of graphical-logistical models to predict the formation of immunopathological syndromes. The study also confirmed the appropriateness of a prolonged course of antiviral and immunomodulatory therapy with inosine pranobex in the respective patients.

Keywords: Post-COVID-19 syndrome, COVID-19, stress, post-traumatic stress disorder (PTSD), human herpesvirus 6 (HHV-6), clinical characteristics, immune response, cellular immunity, T lymphocyte subpopulations, NK cells, cytotoxic T cells, comorbidity, antiviral and immunomodulatory therapy, inosine pranobex, prognosis.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Matsyura O, Chopyak V. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. *Rheumatol Int.* 2022 Sep;42(9):1523-1530. doi: 10.1007/s00296-022-05146-9. *(Здобувачка підготувала вступ, аналіз та інтерпретацію фактичних даних; Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Matsyura O. брали участь у анкетуванні хворих та обробці отриманих результатів; Chopyak V. надавала консультативну допомогу у формулюванні мети та висновків)*
2. Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ, Чопяк ВВ. Поширеність герпесвірусних інфекцій серед пацієнтів з посттравматичними стресовими розладами: дані пілотного проекту. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* 2023;(3-4):5-12. DOI: 10.37321/immunology.2022.3-4-01 *(Здобувачка здійснила аналіз джерел літератури за темою, провела забір крові, написала та підготувала матеріал до публікації; Зубченко СО, Кріль ІЙ, Чопяк ВВ. надавали консультативну допомогу у формулюванні мети, висновків та підготовці матеріалів до друку)*
3. Зубченко С, Надіжко О, Горбаль Н, Гайдучок І, Гаспарян А. Науково-практична конференція X міжнародні Різдвяні читання у Львові «COVID-19, LONG-COVID-19, постковідний синдром : їх багатолікість та імунні порушення» = Zubchenko S, Nadizhko O, Horbal N, Gaiduch I, Gasparyan A. 10th International Scientific-Practical Conference «Christmas Readings in Lviv»: «COVID-19, LONG-COVID-19, POST-COVID-19: their multiplicity and immune disorders». *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки.* 2022;66(1):22-35. DOI: 10.25040/ntsh2022.01.03 *(Здобувачка проаналізувала зміст доповідей провідних науковців, опрацювала літературні джерела за темами виступів; Zubchenko S., Horbal N.,*

Gaiduchok I., Gasparyan A. надавали консультативну допомогу в аналізі матеріалу)

4. Zubchenko S, Nadizhko O. Immunological features of COVID-19 in patients with neuropsychiatric symptoms and HHV-6-infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2023;(4):12-22. doi: 10.37321/immunology.2023.4-02 *(Здобувачка збрала сучасні літературні джерела, проаналізувала їх; Zubchenko S., надала консультативну допомогу в аналізі матеріалу)*
5. Зубченко С, Криль І, Надіжко О, Гаєвський В, Гайдучок І, Могильницька Л. Посттравматичний стресовий розлад: клініко-лабораторні зміни та перспектива імунних порушень = Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Gayevsky V, Hayduchok I, Mogylnytska L. Post-traumatic stress disorder: clinical and laboratory changes and potential for immune disorders. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2023;71(1):168-183. DOI: 10.25040/ntsh2023.01.11 *(Здобувачка збрала групи пацієнтів для обстеження, їх біологічні матеріали (кров), Gayevsky V, Hayduchok I, Mogylnytska L. опрацювали сучасні літературні джерела, проаналізували їх; Zubchenko S., надала консультативну допомогу в аналізі матеріалу)*
6. Чопяк ВВ, Гаврилюк АМ, Зубченко СО, Криль ІЙ, Надіжко ОМ. Дисрегуляція імунної відповіді та її клінічні наслідки при посттравматичному стресовому розладі. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;(3-4):5-12. DOI:[10.37321/immunology.2024.3-4-01](https://doi.org/10.37321/immunology.2024.3-4-01) *(Здобувачка збрала сучасні літературні джерела, проаналізувала їх; Чопяк В.В., Гаврилюк А.М., Зубченко С.О., Криль І.Й. надали консультативну допомогу в аналізі матеріалу)*
7. Зубченко СО, Гаврилюк АМ, Криль ІЙ, Надіжко ОМ. Fas-FasL як ключова система функціонування натуральних кілерів при посттравматичному стресовому розладі Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія. 2024;77(3):58-

64. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820860> (Здобувачка здійснила аналіз джерел літератури за темою, провела забір крові, підготувала матеріал до публікації; Кріль ІЙ. допомогла виконати лабораторні дослідження; Зубченко СО, Гаврилюк А.М. надавали допомогу у формулюванні мети, висновків та підготовці до друку)
8. Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). *Rheumatol Int.* 2024 Dec;44(12):2873-2883. doi: 10.1007/s00296-024-05677-3. (Здобувачка проаналізувала літературу, провела забір крові, підготувала матеріал до публікації; Kril I. допомогла виконати лабораторні дослідження; Kolinkovskyi O. допоміг у статистичній обробці результатів; Zubchenko S, Havrylyuk A, Chopyak V. допомогли у підготовці матеріалів до друку)
9. Зубченко С, Надішко О, Кріль І, Гаврилюк А, Бакун О-Н, Чопяк В. Дослідження ефективності імунотропної терапії з long COVID на тлі реактивації герпесвірусу людини 6 типу = Zubchenko S, Nadishko O, Kril I, Havrylyuk A, Bakun O-N, Chopyak V. Study of the effectiveness of immunotropic therapy of long COVID patients with type 6 of human herpes virus reactivation. *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки.* 2024;73(1):240-253. DOI: 10.25040/ntsh2024.01.17 (Здобувачка проаналізувала літературу, провела забір крові, підготувала матеріал до публікації; Kril I. допомогла виконати лабораторні дослідження; Zubchenko S, Havrylyuk A, Bakun O-N, Chopyak V. допомогли підготувати матеріал до друку)
10. Зубченко СО, Надішко ОМ. Оцінка ефективності препарату Новірин Форте в пацієнтів із тривалим COVID за реактивації вірусу герпесу 6 типу. *Здоров'я України 21 сторіччя.* 2024;(6):11. DOI: <https://surli.cc/xvolwy> (Здобувачка здійснила аналіз джерел літератури за темою, згрупувала пацієнтів, провела лікування, підготувала матеріал до публікації;

Зубченко СО, надавали консультативну допомогу у підготовці матеріалів до друку)

11. Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Immune system distant effects in patients with long-COVID on the background of reactivation HHV-6 infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;(1):31-42. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-03 *(Здобувачка проаналізувала літературу, провела забір крові, опрацювала результати; Kril I. допомогла виконати лабораторні дослідження; Zubchenko S, Havrylyuk A, Chopyak V. допомогли підготувати матеріалів до друку).*
12. Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O, Synenkyi O, Nesterovska L, Kurpysz M. Changes in the expression of regulatory receptors on CD8⁺ T cells as risk factors for the formation of long-COVID in patients after a severe course of COVID-19. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2025Dec.20;77(2). DOI: <https://doi.org/10.25040/ntsh2025.02.11>. *(Здобувачка виконала науковий пошук за темою статті, підготувала матеріал до публікації; Kril I. допомогла виконати лабораторні дослідження; Havrylyuk A, Zubchenko S, Synenkyi O, Nesterovska L, Kurpysz M. брали участь у написанні розділів статті, допомогли підготувати матеріал до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. The post-COVID syndrome and post-traumatic stress disorders in patients from Ukraine (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2023 June 9-11 ; Hamburg. Hamburg; 2023. p. 431-432. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.15925>
2. Chopyak V, Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O. Long-COVID: the role of NK cells and herpes virus type 6 activation. In: Abstracts from the 7th

Congres for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p. 60. <https://surl.lu/fpjiau>

3. Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O, Chopyak V. Changes of expression of regulatory and inhibitory receptors on CD8 T cells in long-COVID-19 patients. In: Abstracts from the 7th Congres for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p.63. <https://surl.lu/fpjiau>
4. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Havrylyuk A, Chopyak V. Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections. In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. Valencia; 2024. p. 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.16300>
5. Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Research of receptor expression on NK cells in patients with long- COVID (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. 2024. p. 847. <https://doi.org/10.1111/all.16300>
6. Zubchenko S., Gavrylyuk A., Kril I., Nadizhko O., Chopyak V. Study of lymphocyte populations and subpopulations in patients with long-COVID with reactivation of herpesvirus type 6 infection, 2025. June 13-16; Glasgow, United Kingdom; 2025. P 565. <https://doi.org/10.1111/all.70138>.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	27
ВСТУП	31
РОЗДІЛ 1. СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПАЦІЄНТІВ З ПОСТКОВІДНИМ СИНДРОМОМ ТА ПОСТТРАВМАТИЧНИМ СТРЕСОВИМ РОЗЛАДОМ БЕЗ/З РЕАКТИВАЦІЄЮ HHV6 (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	39
1.1 Аналіз літературних даних про вірус SARS-CoV-2 та РСС. Постковідний синдром та імунна система	39
1.2 Посттравматичний стресовий розлад і його вплив на розвиток імунопатології	42
1.3 Вірус HHV6 і його імунопатологічна дія	48
1.4 Особливості природженого та набутого імунітету при вірусній інфекції SARS-CoV-2 та HHV6	53
1.5 Рецептори, що регулюють цитотоксичність імунних клітин при вірусних інфекціях, зміни їх експресії при постковідному синдромі та реактивації HHV6	59
1.6 Сучасні підходи до лікування постковідного синдрому і ПТСР	65
1.6.1 Лікування інфекції HHV6, COVID-19 і постковідного синдрому	65
1.6.2 Лікування ПТСР	68
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	72
2.1 Організація досліджень	72
2.2. Формування групи дослідження	72
2.3 Загально-лабораторні клінічні дослідження	82
2.3.1 Визначення аланінамінотрансферази в сироватці крові	82
2.3.2 Визначення активності аспаргатамінотрансферази	82
2.3.3 Визначення креатиніну в сироватці крові	83
2.3.4 Виявлення С-реактивного білку в сироватці крові людини	84
2.3.5 Дослідження антитіл IgM та IgG до SARS-CoV2 методом імуноферментного аналізу	85

2.3.6 Дослідження антитіл IgG до HHV6 методом імуноферментного аналізу	86
2.3.7 Виявлення ДНК HHV6 за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) у біологічних середовищах	86
2.3.8 Кількісне визначення популяцій і субпопуляцій лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії	88
2.3.9 Кількісне визначення регуляторного маркера лімфоцитів на хелперних клітинах CD4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻ за допомогою методу проточної цитометрії	89
2.3.10 Кількісне визначення активаційно-регуляторного маркера CD56 ⁺ 38 ⁺ та інгібіторного рецептора CD56 ⁺ 366 ⁺ (TIM-3) на NK клітинах за допомогою методу проточної цитометрії	89
2.3.11 Кількісне визначення апоптичних маркерів CD56 ⁺ 95 ⁺ (Fas), CD56 ⁺ 178 ⁺ (FasL) на NK клітинах та CD8 ⁺ 279 ⁺ (PD-1), CD8 ⁺ 274 ⁺ (PD-1L) на T цитотоксичних лімфоцитах за допомогою методу проточної цитометрії	90
2.4 Схема лікування пацієнтів та оцінка ефективності лікування, безпеки та переносимості лікарського засобу Новірін (NOVIRIN) Форте	91
2.5 Статистичні методи дослідження	92
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	93
3.1 Зміни загальноклінічних та імунологічних показників у пацієнтів з РСС і посттравматичним стресовим розладом без/з реактивацією інфекції HHV6	93
3.1.1 Кількісні зміни CD3 ⁺ , CD19 ⁺ , CD56 ⁺ у пацієнтів з РСС без/з реактивацією інфекції HHV6	94
3.1.2 Кількісні зміни CD4 ⁺ , CD4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻ та CD8 ⁺ у пацієнтів з РСС без/з реактивацією інфекції HHV6	98
3.1.3 Зміни загальноклінічних та імунологічних лабораторних показників у пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом без/з реактивацією інфекції HHV6	102

3.2 Зміни цитотоксичних та регуляторних функцій NK клітин у пацієнтів з РСС та пацієнтів з ПТСР без/з реактивацією вірусу HHV6	110
3.2.1 Визначення експресії цитотоксичних маркерів CD56 ⁺ 95 ⁺ (Fas), CD56 ⁺ 178 ⁺ (FasL), регуляторного маркера CD56 ⁺ 38 ⁺ та інгібіторного рецептора CD56 ⁺ 366 ⁺ (TIM-3) у пацієнтів з РСС після легкою, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 (без/з реактивацією вірусу HHV6)	110
3.2.2 Визначення експресії рецептор-ліганду Fas-FasL на NK клітинах у пацієнтів з ПТСР без/з реактивацією HHV6	119
3.3 Аналіз клінічної, імунологічної та вірусологічної ефективності лікування інозин пранобексом пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації HHV6	124
3.3.1 Підбір груп пацієнтів для лікування лікарським засобом інозин пранобекс	124
3.3.2 Визначення клінічної ефективності лікування лікарським засобом інозин пранобекс пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації HHV6	125
3.3.3 Визначення вірусологічної ефективності лікування лікарським засобом інозин пранобекс пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації HHV6	132
3.4 Зміни загальноклінічних та імунологічних показників пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР з реактивацією HHV6 після лікування противірусним препаратом інозин пранобекс	137
3.4.1 Порівняння змін біохімічних показників пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР з реактивацією HHV6 після лікування противірусним препаратом інозин пранобекс	137
3.4.2 Порівняння змін експресії основних цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4, CD8 і NK клітинах пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР з реактивацією HHV6 після лікування противірусним препаратом інозин пранобекс	139

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	150
ВИСНОВКИ	179
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	182
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	188
ДОДАТОК 1 Анкета, опитувальник	215
ДОДАТОК 2 Таблиці	220
ДОДАТОК 3 Впровадження	226
ДОДАТОК 4 Список опублікованих праць	236
ДОДАТОК 5 Апробація матеріалів дисертації	239

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АДФ-рибоза	аденозиндифосфат-рибоза
АКТГ	адренкортикотропний гормон
АПФ-2	ангіотензинперетворювальний фермент-2
АСЕ2	рецептор до ангіотензину – 2
АТФ	Аденозинтрифосфат
ВНС	вегетативна нервова система
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
ГГНС	гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова система
ПКС	постковідний синдром
ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція
ПТСР	посттравматичний стресовий розлад
СНС	симпатична нервова система
СРП	С реактивний протеїн
ЦНС	центральна нервова система
ADCC	antibody-dependent cell cytotoxicity
АСЕ-I	angiotensin-converting enzyme inhibitors -1
AHR	aryl hydrocarbon receptor
AICD	activation-induced cell death
ANA	antinuclear antibodies
ENA	antibodies to extracted nuclear antigen (ENA)
ARBs	angiotensin receptor blockers
BHB	body β -hydroxybutyrate
BDNF	brain derived neurotrophic factor
CDR3	complementary determining region 3
ciHHV-6	chromosomally integrated HHV-6
CD3 ⁺	T lymphocytes
CD4 ⁺	T lymphocytes helpers
CD8 ⁺	T lymphocytes cytotoxic
CD4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻	T лімфоцити регуляторно-супресорні

CD14	monocytes/macrophages
CD38	lymphocyte activation marker
CD46	receptor for cell entry of both HHV-6 virus subtypes
CD57	NK cells activation marker
CD86	immune cells activation marker
CD56 ^{dim} CD16 ⁺	cytotoxic NK cells
CD56 ^{bright} CD16 ⁻	not cytotoxic NK cells
CD69	early lymphocyte activation marker
CDHLA-DR	marker of late lymphocyte activation
CD107a (LAMP-1)	lysosomal-associated membrane protein -1 (protector of degranulation-associated suicide NK cells)
CD107b (LAMP-2),	lysosomal-associated membrane protein -2 (to have roles in cell adhesion, autophagocytosis and antigen presentation)
LAMP-3	lysosomal-associated membrane protein -3 (represented on lymphoid and dendritic cells)
FasL (CD95L), CD178	Fas ligand
CTLA-4	cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4
CTLs	cytotoxic T cells
LAG3	lymphocyte activating 3 - negative regulator of T cells
DAMP	damage associated molecular patterns
DISC	death-inducing signaling complex
dsDNA	double-stranded deoxyribonucleic acid
dUTPases	deoxyuridine triphosphate nucleotidohydrolases
Fas (CD95, APO-1)	a prototype death receptor
sFas/sFasL	soluble forms of Fas/FasL
FDA	Food and Drug Administration
GABA	gamma-aminobutyric acid
GAD65	glutamic acid decarboxylase 65-kilodalton isoform - a biomarker of autoimmune central nervous system

Gal-9	Galectin-9
G-CSF	granulocyte colony stimulating factor 2
GBS	Guillain-Barré syndrome
HLA DRB1*0101	HLA-antigen associated with an CD4 ⁺ epitope
HLA B*0801	HLA- antigen associated with an CD8 ⁺ epitope
HPA	hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis
HMGB1	High mobility group box 1
HHV-6	Human Herpesvirus-6
HHV-6A	Human Herpesvirus-6 subtype A
HHV-6B	Human Herpesvirus-6 subtype B
HHV-7	Human Herpesvirus-7
HSPs	heat shock proteins
IFN- β	Interferon Beta
IFN- γ	Interferon Gamma
IL-1 β	Interleukin one beta
IL-6	Interleukin six
IL-10	Interleukin ten
IL-12	Interleukin twelve
IL-17	Interleukin seventeen
IL-8	Interleukin eight
IL-23	Interleukin twenty three
IDO	Indolamin-2,3-dioxygenase
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
IP-10	interferon gamma-induced protein 10
KIRs	killer immunoglobulin-like receptors
KLRG1	killer-cell lectin like receptor G1 (inhibitory)
MCP-1	monocyte chemoattractant protein 1
NAD ⁺	nicotinamide adenine dinucleotide
NETs	neutrophil extracellular traps
NK	natural killer cell

NKT	natural killer T cell
NF- κ B	nuclear factor κ B
NKG2A	inhibitory receptor on the NK cell surface
NKG2C	activating receptor on the NK cell surface
NLRP3	NACHT domain- leucine-rich repeat- and pyrin domaincontaining protein 3
PAMPs	pathogen-associated molecular patterns
PD-1	programmed cell death protein 1
PCC	post COVID-19 condition
PRR	Pattern recognition receptors
P38MAPK	a signal transduction cascade that transmits signals from various external stimuli, like stress and cytokines,
RAGE	receptor for advanced glycation end products
RF	rheumatoid factor
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SSRIs	selective serotonin reuptake inhibitors
STAT1	signal transducer and activator of transcription – 1
STAT3	signal transducer and activator of transcription – 3
TKR2/1	antigens of virus HHV-6
TIGIT	associated with MHC antigens class 1 inhibitory receptor
TIM-3	T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3
sTNF-RII	soluble receptor-II to TNF- α
Th1	type one of T helpers
Th17	type seventeen of T helpers
TLRs	Toll-like receptors
TLR4	Toll like receptor 4
TNF- α	tumor necrosis factor alpha
Tregs	regulatory T cells
VSTs	virus-specific T cells

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Упродовж багатьох років вчені вивчали природу імунopatологічних змін у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР. Klok F.A. та співавтори (2020) підкреслювали, що у таких пацієнтів наявні коморбідні стани [108]. В умовах сьогодення України, за даними Дуда О.К. та співавторів (2020), кількість пацієнтів різного віку із постковідним синдромом і ПТСР неухильно зростає [5].

За даними Гевкалюк Н.О. та Пальчевського Т.В. (2023), постковідний синдром став абсолютно новим синдромом, з яким медики досі не стикалися [2]. За даними Albert M.C. та інших (2024), причинами його формування є: тривала персистенція вірусу SARS-CoV-2, схильність імунної системи до автоімунізації, «тліюче» запалення. Наслідком цього ставали ендотелійна дисфункція, мікротромбоваскуліт та антифосоліпідний синдром, які викликали зміни в легенях, серцево-судинній системі, нирках, ЦНС [38]. Ознаки та симптоми постковідного синдрому виникали під час або після інфікування SARS-CoV-2, тривали більш 12-ти тижнів і не пояснювалися іншим діагнозом. Rogers J. та інші (2020) та Юр'єва Л.М. (2020) дослідили, що основне місце токсичної дії вірусу SARS-CoV-2 в організмі – центральна та периферична нервова система і кровоносні судини [34, 166]. Bygdell M. та співавтори (2023), Макієнко Н.В. та інші (2022) встановили, що у міжнародній класифікації хвороб (МКХ) 10-го перегляду є нозологія «постковідний синдром» - U09 Post-COVID-19 syndrome, або Post COVID-19 condition (PCC) - стан після перенесеного COVID-19 [16, 56]. У пацієнтів після легкого, середнього та тяжкого COVID-19 дуже часто формується постковідний синдром, який супроводжується розвитком імунopatології, але фактори ризику цього процесу досліджені порівняно мало.

У світі та в Україні виконано відносно небагато досліджень щодо зв'язку гострого стресу і ПТСР зі змінами імунної відповіді. Lauten T.H. та інші (2024) показали, що головними симптомами ПТСР є емоційна нестабільність і гіперзбудження і довели асоціацію ПТСР з ендокринними, імунними та неврологічними порушеннями [114]. Yang J.-J. та Jiang W. (2020) підтвердили, що

ПТСР чітко асоційований з дисбалансом імунної відповіді, проте не встановили, зміни яких імунних чинників є ключовими у пацієнтів з ПТСР [202]. Lauten ТН. та інші (2024), Bookwalter DB. та інші (2020) виявили підвищення рівнів прозапальних імунних чинників у пацієнтів з ПТСР на місцевому і системному рівні, що підтверджувало наявність запального процесу [53, 114]. За даними Medina G. і співавторів (2018), Vera F. і співавторів (2019), зміни імунної відповіді у хворих з ПТСР аналогічні змінам при автоімунних хворобах – так само активуються прозапальні імунні сигнальні шляхи і синтезуються маркери запалення [81, 133]. Song Н. та інші (2018) вважають, що головний механізм взаємозв'язку між ПТСР та автоагресією надалі не визначений [178].

Після перенесеного COVID-19 і під впливом стресових чинників відбувається реактивація імунотропних вірусів, зокрема - HHV6. Зміна імунної відповіді за умов постковідного синдрому та ПТСР на тлі активованого HHV6 може стати причиною маніфестації імунопатологічних синдромів і тяжких системних захворювань. HHV-6 є одним з вірусів, які часто призводять до розвитку автоімунних хвороб [60, 70, 115, 177, 186]. На думку Sokolovska L. та співавторів (2024), індукція автоагресії під дією HHV-6 можлива внаслідок гіперактивації антивірусних механізмів і здійснення вірусом імуномодулюючого впливу [177]. HHV-6 викликає дисрегуляцію імунної відповіді такого типу, який веде до формування автоімунної хвороби: змінює функцію клітинного імунітету, підтримує запальний стан, гальмує диференціювання регуляторних клітин. HHV-6 навіть назвали «вірусом автоімунітету» [86, 167, 177]. Vojdani A. та співавторів (2023) показали, що по своїй суті постковідний синдром є мульти-захворюванням, а SARS-CoV-2 та HHV-6 є вірусами-тригерами щодо його формування та тяжкості перебігу [191]. Отже, нейропсихіатричні порушення та формування РСС у пацієнтів, які пережили середню та тяжку форми COVID-19, у найбільшій мірі спричинені дисрегуляцією імунної системи та конкомінантною лімфотропною/нейротропною інфекцією HHV-6.

Для лікування РСС застосовували різні терапевтичні підходи - Сао W-J. та співавторів (2023) запропонували адаптивну НК клітинну противірусну терапію

[58], Vojdani A. та співавтори (2023) для блокування реплікації ННВ-6 запропонували лікування препаратами ганцикловір або валацикловір у комплексі з пребіотиками, пробіотиками, моноклональними антитілами [191]. Суть підходу всіх перелічених авторів полягала у посиленні імунної відповіді у пацієнтів з РСС.

Свого часу Nori H і Kim Y. (2019) показали, що найефективнішими способами лікування ПТСР є психотерапія та медикаментозні препарати [94]. Пошуки найефективнішого лікування ПТСР тривають, і, цілком можливо, ним стане препарат з імуномодулюючими властивостями. Грунтуючись на суперечливих даних літератури щодо дисрегуляції імунної відповіді при вказаних хворобах, виникла велика потреба не тільки глибше вивчити характер цієї дисрегуляції, але й довести необхідність застосувати цим пацієнтам противірусної та імуномодулюючої терапії.

1. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у межах комплексних науково-дослідних робіт кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» МОЗ України «Постковідний синдром і посттравматичний стресовий розлад: імунна дисрегуляція і тактика ведення пацієнтів» (№ державної реєстрації 118U000110).

Мета дослідження: вивчення особливостей імунної відповіді за умов постковідного синдрому, посттравматичного стресового розладу та їх комбінації на тлі ННВ6-інфекції, розробка терапевтичної тактики ведення таких пацієнтів і прогнозування ризику формування імунопатологічних синдромів

Завдання дослідження:

1. Оцінити клінічні показники пацієнтів з постковідним синдромом, ПТСР та їх коморбідністю за умов реактивації ННВ6.
2. Вивчити особливості імунної відповіді пацієнтів з постковідним синдромом, ПТСР і їх коморбідністю за умов реактивації ННВ6 за кількісними змінами субпопуляцій Т лімфоцитів CD4⁺, CD4⁺25⁺127⁻ та CD8⁺.

3. Охарактеризувати особливості апоптичної та антиапоптичної активності імункомпетентних клітин за експресією рецептора Fas (CD56⁺/95⁺), ліганда FasL (CD56⁺/178⁺), рецептора PD-1 (CD8⁺CD279⁺), ліганда PD-1L (CD8⁺CD274⁺) у пацієнтів з РСС та ПТСР без/з реактивацією вірусу HHV-6.
4. Оцінити активність імунної відповіді та експресію активізаційно-регуляторного CD56⁺/38⁺ та інгібіторного CD56⁺/366⁺ (TIM-3) маркерів у даних групах пацієнтів за умов реактивації HHV6.
5. Довести значення рецепторних і лігандних змін NK клітин і Т цитотоксичних клітин у прогнозуванні ризику формування імунопатології у пацієнтів досліджуваних груп на тлі реактивації вірусу HHV-6.
6. Проаналізувати клінічну, протівірусну, імунологічну ефективність, безпеку та переносимість інозин пранобексу у пацієнтів даних груп на тлі HHV6.
7. Запропонувати графічно-логістичні моделі прогнозу формування імунопатологічних синдромів у пацієнтів з постковідним синдромом, ПТСР та їх коморбідністю на тлі реактивації HHV6 і показів до лікування інозин пранобексом.

Об'єкт дослідження: імунна відповідь у пацієнтів з постковідним синдромом після легкого, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 в анамнезі без/з реактивацією HHV6; ПТСР без/з реактивацією HHV6; коморбідною патологією (постковідний синдром з ПТСР) без/з реактивацією HHV6.

Предмет дослідження: клінічні характеристики та показники загальноклінічного аналізу крові, біохімічного дослідження, ДНК HHV6 та специфічних антитіл до HHV6, кількість лімфоцитів CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺25⁺127⁻, експресії систем рецептор/ліганд - Fas/FasL, PD-1/PD1L, інгібіторного рецептора TIM3 та активаційного маркера CD38 на NK і CD8 клітинах пацієнтів з РСС та ПТСР без/з реактивацією HHV6.

Методи дослідження: анамнестичні загальноклінічні (скарги, об'єктивне обстеження), лабораторні (загальноклінічні та біохімічні), епідеміологічні

(адаптована уніфікована анкета-опитувальник); імунологічні – ланцюгова полімеразна реакція (визначення ДНК HHV6), імуноферментний аналіз (визначення специфічних антитіл до HHV6), проточна цитометрія (визначення CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺25⁺127⁻, активаційно-регуляторного маркера CD38 та інгібіторного рецептора TIM-3; рецепторів Fas, PD-1 та їх лігандів FasL і PD-1L); статистичні (методи параметричної та непараметричної статистики з обчисленням за допомогою комп'ютерних програм «Microsoft Office Excel» і «STATISTICA».

Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше в Україні: 1) розроблено метод оцінки цитотоксичної функції клітин NK і CD8⁺ за ступенем експресії рецептора Fas і його ліганду FasL, рецептора PD-1 і ліганду PD1L на мембранах цих клітин; 2) встановлено характер змін противірусної цитотоксичної функції імунних клітин на тлі реактивації HHV6; 3) розроблено метод прогнозу формування імунопатології за змінами експресії інгібіторного рецептора TIM3 та активаційного маркера CD38 на лімфоцитах.

Уперше отримано нові знання щодо цитотоксичних функцій NK-клітин і CD8⁺ при реактивації HHV6 у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР без/з реактивації HHV6. NK клітини частіше діють шляхом Fas/FasL, внаслідок чого відбувається внутрішньоклітинна деградація ДНК, білків і ліпідів всередині клітини-мішені та її апоптична загибель. Клітини CD8⁺ переважно діють через систему PD-1/PD-L1 і запускають апоптоз шляхом Gal-9/TIM-3, який охоплює як поверхневі (Annexin V), так і внутрішньоклітинні процеси.

Уперше розроблено алгоритм лабораторного дослідження пацієнта з ризиком тяжкого перебігу постковідного синдрому і формування імунопатології після середнього перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6. Таким пацієнтам необхідно визначати кількості лімфоцитів CD3⁺, CD56⁺, CD8⁺ та CD4⁺25⁺127⁻, а також експресію на мембранах CD56⁺ і CD8⁺ активаційно-регуляторного маркера CD38 та інгібіторного рецептора TIM3. Уперше в Україні для визначення цих показників використали проточну цитометрію.

Практичне значення отриманих результатів. Доповнено клінічні, загальнолабораторні та імунологічні характеристики проявів постковідного синдрому після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 в анамнезі та ПТСР. У пацієнтів з ПТСР обгрунтовано необхідність проведення диференційної діагностики з іншими імунозалежними та імунонезалежними неврологічними хворобами.

Доведено доцільність застосування проточної цитометрії для визначення кількості лімфоцитів CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺ та субпопуляцій Т лімфоцитів CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺25⁺127⁻, у пацієнтів з постковідним синдромом після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 та ПТСР без/з реактивацією HHV6 для оцінки стану імунної відповіді.

Розроблено та запропоновано лікування інозин пранобексом (1000 мг) протягом трьох місяців і встановлено, що ефективність лікування інозин пранобексом в групі пацієнтів з ПТСР була найбільшою - 80,7%, а в групі пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСР - 45,3%, тобто в групі хворих з ПТСР ефект був в 1,8 рази вищим порівняно з пацієнтами з коморбідністю. Показано, що пацієнти з коморбідною патологією потребують більш тривалого етіотропного (противірусного) та патогенетичного (імуномодуючого) лікування. Досліджено і продемонстровано безпеку та «добру» – 48 (80,0%) і «задовільну» - 12 (20,0%) осіб переносимість тривалого курсу лікування інозин пранобексом у добовій дозі 50 мг/кг/добу .

Запропоновано критерії оцінки ефективності терапії за зміною кількості лімфоцитів CD3⁺, CD56⁺, CD8⁺ та CD4⁺25⁺127⁻ та експресії активаційного маркера CD38 та інгібіторного рецептора TIM3 на мембранах лімфоцитів.

Уперше доведена значуща роль реактивації HHV6 у зниженні активності імунної відповіді у пацієнтів з РСС (незалежно від тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі) і ПТСР, зниженні апоптичної активності імунокомпетентних клітин, розбалансовуванні активізаційно-регуляторних механізмів, що стало базисним щодо створення і запровадження графічно-логістичних моделей прогнозу формування імунопатологічних синдромів.

Результати роботи впроваджені в клінічну практику КНП ЛОР «Львівський обласний діагностичний центр, КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня»; в навчально-педагогічний процес кафедр клінічної імунології та алергології, кафедри інфекційних хвороб ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», центр UNBROKEN КНП «Перше територіальне медичне об'єднання м. Львова».

Особистий внесок здобувачки. Дисертаційне дослідження виконане як результат самостійної наукової праці здобувача. За участі наукового керівника були визначені загальні стратегічні напрями роботи, окреслені її мета та завдання. Дисертантка самостійно здійснила глибокий аналіз сучасної наукової літератури, провела патентно-інформаційний пошук і сформувала власну дослідницьку концепцію. Усі етапи дослідження – від збору первинного матеріалу, проведення клінічних спостережень, статистична обробка клініко-лабораторних та інструментальних даних, написання усіх розділів дисертації – виконані дисертанткою особисто. Разом з науковим керівником сформовані висновки і практичні рекомендації.

Здобувач також забезпечила написання та публікацію наукових праць, представлення результатів дослідження на науково-практичних конференціях, а також сприяла їх впровадженню в освітній процес і медичну практику в Україні. У співавторських роботах здобувач відповідала за формування дослідницької ідеї, організацію збору, формуванню та аналізу бази даних, їх інтерпретації і підготовки до друку.

Апробація результатів дисертації. Основні теоретичні положення та практичні результати дисертаційної роботи оприлюднено на: Всеукраїнській науково-практичній конференції «Імунодефіцитні стани та алергічні захворювання в клінічній практиці» (м. Харків 10-11.11.2022 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «DNIPROALLERGOSUMMIT» (м. Дніпро 5-6 квітня 2023 р.); Міжнародному конгресі European Academy of Allergy and Clinical Immunology (Hamburg, Німеччина, 9-11 June 2023 р.); I-й Міжнародній науково-практичній конференції «Лікарі та медсестринство – медичний фронт в Україні

та світі» (м. Луцьк, 11-12.05.2023 р.); Міжнародному симпозиумі Львів-Україна «SMART LION 2023 Реабілітація в Україні» (м.Львів, 26.09.2023); Ювілейному міжнародному медичному форумі «Медицина України та світу: основи, реалії та стратегічні перспективи» (м.Львів, 13-15.12.2023); Міжнародному конгресі European Academy of Allergy and Clinical Immunology (Valencia, 31 May – 3 June 2024 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Стрес-індуковані імунні розлади та їх наслідки в умовах військового часу» (м. Харків, 29.02-1.03.2024 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Лікарі та медсестринство в умовах війни та поствоєнне відновлення» (м.Луцьк, 16-17.05.2024 р.); 7th Congres for Ukrainian Society of Cell Biology (Lviv, September 11-13, 2024 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Імунологія, алергологія, ревматологія в світі та Україні: сучасні реалії та виклики» (Львів, 27-28.11.2024 р.); науково-практичної конференції з міжнародною участю «Мультидисциплінарний підхід в медицині: сучасні нароби та виклики в імунології, алергології та ревматології» (Львів, 26-27.11.2025 р.), Міжнародному конгресі European Academy of Allergy and Clinical Immunology (Глазго, Великобританія, 13-16 June 2025 р.).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 18 наукових праць, серед яких 12 статей, з них 6 - у журналах включених до наукометричних баз даних Scopus/Web of science (індексація видань - *Q2, Q4*) і 6 - у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 6 тез доповідей у матеріалах конгресів і науково-практичних конференцій.

Структура й обсяг дисертації. Дисертація викладена на 242 сторінках і складається з анотації, вступу, 4 розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, що вміщує 218 найменувань (34 джерела українською мовою і 184 англійською мовою) і п'яти додатків. Робота містить 27 рисунків та 28 таблиць. Список використаних джерел і додатки викладено на 55 сторінках.

Розділ 1.

СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПАЦІЄНТІВ З ПОСТКОВІДНИМ СИНДРОМОМ ТА ПОСТТРАВМАТИЧНИМ СТРЕСОВИМ РОЗЛАДОМ БЕЗ/З РЕАКТИВАЦІЄЮ HHV6 (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Аналіз літературних даних про вірус SARS-CoV-2 та РСС. Постковідний синдром та імунна система

Penninx BWJH. і співавтори (2021) описали одноланцюговий РНК-вірус, котрий SARS-CoV-2, який відноситься до роду SARS-CoV бетакоронавірусів. Інфекція SARS-CoV-2 характеризується симптомами легкої гарячки, втомлюваністю та сухим кашлем, часто індукує поведінкову та нейровегетативну дисрегуляцію [149]. Вірус SARS-CoV-2 проникає до клітин господаря через рецептори до АПФ-2, який розщеплює ангіотензин II до ангіотензину. SARS-CoV-2 може реплікуватися, за даними Rogers J. та інших (2020) у нейронах [166], за даними Yuryeva L. M. та інших (2020) – у гліальних клітинах [34] та, за даними Пилипенко В.М. (2020), - в астроцитах [24]. Y. Wu та інші (2020) показали, що коронавірусна інфекція: 1) здійснює пряме інфекційне ушкодження; 2) спричиняє гіпоксичне ураження; 3) діє на АПФ-2; 4) гіперактивує імунну систему, ініціює гіперзапалення з поліорганною недостатністю (цитокіновий шторм) [198, 1, 13, 26, 27]. За даними Пилипенко В.М. (2020), патогенність вірусу SARS-CoV-2 проявляється його нейро-, епітеліотропністю і токсичністю. Насамперед відбувається ураження головного мозку та легень, що супроводжується судинними стазами, дрібними тромбозами і крововиливами, дистрофічними змінами клітин, їхньою дегенерацією й апоптозом. Основне місце токсичної дії вірусу SARS-CoV-2 в організмі – центральна та периферична нервова системи, а також кровоносні судини [24]. Bygdell M. і співавтори (2023), Макієнко Н.В. та інші (2022) керувались міжнародною класифікацією хвороб (МКХ) 10-го перегляду де є нозологія

«постковідний синдром» - U09 Post-COVID-19 syndrome, або Post COVID-19 condition (PCC) - стан після перенесеного COVID-19 [16, 56].

За даними Albert M.C. та інших (2024), причинами формування постковідного синдрому чи PCC можуть бути: тривала персистенція вірусу, схильність імунної системи до автоімунізації, ураження підкіркових структур мозку з нейромедіаторним дисбалансом, «гліюче» запалення. Відтак формувалися зміни клітинного імунітету, розвивалися цитокиновий дисбаланс, гіперактивація системи комплементу, порушення коагуляції та мікротромбози, накопичення ангіотензину II у тканинах і сироватці крові, гіперактивація симпатoadреналової та ренінангіотензинової систем. Наслідком цього ставали ендотеліальна дисфункція, мікротромбоваскуліт та антифосоліпідний синдром, які викликали зміни в легенях, серцево-судинній системі, нирках, ЦНС. Одночасно з цим порушувалася утилізація глюкози, що у свою чергу знижувало рівень синтезу АТФ. SARS-CoV-2 спричиняв загибель нейтрофілів або провокував їх пошкодження, при цьому формувалися нейтрофільні екстрацелюлярні пастки - NETs [38]. У пацієнтів з COVID-19 зростають рівні звільненої з клітини ДНК, ДНК-мієлопероксидази та цитрулінованого гістону H3. За даними Hansen N. (2023), рівень ДНК, яка вийшла з клітини, корелювала з абсолютним числом нейтрофілів і рівнями гострофазових протеїнів [88]. За даними Чукліна С.М. та інших (2022), NETs стимулювала сильну запальну відповідь, викликаючи активацію трипсину, запалення та пошкодження тканин легень, нирок, міокарда, ЦНС, кишківника [32]. Згідно досліджень Міщихи Л.П. та інших (2021), NETs потенціювали тромбоутворення у мікро- та макросудинах, особливо в судинній стінці, інактивували ендogenous антикоагулянти та активували тромбоцити. Ендотеліальна дисфункція у постковідному періоді обумовлювалася ще й змінами імунологічної відповіді. Невід'ємною складовою як гострого, так й пізнього періодів після COVID-19 стали психічні та неврологічні розлади [19].

Щоби діагностувати «довготривалий ковід», згідно з клінічними настановами Національного інституту охорони здоров'я та вдосконалення

медичної допомоги Великої Британії (NICE) «Лікування довгострокових наслідків COVID-19» (NG188) аналізують 3 послідовні етапи після інфікування SARS-CoV-2: 1) гострий COVID-19 – ознаки та симптоми COVID-19 протягом 4-х тижнів; 2) тривалий симптоматичний COVID-19, який продовжувався – ознаки та симптоми COVID-19 з 4-го по 12-й тиждень; 3) РСС – ознаки та симптоми, що виникали під час або після інфікування COVID-19, тривали більш 12-ти тижнів і не пояснювалися іншим діагнозом. Постковідний синдром – феномен, який став новою світовою проблемою. Тобто негативний результат тесту на COVID-19 зовсім не означає, що здоров'я пацієнта, який одужав після коронавірусу, прийшло в норму.

Вірус SARS-CoV-2, крім ураження дихальної, серцево-судинної, нервової систем, спричинив втому, біль у суглобах і м'язах і проблеми з ендокринною системою [1, 13 26, 27, 41]. Порушувалося згортання крові, що створювало високий ризик інфарктів та інсультів, з'являвся феномен «тихого тромбозу», який міг непомітно розвиватися, а через два–три місяці проявитися. Симптоми, про які повідомляють пацієнти з пост-COVID-19, включали: сильну стомлюваність, тривалий кашель, м'язову слабкість, тривалий субфебрилітет, неможливість зосередитися (мозковий туман), зниження пам'яті, зміни в настрої, які часто супроводжувалися депресією та іншими проблемами з психікою, труднощами зі сном, головним болем, міалгіями, арталгіями, діареєю та нападами блювоти, втратою смаку та запаху, болем у горлі та труднощами з ковтанням, стартом цукрового діабету та гіпертонії, гастроєзофагельною рефлюксною хворобою, шкірним висипом, задишкою, болем у грудях, серцебиттям, проблемами з нирками, аносмією (відсутність нюху), паросмією (зміну запахів), шумом у вухах, згущенням крові (тромбоз глибоких вен і легеневої емболії), навіть змінами стану порожнини рота (зубів, ясен, слизової оболонки). За даними Гевкалюк Н.О. та Пальчевського Т.В. (2023), постковідний синдром став абсолютно новим синдромом, з яким медики досі не стикалися [2].

Вчені Rogers J. та інші (2020) та Юр'єва Л.М. (2020) дослідили, що коронавірусна інфекція здатна впливати на нервову систему, використовуючи

чотири потенційних механізми: 1) пряме вірусне пошкодження нервової тканини; 2) надмірна імунна відповідь - «цитокіновий шторм»; 3) «ненавмисна» дія імунної відповіді господаря – реакція на гостру інфекцію; 4) непряме пошкодження внаслідок системного захворювання [34, 166].

1.2 Посттравматичний стресовий розлад і його вплив на розвиток імунopatології

Lauten T.H. та інші (2024) показали, що головними симптомами ПТСР є нав'язливі спогади про травматичну подію, які часто повторюються, емоційна нестабільність і гіперзбудження. ПТСР розвивався після гострого стресу в результаті, травматичної події чи серйозної аварії. Військові частіше зустрічалися зі стресом, жахливими ситуаціями та травматичними подіями, тому мали вищий ризик ментальних порушень та асоційований з ними підвищений ризик ПТСР. Показана асоціація ПТСР з ендокринними, імунними та неврологічними порушеннями [114, 158].

Прозапальні цитокіни здатні проходити через бар'єр кров-мозок і викликати нейрозапалення. Визначено, що об'єм головного мозку при ПТСР є меншим, ніж у контролі, це свідчить про те, що прозапальні цитокіни блокують відновлення нейрогенезу гіпокампу. Yang J.-J. та Jiang W. (2020) підтвердили, що ПТСР чітко асоційований з імунітетом та супроводжується дисрегуляцією імунної відповіді – підвищенням рівнів прозапальних факторів і зниженням антизапальних. Проте остаточно не встановлено, які саме імунні чинники змінюються у пацієнтів з ПТСР [202, 158].

При ПТСР інтенсивно вивчалися зміни рівнів прозапальних імунних маркерів. Згідно з даними Зубченко С. та інших (2023), у пацієнтів з діагностованим ПТСР виявляли підвищені рівні прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17, IFN- γ і TNF- α , гострофазового білка СРП на тлі зниження рівнів антизапальних маркерів (IL-10 та інших) [6]. Інші дані також свідчать про те, що рівні IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN- γ та TNF- α є вищими при ПТСР, ніж у контролі.

Однак, деякі з результатів не підтверджують відмінностей між ПТСП і здоровими особами щодо рівня СРП. Дослідження Yang J-J., Jiang W. (2020), Katrinli S. та інших (2022) не виявили у пацієнтів з ПТСП підвищення рівнів IL-1 β , IL-2 та IL-6 у порівняно зі здоровими [104, 202]. У патофізіології ПТСП значну роль відігравали зміни природженого та набутого імунітету. Після генетичного, епігенетичного та транскриптомного дослідження ПТСП, дані якого оприлюднила Katrinli S. зі співавторами (2022), ідентифіковані численні гени, які детермінують імунні реакції [104]. Згідно результатів досліджень Lauten T.H. та інших (2024), Зубченко С. та інших (2023), природжений імунітет у таких хворих характеризувався виснаженням фагоцитарної ланки, збільшенням кількості NETs, ослабленням функцій моноцитів і змін їх кількості у циркуляції. У хворих з ПТСП на імунних клітинах у складі мікроглії збільшується експресія CD14, CD86, TLR4. Кількість NK клітин була підвищеною, хоча функціональна активність і продукція ними цитокінів знижені [6, 114]. За даними Lauten T.H. та інших (2024), у хворих з ПТСП спостерігався посилений апоптоз дендритних клітин [114]. Зубченко С. та інші (2023) подали дані, що в усіх пацієнтів з ПТСП виявлено: лімфопенію – у 15 (18,9 %) осіб, лімфоцитоз – у 26 (32,9 %), моноцитоз – у 31 (39,2 %), нейтропенію – у 18 (22,8 %), а в 27 (34,1 %) пацієнтів – підвищення кількості нейтрофілів. ШОЕ у 19 (24,1 %) пацієнтів була незначно підвищена, а підвищені рівні СРП виявлені у 24 (30,4 %) осіб [6].

Щодо особливостей набутого клітинного імунітету, то, за даними Tatlock H. та інших (2024), у пацієнтів з ПТСП кількість В лімфоцитів не відрізнялася від здорових, а Т лімфоцити проявляли підвищену активацію і посилений синтез прозапальних цитокінів. Ними виявлено лише невелику кількість даних щодо зниження загальної кількості Т лімфоцитів при ПТСП [114]. А Зубченко С. та інші (2023) показали, що у периферичній крові було виявлено підвищені рівні CD4⁺ лімфоцитів, CD8⁺ лімфоцитів і В-лімфоцитів [6]. У пацієнтів після тяжкої травми зі сформованим ПТСП Кван P.F. зі співавторами (2019) ідентифікували гени, асоційовані зі змінами метаболізму, імунних сигнальних систем, навіть кількості клітин, зокрема, підвищену кількість CD4⁺ Т клітин [111].

Надалі невідомо, чи запальне оточення пришвидшує вихід з ПТСР, чи індуковане травмою запалення посилює ризик формування ПТСР. Двонаправлені взаємодії між ПТСР і запаленням підтверджуються даними генетичних досліджень Katrinli S. та інших (2022), які довели асоціації між ПТСР і рівнем СРП [104]. Lauten TH. та інші (2024), Bookwalter DB. та інші (2020) виявили підвищення рівнів цитокінів і хемокінів на місцевому і системному рівні, що підтвердило наявність запального процесу [53, 114]. Зубченко С. та інші (2023) сформувавши послідовність змін на сигнальному рівні, які призводили до розвитку запалення та гіперреактивності вісі НРА. По-перше, прозапальний цитокін TNF- α активував сигнальні шляхи NF- κ B і P38MAPK. По-друге, запальний процес запускався молекулярними структурами, які пов'язані з небезпекою – алармінами або DAMP, які підтримувати місцеві та навіть системні запальні реакції. По-третє, DAMP стимулювали продукцію прозапальних цитокінів, зв'язуючись з такими рецепторами на клітинах природженого імунітету: 1) PRR; 2) RAGE; 3) TLRs і NF- κ B. Прозапальні цитокіни (IL-1 β , IL-6 і TNF- α) стимулювали синтез білків гострої фази, сприяли надмірній активації системи комплементу, тобто підтримують запалення. Зростання рівнів прозапальних цитокінів призводило до гіперреактивності вісі НРА. За умов хронічного стресу кортизол не інгібував NF- κ B-опосередковану продукцію прозапальних цитокінів і хронізував запальний процес [6].

У жінок з хронічним ПТСР виявлено підвищені рівні прозапальних цитокінів і пошкодження ендотеліальної функції. Згідно даних Yang J-J., Jiang W. (2020), Lauten TH. та інших (2024), збільшена кількість лейкоцитів при ПТСР була предиктивним фактором ризику кардіоваскулярних [114, 202], а за даними Досенко В. (2023) – і ендокринних хвороб (діабету) [14]. Neylan TC. зі співавторами (2019) виявили у жінок з ПТСР після сексуальної травми підвищений рівень СРП, sTNF-RII та ICAM-1 – маркера ендотеліальної дисфункції, яка є прогностичним фактором кардіоваскулярних хвороб [142]. Sun Y, зі співавторами (2021) виявили, що ПТСР впливає і на рівень іншого маркера - HMGB1, який зв'язує ДНК і таким чином модифікує транскрипційну регуляцію

та структуру хроматину, тобто здійснює епігенетичний вплив. Внаслідок цього відбувається дисрегуляція експресії генів прозапальних цитокінів ІЛ-6 та ІFN- α [184]. Jiang T. та співавтори (2019) також підтвердили, що експозиція до травми та розвиток ПТСР асоційовані з епігенетичними змінами, внаслідок яких посилювалася запальна активність [100]. Katrinli S. та співавтори (2022) вивчали інші, менш відомі, нейромаркери, асоційовані з ПТСР – це ГАВА та ацетилхолін, які володіють антизапальними функціями, але підвищений рівень прозапальних цитокінів при ПТСР нівелював їх [104]. Разом ці відкриття дають можливість прогнозувати формування ПТСР.

Katrinli S. та Smith AK (2021) виявили у пацієнтів з ПТСР високу кількість лейкоцитів, лімфоцитів (~20–25% від популяції лейкоцитів у периферичній крові), Т клітин та CD4⁺ Т клітин порівняно з особами, які просто пережили травму. У пацієнтів з ПТСР були знижені пропорції наївних CD8⁺ Т клітин і Tregs, і підвищені пропорції CD3⁺ клітин та антиген-специфічних Т клітин пам'яті. У цивільних з ПТСР було виявлено низьке співвідношення CD4⁺/CD8⁺ Т клітин і високе співвідношення ефektorних/наївних CD8⁺ Т клітин. Цей імунний фенотип назвали старінням імунної системи, він в основному спостерігається у старших осіб - знижується кількість CD4⁺ Т клітин і зростає кількість CD8⁺ Т клітин. Вони підтвердили асоціацію між ПТСР і передчасним старінням імунної системи, так як збільшується кількість прозапальних CD4⁺ Т клітин, Th1 та Th17 клітин і знижується кількість Tregs, що корелює з підвищенням рівнів ІFN- γ та ІЛ-17 у крові. Низька пропорція CD4⁺ Т клітин і Tregs відображає зниження здатності до супресії імунної відповіді як потенційного механізму підвищення імунної реактивності. Так як Tregs мають антизапальні властивості, а Th1 і Th17 клітини мають прозапальні властивості, то зсув в сторону Th17 чи Th1 і зменшення кількості Treg сприяли розвитку хронічного запалення при ПТСР [97]. Кажка А. та співавтори (2024) підтвердили, що зниження здатності до супресії призводило до посилення імунної реактивності та хронічного запалення, і, відповідно, до розвитку автоімунних хвороб [103].

Довготривала дисрегуляція імунної відповіді у хворих на ПТСР асоціювалась ще й з посиленням симптомів зі сторони симпатичної нервової системи. Змінюється поведінка та психологічний стан (страх, збудження, запобіглива поведінка), розбалансовується вісь НРА, наслідком чого стає парадоксальне зниження кортизолу. Дуже низькі рівні глюкокортикостероїдів, підвищені рівні прозапальних факторів, змінена експресія генів і посилене старіння імунних клітин призводить до імунної дисфункції, що лежить в основі імунопатології. Більше того, посилена гормональна активність щодо центральної нервової системи може викликати синтез ще більшої кількості стресових гормонів, хронічну імунну дисрегуляцію та потенційно формування аутоімунних хвороб. Дані Bookwalter D.B. та інших (2020) вказали на асоціацію між ПТСР і множинними аутоімунними синдромами, особливо у молодих осіб. В американських ветеранів воєн в Іраку та Афганістані з ПТСР було встановлено підвищені ризики розвитку ревматоїдного артриту, системного червоного вовчачка, множинного склерозу, запальних захворювань кишківника та аутоімунного тиреоїдиту порівняно з пацієнтами з іншими психіатричними порушеннями і без психіатричних проблем [53]. Довготривале зниження рівня кортизолу викликає гіперактивацію імунної системи. Kuan P.F. та інші (2019) та Song H. та інші (2018) показали, що альтернативними факторами ризику розвитку ПТСР є порушення сну, вживання алкоголю, інтенсивність куріння, які в непрямий спосіб провокують розвиток аутоімунітету, а за таких умов імунна система посилювала активність запалення включно з активацією імунних клітин [111, 178]. За даними Medina G. і співавторів (2018), Vera F. і співавторів (2019), при аутоімунних хворобах (найбільшою мірою ревматоїдному артриті та остеоартриті) активуються прозапальні імунні сигнальні шляхи, виділяються маркери хронічного запалення, що і призводить до розвитку імунозалежних ускладнень [81, 133]. Song H. та інші (2018) резюмують, що головний механізм взаємозалежності між ПТСР та аутоагресією надалі не визначений [178].

Науковці довели, що клінічні симптоми ПТСР викликані нейрозапальними змінами. Зубченко С. і співавтори (2023) виділили низку механізмів його

формування: 1) проникнення прозапальних цитокінів через гемато-енцефалічний бар'єр; 2) активація цитокінових рецепторів на аферентних нервових волокнах (наприклад, блукаючому нерві), які передають сигнали до відповідних ділянок мозку; 3) активація цитокінами мікрогліальних клітин і синтез ними MCP-1, який стимулює їх хемотаксис до мозку; 4) посилення активності IDO, яка перетворює триптофан (основну амінокислоту серотоніну) на кінуренін [6]. Свого часу Wichers MC. та Maes M. (2004) довели, що метаболіти кінуреніну викликають оксидативний стрес, токсично впливають на мозок, стимулюють рецептори до гіпокампу, що призводить до його апоптозу, атрофії та розвитку депресії [195].

За даними Jiang T. та співавторів (2019), пацієнти з ПТСР мають підвищений ризик інфекційних хвороб та їх ускладнень. Психологічний стрес асоціювався з більшою чутливістю до інфекцій, зокрема, у жінок зі Швеції з ПТСР встановлено посилену кількість інфекції: 1) папіломавірусом людини; 2) інфекцій, які передаються статевим шляхом (гонореєю, хламідією, сифілісом, генітальним герпесом). Такі жінки після втрати дитини, брата, сестри, чоловіка знаходять собі нового сексуального партнера. Патофізіологічний механізм впливу психологічного стресу на ослаблення протиінфекційного імунітету у хворих з ПТСР є таким: активація вісі НРА та симпатичної наднирничково-медулярної вісі призводить до вивільнення гіпофізом АКТГ, а цей гормон спричиняє дисрегуляцію імунної відповіді [100]. Qiu D. і співавтори (2021) підкреслили необхідність вивчення формування ПТСР у людей, які отримали травму в результаті спалаху інфекційної хвороби і обстеження потенційно вразливої до стресового розладу популяції у перспективі інфекції в майбутньому [156]. Yuan K. і співавтори (2021) підтвердили асоціацію між ПТСР і пандемією COVID-19 [205], а Haderlein TP. і співавтори (2020) більше акцентували на асоціації між ПТСР і ментальними травмами у ветеранів воєн, які хворіли COVID-19 [85]. Lauten TH. і співавтори (2024) виявили, що після вакцинації у пацієнтів з ПТСР посилюється відповідь на вакцину та зростає титр антитіл. У протилежність до хронічного стресу, при якому страждає В-клітинна відповідь

на вакцину, при ПТСР не спостерігалось депресії продукції антитіл. Ці дослідження показали, що адаптивна імунна відповідь при хронічному стресі уражається більше, ніж при травматичному [114].

1.3 Вірус HHV6 і його імунopatологічна дія

Згідно даних Ablashi D. та інших та Phan T.L. та інших (2018), герпесвірус людини 6-го типу (HHV6) – це спільна назва двох його субтипів HHV6A та HHV6B, які майже на 90% ідентичні. Щоби потрапити в клітину, HHV6A використовує рецептор CD46, а HHV6B – CD134-молекулу, яка експресується на активованих CD4⁺ Т клітинах [35, 151]. Eliassen E. та співавтори (2017) проінформував, що обидва субтипи – HHV6A та HHV6B – впливають на клітинно-опосередковану антивірусну відповідь НК клітинами, але діють у різний спосіб. Загалом вірус HHV6 змінює здатність НК клітин контролювати вірусні інфекції [77].

King O. та Khalili Y.AI. (2023) продемонстрували, що HHV-6 може викликати гострий, неперервний і перманентний інфекційний процес [54]. Hanson DJ. зі співавторами (2018) показали, що HHV6, як і інші герпесвіруси, є латентною інфекцією, переважно асимптоматичною [89]. Згідно даних King O. та Khalili Y.AI. (2023), HHV6 проявляє імуносупресивну та нейротропну дію, може спричиняти енцефаліт, крім цього, грає патологічну роль при множинному (розсіяному) склерозі, епілепсії, синдромі хронічної втоми [54]. За даними Aimola G. та співавторів (2020), HHV6A/B може інтегруватися у хромосоми гермінальних клітин, і тоді копії віруса включаються у всі ядерні клітини організму [37]. Свого часу Lusso P. і співавтори (2007), Wang F. і співавтори (2006), Jaworska J. і співавтори (2007) показали, що HHV6A та -6B впливають на клітинний та гуморальний імунітет людини такими способами: 1) знижують експресію CD3 [124]; 2) індукують диференціацію IL-10-продукуючих T-регуляторних клітин типу 1 [193]; 3) інгібують виділення IFN- β [98]. Ota M. та інші (2014) і Nastke MD. та інші (2012) показали, що HHV6A та -6B знижують продукцію IL-2, IL-12 і молекул МНС класу I [140, 146]. Martin LK. і співавтори (2012) та Halawi M. і співавтори (2015) дослідили, що кількість CD8⁺ Т клітин,

специфічних до антигенів HHV-6, є зазвичай меншою, ніж 0,01% від циркулюючих CD8⁺ Т клітин [87, 131].

Arbuckle JH і співавтори (2010), Hanson DJ. і співавтори (2018), Kharbat AF. і співавтори (2022), Kusakin AV. і співавтори (2023), Sokolovska L. і співавтори (2024) дослідили, що HHV6 здатен інтегруватися у теломерний і субтеломерний регіони хромосоми людини, внаслідок чого формується хромосомно інтегрований HHV6 (сіHHV-6) [40, 89, 107, 112, 177]. Naidar G. (2021) вважає, що HHV6 забезпечує свою латентну форму, інтегруючись у геном господаря [86]. Strenger V. та Barozzi P. (2016) припустили, що Т клітини, які дозріли в тимусі людей з сіHHV-6, будуть толерантними до антигенів HHV6; однак, особи з ісіHHV-6 переважно мають велику кількість CD8⁺ Т клітин [46, 182]. Kharbat AF. та інші (2022) припустили, що ще одним механізмом імуномодуляції, який здійснював HHV6, є зміна експресії поверхневих рецепторів і продукції цитокінів/хемокінів [107].

Інформація щодо впливу HHV-6 на адаптивну імунну відповідь є різною. Свого часу Hanson DJ, Hill JA. та Koelle DM. (2018) зробили висновок щодо проблемності вивчення HHV6-специфічного Т-клітинного імунітету, бо: 1) в осіб з хронічною інфекцією дуже низька кількість HHV6-специфічних Т клітин пам'яті; 2) ДНК вірусу HHV6 займає велику частину геному. Відносно добре вивченими є антигени вірусу, до яких специфічні CD4⁺ Т-клітини, але визначення антигенів, до яких специфічні CD8⁺ Т-клітини, знаходиться на ранній стадії. У осіб з сіHHV-6 краще розвинута клітинно-опосередкована імунна відповідь проти HHV6. NK клітини у інфікованих хворих також проявляють цитотоксичну активність проти HHV-6, яка стимулюється IL-15. В основному імуносупресивна дія HHV6 скерована на функції Т клітин [89]. King O. та Khalili Y.A. (2023) виявили, що HHV6 як правило вражає CD4⁺ лімфоцити, які володіють ефекторними антивірусними функціями [54], Більше того, специфічні до HHV-6 CD4⁺ Т-клітинні лінії можуть продукувати IFN- γ та експресувати CD107a/b, коли презентують повний вірус чи його пептидний антиген і, таким чином, здійснювати свої цитотоксичні функції. Hanson DJ. зі співавторами (2018)

підтвердили, що роль CD4⁺ типу 1 (Th1 клітин) в імунній відповіді проти HHV6 є важливішою, ніж CD4⁺ типу 2 (Th2 клітин) [89].

Hanson DJ. і співавтори (2018) довели, що антигенність бета-герпесвірусних протеїнів посилюють такі фактори: 1) ступінь експресії вірусних протеїнів, надлишок віріонів та інші фактори, що підвищують антигенність; 2) фокусування на пептидах HHV6B, що передбачає зв'язування специфічних HLA алельних варіантів (DRB1*0101 – один CD4⁺ Т-клітинний епітоп; HLA-B*0801 – як CD8⁺ - інший Т-клітинний епітоп і т.д.). Стало відомо, що Т клітини CD8⁺ можуть розрізнити тільки три пептиди-антигени HHV6B на інфікованих клітинах і продукувати IFN- γ , TNF- α та гранзим В [89].

Vojdani A. та інші (2023) дослідили здатність HHV6 активувати продукцію металопротеїназ – ще один механізм його патологічного впливу на імунітет та організм у цілому. Герпесвіруси протягом абортивної або продуктивної реплікації продукують ферменти dUTPases (які також належать до групи металопротеїназ). Вони спричиняють патофізіологічні зміни при герпесвірус-асоційованих хворобах, зокрема, після ініціюючої фази літичної інфекції віруси у латентній формі персистують у В клітинах пам'яті інфікованого пацієнта. Реактивація вірусу в лімфоцитах спричиняла виділення з клітин dUTPases, котрі проникали в інші клітини та тканини. Ці ферменти розпізнавалися рецепторами TLRs, які первинно розпізнавали антигени та ініціювали реакції природженого та набутого імунітету проти HHV6. Загалом активація TLRs, а особливо TLR2, виявлена при автоімунних хворобах, а саме ревматоїдному артриті, синдромі Шегрена, множинному склерозі, системній склеродермії та системному червоному вовчаку. TLR2 активував сигнальний каскад і посилював продукцію прозапальних цитокінів. Після зв'язування з гетеродимером TKR2/1 вірусу dUTPases, виділені HHV-6A, активували NF- κ B. Інші dUTPases, виділені вірусом HHV6A, активували різні субпопуляції лімфоцитів та індукували диференціацію Т-хелперів-1 (Th1) та Т-хелперів-17 (Th17) [191]. Свого часу De Clercq E. та співавтори (2001), а згодом Caselli E. та співавтори (2012), Leibovitch E. та співавтори (2013) та Sokolovska L. і співавтори (2024) дослідили, що Т-хелпери

17 (Th17) продукують прозапальний IL-17, який посилює синтез IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, G-CSF та стимулює макрофаги до синтезу TNF- α і IL-1. Саме тому HHV6 є одним з багатьох вірусів, які часто призводять до автоімунних хвороб [21, 22, 60, 70, 115, 177, 186]. На думку Sokolovska L. і співавтори (2024), індукція автоагресії під дією HHV-6, яка має літичний характер, можлива ще й іншим шляхом. Гіперактивовані антивірусні механізми викликали формування локального прозапального оточення, під його впливом присутні там клітини виділили нормальні секвестровані автоантигени. Їх поглинули антигенпрезентуючі клітини та активували автореактивні лімфоцити [177].

Sokolovska L. і співавтори (2024) дослідили ще низку властивостей вірусу HHV6, які сприяли розвитку соматичних хвороб: 1) рання первинна інфекція протягом перших років життя, присутність певної кількості материнських антитіл; 2) загроза латентного перебігу HHV6 щодо реактивації або персистенції; 3) широкий клітинний тропізм HHV6 – був виявлений в імунних, ендотеліальних, епітеліальних клітинах і нейронах; 4) здійснення вірусом імуномодуючого впливу. Рецептором входу в клітину для обидвох підвидів вірусу HHV6 є CD46, присутній на всіх ядерних клітинах. Цей глікопротеїн грає ключову роль у зв'язуванні та інактивації компонентів комплементу, також залучений у запуск автофагії [177]. Maria Romeo A. та співавтори (2020) показали, що загалом віруси намагаються припинити автофагію, щоби уникнути елімінації та далі персистувати в інфікованому організмі. Однак, при вірусній інфекції HHV-6 віруси можуть навіть допомагати формуванню автофагосом та утилізації зруйнованих частин клітин. Блокада автофагії та посилення продукції протеїнів-стимуляторів імунної відповіді при інфекції HHV6В спричиняє: 1) ескалацію запального процесу та пригнічення диференціації моноцитів у дендритні клітини; 2) посилення стресу ендоплазматичного ретикулуму та збільшення токсичної дії мітохондріальних білків; 3) сприяння внутрішньоклітинному збільшенню ROS; 4) збереження автофагальних пухирців після дефектної автофагії, які є додатковим резервуаром збереження вірусної інфекції; 5) потенціювання спільної активації сигнальних шляхів STAT1 і

STAT3, які, проактивувавши клітину, сприяють продукції нею інтерферонів. Під дією різновиду вірусу HHV6 - HHV6A також відбувається ослаблення автофагії в астроцитах і первинних нейронах. Пригнічення автофагії та ескалація запалення – це основні ланки патогенезу автоімунних хвороб ЦНС – автоімунного множинного склерозу, та нейродегенеративних – хвороби Альцгеймера та хвороби Паркінсона [167].

Sokolovska L. і співавтори (2024) дослідили, що в процесі еволюції герпесвіруси довго адаптовувалися до господаря [21, 22], і HHV6 не є винятком. Імунотропна природа HHV6 – це його здатність змінювати профіль синтезованих цитокінів; експресію молекул і рецепторів на поверхні клітин. HHV-6 «блокує» продукцію хемокіну U83 і два рецептори до хемокінів U12 та U51, які забезпечують вірусну реплікацію та передачу вірусу в інші клітини. Відтягування у часі контактів клітина-клітина – це стратегія «імуного уникнення», що робить вірус практично непомітним для імунітету [177].

Наявні в організмі людини патогени є потенційними тригерами автоімунітету. Однак необхідно більше досліджень як уражених автоімунним процесом тканин, так і тканинно-специфічної реактивації без активної інфекції HHV6 у крові, що якраз характерне для автоімунному процесу. Sokolovska L. і співавтори (2024) підкреслюють, що надалі малозрозумілою залишається роль специфічних антигенів HHV6, бо їх не вдалося ідентифікувати за допомогою дослідження транскриптому. Щоби виявити, які саме антигени HHV6 модулюють імунну відповідь, потрібно досліджувати вірусний протеом [177]. Однак в останні роки Romeo MA. та співавтори (2020), Haidar G. (2021), Sokolovska L. і співавтори (2024), виявили, що HHV6 викликає дисрегуляцію імунної відповіді такого типу, який веде до формування автоімунної хвороби: змінює функції імунних клітин, підтримує запальний стан, гальмує диференціювання регуляторних клітин. HHV6 навіть назвали «вірусом автоімунітету» [86, 167, 177].

1.4 Особливості природженого та набутого імунітету при вірусній інфекції SARS-CoV-2 та HHV6

Hanson DJ. і співавтори (2018), Brooks B. і співавтори (2022) довели, що внаслідок перенесеного COVID-19 активуються різні гострі та хронічні хвороби, спричинені лімфотропними герпесвірусами, насамперед герпесвірусами людини 6-го та 7-го типів (HHV6) та -7 (HHV7), які залишаються в латентній формі протягом всього життя людини. Доказом клінічної значимості інфекції HHV-6 є її наявність у імунокомпрометованих пацієнтів [54, 89]. Vojdani A. та співавтори (2022) та Brooks B. та співавтори (2022) показали, що реактивація HHV-6 відіграє значну роль в патогенезі COVID-19, бо він полегшує проникнення SARS-CoV-2 у клітину, реплікацію вірусу та його розповсюдження у тканині, сприяє формуванню постковідного синдрому [54, 191].

Hanson DJ. і співавтори (2018) продемонстрували, що, порівняно з іншими герпесвірусами, клітинно-опосередкована імунна відповідь проти анти-HHV-6 при первинній інфекції є сповільненою [89]. Vojdani A. та співавтори (2022) продемонстрували, що літична реплікація HHV-6 індукувала зміни у експресії ACE та посилювала зв'язування між протеїновим антигеном SARS-CoV-2- S та рецептором ACE2, що посилювало фіксацію SARS-CoV-2 на епітеліальних клітинах та зміцнювало зв'язок з 5-ма шипоподібними антигенами вірусу. Зменшення кількості рецепторів до ACE2 під впливом вірусної інфекції HHV-6 призводило до акумуляції ангіотензину II - ліганду для ACE2. Внаслідок цього відбувалася продукція ендотоксинів – ліпополісахаридів, які посилювали продукцію прозапальних цитокінів і запуск запального каскаду [191].

Jianga Y. та співавтори (2020), Van Eeden Ch. і співавтори (2020) і Björkström NK. і співавтори (2021) встановили, що власне гіперактивована імунна система спричиняла тяжкий перебіг хвороби COVID-19 і постковідного синдрому, активно залучаючи до нього NK клітини та різні прозапальні речовини у крові [51, 55, 189]. У таких пацієнтів були підвищеними рівні феритину, СРП, D-димеру, IL-6, TNF- α , IL-8 тощо. Згідно даних Witkowski M.

та інших (2021), при тяжкому перебігу хвороби співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів підвищувалося [196]. Згідно даних Yang Y. та інших (2021), НК клітини за таких умов можуть модулювати імунну відповідь, знищуючи імунні клітини (моноцити-макрофаги, нейтрофіли та Т лімфоцити) [204].

Maucourant Ch. і співавтори (2020), Wang H. і співавтори (2022) і Yang Y. і співавтори (2021) підтвердили, що НК клітини походять з кісткового мозку, мають морфологічну будову лімфоїдних клітин і функціонують як перша лінія захисту від вірусів [132, 194, 204]. За умов норми НК клітини експресують рецептори CD107a (LAMP-1), CD107b (LAMP-2), LAMP-3 та CD178. Bryceson Y.T. та інші (2010) показали, що CD107a є маркером функціональної активності НК клітин за умов відсутності секреції цитокінів, а дефекти його експресії асоціюються з гіперзапальним станом [55]. Maucourant Ch. і співавтори (2020), Van Eeden Ch. і співавтори (2020), Björkström NK. і співавтори (2021) дослідили, що НК клітини поділяються на субпопуляції CD56^{dim} та CD56^{bright}. НК клітини CD56^{dim}CD16⁺ є цитотоксичними, а НК клітини CD56^{bright}CD16⁻ втрачають цитотоксичну функцію. Співвідношення між субпопуляціями НК клітин може змінюватися залежно від тяжкості перебігу вірусної інфекції [51, 189, 132]. Yang Y. та інші (2021) довели, що НК клітини причетні до формування хронічних автозапальних та автоімунних хвороб [204]. Згідно даних Sierra JM. та співавторів (2021), у таких пацієнтів виявляють знижене число НК клітин з пошкодженою цитотоксичною функцією [175]. Свого часу Rizzo R. та співавтори (2016) дослідив, що у пацієнтів з автоімунним тиреоїдитом на тлі інфекції HHV-6A збільшується кількість CD56^{bright}CD16⁻ НК клітин і посилюється їх цитотоксичність [165].

Van Eeden Ch. та інші (2020) і Björkström NK. та інші (2021) продемонстрували послідовність подій, які призводять до знищення інфікованих вірусами клітин-мішеней: 1) прямий лізис клітини-мішені перфорином та гранзимом B; 2) непряма елімінація клітини-мішені за посередництвом IFN- γ та TNF- α ; 3) експресія CD16 і виконання НК клітинами антитіло-залежної клітинної цитотоксичності ADCC; 4) взаємодія з моноцитами та лігандами TLR

і непряме посилення цитотоксичності [51, 189]. Van Eeden Ch. і співавтори (2020) довели, що синтезовані NK клітинами IFN- γ та TNF- α впливають на їх цитолітичну функцію NF- κ B-залежним шляхом, а хемокіни MCP-1 та IP-10 посилюють міграцію NK клітин у місця запалення. Функція NK може також бути активована через взаємодію лігандів з інгібіторними рецепторами: 1) KIRs, KLRG1 та TIGIT; 2) подібними до лектинів типу C гетеродимерами CD94-NKG2A [189]. Курченко А.І. та співавтори (2021) дослідили, що основна функція рецептора NKG2D – регуляція передачі сигналів через інші рецептори: при його низькій експресії функції імунних клітин пригнічуються [12].

Jianga Y. та інші (2020) виявили, що інфекція SARS-CoV-2 спричиняє зменшення кількості NK клітин, зниження рівнів IFN- γ та TNF- α та пригнічення їх цитолітичної функції. При цій інфекції виявлено підвищений синтез IL-6, який безпосередньо знижує експресію перфोरину, гранзимів A та B [101]. Van Eeden Ch. та інші (2020) довели, що підвищений рівень IL-10 у таких хворих пригнічує синтез цитокінів, асоційованих з цитотоксичністю NK клітин - IFN- γ та IL-2 [189]. Maucourant Ch. та співавтори (2020), Björkström NK. і співавтори (2021) дослідили, що тяжкий/критичний COVID-19 асоціюється з експансією NK клітин з підвищеною експресією інгібіторних рецепторів NKG2C, CD57 і KIR. Такий тип NK клітин назвали адаптивними. Їх кількість при тяжкому перебігу вірусної інфекції завжди збільшується [51, 132]. Yang J. та співавтори (2022) проінформували, що уражені вірусами клітини-мішені можуть бути знищеними циркулюючими натуральними кілерними T клітинами (NKT), а зменшення їх кількості вважають предиктивним фактором прогнозування тяжкості перебігу COVID-19 [201].

Остапченко Л.І., Гребіник Д.М. (2014), Малий В.П. та інші (2020) підтвердили, що при неефективності імунної відповіді в першій фазі SARS-CoV-2-інфекції, розвивалася друга, або пізня фаза, в основі якої лежала масштабна реплікація вірусу і цитокіновий шторм. Синтезовані макрофагами та нейтрофілами аларміни стимулювали утворення інфламасоми NLRP3. Її функціонування забезпечувало надзвичайно високий рівень запальної реакції та

запускало прозапальний тип загибелі клітин – піроптоз [17], при цьому активувалися каспази -1 та -5 та синтезувалися IL-1 β та IL-18 [20]. Vojdani A. та співавтори (2023) підтвердили, що власне реактивація HHV-6 призводить до індукції інфламасоми NLRP3, посилення оксидативного пошкодження та зниження антиоксидантного захисту – причинних факторів автоагресії [191].

Van Eeden Ch. та інші (2020) виявили, що НК клітини інгібують Т-клітинну відповідь у непрямий спосіб, модулюючи презентацію вірусних антигенів, та у прямий - взаємодіючи з Т клітинами. Експресуючи високі рівні активаторних і знижені рівні інгібіторних лігандів, вони знищують активовані Т клітини. Синтезуючи IFN- γ , НК клітини підтримують диференціацію наївних CD4⁺ Т клітин у Th1 клітини. Після тяжкого COVID-19 кількість Т хелперів і Т клітин пам'яті змінюється, але рівень цитокінів, які синтезують Th1 і Th2, залишається високим [189]. Liu L. та співавтори (2020), Phetsouphanh Ch. та співавтори (2022) дослідили, що у них знижується кількість Treg. Безсумнівно, у таких випадках клітинний імунітет, а саме Т клітини були гіперактивованими, тому розвивався цитокіновий шторм [120, 152].

Dan JM. та інші (2021), Liu L. і співавтори (2020), Davis HE. та співавтори (2023), Yang J. та інші (2022) продемонстрували зміни набутого імунітету у пацієнтів з інфекцією SARS-CoV-2 та РСС. У пацієнтів з РСС після перенесеної середньої форми COVID-19 виявили: 1) виснаження Т клітин, які грають основну роль в контролі та кліренсі інфекції SARS-CoV-2 [67]; 2) зменшення кількості CD4⁺ та CD8⁺ ефекторних клітин пам'яті [120]; 3) посилення експресії PD-1 на центральних клітинах пам'яті [69]; 4) збільшення експресії Tim-3 [201]; 5) зростання рівнів інтерферонів типів I та III (IFN- β та IFN- λ 1) [120]. Такі зміни імунної відповіді переважно проходили через 8 - 13 місяців [69].

Brooks B. та інші (2022) та Davis HE. та інші (2023) припустили, що HHV-6 реактивувався у пацієнтів з більшою активністю запального процесу, внаслідок цього відбувалася фрагментація мітохондрій з тяжкими наслідками для енергетичного метаболізму [54, 69]. Davis HE. та співавтори (2023) повідомили, що мітохондріальна дисфункція проявлялася втратою мембранного потенціалу,

дисфункцією метаболізму жирних кислот, мітохондріально-залежним катаболізмом ліпідів, окислювальним дисбалансом і зниженою оксигенацією. Ці процеси призводили до втрати імунологічної толерантності та були серйозними передумовами старту автоагресії [69].

Найважливішою причиною старту автоагресії у пацієнтів з SARS-COV-2 була втрата центральної імунологічної толерантності до власних антигенів. Cabral-Marques O. та співавтори (2022) припустили, що це відбулося внаслідок молекулярної мімікрії, тобто структурної подібності протеїну (складової частини нейронів) з SARS-CoV-2 та герпесвірусами, тому автоантитіла проти нього атакували рецептори до протеїну G [57]. Vojdani A. та співавтори (2023), Davis HE. та співавтори (2023) та Hansen N. (2023) виявили, що вірус HHV-6 має гомологічну подібність з шпильчастим антигеном (S-антигеном) вірусу SARS-CoV-2 і може змінювати структуру рецептора ACE-2 на епітеліальних клітинах; антитіла проти протеїнів SARS-CoV-2 можуть мімікрувати під ці автоантигени (виявлено при системних автоімунних хворобах та неврологічних автоімунних порушеннях) [69, 88, 191]. Lanneau D. і співавтори (2008), Gammazza AM. і співавтори (2020), Lubkowska A. та співавтори (2021), Vojdani A. та співавтори (2023) підтвердили патологічне значення білків теплового шоку HSPs, антигенні епітопи яких мали суттєву подібність з антигенними епітопами SARS-COV-2; примітно, що HSP60 пов'язаний з розвитком автоагресії [113, 123, 129, 191].

Vojdani A. та співавтори (2023) довели, що відміна імунологічної толерантності до автоантигенів залежить від CD4⁺ Т клітин і продукції ними IL-17. При РСС було виявлено дисбаланс між Th1/Th17 і Treg клітинами, що передує розвитку автоімунітету. Відміна імунологічної толерантності створює умови для продукції автоантитіл, зокрема проти тиреоглобуліну, тиреопероксидази, інсуліну, дволанцюгової ДНК, топоізомерази 1, базальної мембрани гломерул та мієлопероксидази [191]. Garcia-Ramos AE. та співавтори (2021) та Vojdani A. та співавтори (2023) рекомендували для прогнозування розвитку автоагресії у пацієнтів з РСС визначати в їх крові IgG та IgM антитіла проти антигенів реактивованого вірусу HHV-6, білків теплового шоку,

інтерферону типу 1, ANA, ENA, dsDNA, RF, актину, антимитохондіальних антитіл та інших автоантитіл [84, 191]. Davis HE. та співавтори (2023) підтвердили, що високі рівні автоантитіл, виявлені при РСС, зворотно корелювали з рівнями захисних антитіл проти SARS-CoV-2. У таких пацієнтів виявлено низький базальний рівень антитіл IgG проти нуклеокапсиду та шпильчатого антигену, малу кількість рецептор-зв'язуючих доменів, недостатнє число В клітин пам'яті, недостаток або навіть відсутність CD4⁺ Т клітин та CD8⁺ Т клітин. У пацієнтів з РСС було виявлено низькі рівні CD8⁺ Т клітин, які експресували CD107a, та зниження кількості IFN- γ -продукуючих CD8⁺ Т клітин порівняно з тільки інфікованими SARS-CoV-2 без РСС [69].

Vojdani A. та співавтори (2023) дослідили, що у процесі своєї персистенції вірус SARS-CoV-2 виділяє суперантигени, якими намагається захистити себе від імунної системи. Вони індукують: 1) поліклональну активацію Т клітин; 2) цитокіновий шторм; 3) апоптоз клітин; 4) пряму активацію дендритних клітин. Дія вірусних суперантигенів на імунну систему призводить до автоагресії, бо суперантигени: 1) подразнюють Т клітинні рецептори та формують комплекси з молекулами МНС класу II, які є крос-реагуючими; 2) гіперстимулюють В клітини до продукції великої кількості антитіл. Посилена активація імунної системи призводить до підвищення проникливості бар'єру кров-мозок, внаслідок чого розвивається автоімунітет і нейроавтоімунітет, асоційований з РСС [191]. Davis HE. та співавтори (2023), Hansen N. (2023) виявили, що у таких хворих психіатричні симптоми асоційовані з підвищеним рівнем антиневральних антитіл, пошкодженнями кровоносних судин внаслідок коагулопатії та ендотеліальної дисфункції (мікрогеморагії в мозку), руйнуванням нейронів і їх апоптоз, хронічною гіпоксемією та оксидативним стресом [69, 88].

Vojdani A. та співавтори (2023) показали, що по своїй суті РСС є мульти-захворюванням, а SARS-CoV-2 та HHV-6 є вірусами-тригерами до його формування, прогресування, тривалості та/чи тяжкості перебігу. Вважається, що факторами ризику розвитку РСС є: 1) персистенція вірусу SARS-CoV-2; 2) реактивація вірусу HHV-6; 3) активація імунної відповіді вірусними

суперантигенами; 4) порушення мікробіому кишківника; 5) множинні пошкодження тканин та автоагресія; 6) діабет 2-го типу; 7) наявність специфічних автоантитіл; 8) вік 50+ років; 9) жіноча стать; 10) більше ніж п'ять симптомів гострої інфекції уже на першому тижні хвороби; 11) імуносупресивний стан; 12) супутня патологія (гіпертензія, надвага, психічний стан і т.д.); 13) відсутність вакцинації від SARS-CoV-2 [191]. Отже, нейропсихіатричні порушення та формування long COVID у пацієнтів, які пережили середню та тяжку форми COVID-19, у найбільшій мірі спричинені дисрегуляцією імунної системи та конкомінантною лімфотропною/нейротропною інфекцією HHV-6.

1.5 Рецептори, що регулюють цитотоксичність імунних клітин при вірусних інфекціях, зміни їх експресії при постковідному синдромі та реактивації HHV-6

Krzyzowska M. і співавтори (2021), Di Vito C. і співавтори (2022) виявили, що при вірусних інфекціях велике значення має те, за яким механізмом імунні клітини доводять до апоптозу інфіковані вірусами клітини. Найчастіше працює сигнальний шлях Fas (CD95, APO-1). Його фізіологічний ліганд, FasL (CD95L), відноситься до родини TNF [75, 110]. Van Eeden Ch. і співавтори (2020), Björkström NK. і співавтори (2021) вивчили, що Fas (CD95) і Fas ліганд (FasL) є парою рецептор-ліганд, критично важливою для гомеостазу лімфоцитів і периферичної імунологічної толерантності, бо за їх участю гинуть автореактивні лімфоцити [51, 189]. Свого часу Das SN. і співавтори (2011) проінформували, що Fas (CD95 чи APO-1) є поверхневим білком, який відноситься до великої родини рецепторів TNF, а Fas ліганд (FasL чи CD178) - білком, який зв'язується з Fas. Цей зв'язок індукуює апоптоз клітин, які експресують Fas. Fas-опосередкована загибель клітини відбувається завдяки індукуючому загибель сигнальному комплексу DISC [68]. Krzyzowska M. і співавтори (2021) показали, що Fas за умов запалення експресується на нейронах та олігодендроцитах, що є причиною їх FasL-індукованої загибелі [110]. Krzyzowska M. і співавтори (2021), Sabbatino F.

і співавтори (2021), Saleki K. і співавтори (2022) довели, що після пошкодження спинного мозку відбувається його інфільтрація макрофагами, нейтрофілами та Т лімфоцитами, які експресують ліганд FasL і доводять до апоптозу нейрони, які експресують Fas. Деякі нейрони здатні експресувати FasL, у такому випадку вони можуть індукувати апоптоз інфільтрованих імунних клітин з експресованим Fas. У пацієнтів з COVID-19 встановлена підвищена експресія Fas на NK клітинах, CD4⁺ та CD8⁺ Т лімфоцитах [110, 169, 170].

Перцева Т.О. та співавтори (2017), Albert MC. і співавтори (2024) дослідили, що при COVID-19 імунopatологічні зміни розвиваються внаслідок «трикутної» взаємодії між вірусною інфекцією, цитокиновим штормом і мультисистемним пошкодженням. У пацієнтів з COVID-19 цей «трикутник» дисрегулює імунну відповідь, що проявляється змінами у системі Fas/FasL. Зміни торкаються як мембранної форми рецептора-ліганда mFas/mFasL, так і його розчинної форми sFas/sFasL, і є більше характерними для пацієнтів з РСС [23, 38]. Albert MC. та інші (2024) показали, що підвищений рівень sFasL у сироватці крові пацієнтів з тяжким COVID-19 і цитокиновим штормом асоціюється з пошкодженням органів, лімфопенією та прогнозує летальний кінець [38]. Saleki K. і співавтори (2022) дослідили, що зниження рівнів sFas/sFasL свідчить про їх виснаження під час запальної фази COVID-19, при якій відбувається активація нейтрофілів та їх міграція у тканини. При тяжкому перебігу COVID-19 нейтрофіли виділяють sFasL, який активує апоптоз клітин, експресуючих Fas, тобто лімфоцитів [170].

Maucourant Ch. і співавтори (2020), van Eeden Ch. і співавтори (2020), Yang J. і співавтори (2022) проінформували, що Tim-3 є мембранним глікопротеїном типу 1, який експресується на Т клітинах, НКТ клітинах, дендритних клітинах і макрофагах. Зв'язуючись зі своїм натуральним лігандом Gal-9, Tim-3 індукує апоптоз і виснаження Т клітин, пригнічує Т клітинно-опосередкований імунітет та індукує толерантність до вірусів. При інфекції SARS-CoV-2 та у пацієнтів з COVID-19 експресія Tim-3 на Т клітинах підвищена, що асоціюється з дисрегуляцією Т клітинної імунної відповіді [189, 132, 201]. Yang J. та співавтори

(2022) дослідили, що надмірна експресія Tim-3 на NKT клітинах пацієнтів з COVID-19 свідчить про більшу їх схильність до апоптозу. NKT клітини при COVID-19 перебувають у надактивованому стані, що провокує ранній цитокіновий шторм. Після надактивації настає виснаження Tim-3⁺ NKT клітин, яке характеризується високими рівнями експресії PD-1 і PD-L1 і навіть тривалий час після COVID-19 їх функція «паралізована». Тому кількість Tim-3⁺ NKT клітин може бути індикатором прогнозування перебігу COVID-19 [201]. Згідно даних Liu L. і співавторів (2020), Phetsouphanh Ch. і співавторів (2022), після ексцесивної активації виснажуються також і Т лімфоцити, які експресують Tim-3 та PD-1 [120, 152].

Свого часу Ahn E. та інші (2018), а згодом і Romeo MA. та співавтори (2020), Loretelli C. та співавтори (2021), Sabbatino F. та співавтори (2021) проінформували, що PD-1 – це інгібіторний рецептор на Т лімфоцитах, який «допомагає» регулювати імунну відповідь, гальмуючи її. Коли PD-1 зв'язується зі своїм лігандом PD-L1, то пригнічує активність Т клітин, інгібує їх проліферацію, продукцію цитокінів і цитотоксичну функцію. Таким чином підтримується гомеостаз і попереджується автоагресія. PD-1 та TIM-3, розташовані на клітинах, інфікованих вірусом, ще називають «імуними контрольними точками» [36, 122, 167, 169]. Wang H. та співавтори (2022) показали, що після зв'язування зі своїм лігандом Gal-9, Tim-3 інгібує імунні процеси [194]. Chen R-Y. та співавтори (2023) довели, що Gal-9 взаємодіє з PD-1 на поверхні Т клітини, що сприяє утворенню термінально виснажених PD-1⁺Tim-3⁺ Т клітин та ослаблює Gal-9/TIM-3-індуковану загибель клітини [62]. Gal-9 регулює Tim-3-опосередковану загибель Т клітин, а TIM-3 служить медіатором Gal-9-індукованої загибелі PD-1⁺Tim-3⁺ Т клітин. Yang R. і співавтори (2021) підтвердили, що взаємодія PD-1 з Gal-9 і Tim-3 ослаблює Gal-9/TIM-3 – індукований апоптоз Т лімфоцитів [203]. Chen R-Y. і співавтори (2023) дослідили, що PD-1 і його ліганд задіяні у TLR- та IFN-1- залежних сигнальних шляхах, через які активується NF-κB та/або STAT1. Тому в пацієнтів з автоімуними хворобами виявлена надмірна експресія PD-1 і PD-L1 [62]. Ahn E.

та співавтори (2018), Loretelli C. і співавтори (2021) і Chen R-Y. і співавтори (2023) довели, що в пацієнтів після COVID-19 система PD-1/PD-L1 на Т лімфоцитах гіперстимульована, внаслідок чого цитотоксичність та проліферація CD8⁺ Т клітин пригнічені [36, 62, 122]. У пацієнтів після важкого і критичного COVID-19 Т клітини проходять шлях від гіперактивації до виснаження і при цьому експресують підвищені рівні PD-1. Sabbatino F. і співавтори (2021) і Dan JM. і співавтори (2021) показали, що система PD-1/PD-L1 дисрегулюється протягом інфекційного періоду, і в даний час немає достатньо даних щодо пацієнтів з COVID-19 з різним перебігом хвороби та її прогнозом [67, 169]. Sabbatino F. та співавтори (2021) ствердили, що регуляторний процес за участю PD-L1 забезпечує інфікованим вірусом клітинам втечу від противірусних механізмів природженого і набутого імунітету, що полегшує реплікацію вірусів і поглиблює імуносупресію [169].

Vjörkström NK. та співавтори (2021) показали, що при важкому перебігу COVID-19 активуються Т лімфоцити, тому на їх мембранах посилюється експресія активаційних маркерів CD69, HLA-DR та CD38. При цьому ініціюються регуляторні програми за участю маркерів виснаження LAG3, TIGIT та Tim-3 [51]. Свого часу Ying Liu та співавтори (2010) дослідили, а зараз Hui Wang і співавтори (2022) підтвердили, що Tim-3 експресується на Th1, Т лімфоцитах цитотоксичних, макрофагах, NK, NKT, пригнічує секрецію IFN- γ та впливає на периферичну толерантність, інгібуючи Th1-залежну імунну відповідь [194, 121]. Згідно даних van Eeden Ch. і співавторів (2020), Курченко А.І. та співавторів (2021) і Wang H. і співавторів (2022), у пацієнтів з інфекцією SARS-CoV-2 не тільки значно зменшується кількість NK та Т клітин, але і посилюється експресія інгібіторного маркера NKG2A та маркерів виснаження PD-1 та Tim-3 [12, 189, 194]. Sabbatino F. і співавтори (2021), Vjörkström NK. і співавтори (2021) і Krämer B. і співавтори (2021) дослідили, що при важкому перебігу COVID-19 посилюється експресія Tim-3 на NK клітинах і знижується їх цитотоксичність [51, 109, 169]. Mingyue L. та співавтори (2020) і Cao W-J. та співавтори (2023) підтвердили, що ступінь експресії Tim-3 при COVID-19

відображає рівень виснаження NK клітин і корелює з тяжкістю перебігу хвороби [58, 117].

Phetsouphanh Ch. і співавтори (2022) виявили, що активація Т клітин, на яку вказує експресія маркерів CD38 і HLA-DR, і збільшення кількості плазмоцитів - похідних з В клітин - притаманні тяжкому COVID-19, який часто переходить у РСС [152]. Jianga Y. і співавтори (2020) і Liu L. і співавтори (2020) виявили, що абсолютне число лімфоцитів, всіх Т лімфоцитів і CD8⁺ Т клітин при ремісії після інфекції SARS-CoV-2 було вищим, ніж у тих, хто продовжував хворіти [101, 120]. Liu L. і співавтори (2020) показали, що рівень IFN- γ , який продукують CD4⁺, CD8⁺ та NKT клітини, був нижчим при тяжкому перебігу COVID-19, ніж при середньому. Виснажені CD8⁺ Т клітини переважно експресують PD-1, CTLA-4 та Tim-3 [113]. Phetsouphanh Ch. і співавтори (2022) спостерігали експансію PD-1⁺ та TIM-3⁺ на CD8⁺ Т клітинах при тяжкому COVID-19 [152]. Jiang Y. і співавтори (2020), Liu L. і співавтори (2020) довели, що кількість CD8⁺ Т клітин можна вважати індикатором прогнозування перебігу COVID-19, так як при прогресуванні хвороби компенсаторно відбувається активація CD8⁺ Т клітин, але зменшується їх кількість [101, 120]. Phetsouphanh Ch. та співавтори (2022) виявили, що наївні Т і В клітини, які експресують низькі рівні CD127 та TIM-3, були відсутні у пацієнтів з РСС у період між трьома і восьмома місяцями після COVID-19 [152].

Jiang Y. і співавтори (2020) і Liu L. і співавтори (2020) показали, що при інфекції SARS-CoV-2 Т клітини після активації диференціюються у ефекторні CD4⁺Т клітини, які продукують цитокіни та хемокіни, тоді коли CD8⁺ Т клітини переважно диференціюються у CTLs і специфічно знищують вірусінфіковані клітини. Загальна кількість Т клітин (CD4⁺ і CD8⁺ Т клітин разом) у периферичній крові пацієнтів з COVID-19 є зниженою, але експресія CD38 та HLA-DR на них посилена порівняно зі здоровими. Кількість позитивних CD38 Т клітин підвищується у пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19 [101, 120].

Liu L. і співавтори (2020) і Phetsouphanh Ch. І співавтори (2022) показали, що при РСС маркери активації HLA-DR та CD38 і маркери виснаження PD-1 і

ТІМ-3 у найбільшій мірі експресовані на CD8⁺ Т клітинах, однак, схожу коекспресію PD-1 і ТІМ-3 можна виявити й на CD4⁺ Т клітинах. Також при РСС руйнується баланс диференціації Т клітин, зростає відсоток CCR6⁺Th17 клітин та знижується відсоток Treg клітин, бо активується прозапальна відповідь Т клітинами [120, 152]. Alberto L. і співавтори проінформували, що CD38 є як зовнішнім, так і внутрішнім мультифункціональним сигнальним клітинним рецептором з ензиматичними властивостями. Завдяки ним CD38 може регулювати функції Т клітин, мобілізуючи внутрішньоклітинний Ca²⁺. Як рецептор, CD38 регулює міграцію макрофагів, дендритних клітин, лімфоцитів і нейтрофілів у місця запалення, сприяє поляризації у Th1 і хемотаксису дендритних клітин - фактично це маркер, сприяючий розгортанню запального процесу [93]. Maucourant C. і співавтори (2020) і Björkström NK. і співавтори (2021) показали, що протягом інфекції SARS-CoV-2 на NK клітинах і Т лімфоцитах посилюється експресія CD38 [51, 132]. Liu L. і співавтори (2020) дослідили, що пацієнтів з середнім і тяжким перебігом COVID-19 знижується кількість Treg, що можуть інгібувати імунну відповідь [120].

Hansen N. (2023) продемонстрував, що надпродукція прозапальних медіаторів, гіперактивація з наступним виснаженням Т клітин у пацієнтів з COVID-19 можуть спровокувати втрату толерантності до своїх антигенів і викликати продукцію аутоантитіл [88]. Ще свого часу Miller KD. та співавтори (2016) і Forrester JV. та співавтори (2018) дослідили, що хронічна цитокінемія з продукцією прозапальних цитокінів IL-1β, IL-2, IL-6, і наявність антитіл проти IFN-α, IFN-λ і мотивів хемокінових лігандів C-C та CXС можуть призвести до змін структури бар'єру кров-мозок і нейротоксичності [80, 135]. Посилення проникливості бар'єру дозволяє пройти аутоантитілам всередину, зруйнувати бар'єр та акумулюватися у мозку, що пошкоджує його функції та сприяє формуванню цереброспінальної ендотеліопатії. Hansen N. (2023) довів, що основними аутоантигенами, ідентифікованими у нейропсихічних пацієнтів з COVID-19, є GAD65, ацетилхоліновий рецептор і мієлін [88].

1.6 Сучасні підходи до лікування постковідного синдрому і ПТСР

1.6.1 Лікування інфекції ННV-6, COVID-19 та постковідного синдрому

Згідно Penninx BWJH. і співавторів (2021), важливим завданням на сьогоднішній день і на майбутнє є моніторинг, прогнозування та лікування психіатричних, поведінкових і когнітивних наслідків COVID-19. Якщо на основі даних клінічного та лабораторного обстеження встановлена імунна дисрегуляція, то у такому випадку ефективність антидепресантів буде обмеженою. Сучасними підходами до лікування є застосування вакцин, антивірусних препаратів (проти вірусу SARS-CoV-2) та імунологічної таргетної терапії (блокаторів прозапальних цитокінів і рецепторів до них) [149]. Baiocchi GS. та співавтори (2023) запропонували діагностичний маршрут, який мають пройти пацієнти після COVID-19 з психіатричними симптомами. Він розпочинається з дослідження структури мозку і визначення морфометричних та метаболічних відхилень, які вкажуть на потребу застосування терапії. Якщо у хворого виявили автоантитіла та психіатричні симптоми, підозрюють автоімунний енцефаліт. Якщо цих критеріїв немає, треба розглянути інші (зокрема, критерії автоімунного генезу хвороби), щоби підібрати імунотерапію. Стероїди та імуноглобуліни для внутрішньовенного введення є першою лінією терапії, а плазмаферез застосовують у тяжких випадках. Друга лінія терапії – це метотрексат чи азатиоприн. Терапія моноклональними антитілами вимагає тісної інтердисциплінарної кооперації, бо їх застосування провокує розвиток коморбідних станів, особливо при наявності у пацієнта антинуклеарних антитіл [37]. Vojdani A. та співавтори (2023) дослідили, що моноклональні антитіла проти SARS-CoV-2 використовують для лікування як COVID-19, так і РСС. Моноклональні антитіла проти хемокіну CCR5 (Ierolimab) здатні полегшувати симптоми РСС [191]. Згідно даних Vito CD. і співавторів (2022), застосований для лікування тяжкого COVID-19 Tocilizumab (гуманізовані моноклональні антитіла проти рецептора до ІL-6) посилював функціональність НК клітин [75]. Sabbatino F. і співавтори (2021) рекомендували лікування препаратами моноклональних антитіл анти-PD-1/PD-L1 (ключових точок) при ранньому

прогресуванні COVID-19, особливо пацієнтам з гіперактивованою імунною системою [169]. Loretelli C. і співавтори (2021) довели, що після такого лікування відбувається відновлення функціональної здатності аутологічних клітин пацієнтів з хронічними вірусними інфекціями [122].

Hanson DJ. і співавтори (2021) запропонували застосовувати проти вірусів HHV-6A та HHV-6B різні протівірусні препарати - foscarnet, ganciclovir та cidofovir, проте насторожили, що їх клінічне застосування обмежене токсичністю цих препаратів. Адаптивна імунотерапія з використанням вірус-специфічних Т клітин VSTs є найновішим терапевтичним підходом, який знижує і рівні ДНК вірусу HHV-6, і загальні симптоми інфекції. Для ефективнішого застосування адаптивної імунотерапії в лікуванні HHV-6 потрібно створити на Т-клітинах рецептори до найбільш значущих антигенних епітопів HHV-6, які будуть оберігати перед реактивацією вірусу [89]. Свого часу Varozzi P. і співавтори (2016), Bollard CM. і співавтори (2016), Naik S. і співавтори (2016) Tzannou I. та співавтори (2017) пропонували застосовувати терапію VST для лікування реципієнтів після трансплантації кісткового мозку з ризиком інфікування аденовірусом, поліомавірусом і герпесвірусами людини [46, 52, 139, 188]. Згідно даних Gerdemann U. та співавторів (2013) і Papadopolou A. та співавторів (2014), терапія вірус-специфічними Т клітинами була необхідною для попередження та лікування реактивації HHV-6 після трансплантації алогенних стовбурових клітин і стала доброю альтернативою антивірусним лікам, бо вони токсичні та неефективні щодо певних вірусів [83, 148].

Vojdani A. та співавтори (2023) запропонували багато ліків, спрямованих безпосередньо проти SARS-CoV-2. До них належать Paxlovid, Lagevrio, Remdesivir, Ivermectin, Chloroquine, Hydroxychloroquine, та Bebtelovimab. Також для пацієнтів з COVID-19 були рекомендовані цинк плюс низькі дози hydroxychloroquine та azithromycin, а ivermectin - як профілактика COVID-19. Також пропонувалося дуже просте та ефективне лікування SARS-CoV-2 введенням *Bifidobacterium* наростаючими дозами. Збільшення кількості бактерій посилювало реакції природженого імунітету. Використання NAD⁺ при

COVID-19 та інших вірусних інфекціях спричиняло супресію NF-κB і знижувало активність інфламасоми NLRP3. NAD⁺ призводив до резолюції запалення і обмежував ефекти цитокинового шторму при COVID-19 та інших хворобах, спричинених вірусами. До інших стратегій лікування віднесли: спеціалізовану дієту, пребіотики, пробіотики, коротколанцюгові жирні кислоти (acetate, butyrate, propionate), які продукуються мікробіотою кишківника, блокатори AHR, вітаміни А та D (які зв'язуються з рецепторами на Treg у кишківнику). Вітамін D дуже ефективний проти COVID-19 і long-COVID [191]. Yang J. та співавтори (2022) використовували Тимозин α-1 для охорони Т лімфоцитів від виснаження. Його дія полягала у зниженні експресії PD-1 та Tim-3 на Т клітинах [201]. Albert MС. та співавтори (2024) запропонували інгаляційну терапію антитілами анти-FasL, які захищали лімфоцити та підтримували їх здатність до протівірусної відповіді [38]. Щоби скоротити клінічно гострі періоди та зменшити симптоми, Vojdani A. та співавтори (2023) запропонували нутриціологічні та антиоксидантні добавки, зокрема omega-3 жирні кислоти та модуляцію мікробіому, для лікування пацієнтів з легким, середнім та тяжким COVID-19 та супутніми хворобами. Так як пацієнтам з COVID-19 властива дисрегуляція кетогенезу, запропонували додавання суплементів дієти з ВНВ. Це збільшувало кількість Th1 клітин та їх протівірусну активність, посилювало продукцію IFN-γ та кліренс вірусів. Тому ВНВ є рекомендованим для лікування тяжкого COVID-19 [191].

Так як герпесвіруси задіяні у формування РСС, Vojdani A. та співавтори (2023) для блокування їх реплікації запропонували лікування препаратом *ganciclovir*, що скоротило ризик загибелі пацієнтів від тяжкого COVID-19. Вірусне навантаження при реактивації герпесвірусів також можна зменшити за допомогою препаратів анти-ДНК. Зокрема, посилене введення *valacyclovir* знижувало кількість інфікованих герпесвірусами В клітин. Це препарат запропонували для комплексного лікування інфекції SARS-CoV-2. Загалом комплекс з антивірусних і бактерійних препаратів, пребіотиків, пробіотиків,

моноклональних антитіл і дієти посилював імунну систему осіб з РСС, зменщував тяжкість перебігу хвороби та пришвидшував виздоровлення [191].

Сао W-J. і співавтори (2023) для лікуванні COVID-19 застосовували адаптивну НК клітинну терапію. Ця терапія полягала у інфузії: 1) алогенних НК клітин; 2) НК клітин з пуповинної крові; 3) CD34⁺ гематопоетичних стовбурових клітин (попередників НК клітин); 4) розмножених *ex vivo* НК клітин. Проте термін дії адаптивної терапії НК був недовгим. Така інфузія на ранній стадії інфекції обмежувала реплікацію вірусу та елімінувала інфіковані клітини [58].

Vito CD. і співавтори (2022) для лікування пацієнтів з COVID-19 застосовували імуностимулятори - біологічно активні молекули (наприклад, IFN- α , IL-2, IL-12, IL-15), які *in vivo* «покрощували» активність НК клітин [75].

1.6.2 Лікування ПТСР

Свого часу Ногі Н і Кім Y. (2019) показали, що найефективнішими способами лікування ПТСР є психотерапія та медикаментозні препарати. Психотерапія є ефективним лікуванням ПТСР і навіть може знижувати запалення (а саме рівень СРП), знижуючи рівень стресу та посилюючи регуляцію емоцій. Щодо ліків, то найширше застосовують антидепресанти (альпразолам/клоназепам/інші бензодіазепіни). Антидепресанти типу SSRIs є препаратами першої лінії, які використовуються для лікування посттравматичних стресових розладів і є ефективними приблизно для 50% пацієнтів з ПТСР. Інші ліки, окрім деяких СІЗЗС або ІЗЗСН (інгібітори зворотного захоплення серотоніну та норадреналіну), не мають достатньо добре доведеної ефективності, навіть можуть погіршити результати лікування. Група СІЗЗС включає в себе 6 агентів: флуоксетин, пароксетин, сертралін, флувоксамін, циталопрам, есциталопрам. Два селективних SSRIs, пароксетин та сертралін, пропонуються FDA для лікування ПТСР, так як вони діють безпосередньо на β -клітини підшлункової залози, посилюють стимульовану глюкозою секрецію інсуліну та збільшують масу β -клітин [94]. Kajitani N. і співавтори (2020) і Yamanashi T. і співавтори (2020) відзначили, що відповідь

організму пацієнта з ПТСП на SSRI є нижчою у 65% лікованих, тобто велика частина таких пацієнтів не відповідає на лікування SSRI [102, 200].

Katrinli S. і співавтори (2022) довели, що, так як рівні IL-1 β , IL-6 і TNF- α у пацієнтів з ПТСП є підвищеними, блокування цих цитокінів є доцільним. Результати багатьох досліджень свідчать, що etanercept (інгібітор TNF- α), adalimumab (інгібітор TNF- α) та ustekinumab (інгібітор IL-12/23) зменшували симптоми депресії та тривожності у пацієнтів з псоріазом. Показано, що infliximab (інгібітор TNF- α) ефективний тільки у резистентних до лікування депресивних пацієнтів з високим рівнем базового запального процесу, також цей препарат знижував симптоми ангедонії. Нестероїдні протизапальні препарати (NSAIDs) та інгібітори циклооксигенази-2 (cyclooxygenase 2 - COX-2) пригнічують продукцію прозапальних цитокінів і зменшують запалення. Інгібітор COX-2 celecoxib зменшує симптоми депресії, знижуючи рівень IL-6. Однак не було проведено клінічних досліджень щодо застосування NSAIDs та інгібіторів COX-2 для лікування ПТСП [104]. Miranda M. і співавтори (2019), Kajitani N. та співавтори (2020) і Yamanashi T. і співавтори (2020) довели, що лікування нестероїдним протизапальним препаратом ібупрофеном знижувало симптоми тривожності в експерименті на щурах з ПТСП, бо знижувалися рівні TNF- α та IL-1 β та підвищувалася концентрація BDNF у гіпокампі [102, 136, 200].

Kajitani N. і співавтори (2020) і Yamanashi T. і співавтори (2020) показали, що інгібітори інфламасоми NLRP3 блокують продукцію прозапальних цитокінів. ВНВ - ендогенний інгібітор інфламасоми NLRP3 - зменшує депресію та тривожність у щурів після стресу, також завдяки зниженню концентрації TNF- α у гіпокампі [102, 200]. Katrinli S. та співавтори (2022) підтвердили, що глюкокортикоїди пригнічують запальну відповідь після стресу, підтримуючи продукцію протизапальних цитокінів та інгібуючи синтез прозапальних цитокінів. Враховуючи низьку концентрацію кортизолу у осіб з ПТСП, клінічні дослідження показали ефективність синтетичних глюкокортикостероїдів у лікуванні ПТСП або попередження розвитку ПТСП після гострого травматичного стресу. Показано, що таке лікування у комбінації з психотерапією полегшують

симптоми ПТСР. Щодо цитокінової терапії, то найчастіше пацієнти з ПТСР були ліковані препаратами IFN- α [104].

Stein MB. і співавтори (2021) запропонували для лікування кардіометаболічних порушень (які часто стають коморбідними станами при ПТСР), застосувати candesartan - інгібітор ACE-I та блокатори ARBs. ACE-I та ARBs проявляють свою антизапальну активність у мозку, скорочуючи секрецію прозапальних цитокінів і знижуючи активність мікроглії. Особи з ПТСР, ліковані ACE-I чи ARB, мали менші симптоми гіперзбудження у порівнянні з не лікованими цим препаратом. Однак, препарат лозартан, який також є антагоністом рецепторів до ангіотензину I, не впливав на симптоми ПТСР [181]. У різні роки Steenkamp MM. і співавтори (2017), Hill MN. і співавтори (2018), Corbett B. і співавтори (2021) і Bechet S. і співавтори (2024), враховуючи протизапальні властивості канабіоїдів, використовували їх для лікування ПТСР [48, 66, 92, 179]. Попри велику пропозицію схем лікування ПТСР, пошуки найефективнішого тривають, і, цілком можливо, ним стане препарат з імуномодуючими властивостями.

Так як постковідний синдром став абсолютно новим синдромом, з яким медики досі не стикалися, особливо, у контексті ймовірного розвитку автоагресії у постковідних пацієнтів, ми взяли собі за мету поглибити його імунологічну лабораторну діагностику. Численні автори обмежувалися визначенням кількості імунних клітин і різних антитіл - проти ННВ6 та автоантитіл. Ми у своїй роботі розвинули цей діагностичний напрямок і дослідили ефективність визначення й інших імунологічних параметрів (кількості популяцій, субпопуляцій лімфоцитів, експресії їх активаційних та інгібіторних маркерів) для кращого прогнозування формування РСС. Тим більше, що докладне вивчення рецепторного апарату, а ще більшою мірою – систем Fas-FasL та PD-1-PD1L є найбільш сучасним підходом до дослідження змін функціональної активності імунних клітин. Також у вивченій нами літературі мають місце досить суперечливі дані щодо експресії Tim-3⁺ на НК клітинах. Нашою метою було виконати та детально проаналізувати експресію всіх цих рецепторів на мембранах лімфоцитів постковідних хворих і

вивести критерії прогнозування легкого, середнього і важкого перебігу з метою запобігання формування у таких хворих імунопатології. Також нами було простудійовано існуючі на сьогоднішній день імунотерапевтичні підходи до лікування РСС (стероїди, імуноглобуліни для внутрішньовенного введення, плазмаферез, цитостатики, противірусні препарати тощо) і вирішено запропонувати лікування противірусним препаратом з імуномодулюючою дією.

Згідно даних літератури, ПТСР чітко асоційований з імунітетом і супроводжується дисрегуляцією імунної відповіді, проте остаточно не встановлено, які саме імунні чинники змінюються у пацієнтів з ПТСР (з інфекцією HHV6 і без неї). Було вирішено дослідити зміни популяцій і субпопуляцій лімфоцитів у таких пацієнтів, вивчити імуномодулюючий вплив інфекції HHV6 на зміну експресії поверхневих рецепторів і, відтак, їх функціональну активність. Також, згідно даних літератури, малодослідженою проблемою залишалася терапія ПТСР, в основі якої лежали психотерапія та антидепресанти. Тому ми взяли собі за мету впровадити і практику новий підхід до лікування ПТСР – противірусний препарат з імуномодулюючою дією. Отже, наступними цілями нашої роботи стало набагато детальніше вивчення клінічних характеристик і змін лабораторних показників (на рівні рецепторів на клітинах), встановлення основних тенденцій цих змін і підбір імуномодулюючих противірусних препаратів з метою уникнення формування імунопатологічних ускладнень.

Розділ 2.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Організація досліджень

Наукова робота проводилась протягом 2020-2025 років на клінічних базах кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (Львівській обласній клінічній лікарні, Львівській клінічній лікарні легеневих захворювань, КНП «Львівський обласний клінічний діагностичний центр»). Дизайн роботи (рис. 2.1-4) погоджено з Комісією з питань біоетики при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького (протокол №1 від 23.01.2023) із висновком про відповідність до вимог морально-етичних норм біоетики згідно правилам ICH/GCP, Гельсінської декларації прав людини (1964), Конвенції Ради Європи по правах людини і біомедицини (1997), а також чинним законодавством України; затверджено на засіданні комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» (протокол №9 від 12.09.2025).

2.2. Формування групи дослідження.

Дане дослідження за своїм дизайном є когортним проспективним (Рис. 2.1-2.4). Проводився огляд пацієнтів із стратифікацією за наявними симптоми, що вперше з'явилися після COVID-19 і не були пояснені альтернативними діагнозами і/або про перенесений стрес і наявністю післястресових симптомів, тривалістю більше 1 місяця.

Для формування групи дослідження попередньо було розроблена і затверджена авторська «АНКЕТА КЛІНІЧНИХ ДАНИХ» (Додаток 1.1), яка містила детальну інформацію щодо анамнезу пацієнта, скарг, об'єктивних і суб'єктивних даних тощо.

Для верифікації постковідного синдрому використовували COVID-19 rapid guideline: managing the long-term effects of COVID-19. NICE guideline.

www.nice.org.uk/guidance/ng188. ICD-10-CM Diagnosis Code U09.9 (Post COVID-19 condition, PCC, U09.9 за МКХ-10) [56].

Критерії включення: дорослі особи обох статей від 18 до 65 років із анамнезом перенесеного COVID-19 та наявними симптоми, що вперше з'явилися після COVID-19 та не були пояснені альтернативними діагнозами у тривалий період після COVID-19: загальні ураження шкіри та слизових оболонок, нервової системи, гепатобіліарної системи, кістково-суглобової системи, дихальної системи, серцево-судинної системи, сечовидільної системи тощо.

Критерії виключення: пацієнти, які мали в анамнезі будь-які хронічні супутні захворювання та будь-які інші супутні декомпенсовані захворювання, а також особи, які зловживають алкоголем, наркотичними речовинами або підлягали впливу токсичних чи хімічних речовин, діти та вагітні жінки.

Стадію COVID-19 визначали за критеріями Clinical management of COVID-19: Living guideline, 18 August 2023 <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2023.2>. Залежно від стадії COVID-19 в анамнезі, її розрізняли на легку (безсимптомне захворювання за наявності легких симптомів гострої респіраторної вірусної інфекції, але ПЛР «+» SARS-CoV2), помірну (пневмонія без дихальної недостатності) та тяжку (задишка, гіпоксія та значне пошкодження легень за даними візуалізаційних досліджень).

Для верифікації ПТСР використовували опитувальник NIMH, American National Center for PTSD (2013). Опитувальник складався з 4 блоків питань (Додаток 1.2): 1) симптоми повторного переживання травматичної події (мін. 1 симптом); 2) симптоми уникання (мін. 1 симптом); 3) симптоми збудження та реактивності (мін. 2 симптоми); 4) симптоми порушення когнітивних функцій і настрою (мін. 2 симптоми). Кожний блок містив 8-10 симптомів, додатково в кінці анкети було питання щодо тривалості відповідних проявів (опитувальник додається). Кожна позитивна відповідь (Так) оцінювалась як наявність симптому: симптоми повторного переживання (мін. 1 позитивна відповідь); симптоми уникнення (мін. 1 позитивна відповідь); симптоми збудження та реактивності (мін. 2 позитивні відповіді); симптоми когнітивних функцій і

настрою (мін. 2 позитивні відповіді). Сумарна (мінімальна) кількість позитивних відповідей для постановки діагнозу ПТСР – шість.

Критерії включення: дорослі особи обох статей віком від 18 років до 65 років з даними анамнезу про перенесений стрес унаслідок війни чи інших катастрофічних подій, а також наявністю післястресових симптомів тривалістю більше одного місяця.

Критерії виключення: особи, які до одного місяця перенесли стресові події, діти, вагітні, ВІЛ-інфіковані, пацієнти з автоімунними, онкологічними, гострими інфекційними та хронічними серцево-судинними, пульмонологічними, неврологічними, лімфопроліферативними хворобами, цукровим діабетом 1 і 2 типу та будь-якими іншими супутніми декомпенсованими захворюваннями, а також особи, які зловживають алкоголем, наркотичними речовинами або підлягали впливу токсичних чи хімічних речовин.

Пацієнтам, які увійшли в подальші дослідження виконувались молекулярно генетичні дослідження (ПЦР) на наявність кількості ДНК HHV6 у трьох біологічних середовищах (кров, слина, слизова задньої ротоглотки).

Контрольну групу склали здорових 20 осіб відповідного віку та статі, які не хворіли на COVID-19, що підтверджувалось відсутністю в анамнезі відповідної клінічної симптоматики та негативними лабораторними даними щодо ідентифікації SARS-CoV-2 (як у період пандемії, так і в період проведення дослідження) і не мали проявів ПТСР чи гострого стресу до одного місяця і без наявності ДНК HHV6 хоча б в одному з біологічних середовищ.

Подальше дослідження було поділено на етапи відповідно запланованому дизайну. Кожний етап мав визначені групи для виконання конкретних завдань дослідження. Зауважимо, що більшість пацієнтів (84,8 %) з ПТСР мали в анамнезі перенесений COVID-19. Тому в ході дослідження було окремо виділено групу в кількості 20 осіб з коморбідною патологією ПТСР і постковідним синдромом (РСС).

Усі групи були однорідними за статтю, віком, діагнозом і статистично репрезентативні за кількістю.

Анамнез включав: паспортні дані (стать, вік, професія, статус), коли переніс COVID-19, перебіг COVID-19: середньої тяжкості/тяжкий/надтяжкий, інші особливості (проведена екстракорпоральна киснева терапія під час лікування, підключення до АШВЛД COVID-19), чи вакцинований від COVID-19 первинна доза/ бустерна (якою вакциною), не вакцинований (причина). Коли вперше відчув прояви ПТСР, тривалість проявів ПТСР, супутні захворювання на час обстеження, препарати, які отримує пацієнт

На першому і на останньому візиті – після лікування інозин пронобексом, 1000 мг (через 90 днів) проводився клінічний огляд пацієнта та оцінка клінічних проявів постковідних порушень і/або ПТСР за ступенем вираженості. Дані фіксувались в «АНКЕТІ КЛІНІЧНИХ ДАНИХ».

Клінічний огляд пацієнта включав:

- імунна система (t° тіла, збільшення л/в, спленомегалія тощо);
- шкіра на слизові (висип, ерозії, сухість шкіри та слизових тощо);
- дихальна система (ЧД тощо);
- серцево-судинна система (ЧСС, АТ, біль за грудиною, біль під лівою лопаткою, тахікардія, аритмія);
- травна система (біль у животі, нудота, блювання, метеоризм, закрепи, діарея, зниження апетиту, втрата ваги, гепатомегалія інші прояви);
- сечовидільна система (набряки, ніктурія, інше)
- нервова система (біль голови, запаморочення, депресивні розлади, порушення когніцій, полінейропатія: поколювання, оніміння, порушення слуху, зору, дискоординація інші прояви);
- супутні захворювання (серцево-судинні, дихальні, цукровий діабет, аутоімунний тиреоїдит тощо).

Оцінка клінічних проявів постковідних порушень і/або ПТСР за ступенем вираженості (0-1-2-3): підвищення температури, підвищена втомлюваність, хронічна втома, підвищене потовиділення, емоційна лабільність, порушення сну, відчуття страху, втрата нюху, втрата смаку, біль у горлі, задишка, стиснення в грудній клітці, кашель, підвищений пульс, підвищений тиск, диспепсія, нудота,

порушення рухової активності, лімфаденопатія, випадіння волосся. Ступінь вираженості основних клінічних проявів буде проводитися у балах за наступною аналоговою шкалою:

0 - відсутність проявів – 0 балів

1 - незначна вираженість – сумарно 1-20 балів

2 - помірна вираженість – сумарно 21- 40 балів

3 - інтенсивна вираженість – сумарно 41- 60 балів

Загальні лабораторні дослідження: загальний аналіз крові (ЗАК) (ШОЕ, еритроцити, гемоглобін, лейкоцити, тромбоцити, лімфоцити, еозинофіли, паличкоядерні, сегментроядерні, моноцити) проведені в дні дослідження 1, 90;

Біохімічне дослідження крові (ALT, AST, креатинін, сечова кислота) проведені в дні дослідження 1, 90.

Імунологічне обстеження - метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) (відсоткова кількість копій ДНК HHV6 у 3-х середовищах - кров, слина, зішкріб зі слизової задньої стінки носоглотки) до/після лікування 1, 90.

Імунологічні дослідження методом проточної цитометрії (відсоткова кількість у крові):

- CD56⁺95⁺ до/після лікування 1, 90.
- CD56⁺178⁺ до/після лікування 1, 90.
- CD56⁺38⁺ до/після лікування 1, 90.
- CD56⁺366⁺ до/після лікування 1, 90.
- CD8⁺279⁺ до/після лікування 1, 90.
- CD8⁺274⁺ до/після лікування 1, 90.
- CD4⁺25⁺127⁻ до/після лікування 1, 90.

Загальні лабораторні і біохімічні дослідження виконували в лабораторії КНП ЛОР «Львівський обласний клінічний діагностичний центр» (акредитаційний сертифікат № 175 від 02.02.2024); імунологічні дослідження методом проточної цитометрії у науковій лабораторії кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (акредитаційний сертифікат № РА084/23 від

11.10.2023), завідувач лабораторією к.біол.н. Кріль І.Й.; імунологічні дослідження методом ПЛР - у діагностичному центрі ТОВ «Діла» (акредитована Національним агентством з акредитації України на дослідження відповідно до ISO 15189:2022, атестат про акредитацію №30001 чинний до 18.10.2026).

Оцінка клінічних, загальноклінічних та імунологічних лабораторних показників у пацієнтів з ПТСП з/без реактивації HHV 6

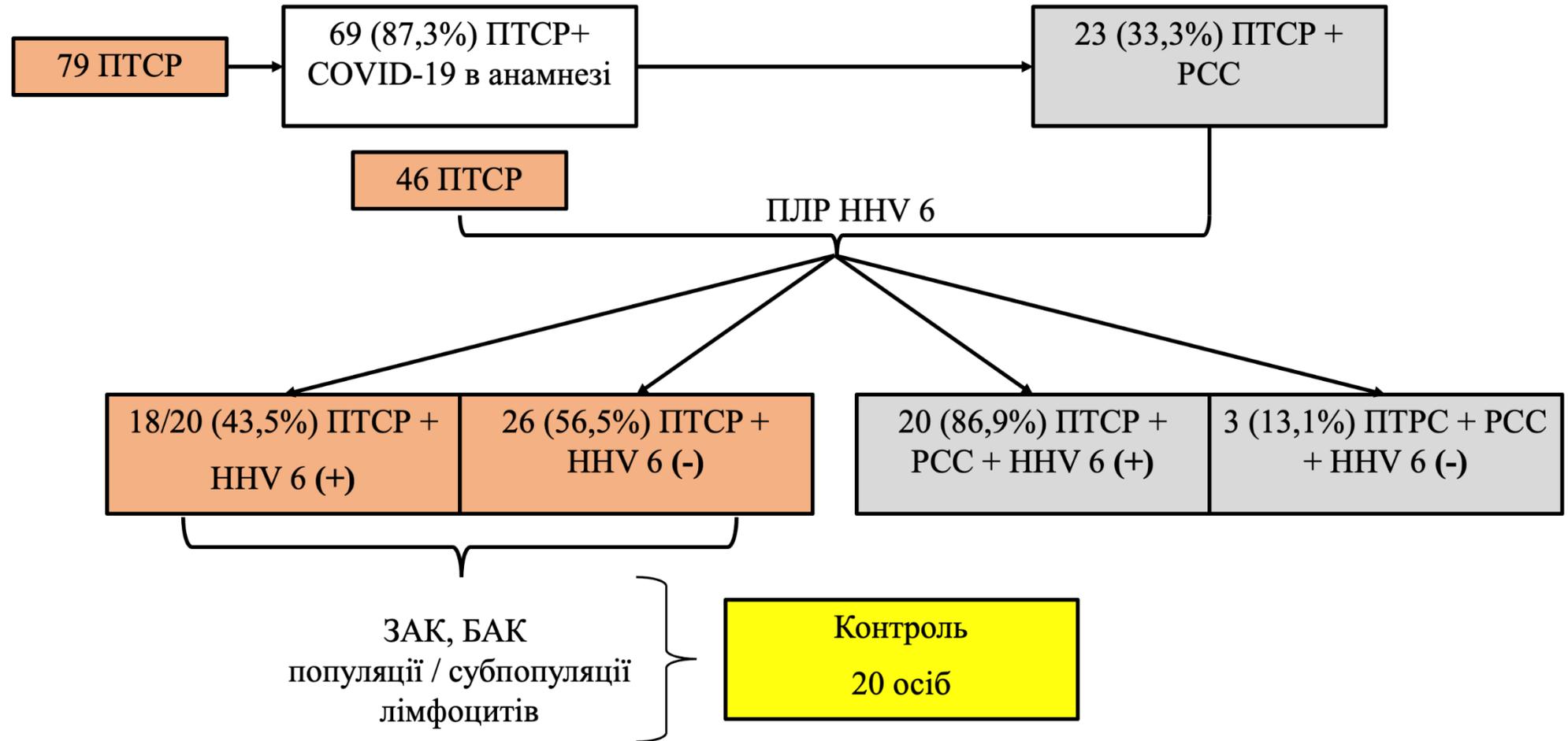


Рис. 2.1 Дизайн дослідження. Етап I

Оцінка клінічних, загальноклінічних та імунологічних лабораторних показників у пацієнтів з РСС з/без реактивації HHV 6

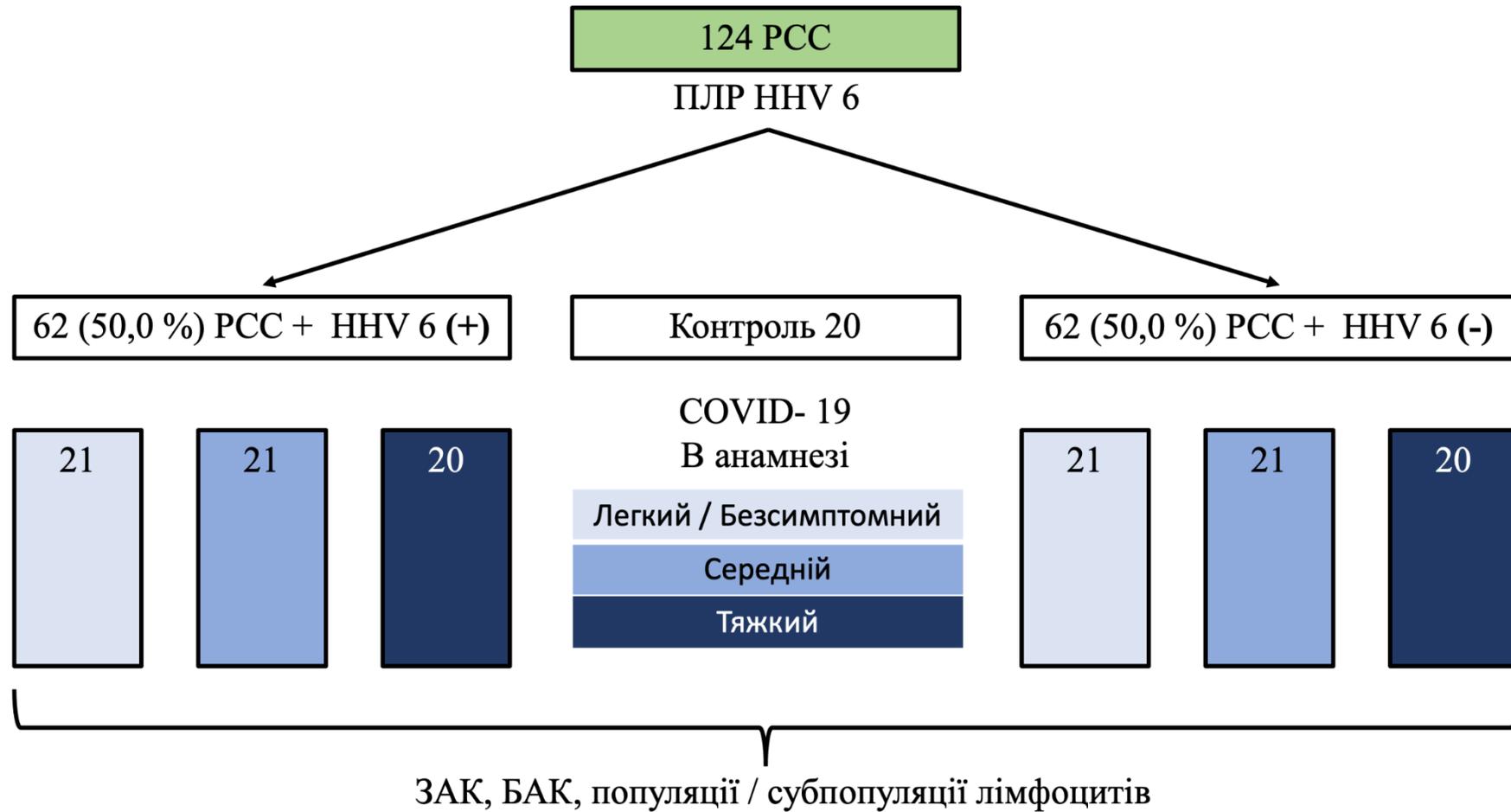
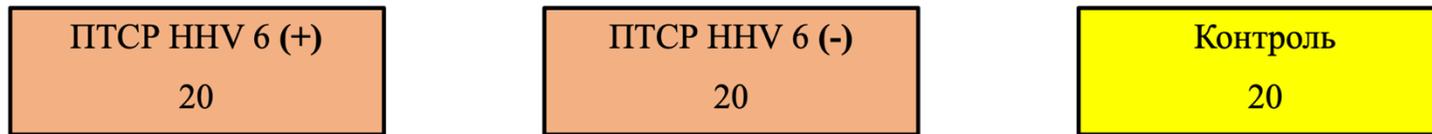


Рис. 2.2 Дизайн дослідження. Етап II

III а Вивчення експресії рецептор-ліганду Fas-FasL на НК-клітинах у пацієнтів з ПТСР з/без реактивації HHV-6



III б Вивчення експресії цитотоксичних маркерів Fas (CD56+/95+), FasL (CD56+/178+), регуляторного маркера CD56+/38+ та інгібіторного рецептора CD56+/366+ (TIM-3) у пацієнтів з РСС з/без реактивації HHV-6



Рис. 2.3 Дизайн дослідження. Етап III

Аналіз ефективності лікування пацієнтів з ПТСП та РСС на тлі реактивації HHV 6

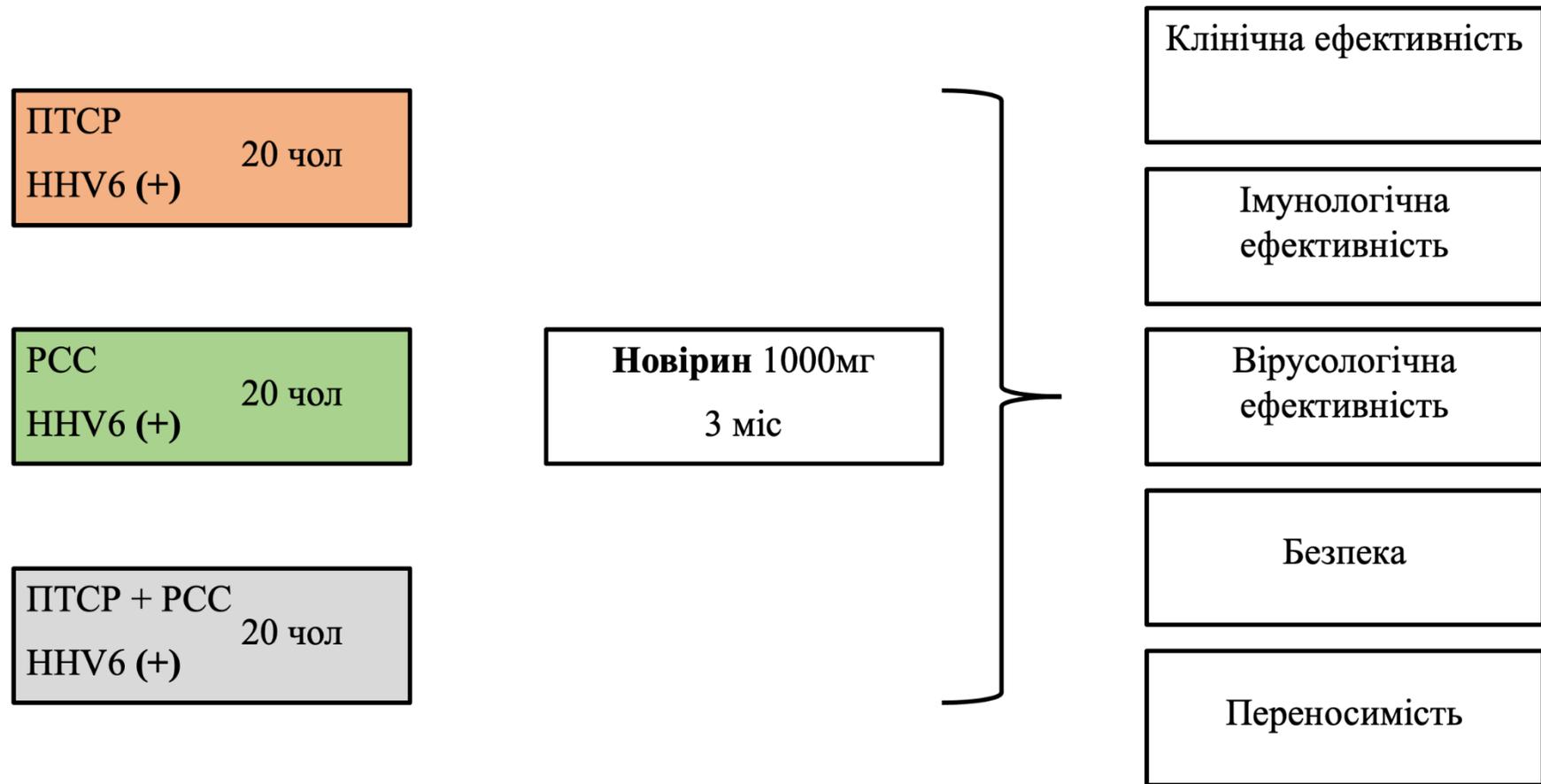


Рис. 2.4 Дизайн дослідження. Етап IV

2.3 Загально-лабораторні клінічні дослідження.

Сироватку крові відділяли протягом 30 хв після забору крові та розділяли на кількість епандорфів, відповідно до кількості досліджень.

Проводили основні параклінічні лабораторні обстеження: загальний аналіз крові (ЗАК), рівні аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), креатиніну, С реактивного білку (СРБ) в лабораторії кафедри клінічної імунології та алергології

2.3.1 Визначення аланінамінотрансферази в сироватці крові.

Рівень аланінамінотрансферази (АЛТ) в сироватці крові пацієнтів визначали за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Awareness Technology ChemWell 2900 (США) із використанням комерційного набору реагентів Snibe Biossays™ ALT (виробник: Snibe Co., Ltd., Китай).

Принцип методу базується на ензиматичній реакції, під час якої аланінамінотрансфераза каталізує перенесення аміногрупи з L-аланіну на α -кетоглутарат з утворенням пірувату та глутамату. У присутності ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ) піруват відновлюється до лактату з одночасним окисненням нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого (НАДН) до НАД⁺. Зниження оптичної щільності при довжині хвилі 340 нм (ΔA_{340}) є пропорційним до активності АЛТ у зразку.

Дослідження проводили при температурі +37°C. Перед аналізом сироватку отримували шляхом центрифугування венозної крові, відібраної натще.

Результати виражалися в міжнародних одиницях на літр (Од/л). Для інтерпретації даних використовували референтні значення згідно з інструкцією виробника набору, які орієнтовно становили: для жінок - до 33 Од/л, для чоловіків - до 41 Од/л.

2.3.2 Визначення активності аспартатамінотрансферази.

Активність аспартатамінотрансферази (АСТ) у сироватці крові визначали за допомогою комерційного набору Snibe Biossays AST (виробник: Snibe Co.,

Ltd., Китай), що призначений для кількісного визначення рівня АСТ у сироватці крові людини. Визначення проводили згідно з інструкцією виробника.

Принцип методу ґрунтується на каталітичній дії ферменту АСТ, який переносить аміногрупу з аспартату на α -кетоглутарат з утворенням оксалоацетату і глутамату. У присутності малатдегідрогенази (МДГ) оксалоацетат відновлюється до малату з одночасним окисненням НАДН до НАД⁺. Зменшення оптичної щільності при довжині хвилі 340 нм прямо пропорційне активності АСТ у зразку.

Системи Snibe автоматично розраховують концентрацію аналізованого компонента для кожного зразка $\text{Од/л} \times 0,0167 = \text{мккат/л}$; $\text{мккат/л} \times 60 = \text{Од/л}$. Діапазон вимірювання (5-700 Од/л). Референтні значення: для дорослих чоловіків - до 40 Од/л, для жінок - до 32 Од/л.

2.3.3 Визначення креатиніну в сироватці крові.

Рівень креатиніну в сироватці крові визначали за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Awareness Technology ChemWell 2900 (США), використовуючи набір реагентів Snibe Biossays™ Cr (виробник: Snibe Co., Ltd., Китай), відповідно до інструкції виробника.

Принцип методу ґрунтується на модифікованій кольоровій реакції Жаффе, в якій креатинін взаємодіє з пікриновою кислотою в лужному середовищі з утворенням забарвленого комплексу. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації креатиніну в зразку і вимірюється фотометрично при довжині хвилі 510 нм.

Для дослідження використовували сироватку крові, отриману шляхом центрифугування венозної крові, відібраної натще. Аналіз проводили при температурі +37°C. Результати подано в мікромольх на літр (мкмоль/л). Системи Snibe автоматично розраховують концентрацію аналізованого компонента для кожного зразка $\text{Од/л} \times 0,0167 = \text{мкмоль/л}$; $\text{мкмоль/л} \times 60 = \text{Од/л}$. Референтні значення відповідно до загальноприйнятих норм: для жінок - 44–97 мкмоль/л, для чоловіків - 62–106 мкмоль/л.

Усі дослідження проводили з дотриманням стандартів внутрішнього лабораторного контролю якості.

2.3.4 Виявлення С-реактивного білку в сироватці крові людини, латекс-тест (Гранум, Україна).

У діагностикумі використовується принцип латексної аглютинації. Антиген (антитіла проти С-реактивного білку), що адсорбований на нейтральних частинках латексу, вступає в реакцію аглютинації з С-реактивним білком. Інтенсивність аглютинації прямо пропорційна кількості СРБ.

Відповідно до інструкції, для якісного визначення наносили на тестовий слайд послідовно по 10 μ l (мкл) позитивного та негативного контролю та досліджуваного матеріалу. Потім додавали по 10 μ l (мкл) латексної субстанції в кожен краплю позитивного та негативного контролю та досліджуваного матеріалу. Похитувати пластину протягом 3 хв. Проводили оцінку результатів дослідження. Для напівкількісної оцінки за допомогою розчинника готували розведення досліджуваного матеріалу – 1:2, 1:4, 1:8 і т.д.

Оцінка результатів дослідження. Аглютинацію, яка відбулась після 3 хв, розцінювали як неспецифічну. Реакцію вважали позитивною, коли спостерігалася аглютинація частин латексу. Величину реакції оцінювали в плюсах: 4 плюси – всі частини аглютиновані, розчин прозорий; 3 плюси – $\frac{3}{4}$ частин аглютиновані, розчин прозорий по краю; 2 плюси – $\frac{1}{2}$ частин аглютиновані, розчин мутнувтий; 1 плюс – слабка аглютинація, розчин мутний. При кількісному визначенні оцінку проводять згідно з останнім титром сироватки, який дав позитивний результат. Для визначення кількості СРБ в mg/l (мг/л) в пробі, необхідно найбільше розведення сироватки, що дало видимої аглютинацію, помножити на 6 mg/l (мг/л).

2.3.5 Дослідження антитіл IgM та IgG до SARS-CoV2 методом імуноферментного аналізу (ІФА, ELISA).

Для дослідження виконували розведення зразків сироватки пацієнта 1:100, розвівши 5 мкл зразка у 495 мкл буфера для розведення.

Для дослідження антитіл IgM та IgG до SARS-CoV-2 використовували набори реагентів SARS-CoV-2 IgM ELISA Kit (Bethyl's ELISA E88-302, Fortis Life Sciences; США) та SARS-CoV-2 IgG ELISA Kit (Bethyl's ELISA E88-301, Fortis Life Sciences; США). Послідовність проведення дослідження є однаковою для двох наборів реактивів.

Ці дослідження виконувалися за допомогою непрямого ІФА, в якому рекомбінантний рецептор-зв'язуючий домен (RBD) білка Spike1 вірусу SARS-CoV-2 наносився на лунки мікротитровального планшета. У лунки планшета додавали по 100 мкл позитивного контролю, негативного контролю, калібратора та розведених зразків. Інкубували планшет при кімнатній температурі (20-25 °C) протягом 30 хвилин. Антитіла до RBD SARS-CoV-2, якщо вони були присутні в тестовому зразку, специфічно зв'язувалися з білком RBD. Після зв'язування зразка незв'язані білки та молекули змивалися, і до лунок додавали 100 мкл кон'югованого з HRP детекційного антитіла до людського IgM-Fc (A80-100P) у кожен лунку, для зв'язування із захопленими антитілами IgM проти SARS-CoV-2. Потім додавали хромогенний субстрат TMB (3,3',5,5'-тетраметилбензидин). В результаті цієї реакції утворювався синій продукт, який жовтіє після завершення реакції додаванням розведеної сірчаної кислоти. Поглинання жовтого продукту при 450 нм, скориговане на дефекти планшета шляхом віднімання поглинання при 570 нм, пропорційне кількості RBD-специфічного анти-SARS-CoV-2 IgM, присутнього у зразку. Після визначення того, що значення для позитивного та негативного контролю є дійсними та прийнятними шляхом порівняння їх зі значенням для калібратора, значення для зразків порівнювалися з калібратором для створення співвідношення. Співвідношення вище порогового значення вказувало на позитивні зразки, а значення нижче порогового значення вказувало на негативні зразки. Для оцінки результатів дослідження вимірювали

фотометром зчитувача мікропланшетів Sunrise (Tecan, Австрія) у двохвильовому режимі: при 450 нм (основний фільтр) і 640 нм (референс-фільтр) оптичну густину та результати відображали у г/л.

2.3.6 Дослідження антитіл IgG до HHV6 методом імуноферментного аналізу.

Для дослідження виконували розведення зразків сироватки пацієнта 1:101, розвівши 5 мкл зразка у 500 мкл буфера для розведення та використовували набори реагентів ELISA-Viditest anti-HHV6 IgG (ODZ-235, Vidia, Чехія). Дослідження виконували згідно інструкції виробника. У лунки планшета додавали по 100 мкл стандартів, які служать як калібратори, негативного та позитивного контролів і розведених зразків. Інкубували 30 хв. При 37⁰С. Після чотириразового відмивання додавали кон'югант до усіх лунок. Інкубували 30 хв. При 37⁰С. Потім додавали хромогенний субстрат ТМВ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин) та інкубували 15 хв в темряві. Стоп-реагент додавали у тій же послідовності що й хромогенний субстрат. Вимірювали інтенсивність кольорової реакції спектрофотометром Sunrise TECAN (Франція) при довжині хвилі 450 нм та референт фільтру 620 нм. Результати оцінювали згідно ОГ стандарту та коригуючого фактору, що відображало рівень cut-off. Зразки з ОГ <90% cut-off вважалися негативними, а зразки з ОГ >110 % cut-off, розглядалися як позитивні. Для оцінки результатів дослідження вимірювали фотометром зчитувача мікропланшетів Sunrise (Tecan, Австрія) при 450 нм оптичну густину та результати відображали у г/л.

2.3.7 Виявлення ДНК HHV6 за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР, PCR) у біологічних середовищах.

Виявлення ДНК HHV6 у трьох біологічних середовищах (кров, слина та слизова ротоглотки) проводили за допомогою HHV-6 RG PCR Kit Applied biosystems 7300 real-time PCR systema, використовуючи TaqMan Universal PCR Master Mix. Він базувався на використанні специфічних праймерів для ампліфікації вірусу і кількісного визначення геномних ділянок патогену.

Використовували гетерологічну систему ампліфікації для виявлення потенційних збоїв під час процесу аналізу. Це виявляється як внутрішній контроль (ВК) у флуоресцентному каналі Cycling Yellow приладу Rotor-Gene. Зонди, специфічні для ДНК HHV-6A, мічені флуорофором FAM™, тоді як зонди, специфічні для ДНК HHV-6B, мічені флуорофором, який має ті ж характеристики, що й Cy®5. Зонд, специфічний для внутрішнього контролю, мічений флуорофором JOE™.

Використання зондів, мічених спектрально розрізненими флуорофорами, дозволяє одночасне виявлення та кількісне визначення специфічної ДНК HHV-6A та HHV-6B, а також виявлення внутрішнього контролю у відповідних каналах приладу. Для калібрування специфічного позитивного матеріалу HHV-6A з набору artus HHV-6 RG PCR Kit було використано аналіз на виявлення нуклеїнових кислот, який не диференціює HHV-6A та HHV-6B (RealStar® HHV-4/-5/-6 PCR Kit 1.0). Інтерпретацію результатів описано в таблиці 2.1

Таблиця 2.1

Зведена інформація про інтерпретацію результатів

Канал виявлення флуорисценції				
ID зразка	Канал Зелений	Канал Червоний	Канал Жовтий	Інтерпретація результатів
A	позитивний	позитивний	позитивний	Виявлено ДНК, специфічну для HHV-6A та HHV6B
B	позитивний	негативний	позитивний	Виявлено ДНК, специфічну для HHV-6A
C	негативний	позитивний	позитивний	Виявлено специфічну ДНК HHV-6B
D	негативний	негативний	позитивний	Не виявлено ні ДНК HHV-6A, ні специфічну ДНК HHV-6B. Зразок не містить виявленої кількості специфічної ДНК HHV-6A або HHV-6B.
E	негативний	негативний	негативний	ПЛР-інгібування або відмова від реагенту. Повторіть процедуру, використовуючи оригінальний зразок, або зберіть та протестуйте новий зразок.

ДНК екстрагували з підготовлених зразків за допомогою набору реагентів QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, кат. № 51304 або 51306) з набором artus HHV-6 RG PCR Kit. Для ампліфікації цільових послідовностей у геномі HHV-6 використовували специфічні праймери та зонди. [76].

2.3.8 Кількісне визначення популяцій і субпопуляцій лімфоцитів за допомогою методу проточної цитометрії.

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлюориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Дослідження виконували використовуючи набір моноклональних антитіл BD Multitest IMK Kit (Cat. No. 340503). Визначали кількість CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺ популяцій лімфоцитів та CD4⁺, CD4/25/127⁻ і CD8⁺ субпопуляцій Т лімфоцитів. Забір крові у хворого проводили натщесерце, з вени в пробірки VACUTAINER КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У дві пробірки TruCOUNT дозатором лабораторним вносили по 100 мкл цільної крові хворого. У першу пробірку додавали 20 мкл CD3⁺CD8⁺CD45⁺CD4⁺ моноклональних антитіл ("Becton Dickinson", США), у другу – 20 мкл CD3⁺CD16⁺56CD45⁺CD19⁺ моноклональних антитіл («Becton Dickinson», США). Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 15-30 хв при кімнатній температурі, уникаючи попадання прямого сонячного проміння. У кожен пробірку додавали 450 мкл лізуючого розчину FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США). Перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) і інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлюориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення MultiSET [50].

2.3.9 Кількісне визначення регуляторного маркера лімфоцитів на хелперних клітинах CD4⁺25⁺127⁻ за допомогою методу проточної цитометрії.

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлюориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США).

Забір крові у хворого проводили натщесерце з вени у пробірки для забору крові (2 мл) з антикоагулянтом КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У одну пробірку вносили по 20 мкл моноклональних антитіл до хелперних CD4-лімфоцитів маркери ранньої активації CD25 та CD127. У кожену пробірку додавали по 100 мкл цільної крові. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 30 хв при кімнатній температурі. Для лізування еритроцитів вносили в кожену пробірку по 2 мл робочого лізуючого розчину FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США), перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) та інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Осаджували лейкоцити центрифугуванням при 1500 об/хв 5 хв та видаляли надосад. Осад двічі відмивали 2 мл розчином для промивання CellWASH. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлюориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення CellQuest з використанням прямого (FCS), та бокового (SSC) світлорозсіювання. Кількість аналізованих клітин становила 10000 з гейту лімфоцитів. Результат вираховувався у відсотковому значенні [174].

2.3.10 Кількісне визначення активаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ та інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) на НК- клітинах за допомогою методу проточної цитометрії.

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлюориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США).

Забір крові у хворого проводили натщесерце з вени у пробірки для забору крові (2 мл) з антикоагулянтом КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У дві пробірки вносили по 20 мкл моноклональних антитіл (1 – аналіз НК-клітин (CD56) додавали моноклон до TIM-3 CD366 та CD38, 2 аналіз цитотоксичних клітин (CD8) так само додавали моноклон до TIM-3 CD366 та CD38). У кожену пробірку додавали по 100 мкл цільної крові. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 30 хв при кімнатній температурі. Для лізування еритроцитів вносили в кожену пробірку по 2 мл робочого лізуючого розчину FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США), перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) та інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Осаджували лейкоцити центрифугуванням при 1500 об/хв 5 хв та видаляли надосад. Осад двічі відмивали 2 мл розчином для промивання CellWASH. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення CellQuest з використанням прямого (FCS), та бокового (SSC) світлорозсіювання. Кількість аналізованих клітин становила 15000 з гейту лімфоцитів. Результат вираховувався у відсотковому значенні [141].

2.3.11 Кількісне визначення апоптичних маркерів CD56⁺95⁺ (Fas), CD56⁺178⁺ (FasL) на НК клітинах та CD8⁺279⁺ (PD-1), CD8⁺274⁺ (PD-1L) на Т цитотоксичних лімфоцитах за допомогою методу проточної цитометрії

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл, мічених флюорисцентними мітками, з поверхневими антигенами лімфоцитів і наступним аналізом зразків на проточному цитофлюориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Забір крові у хворого проводили натщесерце з вени у пробірки для забору крові (2 мл) з антикоагулянтом КЗЕДТА ("Becton Dickinson", США). У дві пробірки вносили по 20 мкл моноклональних антитіл (1 – аналіз НК-клітин (CD56) додавали моноклон до Fas рецептора CD95 та до Fas-ліганда CD 178, 2 – аналіз цитотоксичних лімфоцитів (CD8) додавали моноклон до рецептора PD1 CD279 і до його ліганда CD274). У кожену пробірку додавали

по 100 мкл цільної крові. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темноті 30 хв при кімнатній температурі. Для лізування еритроцитів вносили в кожен пробірку по 2 мл робочого лізуючого розчину FACS Lysing Solution ("Becton Dickinson", США), перемішували на вортексі V-1 plus ("Biosan", США) та інкубували в темноті 10-12 хв. при кімнатній температурі. Осаджували лейкоцити центрифугуванням при 1500 об/хв 5 хв і видаляли надосад. Осад двічі відмивали 2 мл розчином для промивання CellWASH. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACSCalibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програмного забезпечення CellQuest з використанням прямого (FCS), та бокового (SSC) світлорозсіювання. Кількість аналізованих клітин становила 10000 з гейту лімфоцитів. Результат вираховувався у відсотковому значенні [68].

2.4 Схема лікування пацієнтів та оцінка ефективності лікування, безпеки та переносимості лікарського засобу Новірин (NOVIRIN) Форте, таблетки 1000 мг.

Лікарський засіб Новірин (NOVIRIN) Форте, таблетки 1000 мг, виробництва ПАТ «Київський вітамінний завод». Фармакотерапевтична група - противірусні засоби прямої дії. Препарат зареєстрований в Україні (Реєстраційне посвідчення № UA/12436/01/01).

Діюча речовина – інозин пранобекс (молекулярний комплекс інозин: п-ацетамідобензойна кислота: N,N-диметиламіно-2-пропанол у співвідношенні 1:3:3) чинить пряму противірусну та імуномодулюючу дію.

Терапію призначали пацієнтам 3-х груп: 1 група - пацієнти з ПТСР і ННВ6+ (20 осіб); 2 група – пацієнти з постковідним синдромом і ННВ6+ (20 осіб); 3 група – пацієнти з коморбідною патологією ПТСР і постковідним синдромом з ННВ6+ (20 осіб)

Препарат призначали у дозі 50 мг/кг/добу, розділений на 3-4 прийоми, протягом 3-х місяців.

Клінічну ефективність визначали за ступенем вираженості основних клінічних проявів постковідних порушень або/і ПТСР, якщо зменшиться на 85 і

більше %. Вірусологічна ефективність - відсутність або зниження на 30% та більше кількості копій ДНК HHV6 у біологічних середовищах. Імунологічна ефективність - зміна відносної експресії рецепторів Fas (CD56⁺95⁺), FasL (CD56⁺178⁺), PD-1(CD8⁺279⁺), PD-1L(CD8⁺274⁺) та CD4⁺CD25⁺CD127⁻ на лімфоцитах CD4, CD8, NK (CD56) на 3 % і більше від значень групи пацієнтів до лікування.

Безпеку та переносимість препарату інозин пранобекс вивчали на підставі порівняльного аналізу змін біохімічних показників: АЛТ, АСТ, креатиніну та СРБ, а також суб'єктивної оцінки стану пацієнтів.

2.5 Статистичні методи дослідження.

Для систематизації, кількісного опису емпіричних даних пацієнтів досліджуваних груп, а також для наочного представлення результатів у вигляді таблиць і графіків було використано методи дескриптивної статистики.

Для змінних із симетричним розподілом обчислювали середнє значення (M) та середню похибку ($\pm m$); у разі відхилення розподілу від нормального – медіану (Me) та 95% довірчий інтервал (95% ДІ).

Перевірку нормальності розподілу даних здійснювали за допомогою тесту Шапіро–Вілка (W) та тесту Колмогорова–Смірнова.

Для аналізу відмінностей між двома незалежними вибірками застосовували:

- t-критерій Стьюдента – при дотриманні умов нормального розподілу;
- U-критерій Манна–Уїтні – у разі ненормального розподілу даних.

Для міжгрупового порівняння трьох і більше вибірок використовували ранговий однофакторний аналіз Крускала–Уолліса, а для множинних порівнянь – критерій Данна (Q).

Усі статистичні розрахунки виконано з використанням програмного забезпечення STATISTICA for Windows, версія 23 (TIBCO Software Inc., США). Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Зміни загальноклінічних та імунологічних показників у пацієнтів з РСС і посттравматичним стресовим розладом без/з реактивацією інфекції HHV6.

На першому етапі обстежень пацієнтам з РСС та ПТСР без/з реактивацією інфекції HHV6 було зібрано анамнестичні дані, виконано загальноклінічні та імунологічні лабораторні обстеження.

Всього обстежено 124 пацієнти, яким діагностовано РСС. Як показав аналіз анамнестичних даних з 124-х пацієнтів з РСС перенесли COVID-19 безсимптомну форму – 7 (5,6 %) осіб, легкого ступеня – в 38 (30,7 %), середньотяжкого ступеня – 62 (50,0 %), тяжкий COVID-19 – 17 (13,70 %) осіб. У стаціонарних умовах проходили лікування 81 осіб, з них 68 отримували екстракорпоральну кисневу терапію і в жодному випадку не було підключення до АШВЛД COVID-19. Загалом під час лікування застосовували призначення противірусних, антибактеріальних або протигрибкових препаратів, низькомолекулярних гепаринів, системних кортикостероїдів тощо. Середня кількість днів перебування у стаціонарі становила $11 \pm 3,5$.

За даними ПЛР встановлено, що у 62 (50,0 %) пацієнтів з РСС виявлено ДНК HHV6 у слині, у 56 (90,3 %) – у слизовій задньої стінки глотки і в 6 (9,7 %) у крові. Розподіл виявлення ДНК HHV6 був наступним: лише у слині – 25 осіб, лише у слизовій – 17, слина+слизова – 34, слина+кров – 3, слизова+кров – 3 осіб, одночасно у 3-х середовищах не виявлено.

При клінічному обстеженні пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 визначено, що найчастішими скаргами у пацієнтів були: підвищена втомлюваність 62 (100,0 %); порушення сну, постійна втома та підвищене потовиділення у 53 (85,5 %) ; порушення мобільності, болі в голові та втрата нюху у 50 (80,6 %); кашель і порушення пам'яті та уваги у 43 (69,4 %) пацієнтів. У половини пацієнтів (50,0 %) спостерігались байдужість, тривожність, депресивні думки та меншою мірою від 15,0 % до 45,0 % були скарги на стиснення в грудній клітці, втрату смаку, випадіння волосся та інші скарги.

При загальному лабораторному обстеженні крові в пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 визначено вірогідне зниження рівнів сегментоядерних лейкоцитів ($p=0,0001$) і підвищення рівнів лімфоцитів і моноцитів ($p=0,0001$), а також ШОЕ ($p=0,0001$) порівняно з контрольною групою здорових осіб.

3.1.1 Кількісні зміни CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺ у пацієнтів з РСС без/з реактивацією інфекції HHV6

У пацієнтів з РСС без реактивації вірусу HHV-6 та у пацієнтів з його реактивацією визначили зміни популяцій лімфоцитів CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺. Пацієнти з РСС були розділені на 7 груп: 1-а група включала 21-го пацієнта з легкими симптомами COVID-19 та асимптомних пацієнтів, 2-а група включала 21-го пацієнта, які перенесли COVID-19 з симптомами середнього ступеня тяжкості, 3-я група включала 20 пацієнтів, які перенесли COVID-19 з тяжкими симптомами. Пацієнти 1, 2 і 3 груп не мали реактивації вірусу HHV6. 4-а група включала 21-го пацієнта з легкими симптомами COVID-19 та асимптомних пацієнтів, 5-а група включала 21-го пацієнта, які перенесли COVID-19 з симптомами середньої тяжкості, шоста група включала 20 пацієнтів, які перенесли COVID-19 з тяжкими симптомами. У пацієнтів 4, 5 і 6 груп була встановлена реактивація HHV6. Сьома група (контрольна) включала 20 здорових людей (ДОДАТОК 2_ТАБЛИЦІ).

Протягом проведення досліджень у пацієнтів без реактивації HHV6 ми виявили, що відсоток Т лімфоцитів CD3⁺ був нижчим від такого ж показника у групі пацієнтів, які перенесли COVID-19 з симптомами середньої тяжкості, але статистично недостовірно. Після тяжкого COVID-19 відсоток Т клітин CD3⁺ був статистично достовірно нижчим порівняно з контрольною групою. Відсоток В клітин CD19⁺ був статистично достовірно вищим у групах з легким, середнім і тяжким перебігом COVID-19 порівняно з контрольною групою. Відсоток НК клітин CD56⁺ після легкого та середнього перебігу COVID-19 не відрізнявся від результату в контрольній групі, однак, після тяжкого перебігу став достовірно нижчим порівняно з контрольною групою (ДОДАТОК 2, таблиця 1).

У пацієнтів з РСС та реактивацією HHV6 ми виявили, що відсоток Т клітин CD3⁺ був статистично недостовірно нижчим у пацієнтів після легкого і середнього перебігу COVID-19, але після важкого перебігу був достовірно нижчим (61,43±14,53) у порівнянні з контрольною групою (p=0,014). Відсоток В лімфоцитів CD19⁺ статистично достовірно вищим (17,06±8,01; 20,18±9,07; 27,29±15,81, контроль 12,14±5,13) у пацієнтів з легкою, середньою і важкою формами COVID-19 у порівнянні з контрольною групою (p=0,026; 0,001; 0,0002). Відсоток НК клітин CD56⁺ у пацієнтів після легкого та середнього перебігу COVID-19 не відрізнявся суттєво у порівнянні з контрольною групою, однак, у пацієнтів з важкою формою COVID-19 в анамнезі був достовірно нижчим (9,33±2,99, p=0,013) у порівнянні з контролем (ДОДАТОК-2, таблиця 2).

У пацієнтів з РСС після легкого та середнього COVID-19 та реактивацією HHV6 ми встановили, що кількість Т клітин CD3⁺ не була статистично достовірно нижчою показника в контрольній групі, тільки у пацієнтів з РСС після важкого COVID-19 та реактивацією HHV6 цей показник становив 58,38±19,56 (p=0,009). Кількість В клітин CD19⁺ була статистично достовірно вищою у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 у присутності реактивованого вірусу HHV6 у порівнянні з контрольною групою (20,71±11,25; 23,67±14,47; 32,46±1,83, контроль 12,14±5,13; відповідно p=0,004, p=0,002, p=0,0001) і теж достовірно вищою, ніж в групах без реактивації вірусу. Кількість НК клітин CD56⁺ недостовірно відрізнялася і за відсутності, і за присутності HHV6 у порівнянні з контрольною групою. Однак, у пацієнтів з РСС після важкого COVID-19 та реактивацією вірусу HHV6 кількість НК клітин була достовірно нижчою, ніж в контрольній групі (7,23±2,51; p=0,0001) та у пацієнтів без реактивації HHV6 (ДОДАТОК 2, таблиця 3).

Даний етап, також, включав дослідження з порівнянням кількості лімфоцитів CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 без/з реактивацією HHV6, та контрольною групою (рисунки 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3).

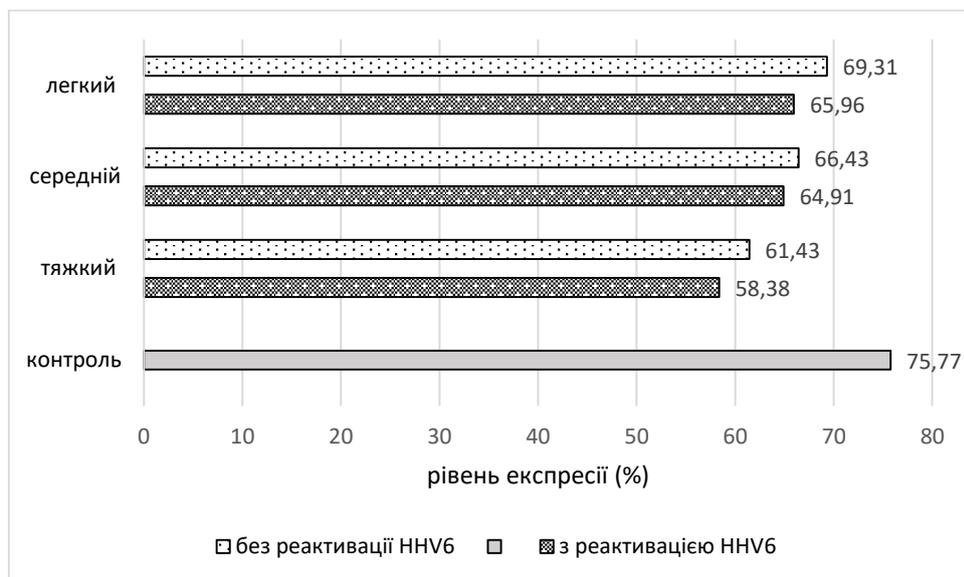


Рис. 3.1.1 Порівняння кількості лімфоцитів CD3⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 в анамнезі без/з реактивацією HHV6 та контрольною групою.

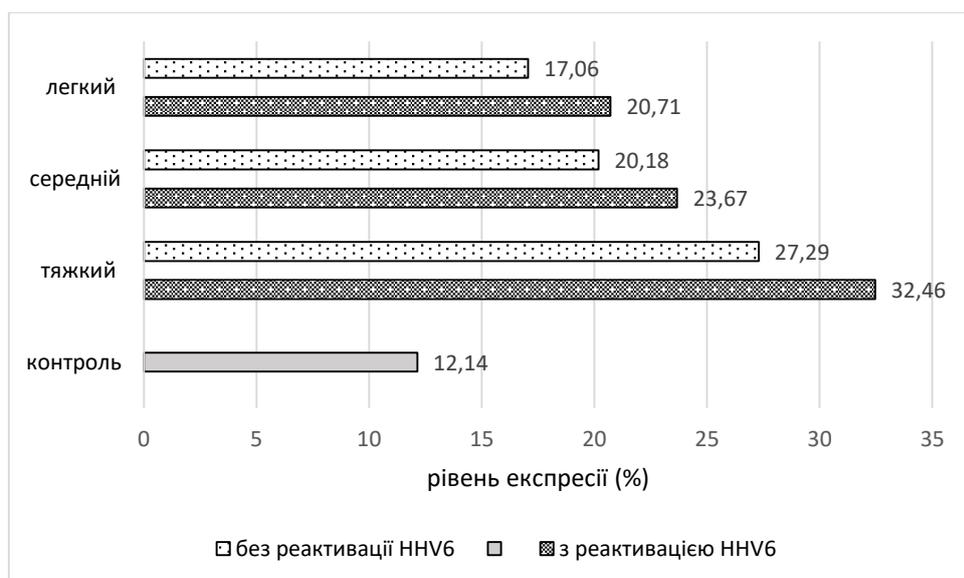


Рис. 3.1.2 Порівняння кількості лімфоцитів CD19⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 в анамнезі без/з реактивацією HHV6 та контрольною групою.

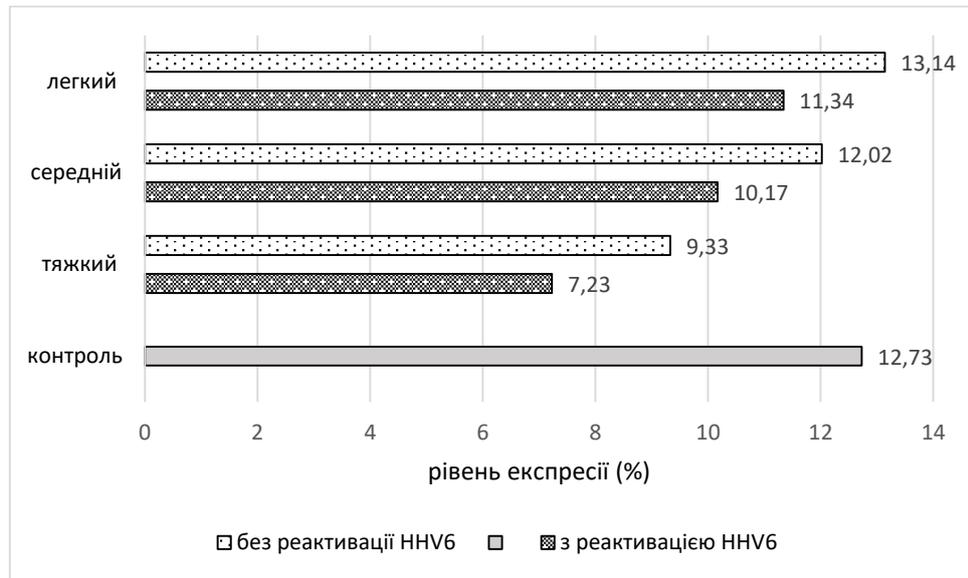


Рис. 3.1.3. Порівняння кількості лімфоцитів CD56⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 в анамнезі без реактивації HHV6, з реактивацією HHV6 і контрольною групою.

У пацієнтів з РСС після легкої форми COVID-19 в анамнезі кількість Т клітин CD3⁺ була недостовірно вищою в групі без реактивації вірусу HHV6 порівняно з групою з його активацією, проте кількість Т клітин CD3⁺ була достовірно нижчою від такого ж показника у контрольній групі. Кількість В клітин CD19⁺ була достовірно вищою у порівнянні з контролем, і при реактивації вірусу HHV6 достовірно вищою, ніж без нього. Кількість НК клітин CD56⁺ достовірно не відрізнялася у групах без реактивації вірусу HHV6 та з його реактивацією, а також від контрольної групи. У пацієнтів з РСС після середньої форми COVID-19 в анамнезі кількість Т клітин CD3⁺ була недостовірно вищою в групі без реактивації вірусу HHV6 порівняно з групою з його активацією, проте кількість Т клітин CD3⁺ була достовірно нижчою від такого ж показника у контрольній групі. Кількість В клітин CD19⁺ була достовірно вищою у порівнянні з контролем, і при реактивації вірусу HHV6 достовірно вищою, ніж без нього. Кількість НК клітин CD56⁺ була недостовірно вищою в групі без реактивації вірусу HHV6 порівняно з групою з HHV6, але залишалася в рамках результату контрольній групі. У пацієнтів з РСС після важкого COVID-19 кількість Т клітин CD3⁺ була достовірно нижчою і за умов відсутності

реактивації HHV6, і з реактивацією. Кількість В клітин CD19⁺ була достовірно вищою у порівнянні з контролем, і при реактивації HHV-6 ще вищою, ніж без даного герпесвірусу. Кількість НК клітин CD56⁺ достовірно не відрізнялася ні за умов відсутності реактивації HHV6, ні за умов його реактивації у порівнянні з контрольною групою. Однак, у пацієнтів з реактивацією HHV6 кількість НК клітин була достовірно нижчою, ніж у пацієнтів без реактивації цього вірусу та осіб з контрольною групи (рисунки 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4).

3.1.2 Кількісні зміни CD4⁺, CD4⁺25⁺127⁻ та CD8⁺ у пацієнтів з РСС без/з реактивацією інфекції HHV6.

Визначили зміни субпопуляцій Т лімфоцитів CD4⁺, CD4⁺25⁺127⁻ та CD8⁺ у пацієнтів з РСС без реактивації вірусу HHV6 та у пацієнтів з його реактивацією (ДОДАТОК_таблиці 3.1.3, 3.1.4). Пацієнти з РСС були розділені на 7 груп, як і у підрозділі 3.1.1. Результати досліджень пацієнтів без реактивації HHV6 показали, що кількість Т лімфоцитів CD4⁺ була недостовірно зниженою у пацієнтів з РСС після легкої, середньої та тяжкої форм перебігу COVID-19 в анамнезі та у порівнянні з контрольною групою. Кількість Т клітин субпопуляції CD4⁺25⁺127⁻ після легкого та середнього COVID-19 в анамнезі не відрізнялися достовірно від контролю, проте після тяжкого COVID-19 була достовірно нижчою у порівнянні з контрольною групою. Кількість CD8⁺ клітин після легкого та середнього COVID-19 в анамнезі не відрізнялася від показника у контролі, однак після тяжкого COVID-19 була достовірно нижчою у порівнянні з контрольною групою (ДОДАТОК_таблиці 3, 4).

У пацієнтів без реактивації HHV6 кількість Т лімфоцитів CD4⁺ була недостовірно нижчою у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та тяжкого COVID-19 в анамнезі. Кількість CD4⁺25⁺127⁻ клітин була недостовірно знижена у пацієнтів з РСС після легкого та середнього COVID-19 в анамнезі, але після тяжкого COVID-19 було достовірно нижчим у порівнянні з контролем (5,74±1,82; p=0,045). Кількість CD8⁺ клітин після легкого та середнього COVID-19 не відрізнялася від результату в контрольній групі, однак, після тяжкого

COVID-19 була достовірно нижчою порівняно з контролем (ДОДАТОК_таблиця 3). У пацієнтів з реактивацією HHV6 кількість CD4⁺ клітин була недостовірно нижчою у пацієнтів з РСС після легкого та середнього COVID-19, а в групі пацієнтів з РСС та тяжким перебігом COVID-19 в анамнезі кількість CD4⁺ клітин була достовірно нижчою показника у контрольній групі (36,16±12,33; p=0,045). Кількість CD4⁺25⁺127⁻ клітин була недостовірно знижена у пацієнтів з РСС після легкого та середнього COVID-19 в анамнезі, але після тяжкого COVID-19 кількість цих клітин була достовірно нижчою порівняно з контролем (5,17±1,73; p=0,005). Кількість CD8⁺ клітин після легкого та середнього COVID-19 була нижчою, але достовірно не відрізнялася від результату в контролі, однак, після тяжкого COVID-19 була достовірно нижчою у порівнянні з контролем (20,22±7,55; p=0,005) (ДОДАТОК_таблиця 4).

Отримані результати кількісного порівняння субпопуляцій Т лімфоцитів CD4⁺, CD4⁺25⁺127⁻, CD8⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та тяжкого COVID-19 без/з реактивацією HHV6 виклали графічно (рисунки 3.1.4, 3.1.5, 3.1.6).

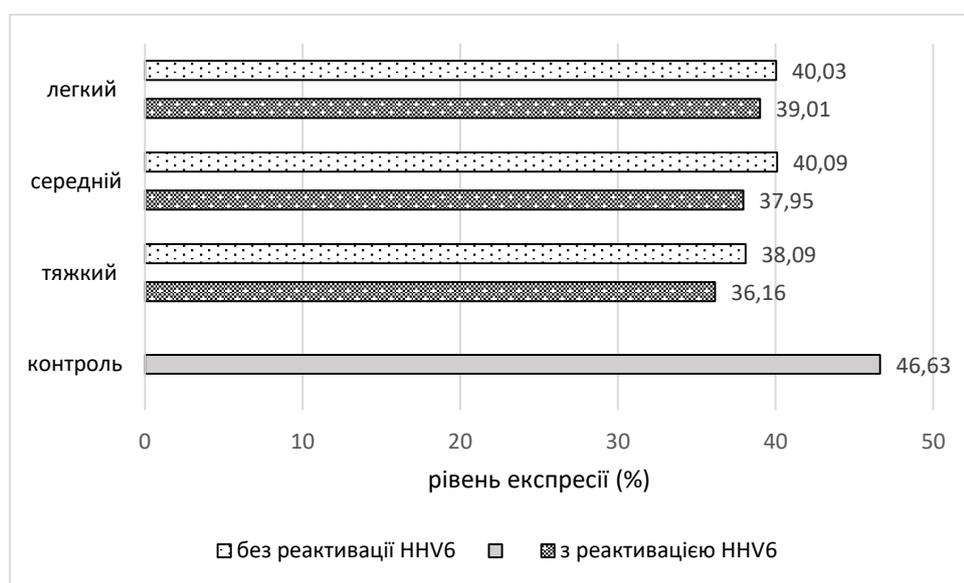


Рис. 3.1.4. Порівняння кількості субпопуляції Т лімфоцитів CD4⁺ між пацієнтами з РСС після легкого, середнього та тяжкого COVID-19 в анамнезі без/з реактивацією HHV6 і контрольною групою.

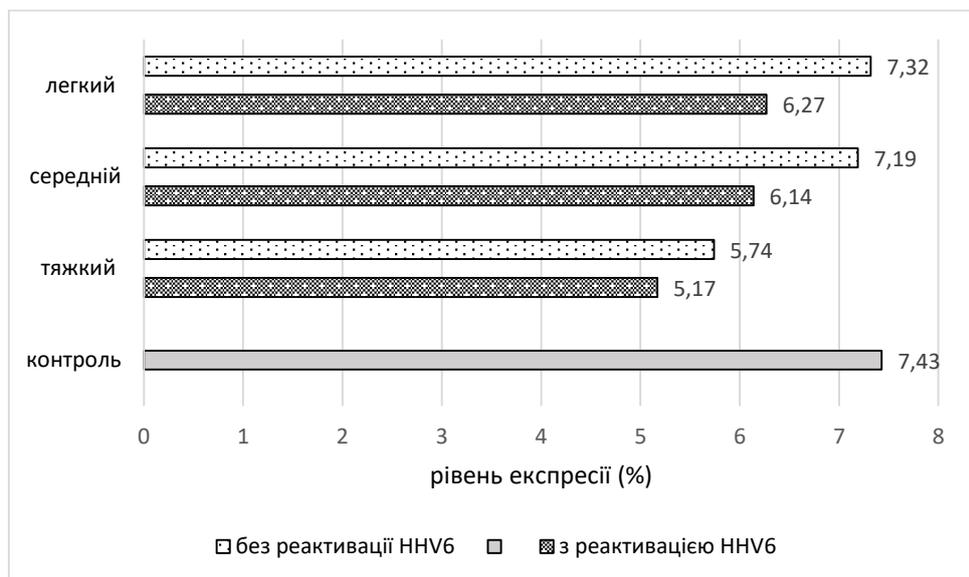


Рис. 3.1.5. Порівняння кількості субпопуляції Т лімфоцитів CD4⁺25⁺127⁻ між пацієнтами з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 в анамнезі без/з реактивацією HHV6 і контрольною групою.

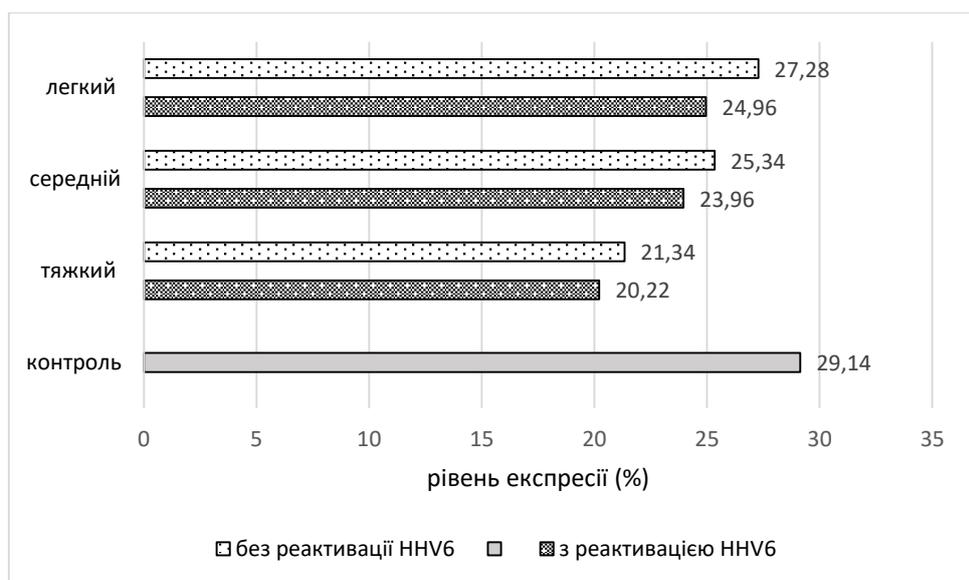


Рис. 3.1.6. Порівняння кількості субпопуляції Т лімфоцитів CD8⁺ між пацієнтами з РСС після легкого, середнього та важкого COVID-19 в анамнезі без/з реактивацією HHV6 і контрольною групою.

У пацієнтів з РСС після легкого COVID-19 встановили, що кількість CD4⁺ клітин була недостовірно нижчою у пацієнтів і без реактивації, і з реактивацією HHV6 порівняно з контрольною групою, причому з реактивацією HHV6 ця

кількість була нижчою, ніж у хворих без реактивації. Кількість $CD4^+25^+127^-$ клітин була недостовірно нижчою у порівнянні з контрольною групою, проте за умов реактивації HHV6 кількість цих клітин була нижчою, ніж у пацієнтів без реактивації HHV6. Кількість $CD8^+$ клітин була недостовірно нижчою і у групі без реактивації вірусу, і у групі з реактивацією HHV6, причому в групі з реактивацією HHV-6 кількість цих клітин була нижчою, ніж у групі без реактивації цього вірусу. У пацієнтів з РСС після середнього COVID-19 в анамнезі виявили, що кількість $CD4^+$ клітин була недостовірно нижчою у групах без реактивації вірусу і з його реактивацією порівняно з контрольною групою, і цей показник був нижчим у хворих з реактивацією вірусу, ніж у хворих без нього. Кількість $CD4^+25^+127^-$ клітин і в групі з реактивацією HHV6, і у група без неї була недостовірно нижчою порівняно з контролем, але у пацієнтів з реактивацією HHV6 кількість цих клітин була нижчою, ніж у пацієнтів без реактивації. Відсоток $CD8^+$ клітин був статистично недостовірно нижчим у хворих без реактивації та з реактивацією HHV6 порівняно з контрольною групою, проте за умов реактивації цей показник був нижчим, ніж у хворих без реактивації. У пацієнтів з РСС після тяжкого COVID-19 ми встановили, що відсоток $CD4^+$ клітин у пацієнтів без реактивації HHV6 був недостовірно нижчим у порівнянні з контрольною групою, але відсоток $CD4^+$ клітин у пацієнтів з реактивацією HHV6 був статистично достовірно нижчим порівняно з результатом у контрольній групі. Відсоток $CD4^+25^+127^-$ клітин був достовірно нижчим у порівнянні з контрольною групою і у пацієнтів без реактивації, і у пацієнтів з реактивацією вірусу HHV6. Відсоток $CD8^+$ клітин був достовірно нижчим і за умов відсутності реактивації, і за умов реактивації вірусу HHV6 порівняно з контрольною групою (рисунки 3.1.4, 3.1.5, 3.1.6, 3.1.7).

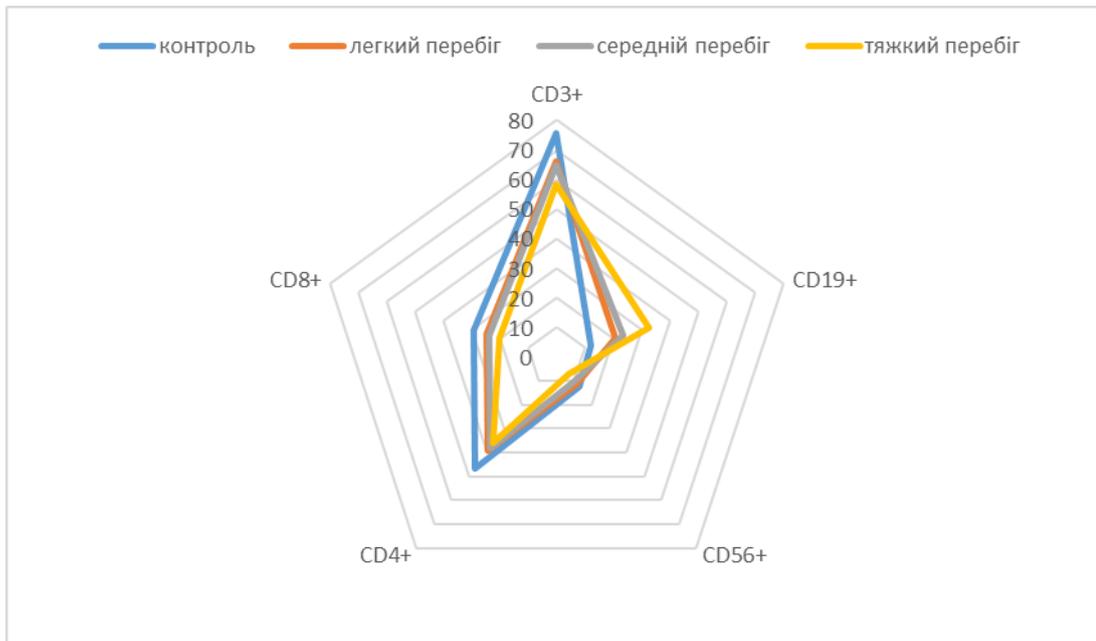


Рис. 3.1.7 Діаграма порівняння змін ключових показників імунограми CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD56⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього і тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 і контрольною групою.

3.1.3 Зміни загальноклінічних та імунологічних лабораторних показників у пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом без/з реактивацією інфекції HHV6

На консультативному прийомі всього було обстежено 287 осіб після перенесеного стресу. З них у групу дослідження увійшли 79 (27,5 %) осіб, яким за даними опитувальника верифіковано ПТСР, з них 46 (58,2 %) жінок і 33 (41,8 %) чоловіків, середній вік $38,7 \pm 7,2$ років, індекс маси тіла (ІМТ) від 22,0 і до 29,0. Серед пацієнтів групи дослідження були службовці – 29 (36,7 %), робітники (у тім числі працівники сільського господарства) – 26 (32,9 %), домогосподарки – 9 (11,4 %), військові – 8 (10,1 %), медики – 7 (8,90 %). З них 19 пацієнтів мали статус тимчасово переселених осіб. За результатами аналізу анамнестичних даних – до хвороби COVID-19 і/або перенесеного стресу внаслідок військових подій пацієнти вважали себе практично здоровими (що відповідало критеріям включення). Регулярний прийом медикаментозних препаратів заперечували, лише у разі потреби періодично приймали обезболювальні (нестероїдні

протизапальні препарати), вітаміни, рослинні заспокійливі засоби, місцеві антисептичні та дезінфікуючі препарати.

Серед симптомів, що тривали понад 1 місяць, були: 1) симптоми повторного переживання травматичної події – повторювані спогади або сни, пов'язані з подією – у 42 (53,2 %) пацієнтів, прискорене серцебиття – у 40 (50,6 %), пітливість – у 49 (62,0 %), тривожні думки – у 65 (82,3 %) осіб. Підвищення артеріального тиску (АТ) вперше після перенесення травматичної події відзначили в себе 24 (30,4 %) осіб; 2) симптоми уникання – уникнення місць, подій або об'єктів, які нагадують про пережите – у 56 (70,9 %) пацієнтів; 3) симптоми збудження та реактивності – легко можуть злякатися – 42 (53,2 %) осіб, почуття напруги, підвищена «настороженість» – у 56 (70,9 %), труднощі з концентрацією – у 67 (84,8 %), труднощі з засинанням – у 57 (72,1 %), почуття дратівливості, спалахи гніву – у 53 (67,1 %) осіб; 4) симптоми порушення когнітивних функцій і настрою – проблеми із запам'ятовуванням ключових особливостей травматичної події у 19 (24,1 %) осіб, негативні думки про себе чи світ – у 47 (59,5 %), постійні негативні емоції – у 54 (68,4 %) осіб, втрата інтересу до попередньої діяльності – у 48 (60,6 %), відчуття відчуженості від друзів/родини – у 26 (32,9 %), почуття соціальної ізоляції – у 25 (31,6 %), труднощі з відчуттям позитивних емоцій у 68 (86,1 %) осіб.

Аналіз анамнестичних даних виявив, що серед пацієнтів з ПТСР у 67 (84,8 %) осіб був перенесений COVID-19 у 2020-2022 роках, з них в 11 (16,4 %) осіб – безсимптомна форма, підтверджена серологічними даними, у 36 (53,8 %) осіб – легка форма, у 12 (17,9 %) осіб – середньої тяжкості з лікуванням в амбулаторних умовах і у восьми (11,9 %) осіб – тяжкий з потребою кисневої підтримки у відділеннях інтенсивної терапії. Загалом у 18 (22,8 %) пацієнтів з перенесеним COVID-19 симптоми, пов'язані зі стресовими розладами (зазначеними в опитувальнику), вперше з'явилися на тлі інфікування SARS-COV-2 та утримуються понад 6 місяців.

Також, згідно анамнезу групи осіб з ПТСР: 28 (35,4 %) пацієнтів групи дослідження відвідували консультації у психологів і психотерапевтів, 25 (31,6

%) – приймали антидепресанти, 11 (13,9 %) осіб відмовились з різних причин від прийому антидепресантів, 36 (45,6 %) – приймали снодійні препарати і 47 (59,5 %) осіб регулярно приймали різні заспокійливі препарати, які підбирали самостійно. Аналіз результатів лабораторних досліджень засвідчив, що зміни загальних і біохімічних показників виявлені серед усіх пацієнтів з ПТСР, а саме: лімфопенію виявлено – у 15 (18,9 %) осіб, лімфоцитоз – у 26 (32,9 %), моноцитоз – у 31 (39,2 %), нейтропенію – у 18 (22,8 %), а в 27 (34,1 %) пацієнтів – підвищення кількості нейтрофілів. ШОЕ у 19 (24,1 %) пацієнтів була незначно підвищена, а підвищені рівні СРБ виявлені у 24 (30,4 %) осіб. У дев'яти (11,4 %) осіб були незначно підвищені рівні печінкових ферментів АЛТ, АСТ, натомість, креатинін у всіх досліджених був у межах фізіологічних значень. Ми провели порівняльний аналіз загальноклінічних лабораторних показників у пацієнтів з ПТСР і контрольній групі, що подано в таблицях 3.1.1, 3.1.2.

Таблиця 3.1.1

Порівняльна оцінка показників лейкограми у пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом і здорових осіб, $M \pm SD$

№ п/п	Показник лейкограми	Пацієнти з ПТСР (n=79)	Контрольна група (n=20)	P
1.	Лейкоцити (Г/л)	6,71±3,59	6,21±3,61	0,579
2.	Нейтрофіли (Г/л)	2,97±1,61*	3,82±1,82	0,043
3.	Лімфоцити (Г/л)	3,07±1,81*	1,73±0,92	0,002
4.	Моноцити (Г/л)	0,48±0,24*	0,34±0,12	0,013
5.	Еозинофіли (Г/л)	0,17±0,12	0,22±0,14	0,111

*- вірогідність різниці між групами дослідження ($p < 0,05$)

Щодо результатів лейкограми, то абсолютні кількості лейкоцитів, нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів та еозинофілів пацієнтів з ПТСР представлені у таблиці 3.1.2. Абсолютна кількість загальних нейтрофілів

($p=0,001$), мононуклеарних клітин (лімфоцитів ($p=0,010$), моноцитів ($p=0,002$)) у пацієнтів з ПТСР була вірогідно більшою порівняно з групою контролю.

Для ПТСР характерні різні прояви і симптоми, тому і сформовано такі його клінічні типи: тривожний, астеничний, дистрофічний і соматоформний. Клінічний тип соматоформного ПТСР проявляється на тлі «відстроченого» ПТСР, супроводжується проблемами в роботі серцево-судинної, нервової систем, шлунково-кишкового тракту. Отримані нами підвищені у порівнянні з контролем рівні АЛТ і АСТ можуть вказувати на інтенсивну загибель у хворих з ПТСР не тільки гепатоцитів, але і клітин серцевого м'яза. Це може пояснюватися: 1) зміною функціонування вісі кишківник – печінка – мозок, що призводить до розвитку печінкової недостатності; 2) збільшення концентрації норепінефрину та катехоламінів у циркуляції, які індукують пошкодження печінки, посилення синтезу ІЛ-6 гепатоцитами і зростання його концентрації, що сприяє посиленню продукції білків гострої фази запалення, в тому числі СРБ. Рівень креатиніну є важливим показником функції нирок. Встановлена недостовірна відмінність у його концентрації у хворих ПТСР порівняно з контрольною групою (таблиця 3.1.2).

Таблиця 3.1.2.

Порівняльна оцінка основних біохімічних показників пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом і здорових осіб, $M \pm SD$

№ п/п	Біохімічний показник	Пацієнти з ПТСР (n=79)	Контрольна група (n=20)	P
1.	Аланінамінотрансфераза (АЛТ) од/л	27,41±9,09	22,71±8,31	0,038
2.	Аспартатамінотрансфераза (АСТ) од/л	27,53±9,05	22,91±8,38	0,041
3.	Креатинін мкмоль/л	70,41±30,19	73,42±28,06	0,687
4.	С-реактивний білок мг/л	8,11±4,13	5,51±2,01	0,009

*- вірогідність різниці між групами дослідження ($p<0,05$)

У межах даного етапу, згідно поставлених завдань, проводилось вивчення стану імунної системи пацієнтів з ПТСР з визначенням основних популяцій лімфоцитів і субпопуляцій Т лімфоцитів у пацієнтів з ПТСР без/з реактивації HHV6 (таблиця 3.1.3).

Таблиця 3.1.3

Зміни кількості лімфоцитів CD3⁺, CD8⁺, CD4⁺, CD56⁺, CD19⁺, CD4⁺25⁺127⁻ у пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом без/з реактивацією HHV6

Назва імунологічного параметру	ПТСР (-HHV6) (n=26)	ПТСР (+HHV6) (n=18)	Контроль (n=20)	Достовірність порівняння показника ПТСР (-HHV6), ПТСР (+HHV6) з контролем, p	
Групи	1	2	3	1-3	2-3
CD3 ⁺	73,44±7,78	66,44±26,93	75,77±29,03	0,301	0,298
CD19 ⁺	9,89±3,30	11,22±6,63	12,14±5,13	0,620	0,626
CD56 ⁺	15,33±8,11	9,13±4,51	12,73±5,02	0,020	0,022
CD4 ⁺	41,89±5,06	40,00±19,70	46,63±22,01	0,299	0,321
CD8 ⁺	30,44±6,58	24,00±12,02	29,14±14,98	0,340	0,231
CD4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻	24,89±6,85	18,89±11,38	7,43±3,17	0,017	0,019

Отримані результати вказують на те, що відсоток Т лімфоцитів CD3⁺ у пацієнтів з ПТСР з реактивацією вірусу HHV6 становив 66,44±6,93 і був недостовірно нижчим показника у контрольній групі. Відсоток клітин CD19⁺ у пацієнтів з реактивацією вірусу становив 11,22±3,63 і був недостовірно нижчим показника у контрольній групі. Відсоток клітин CD56⁺ у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 становив 9,13±4,51 і був достовірно нижчим показника у контрольній групі (p=0,022). Відсоток клітин CD4⁺ у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 становив 40,00±19,70, що було недостовірно нижчим показників і у пацієнтів з реактивацією вірусу, і контрольної групи. Така ж тенденція спостерігалася щодо Т лімфоцитів CD8⁺ - відсоток цих клітин у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 становив 24,00±12,02, що було недостовірно нижчим показників групи пацієнтів з реактивацією вірусу і

контрольної групи. Відсоток і абсолютна кількість Т лімфоцитів CD4⁺CD25⁺127⁻ у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 були достовірно вищими показника у контрольній групі (18,89±11,38 %; p=0,019) (рис. 3.1.8). Отже, наші результати підтверджують дані літератури про те, що у хворих з ПТСР без додаткового вірусного навантаження кількість основних популяції лімфоцитів і субпопуляцій Т лімфоцитів є вищою від показників у контрольній групі, тоді як хворі з ПТСР з реактивацією віруса HHV6 демонструють зниження рівнів цих клітин, особливо у порівнянні з контрольною групою.

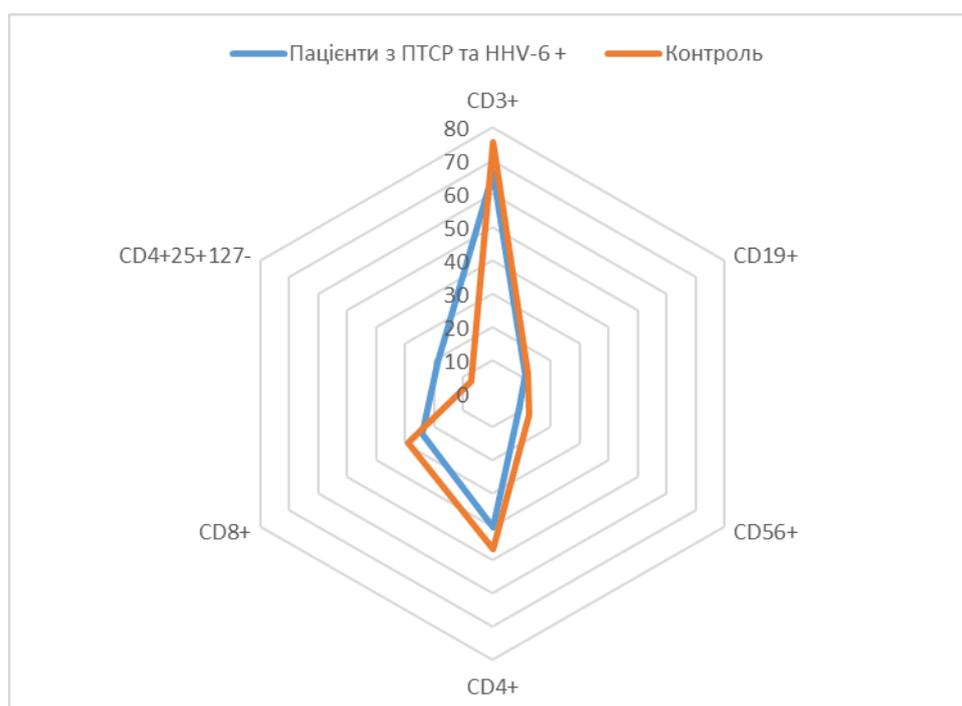


Рис. 3.1.8 Діаграма порівняння змін ключових показників імунограми CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD56⁺ у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 і контрольною групою.

Тривала постстресова дисрегуляція імунної та нервової систем при ПТСР асоціюється з хронічним запаленням на системному рівні, насамперед зі зростанням концентрації СРБ. Хоча частота та активність психіатричних манафестації зменшується з часом, проте, хронічне запалення становить потенційну загрозу розвитку ускладнень. Внаслідок лікування (зокрема, психотерапією та антидепресантами) клінічний стан пацієнтів з ПТСР покращується, але рівень запальних маркерів залишається незмінним. Вони

грають ключову роль в модуляції функцій клітин природженого та набутого імунітету і можуть бути ключовим фактором, який визначає тривалі патофізіологічні зміни, у томі числі підвищений ризик автоімунних та кардіоваскулярних хвороб. Отже, тривале підвищення рівня СРБ можна пояснити підвищенням кількості Т лімфоцитів і їх основних субпопуляцій, який продукується Т лімфоцитами на ранній стадії своєї активації.

Таким чином, при ПТСР нами встановлені достовірні зміни базових загальноклінічних та імунологічних параметрів, які свідчать про наявність гострого запального процесу, який хронізується у таких хворих. Також, продемонстровано, що у пацієнтів з РСС після важкого COVID-19 в анамнезі кількість Т клітин CD3⁺, субпопуляцій Т клітин CD4⁺, CD8⁺ була недостовірно нижчою і у пацієнтів без реактивації, і з реактивацією HHV6, а кількість CD4⁺CD25⁺CD127⁻ достовірно вищою порівняно з пацієнтами без реактивації HHV6 і контрольною групою. Кількість В клітин CD19⁺ приблизно відповідала показнику контрольної групи, а кількість NK клітин CD56⁺ була достовірно нижчою контролю. Ми вважаємо, що реактивація вірусної інфекції HHV6 сприяє формуванню РСС за такими механізмами: 1) дисрегуляція набутої імунної відповіді через активацію сигнального шляху NF-κB; 2) посилення продукції антитіл, імовірно, з дефективною структурою, які не здатні нейтралізувати вірусні антигени.

Результати досліджень, що представлені в цьому підрозділі, висвітлено в наукових публікаціях авторки [6,10, 212, 215, 216, 217].

1. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Gayevsky V, Hayduchok I, Mogylnytska L. Post-traumatic stress disorder: clinical and laboratory changes and potential for immune disorders. *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки.* 2023;71(1):168-183. DOI: 10.25040/ntsh2023.01.11

2. Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ, Чопяк ВВ. Поширеність герпесвірусних інфекцій серед пацієнтів з посттравматичними стресовими розладами: дані пілотного проекту. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* 2023;(3-4):5-12. DOI: 10.37321/immunology.2022.3-4-01

3.Zubchenko S, Havryliuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Immune system distant effects in patients with long-COVID on the background of reactivation HHV-6 infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;(1):31-42. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-03

4.Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. The post-COVID syndrome and post-traumatic stress disorders in patients from Ukraine (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2023 June 9-11 ; Hamburg. Hamburg; 2023. p. 431-432. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.15925>

5.Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Havrylyuk A, Chopyak V. Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections. In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. Valencia; 2024. p. 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.16300>

6.Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Matsyura O, Chopyak V. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. Rheumatol Int. 2022 Sep;42(9):1523-1530. doi: 10.1007/s00296-022-05146-9.

3.2 Зміни цитотоксичних та регуляторних функцій НК клітин у пацієнтів з РСС та пацієнтів з ПТСР без/з реактивацією вірусу HHV6.

3.2.1 Визначення експресії цитотоксичних маркерів Fas (CD56⁺95⁺), FasL (CD56⁺178⁺), регуляторного маркера CD56⁺/38⁺ та інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкою, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 в анамнезі (без/з реактивацією вірусу HHV6).

Встановлено, що кількість НК клітин є найнижчою у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 (без реактивації HHV6). У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 даний показник був достовірно нижчим порівняно з аналогічною групою пацієнтів з РСС без реактивації HHV6 і контрольною групою. Оскільки кількісні зміни імунних клітин не відображають їх функціональної активності, було проведено визначення ряду цитотоксичних рецепторів, їх лігандів і регуляторних маркерів на НК клітинах CD56⁺. У досліджуваних групах проводилось вивчення експресії рецепторів Fas (CD56⁺95⁺), FasL (CD56⁺178⁺), активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ та інгібіторного рецептору CD56⁺366⁺ (TIM-3) на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 та на тлі його реактивації (ДОДАТОК 2; таблиці 5, 6).

Згідно з результатами дослідження рецептора CD95⁺ (Fas/APO-1) на НК-клітинах було достовірно встановлено зниження його експресії в групах з РСС після середнього та тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$); даний показник у групі з тяжким перебігом COVID-19 був достовірно вищим порівняно з групами з легким та середнім перебігом COVID-19 ($p < 0,01$). Однак, не було виявлено достовірної різниці між результатом у групі з тяжким перебігом COVID-19 і контрольною групою ($p > 0,05$).

Аналізуючи рівень експресії ліганда FasL було встановлено, що даний показник у групі РСС після легкого перебігу COVID-19 був достовірно нижчим, ніж у групах після середнього і тяжкого перебігу COVID-19 та контролем

($p < 0,01$). Однак, експресія FasL у пацієнтів з РСС після середнього та важкого перебігу COVID-19 достовірно не відрізнялися від контролю.

Експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ на НК-клітинах у групі пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 була достовірно вищою порівняно з групою пацієнтів після середнього перебігу COVID-19, але не відрізнялася щодо показника у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19, проте, була достовірно вищою (у 3,0 рази) порівняно з контролем. У пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 експресія CD56⁺38⁺ була достовірно вищою (у 3,5 рази) у порівнянні з контролем ($p < 0,01$). У групі пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 експресія маркера CD56⁺38⁺ на НК-клітинах була достовірно вищою показника у контрольній групі ($p < 0,01$), але значно нижчою, ніж у групі з РСС після середнього перебігу COVID-19 ($p < 0,01$).

Вивчивши експресію інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) на НК-клітинах було виявлено, що у групі пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 даний показник є достовірно нижчим (у 2,0 рази) щодо контролю ($p < 0,01$); проте, не виявлено достовірної різниці у порівнянні з експресією відповідного рецептора у пацієнтів з РСС після середнього і важкого перебігу COVID-19. Рівень експресії TIM-3 практично не відрізнявся у групах пацієнтів з РСС після середнього та важкого перебігу COVID-19 та був достовірно нижчим (у 2,5 рази) порівняно з контролем ($p < 0,01$).

Показники експресії CD56⁺95⁺ (Fas) у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6 були достовірно нижчими у порівнянні з пацієнтами після середнього та важкого перебігу COVID-19 ($p < 0,01$; $p < 0,01$) та у 4 рази нижчими, ніж у контрольній групі ($p < 0,01$). Експресія Fas у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6 була достовірно нижчою порівняно з пацієнтами після важкого перебігу COVID-19 в анамнезі ($p < 0,01$) та контрольною групою ($p < 0,01$). Вивчення рівня експресії FasL продемонструвало, що у пацієнтів з РСС після легкого, середнього і важкого перебігу COVID-19 та у контрольній групі не було виявлено значущих відмінностей рівнів досліджуваного показника.

Експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6 була достовірно нижчою порівняно з даним показником у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 ($p < 0,01$). Проте, рівень CD56⁺38⁺ у пацієнтів з РСС після середнього і тяжкого перебігу COVID-19 був достовірно вищим (у 2,0 р.), ніж у контрольній групі ($p < 0,01$). Згідно отриманих даних, експресія інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 була достовірно нижчою, ніж у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 ($p < 0,01$) і достовірно нижчою (у 5,0 разів), ніж у контрольній групі ($p < 0,01$). Рівень експресії TIM-3 у пацієнтів з РСС після середнього та тяжкого перебігу COVID-19 не відрізнялася між собою і був достовірно нижчим, ніж показник в контрольній групі ($p < 0,01$).

Порівняння експресії маркерів Fas (CD56⁺95⁺), FasL (CD56⁺178⁺), активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ та інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) у пацієнтів з РСС після легкою, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 в анамнезі та ПТСР (без/з реактивацією вірусу HHV6).

Порівняння проводили залежно від: 1) перебігу COVID-19 – легкого, середнього чи тяжкого; 2) відсутності інфекції чи за умов реактивації HHV6.

Експресія CD56⁺95⁺ (Fas) та CD56⁺178⁺ FasL у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV6 була достовірно нижчою порівняно з групами пацієнтів після середнього та тяжкого перебігу COVID-19 та контрольною групою. Експресія активізаційного (регуляторного) маркера CD56⁺38⁺ у групі пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 була достовірно вищою, ніж у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 та порівняно з контролем (у 3,0 рази), проте, не відрізнялася від показника у групі з РСС після тяжкого перебігу COVID-19. Рівень експресії CD56⁺366⁺ (TIM-3) у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 був достовірно нижчим (у 2,0 рази), ніж у контрольній групі.

У пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6, експресія рецептора CD56⁺95⁺ (Fas) була достовірно нижчою, ніж у пацієнтів з

РСС після тяжкого перебігу COVID-19 та осіб контрольної групи. Рівень експресії CD56⁺178⁺ FasL був вищий порівняно з іншими групами пацієнтів та контрольною групою. Експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ була достовірно вищою порівняно з іншими групами та у 3,5 разів вищою, ніж у контрольній групі. Експресія TIM-3 у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 була нижчою, ніж у пацієнтів з легким перебігом і найнижчою порівняно з іншими групами, включно з контрольною (у 2,5 рази).

У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6, експресія рецептора CD56⁺95⁺ (Fas) була достовірно вищою порівняно і з пацієнтами з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 без HHV-6, і не відрізнявся від такого показника у контрольній групі. Експресія CD56⁺178⁺ FasL була вищою у порівнянні з пацієнтами інших груп і показником у контрольній групі. Експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ була достовірно нижчою, ніж у групі пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6, але вищою, ніж у контрольній групі (у 2,5 рази). Експресія TIM-3 у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 не відрізнялась від показника у групі після середнього перебігу COVID-19 та біла нижчою (у 2,5 рази), ніж у контрольній групі ($p < 0,01$).

У пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6 експресія CD56⁺95⁺ (Fas) була нижчою порівняно з пацієнтами після середнього та тяжкого перебігу COVID-19 та нижчою (у 4,0 рази), ніж у контрольній групі. У пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 експресія CD56⁺95⁺ (Fas) була вищою, ніж у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 з HHV6, але нижчою, ніж у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з HHV6 і порівняно з контрольною групою (у 3,3 р.). У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV-6 експресія CD56⁺95⁺ (Fas) була достовірно вищою, ніж у пацієнтів з РСС після легкого і середнього перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6, проте недостовірно нижчою, ніж у контрольній групі.

Експресія CD56⁺178⁺ (FasL) - у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 не було відмінностей з контрольною групою. У пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 на тлі інфекції HHV6 експресія CD56⁺178⁺ була вищою контрольної групи (недостовірно). Даний показник у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 з HHV6 був достовірно вищим, ніж у інших групах пацієнтів і контрольній групі.

Експресія CD56⁺38⁺ у групі з РСС після легкого перебігу COVID-19 з HHV6 була достовірно нижчою порівняно з даним показником у пацієнтів з РСС після середнього та важкого перебігу COVID-19 з HHV6, але вищою у 1,7 разів, ніж у контрольній групі. Показник експресії CD56⁺38⁺ у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 на тлі реактивації HHV6 був достовірно вищим даного показника у групі з легким перебігом COVID-19 на тлі реактивації HHV6 і контрольною групою. Експресія CD56⁺38⁺ у пацієнтів з РСС та важким COVID-19 в анамнезі на тлі реактивації HHV6 була достовірно вищою, ніж у групі пацієнтів з РСС і легким COVID-19 на тлі реактивації HHV6 та достовірно вищою, ніж у контрольній групі (у 2,0 рази).

Рівень експресії CD56⁺366⁺ (TIM-3) у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 з HHV6 був достовірно нижчим, ніж у пацієнтів після середнього і важкого перебігу COVID-19 з HHV6 і достовірно нижчим (у 5,0 разів), ніж у контрольній групі. Експресія CD56⁺366⁺ у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 з HHV6 була достовірно вищою, ніж у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 з HHV6 та достовірно нижчою (у 3,0 р.), ніж у контрольній групі. Показник експресії TIM-3 у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 з HHV6 достовірно не відрізнялася від інших груп пацієнтів, проте, був достовірно вищим (у 3 рази), ніж у контрольній групі (рисунки 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3, 3.2.4).

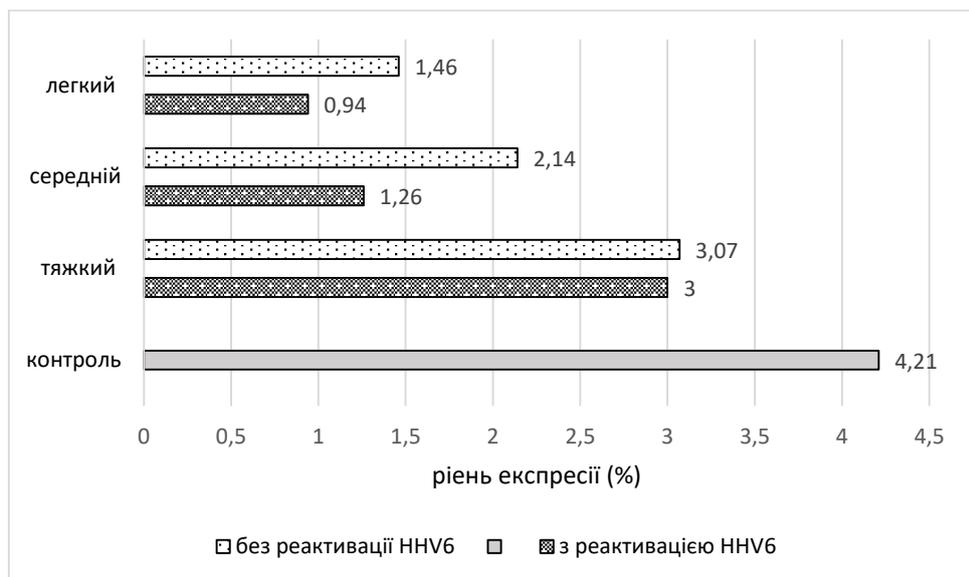


Рис. 3.2.1. Експресія рецептора Fas (CD56⁺95⁺) на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 без/з реактивацією HHV6.

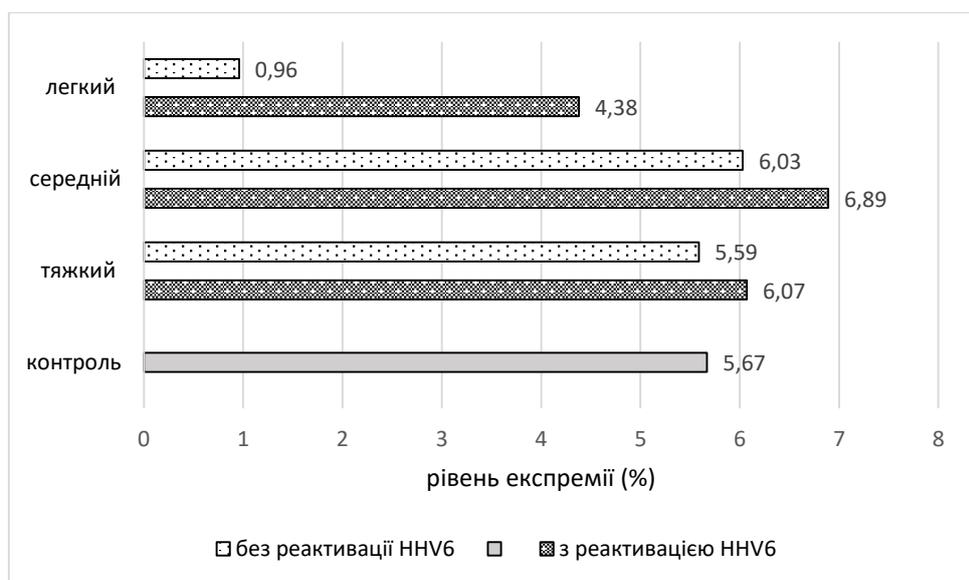


Рис. 3.2.2. Експресія ліганда FasL (CD56⁺178⁺) на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 без/з реактивацією HHV6.

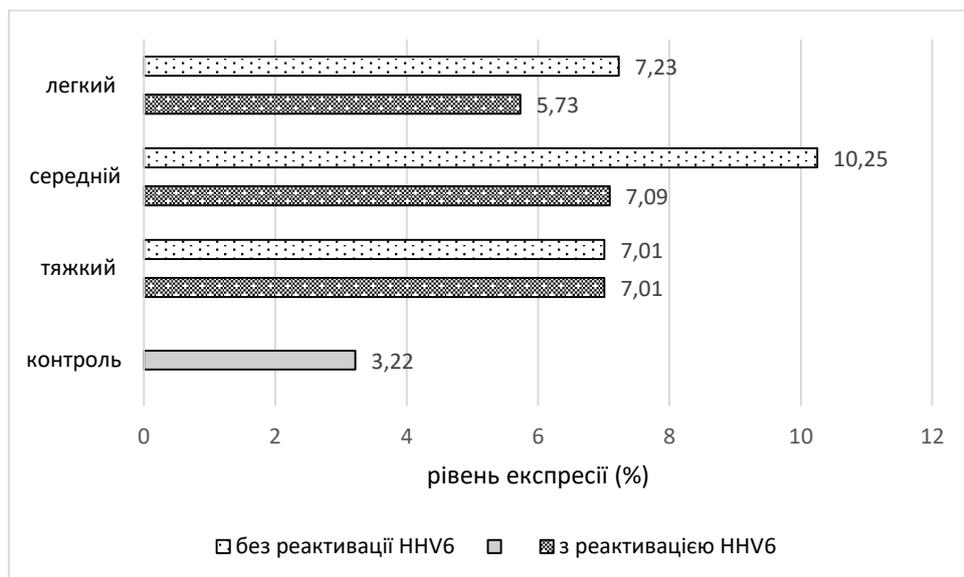


Рис. 3.2.3. Експресія регуляторного маркера CD56⁺38⁺ на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 без/з реактивацією HHV6.

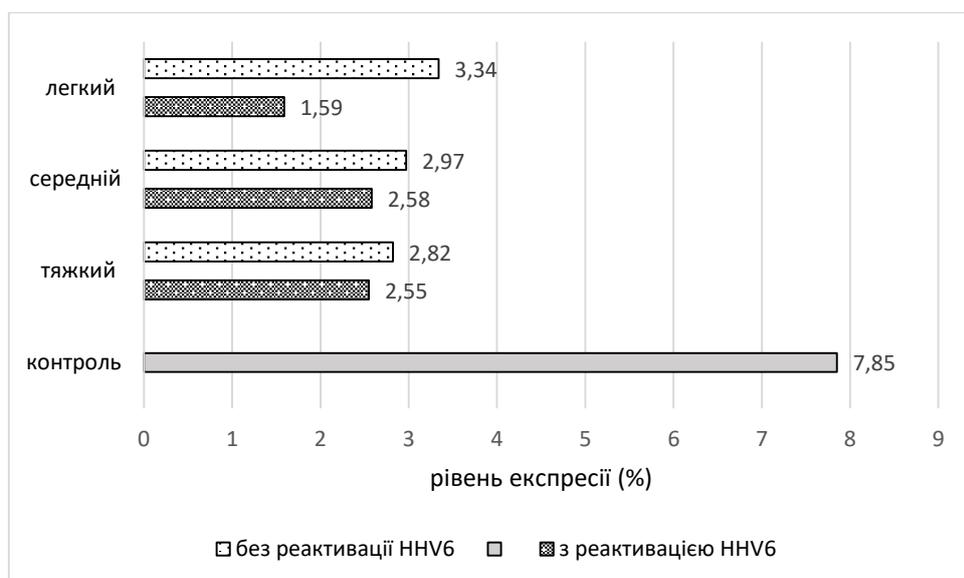


Рис. 3.2.4. Експресія інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3) на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 без/з реактивацією HHV6.

Таким чином, були проведений аналіз отриманих даних порівняння експресії вищеперелічених показників між групами пацієнтів однакової тяжкості перебігу COVID-19 без/з реактивації HHV6.

Експресія CD56⁺95⁺ (Fas) у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV6 була достовірно нижчою порівняно з групами пацієнтів після середнього та важкого перебігу COVID-19 та контрольною групою, проте даний показник на тлі реактивації HHV6 в аналогічній групі був у 1,5 рази нижчим. У групі з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6, експресія рецептора Fas була достовірно нижчою, ніж у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 та контролем, проте, експресія даного показника на тлі реактивації HHV6 в аналогічній групі пацієнтів була у 1,6 рази нижчою. У пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 без HHV6, експресія Fas була достовірно вищою порівняно з пацієнтами з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 без HHV6, і не відрізнявся від такого показника у контрольній групі. У групі з РСС після важкого перебігу COVID-19 з HHV6, експресія CD56⁺95⁺ була такою ж, як без реактивації HHV6.

Експресія CD56⁺178⁺ FasL у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV6 була достовірно нижчою порівняно з групами пацієнтів після середнього та важкого перебігу COVID-19 та контрольною групою, а у групі пацієнтів з реактивацією HHV6 - у 4,5 разів вищою. У групі з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6, експресія FasL була вищою порівняно з іншими групами пацієнтів і контрольною групою, а у групі пацієнтів з HHV6 - була практично однаковою. У пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 без HHV6 рівень експресії CD56⁺178⁺ був вищим порівняно з пацієнтами інших груп і показником у контрольній групі, а у групі пацієнтів з реактивацією HHV6 - був практично однаковим.

Експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ у групі пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV-6 була достовірно вищою порівняно з даним показником у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 та у порівнянні з контрольною групою (у 3,0 р.), проте, не

відрізнялася від показника у групі з РСС після тяжкого перебігу COVID-19. У групі з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6 експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ була достовірно вищою порівняно з іншими групами та у 3,5 разів вищою, ніж у контрольній групі, проте, при реактивації HHV6 даний показник був у 1,5 рази нижчим. У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 експресія активізаційно-регуляторного маркера CD56⁺38⁺ була достовірно нижчою, ніж у групі пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6, але вищою, ніж в контрольній групі (у 2,5 рази).

Щодо результатів CD56⁺366⁺ (TIM-3), було встановлено, що експресія даного рецептора у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV6 була достовірно нижчою (у 2,0 рази), ніж у контрольній групі; у пацієнтів з реактивацією HHV6 - у 2,1 рази нижчою контролю. Експресія TIM-3 у групі з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6 була нижчою, ніж у пацієнтів з легким перебігом і найнижчою - порівняно з іншими групами, включно з контрольною (у 2,5 рази); у пацієнтів з HHV6 даний показник був незначно зниженим. У групі з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 експресія TIM-3 не відрізнялась від показника у групі пацієнтів після середнього перебігу COVID-19 та була нижчою (у 2,5 рази), ніж у контрольній групі ($p < 0,01$); у пацієнтів з реактивацією HHV6 відмічалось незначне зниження TIM-3 порівняно з контролем (ДОДАТОК 2; таблиця 5).

Згідно поставлених завдань, було проведено визначення основних цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4⁺, CD8⁺ та на НК клітинах пацієнтів з РСС з реактивацією HHV6, які були підібрані в групу для лікування інозин пранобексом (таблиця 3.2.1).

Експресія основних цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4⁺, CD8⁺ та на НК клітинах пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6

Назва імунологічного параметру	Пацієнти з РСС (+HHV6) (до лікування)	Контроль	p
CD56 ⁺ CD95 ⁺ (Fas) на НК клітинах	2,51±1,45	4,21 ±2,45	Нижче статистично достовірно P = 0,0111
CD56 ⁺ CD178 ⁺ (FasL) на НК клітинах	1,03±0,72	5,67 ±2,13	Нижче статистично достовірно P < 0,0001
CD8 ⁺ CD279 ⁺ (PD-1) на CD8 лімфоцитах	2,91±1,66	5,76±2,65	Нижче статистично достовірно p= 0,0002
CD8 ⁺ CD274 ⁺ (PD-1L) на CD8 лімфоцитах	3,76±1,15	5,82±2,25	Нижче статистично достовірно p= 0,0008
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻ (Treg)	4,28±3,22	7,43±3,17	Нижче статистично достовірно p= 0,004

3.2.2 Визначення експресії рецептор-ліганду Fas-FasL на НК клітинах у пацієнтів з ПТСР без/з реактивацією HHV6

Наступний етап дослідження включав визначення експресії рецептор-ліганду Fas-FasL на НК-клітинах у пацієнтів з ПТСР без/з реактивацією HHV6. Було обстежено 20 пацієнтів з ПТСР без реактивації HHV6, 20 пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 і 20 здорових осіб (контрольна група). У групах дослідження пацієнтів з ПТСР визначали тільки експресію рецепторів Fas (CD56⁺95⁺) і FasL (CD56⁺178⁺) на НК клітинах. Дані літератури щодо механізмів активації імунної системи при ПТСР дуже суперечливі і визначення експресії CD56⁺38⁺, маркера активації лімфоцитів і диференціювання В лімфоцитів у плазмоцити, видалося малоінформативним. Також у групах хворих з ПТСР без/з реактивацією HHV6 не проводили вивчення експресії інгібіторного рецептора CD56⁺366⁺ (TIM-3), оскільки, згідно даних літератури, даний рецептор відповідає за блокування цитотоксичних функцій НК клітин (наприклад, щодо інфікованих вірусами клітин). Необхідно зазначити, що при ПТСР працює зовсім інший механізм регуляції противірусної імунної протидії. Отже, у групах

дослідження визначали експресію рецепторів Fas (CD56⁺95⁺), FasL (CD56⁺178⁺) на НК клітинах. Отримані результати подано в таблиці 3.2.2.

Таблиця 3.2.2

Експресія рецептора Fas (CD56⁺95⁺) і його ліганду FasL (CD56⁺178⁺) на НК клітинах пацієнтів з ПТСП з реактивацією вірусу HHV6 порівняно з контрольною групою.

Назва імунологічного параметру	ПТСП (+HHV6)	Контроль	Достовірність порівняння з контролем, р
CD56 ⁺ 95 ⁺ (Fas)	3,22±1,95	4,21 ±2,45	0,165
CD56 ⁺ 178 ⁺ (FasL)	4,22±2,34	5,67 ±2,13	0,047
CD56 ⁺ (загальні)	9,13±4,51	12,73±6,02	0,038

На основі даних, представлених у таблиці 3.2.2, було визначено, що експресія рецептора CD56⁺95⁺ (Fas) була недостовірно нижчою у групі пацієнтів з ПТСП з HHV6 порівняно з контрольною групою. Експресія ліганду CD56⁺178⁺ (FasL) при ПТСП з реактивацією HHV6 була достовірно нижчою показника у контрольній групі (4,22±2,34 %; р=0,047) (рис. 3.2.5).

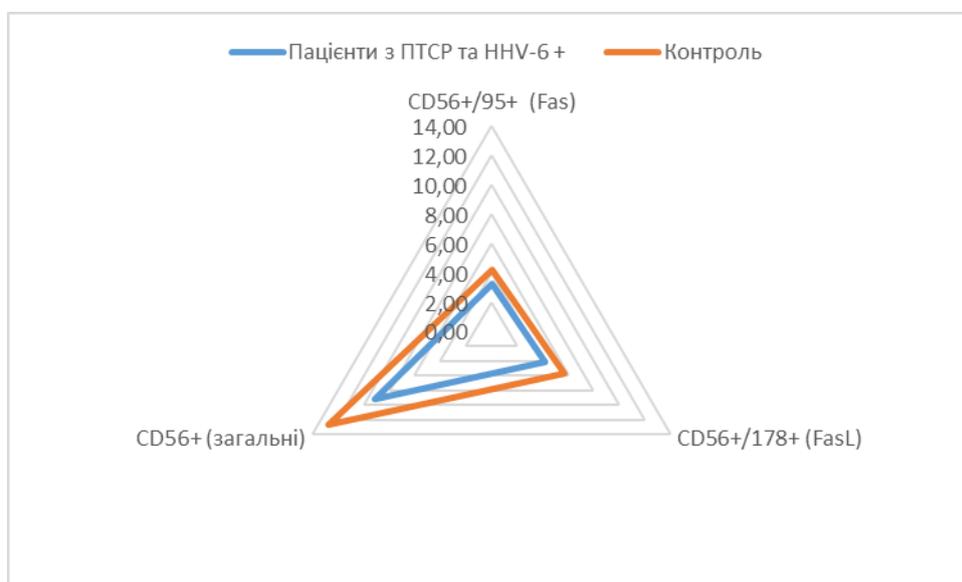


Рис. 3.2.5 Експресія рецептора Fas (CD56⁺95⁺) та його ліганду FasL (CD56⁺178⁺) на НК клітинах пацієнтів з ПТСП з реактивацією вірусу HHV6 порівняно з контрольною групою.

Щодо загальної кількості НК (CD56⁺), то цілком очікувано, що їх рівень був найвищим у здорових осіб контрольної групи; в 1,4 рази вищим ($p < 0,05$) порівняно з пацієнтами з ПТСП і реактивацією HHV6. Отже, згідно отриманих нами результатів, у пацієнтів з ПТСП загальна кількість НК, основною функцією котрих є розпізнавання і знищення вірусінфікованих клітин, була нижчою за контрольну групу, особливо у пацієнтів з ПТСП і реактивацією HHV6.

Отримані результати вказують на виснаження і пригнічення основної ланки противірусної відповіді імунної системи. Зокрема, експресія Fas у пацієнтів з ПТСП без HHV6 була вищою, ніж у пацієнтів з ПТСП та реактивацією HHV6 і нижчою - порівняно з контрольною групою. Експресія CD56⁺178⁺ FasL у пацієнтів без HHV6 була нижчою, ніж у групі з реактивацією HHV6. Обидва цих показники у пацієнтів з ПТСП і реактивацією HHV6 були нижчими, ніж у контрольній групі. Отже, HHV6 знижує експресію як рецептора Fas (він експресується на НК клітинах, які «нападають») так і FasL (який експресується на клітинах-мішенях), причому рівень FasL знижений достовірно.

Таким чином, у всіх пацієнтів з ПТСП спостерігалось зниження експресії Fas і достовірне зниження експресії FasL. З отриманих результатів випливає, що цитотоксична активність НК пацієнтів з ПТСП з HHV6 є зниженою, але ще нижчою є здатність інфікованих НК клітин ставати мішенями (особливість перебігу хронічних вірусних інфекцій). Це підтверджує наше припущення. Даний патогенетичний механізм може пояснювати зв'язок між реактивацією HHV6 і клінічними симптомами неврологічних порушень у пацієнтів з ПТСП. Ймовірно, знижена експресія Fas- FasL відображає нездатність НК клітин якісно доводити до апоптозу інфіковані вірусом імунокомпетентні клітини і клітини нервової системи. Дисфункція системи Fas-FasL призводить як до розладів противірусної імунної відповіді, так і до посилення нейрозапалення.

Експресія CD56⁺95⁺ (Fas) у пацієнтів з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 є низькою, а в групі пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19 без HHV6 - підвищується до рівня в контрольній групі. Рівень експресії CD56⁺178⁺ (FasL) у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 є

зниженим, і тільки після важкого перебігу COVID-19 експресія CD56⁺178⁺ (FasL) підвищується порівняно з іншими групами. Експресія CD56⁺38⁺ у групі пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 є підвищеною і ще вище наростає показник у пацієнтів після важкого перебігу COVID-19. Найвищий рівень CD56⁺38⁺ відмічений у групі пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 у порівнянні з іншими групами. Рівень експресії CD56⁺366⁺ (TIM-3) у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 був низьким щодо показника контрольної групи. Згідно отриманих результатів пацієнтів з реактивацією вірусу HHV6 було встановлено значне підвищення експресії Fas, відсутність змін експресії FasL і CD56⁺38⁺ та зниження експресії TIM-3. Найбільш значимі зміни показників були виявлені у групах з середнім і тяжким перебігом COVID-19 в анамнезі.

Отримані результати у пацієнтів із ПТСР і реактивацією HHV6 можуть вказувати на: 1) розвиток дисбалансу між нормальними противірусними функціями НК клітин і їх практичною реалізацією при реактивації HHV6; 2) зростання ризику пошкодження структури та порушення функціонування ЦНС, формування імунопатології, з високою ймовірністю - автоімунної.

Результати досліджень, що представлені в цьому підрозділі, висвітлено в наукових публікаціях авторки [6, 7, 9, 30, 64, 214, 218]:

1.Зубченко С, Кріль І, Надіжко О, Гаєвський В, Гайдучок І, Могильницька Л. Посттравматичний стресовий розлад: клініко-лабораторні зміни та перспектива імунних порушень = Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Gayevsky V, Haydychok I, Mogylnytska L. Post-traumatic stress disorder: clinical and laboratory changes and potential for immune disorders. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2023;71(1):168-183.

2. Zubchenko S, Nadizhko O, Horbal N, Gaiduch I, Gasparyan A. 10th International Scientific-Practical Conference «Christmas Readings in Lviv»: «COVID-19, LONG-COVID-19, POST-COVID-19: their multiplicity and immune disorders». Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2022;66(1):22-35. DOI: 10.25040/ntsh2022.01.03

3.Зубченко СО, Гаврилюк АМ, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Fas-FasL як ключова система функціонування натуральних кілерів при посттравматичному стресовому розладі Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія. 2024;77(3):58-64. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820860>

4.Чопяк ВВ, Гаврилюк АМ, Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Дисрегуляція імунної відповіді та її клінічні наслідки при посттравматичному стресовому розладі. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;(3-4):5-12.

5.Chopyak V, Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O. Long-COVID: the role of NK cells and herpes virus type 6 activation. In: Abstracts from the 7th Congress for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p. 60. <https://surl.lu/fpjau>

6.Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Research of receptor expression on NK cells in patients with long- COVID (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. Valencia; 2024. p. 847. <https://doi.org/10.1111/all.16300>

7.Zubchenko S, Nadizhko O. Immunological features of COVID-19 in patients with neuropsychiatric symptoms and HHV-6-infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2023;(4):12-22. doi: 10.37321/immunology.2023.4-02

3.3 Аналіз клінічної, імунологічної та вірусологічної ефективності лікування інозин пранобексом пацієнтів з РСС, ПТСП і коморбідною патологією РСС з ПТСП на тлі реактивації ННВ6.

3.3.1 Підбір груп пацієнтів для лікування лікарським засобом інозин пранобексом

Для виконання 4 етапу виділили 60 рандомізованих пацієнтів чоловічої та жіночої статі віком від 18 до 65 років з РСС, ПТСП з підтвердженою реплікативною активністю ННВ6. Пацієнти були розподілені на 3 основні групи (по 20 осіб): група 1 – пацієнти з РСС; група 2 – пацієнти з ПТСП; група 3 – пацієнти з РСС з ПТСП; контрольна група – 20 практично здорових осіб. Розподіл хворих на групи проводився відповідно до встановлених діагнозів. Розподіл досліджуваних осіб за статтю та віком вказані в таблицях 3.3.1 та 3.3.2.

Таблиця 3.3.1

Розподіл пацієнтів дослідних і контрольної груп за статтю

Стать	РСС + ННВ6 n=20		ПТСП +ННВ6 n=20		РСС з ПТСП +ННВ6 n=20	
	абс.	%	Абс	%	абс.	%
Чоловіки	10	50,0	9	45,0	9	45,0
Жінки	10	50,0	11	55,0	10	55,0
Всього	20	100	20	100	20	100

Проаналізувавши дані таблиці 3.3.1, виявили, що за статевим розподілом порівнювані групи вірогідно не відрізнялися.

Таблиця 3.3.2

Розподіл пацієнтів дослідних і контрольної груп за віком

Вік, роки	РСС + ННВ6 n=20		ПТСП +ННВ6 n=20		РСС з ПТСП +ННВ6 n=20	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
18-25	2	10,0	3	15,0	2	10,0
26-45	8	40,0	8	40,0	10	50,0
46-65	10	50,0	9	45,0	8	40,0

Згідно з даними таблиці 3.3.2, за віковим розподілом пацієнти дослідних груп надавалися до порівняння між собою і вірогідно не відрізнялися. Було встановлено, що в усіх групах більша частина пацієнтів була молодого віку (40,0 %) і середнього (50,0 %) віку; загалом – між 26 та 65 роками. Таким чином, за віковим і статевим складом три дослідні групи не мали вірогідних відмінностей.

3.3.2 Визначення клінічної ефективності лікування лікарським засобом інозин пранобек пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації ННV6

Після проведеного лікування стан пацієнтів загалом значно покращився, вірогідно зменшилась більшість клінічних проявів РСС: порушення сну та втрата нюху ($p < 0,0001$), болі в голові ($p = 0,0004$), постійна втома ($p = 0,0003$), підвищена втомлюваність ($p = 0,0012$) та інші. Спостерігалась лише тенденція до зменшення клінічних проявів тахікардії ($p = 0,4801$), випадіння волосся ($p = 0,5145$) і стиснення у грудній клітці ($p = 0,6050$), (рисунок 3.3.1).

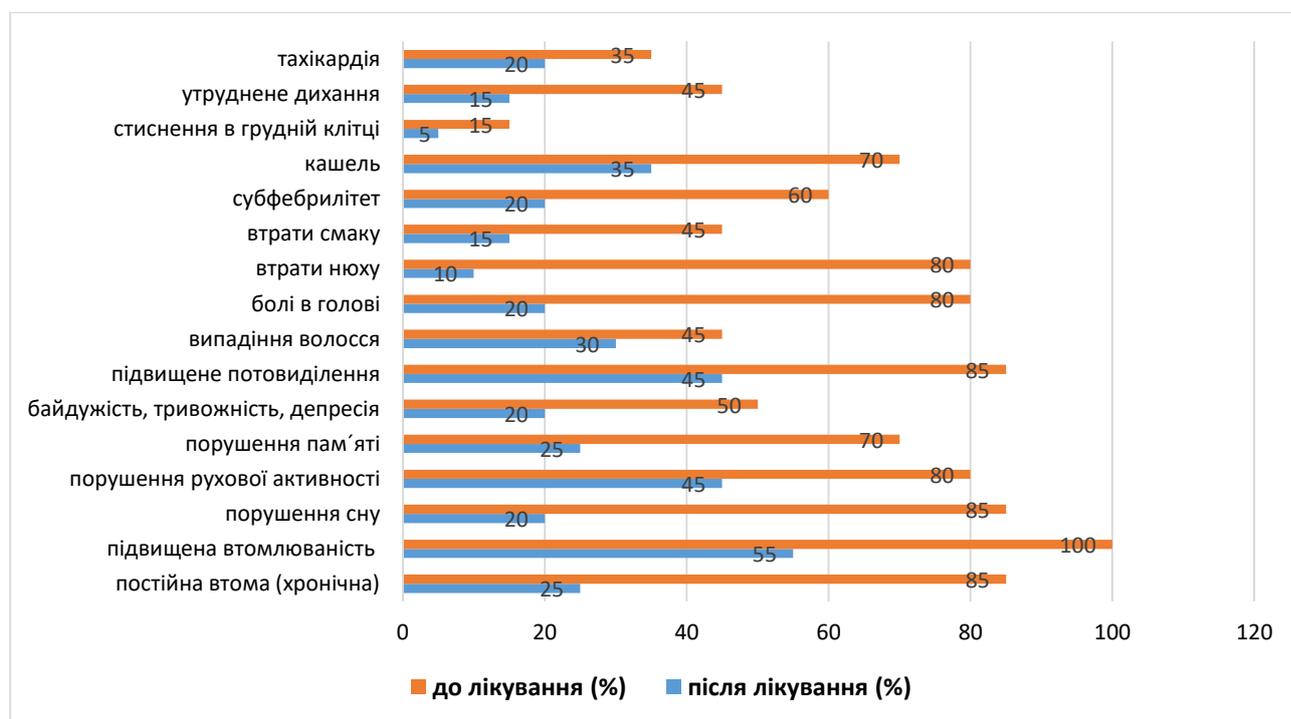


Рис. 3.3.1 Динаміка змін клінічних скарг у пацієнтів з РСС на тлі реактивації ННV6 до та після лікування (n=20), %

Таким чином, клінічна ефективність лікування пацієнтів з РСС на тлі реактивації ННВ6 інозин пранобексом впродовж 12 тижнів склала 60,1 %. Покращення клінічної симптоматики супроводжувалось позитивними змінами в загальних лабораторних показниках. Після 12 тижнів лікування у пацієнтів з РСС на тлі реплікативної активності ННВ6 спостерігалось вірогідне підвищення рівнів сегментоядерних лейкоцитів і зниження рівнів лімфоцитів, моноцитів порівняно з результатами пацієнтів до лікування ($p=0,0001$), і з групою контролю, таблиця 3.3.3.

Таблиця 3.3.3

Динаміка змін загальноклінічних лабораторних показників крові у пацієнтів з РСС на тлі реактивації активності ННВ6 до та після лікування (n=20)

Показники лейкограми	РСС + ННВ6 до лік n=20	РСС + ННВ6 після лік n=20	Контр. група, n=20	P	P	P
Групи	1	2	3	1 – 3	2 – 3	1 – 2
Лейкоцити (Г/л)	6,29±1,29	6,11±1,35	6,12±1,21	0,65	1,00	0,685
Нейтрофіли (пал, %)	1,70±1,03	2,4±1,14	2,45±1,43	0,06	0,9033	0,0486
Нейтрофіли (сег,%)	40,8±3,49	52,7±6,31	63±5,03	0,0001	0,0001	0,0001
Лімфоцити (%)	43,1±3,29	36,35±2,91	28±4,93	0,0001	0,0001	0,0001
Моноцити (%)	5,05±1,35	12,15±2,39	5,05±1,35	0,0001	0,0003	0,0001

Згідно отриманих даних, лікування пацієнтів з РСС на тлі реплікативної активності ННВ6 продемонструвало клінічну ефективність (60,1%), що підтверджена позитивними змінами загальноклінічних лабораторних показників. Пацієнтам з перенесеним середнім, тяжким перебігом COVID-19 і симптомами РСС, які утримувались після проведеного лікування, рекомендовано терапію з додаванням протівірусних таргетних препаратів.

Подібні показники клінічної активності були і в пацієнтів з ПТСР. Після проведеного лікування стан пацієнтів загалом значно покращився, вірогідно зменшилась більша частина клінічних проявів ПТСР: постійна втома, порушення

мобільності, болі в голові ($p < 0,0001$), підвищене потовиділення ($p < 0,0002$), байдужість, тривожність, депресивні думки ($p < 0,0011$), порушення сну, порушення пам'яті та зниження концентрації уваги ($p < 0,0012$), підвищена втомлюваність ($p < 0,0033$). Спостерігалася лише тенденція до зменшення клінічних проявів тахікардії ($p = 0,51450$), задишки ($p = 0,7311$) і випадіння волосся ($p = 0,2351$). А симптоми субфебрилітету ($p < 0,0012$), стиснення у грудній клітці та кашлю ($p = 0,4872$) після проведеного лікування взагалі не спостерігались (рисунок 5.2.2).

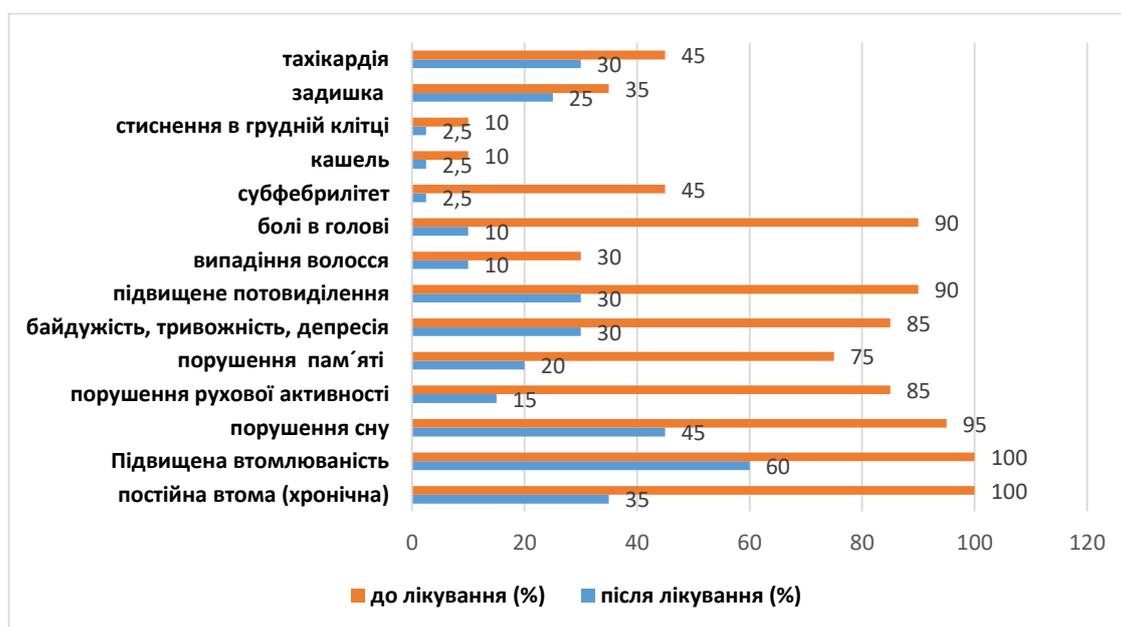


Рис. 3.3.2 Динаміка змін клінічних скарг у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації вірусу HHV6 до та після лікування ($n=20$), %

Клінічна ефективність лікування пацієнтів з ПТСР на тлі реплікативної активності HHV6 інозин пранобексом впродовж 12 тижнів склала 68,7%. Покращення клінічної симптоматики супроводжувалось позитивними змінами в загальних лабораторних показниках. Після 12 тижнів лікування у пацієнтів з ПТСР на тлі реплікативної активності HHV6 спостерігалось статистично достовірне зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів ($p = 0,0001$) і моноцитів ($p = 0,0111$), підвищення кількості лімфоцитів ($p = 0,0001$) порівняно як з пацієнтами до лікування, так і з контрольною групою (таблиця 3.3.4).

Таблиця 3.3.4

**Динаміка змін загальних лабораторних показників крові у пацієнтів з
ПТСР на тлі реактивації вірусу HHV6 до та після лікування (n=20)**

Показники лейкограми	ПТСР+ HHV6 до лік n=20	ПТСР+ HHV6 після лік n=20	Контр. група, n=20	p	p	p
Групи	1	2	3	1 - 3	2 - 3	1 - 2
Лейкоцити (Г/л)	5,91±1,70	5,91±1,70	6,12±1,21	0,6706	0,8377	0,8161
Нейтрофіли (пал, %)	2,75±1,52	2,75±1,52	2,45±1,43	0,5227	0,4452	0,1453
Нейтрофіли (сег,%)	59,25±4,57	52,65±4,25	63±5,03	0,0183	0,0001	0,0001
Лімфоцити (%)	24,5±5,29	24,5±5,29	28±4,93	0,0368	0,0002	0,0001
Моноцити (%)	10,54±3,59	8,25±1,11	5,05±1,35	0,0001	0,0001	0,0111

Отже, лікування пацієнтів з ПТСР на тлі реплікативної активності HHV6 продемонструвало клінічну ефективність 68,7%, що підтверджено позитивними змінами загальноклінічних лабораторних показників.

Третю дослідну групу склали 20 пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР і реактивацією HHV6. За даними ПЛР встановлено, що у 19 (95,0 %) пацієнтів виявлено ДНК HHV6 у слині, у 18 (90,0 %) - у слизовій задньої стінки глотки і в трьох (15,0 %) у крові. Зауважимо, що саме серед пацієнтів з комбінованою патологією реплікація вірусу у крові була більшою порівняно з попередніми групами. Розподіл виявлення ДНК HHV6 був наступним: лише у слині – 7 осіб, лише у слизовій - 5, слина+слизова – 11, слина+кров – 1, слизова+кров – 2 особи.

При клінічному обстеженні пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації HHV6 визначено, що найчастішими скаргами у пацієнтів були: у всіх 20 (100,0 %) - постійна втома, підвищена втомлюваність, порушення сну; підвищене потовиділення, байдужість, тривожність, депресивні думки – 19 (95,0%); порушення мобільності та болі в голові у 16 (80,0 %); утруднене дихання – 15 (75,0 %); субфебрилітет, випадіння волосся, тахікардія – 12 (60,0 %); втрата

нюху – 11 (55,0 %); втрата смаку – 9 (45,0 %); кашель – 8 (40,0 %); стиснення в грудній клітці – 5 (25,0 %).

При загальноклінічному лабораторному обстеженні крові в пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації ННV6 визначено вірогідне зниження рівнів сегментоядерних нейтрофілів ($p=0,0183$), лімфоцитів ($p=0,0368$) і підвищення рівнів моноцитів ($p=0,0001$) порівняно з контрольною групою.

Після проведеного лікування стан пацієнтів загалом покращився, достовірно зменшилась частина клінічних проявів РСС з ПТСР: постійна втома, порушення сну ($p=0,0001$); порушення мобільності ($p=0,0484$); порушення пам'яті та зниження концентрації уваги ($p=0,0104$); байдужість, тривожність, депресивні думки ($p=0,0033$); підвищене потовиділення ($p=0,0436$); випадіння волосся ($p=0,00225$); болі в голові ($p=0,0036$); втрата нюху ($p=0,0057$); втрата смаку ($p=0,0824$); утруднене дихання ($p=0,0248$). Натомість, виявлена лише тенденція до зменшення симптомів підвищеної втомлюваності, втрати нюху, втрати смаку, субфебрилітету, кашлю, стиснення в грудній клітці, кашлю (рис. 4).

Таким чином, клінічна ефективність лікування пацієнтів з поєднаною патологією РСС і ПТСР на тлі реплікативної активності ННV6 інозин пранобексом впродовж 12 тижнів склала 52,4 % (рисунок 3.3.3).

Покращення клінічної симптоматики, як і в інших групах дослідження, супроводжувалось позитивними змінами в загальноклінічних лабораторних показниках. Після 12 тижнів лікування у пацієнтів з ПТСР на тлі реплікативної активності ННV6 спостерігалось вірогідне підвищення рівнів сегментоядерних нейтрофілів ($p=0,0001$) і зниження рівнів лімфоцитів і моноцитів ($p=0,0001$), порівняно як до лікування, так і з групою контролю (таблиця 3.3.5).

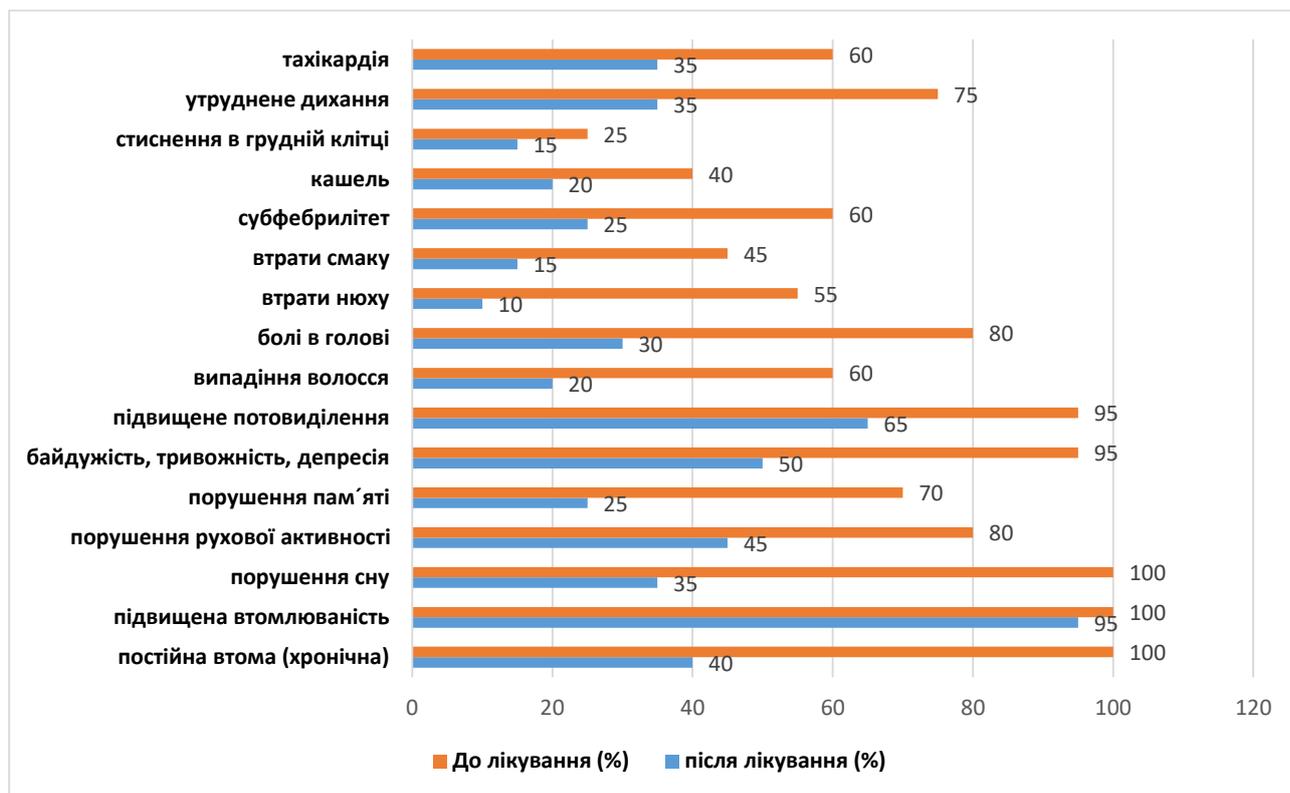


Рис. 3.3.3 Динаміка змін клінічних скарг у пацієнтів з post-COVID-19 і ПТСР на тлі реактивації HHV6 до та після лікування (n=20), %

Таблиця 3.3.5

Динаміка змін загальноклінічних лабораторних показників крові у пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації вірусу HHV6 до та після лікування (n=20)

Показники лейкограми	РСС з ПТСР + HHV6 до лік n=20	РСС з ПТСР + HHV6 після лік n=20	Контр. група, n=20	P	P	P
Групи	1	2	3	1 – 3	2 – 3	1 – 2
Лейкоцити (Г/л)	6,12±1,21	5,61±1,39	6,12±1,21	0,2325	0,7797	0,4078
Нейтрофіли (пал,%)	2,45±1,43	1,75±1,25	2,45±1,43	0,1076	0,7009	0,1298
Нейтрофіли (сег,%)	63±5,03	43,0±4,54	63±5,03	0,0001	0,0001	0,0001
Лім-фоцити (%)	42,5±3,55	31,3±3,79	28±4,93	0,0001	0,0001	0,0001
Моноцити (%)	10,85±1,62	7,45±1,09	5,05±1,35	0,0001	0,0228	0,0001

Отже, лікування пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реплікативної активності ННV6 продемонструвало клінічну ефективність 52,4 %, що підтверджена позитивними змінами загальноклінічних лабораторних показників.

Загальна клінічна ефективність лікування інозин пранобексом впродовж 12 тижнів склала – 60,4 % (рисунок 3.3.4). Порівнявши клінічну ефективність у групах дослідження видно, що найвищі результати лікування були в групі пацієнтів з ПТСР на тлі реплікативної активності ННV6 – 68,7 %, що в 0,8 рази було вище за ефективність у групі з поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реплікативної активності ННV6 – 52,4 %.

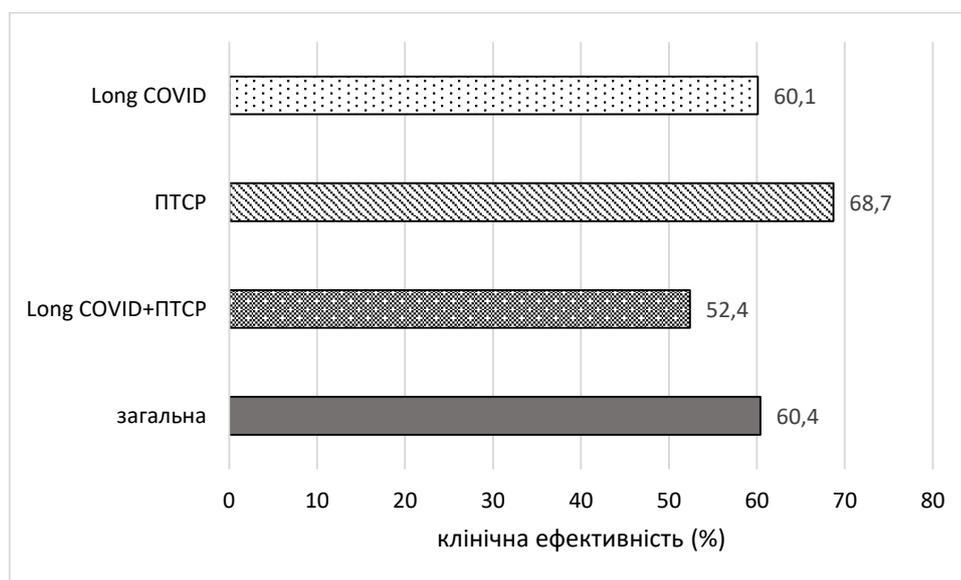


Рис. 3.3.4. Загальна клінічна ефективність лікування інозин пранобексом впродовж 12 тижнів

Згідно з результатами наших попередніх досліджень, саме серед пацієнтів з коморбідною патологією реплікація вірусу ННV6 у крові була вищою порівняно з попередніми групами. Відтак, даним пацієнтам і пацієнтам інших груп зі симптомами, які утримувались після проведеного лікування, рекомендовано терапію з додаванням протівірусних таргетних препаратів.

3.3.3 Визначення вірусологічної ефективності лікування лікарським засобом інозин пранобекс пацієнтів з РСС, ПТСР і коморбідною патологією РСС з ПТСР та з реактивацією інфекції ННВ6.

Для визначення вірусологічної ефективності проведеного лікування виконано порівняльний аналіз молекулярно-генетичних маркерів у хворих 1 дослідної групи з РСС і реактивацією ННВ6, які отримували інозин пранобекс до і після лікування.

Аналіз вірусологічної ефективності показав, що після лікування кількість ДНК ННВ6 у слині і слизовій вірогідно зменшились ($p=0,0001$, $p=0,0057$, відповідно), а в крові виявилась лише тенденція до зниження ($p=0,555$), таблиця 6. Відтак, кількість випадків наявності ДНК ННВ6 у біологічних середовищах через 12 тижнів після закінчення лікування інозин пранобексом зменшилася у 3,1 рази. Вірусологічна ефективність лікування пацієнтів з РСС на тлі реактивації вірусу ННВ6 препаратом інозин пранобексом склала 62,7 % (таблиця 3.3.6)

Таблиця 3.3.6

Аналіз вірусологічної ефективності терапії інозин пранобексом за даними молекулярно-генетичних досліджень у пацієнтів з РСС на тлі реактивації ННВ6, n=20

Середовище		РСС +ННВ6 до лікування n=20	РСС +ННВ6 після лікування n=20	P
Кров	Виявлено	2 (10,0%)	1 (5%)	0,555
Слина	Виявлено	20 (100,0%)	9 (45,0%)	0,0001
Слизова	Виявлено	18 (90,0%)	3 (15,0%)	0,0057

Так як виразно зменшилися клінічні прояви РСС і покращилися загальноклінічні лабораторні показники, на нашу думку, можна вважати, що 11 (55,0 %) пацієнтів перейшли в латентну фазу хронічної ННВ6-інфекції.

Аналіз вірусологічної ефективності лікування інозин пранобексом пацієнтів з ПТСР продемонстрував, що після лікування кількість ДНК ННВ6

вірогідно зменшилась у слині і слизовій ($p=0,0004$, $p<0,0001$ відповідно), а в крові вірусу взагалі не ідентифіковано, таблиця 3.3.7.

Таблиця 3.3.7

Аналіз вірусологічної ефективності терапії інозин пранобексом за даними молекулярно-генетичних досліджень у пацієнтів з ПТСП на тлі реактивації ННВ6, n=20

Середовище		ПТСП +ННВ6 до лікування n=20	ПТСП +ННВ6 після лікування n=20	P
Кров	виявлено	1 (5,0%)	0 (0,0%)	0,489
Слина	виявлено	19 (95,0%)	8 (40,0%)	0,0004
Слизова	виявлено	19 (95,0%)	3 (15,0%)	<0,0001

На основі наших даних, кількість випадків наявності ДНК ННВ6 у біологічних середовищах через 12 тижнів після закінчення лікування інозин пранобексом зменшилася у 3,2 рази.

Вірусологічна ефективність лікування пацієнтів з ПТСП на тлі реплікативної активності ННВ6 препаратом інозин пранобексом склала 80,7%. На тлі вираженого зменшення клінічних проявів ПТСП і покращення загальних лабораторних показників можна вважати, що 12 (40,0 %) пацієнтів перейшли в латентну фазу хронічної ННВ6-інфекції.

В аналогічний спосіб проведений аналіз вірусологічної ефективності лікування інозин пранобексом пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСП. Результати показують, що після лікування кількість ДНК ННВ6 вірогідно зменшилась у слині ($p=0,0012$), слизовій задньої стінки глотки ($p=0,0057$), а в крові виявлена лише тенденція до зниження ($p=0,634$) (таблиця 3.3.8).

Аналіз вірусологічної ефективності терапії інозин пранобексом за даними молекулярно-генетичних досліджень у пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації ННV6, n=20

Середовище		РСС з ПТСР +ННV6 до лікування	РСС з ПТСР +ННV6 після лікування	Р
Кров	виявлено	3 (15%)	2 (10%)	0,634
Слина	виявлено	19 (95%)	9 (45%)	0,0012
Слизова	виявлено	18 (90%)	9 (45%)	0,0057

Отже, кількість випадків наявності ДНК ННV6 у біологічних середовищах через 12 тижнів після закінчення лікування інозин пранобексом зменшилася у 2,7 рази.

Вірусологічна ефективність лікування пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації ННV6 препаратом інозин пранобексом склала 45,3 %. На тлі зменшення клінічних проявів поєднаної патології РСС з ПТСР і покращення загальних лабораторних показників можна вважати, що 12 (60,0 %) пацієнтів перейшли в латентну фазу хронічної ННV6-інфекції.

Загальна вірусологічна ефективність лікування інозин пранобексом впродовж 12 тижнів склала – 62,9 %. Порівнявши вірусологічну ефективність у групах дослідження видно, що в групі пацієнтів з ПТСР вона була найбільшою – 80,7 %, а в дослідній групі пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР вона була найменшою – 45,3 %, що було в 1,8 рази вище порівняно з групою пацієнтів тільки з ПТСР (рисунок 3.3.5).

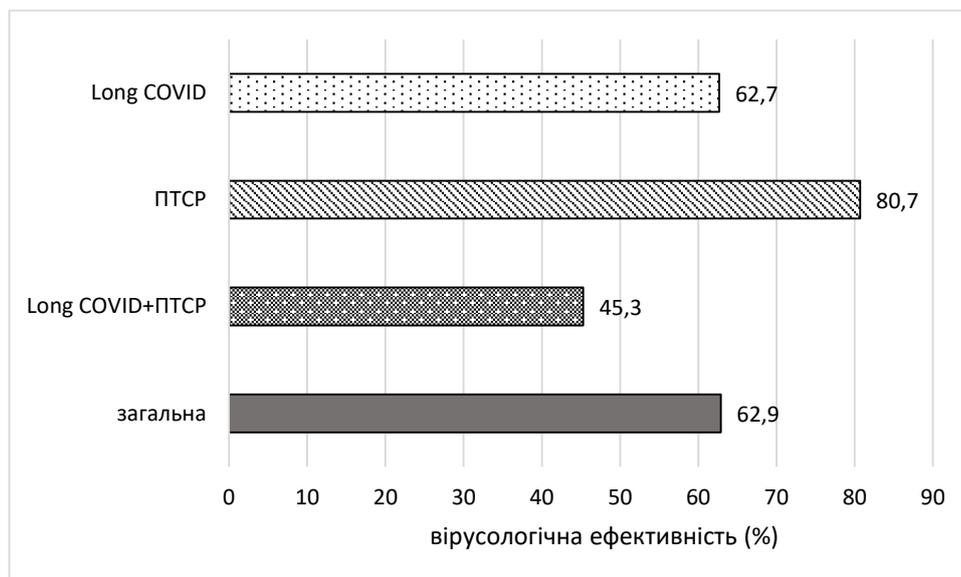


Рис. 3.3.5 Загальна вірусологічна ефективність у відсотках лікування інозин пранобексом упродовж 12 тижнів

Таким чином, найважливішим чинником успішного лікування є ефективність ліків. Це показник, що характеризує суму позитивних ефектів прояву бажаної лікувальної дії певного лікарського препарату. На ефективність ліків суттєво впливають також пов'язані між собою фізіологічні та біохімічні перемінні чинники (вік, стать, маса тіла, імунний статус, генетичні особливості пацієнта; наявність супутніх захворювань, особливо печінки та нирок, характерність перебігу основного захворювання тощо). Нами отримані такі показники ефективності лікарського засобу інозин пранобекс – у пацієнтів з РСС – 60,1 %; у пацієнтів з ПТСР – 68,7 %; у пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСР – 52,4 %. Отже, ефективність інозин пранобексу є найвищою у пацієнтів з ПТСР.

Показано, що вірусологічна ефективність препарату проявляється у зниженні вірусного навантаження до мінімального рівня (менше 50 копій/мл) та утриманні цього рівня якнайдовше для запобігання прогресування хвороби та розвитку резистентності вірусу до препаратів. Нами отримані такі показники вірусологічної ефективності лікарського засобу інозин пранобекс – у пацієнтів з РСС – 62,7 %; у пацієнтів з ПТСР – 80,7 %; у пацієнтів з коморбідною

патологією РСС з ПТСР – 45,3 %. Отже, вірусологічна активність інозин пранобексу є найвищою у пацієнтів з ПТСР.

Результати досліджень, що представлені в цьому підрозділі, висвітлено в наукових публікаціях авторки [8, 11, 213].

1. Zubchenko S, Nadishko O, Kril I, Havrylyuk A, Bakun O-N, Chopyak V. Study of the effectiveness of immunotropic therapy of long COVID patients with type 6 of human herpes virus reactivation. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2024;73(1):240-253. DOI: 10.25040/ntsh2024.01.17

2.Зубченко СО, Надішко ОМ. Оцінка ефективності препарату Новірин Форте в пацієнтів із тривалим COVID за реактивації вірусу герпесу 6 типу. Здоров'я України 21 сторіччя. 2024;(6):11. DOI: <https://surli.cc/xvolwy>

3.Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). Rheumatol Int. 2024 Dec;44(12):2873-2883. doi: 10.1007/s00296-024-05677-3.

3.4 Зміни загальноклінічних та імунологічних показників пацієнтів з РСС, ПТСП і коморбідною патологією РСС з ПТСП з реактивацією ННВ6 після лікування препаратом інозин пранобекс

3.4.1 Порівняння змін біохімічних показників пацієнтів з РСС, ПТСП і коморбідною патологією РСС з ПТСП з реактивацією ННВ6 після лікування препаратом інозин пранобекс

Безпеку та переносимість препарату інозин пранобекс вивчали на підставі порівняльного аналізу змін біохімічних показників: АЛТ, АСТ, креатиніну та СРБ, а також суб'єктивної оцінки стану пацієнтів з РСС, ПТСП та поєднаною патологією РСС з ПТСП з реактивацією ННВ6 після лікування (таблиці 3.4.1, 3.4.2, 3.4.3).

Таблиця 3.4.1

Порівняльний аналіз показників біохімічного аналізу крові до та після лікування пацієнтів з РСС на тлі реактивації ННВ6, n=20

Біохімічні показники	Пацієнти з РСС +ННВ6		Контрольна група n=20	P		
	до лікування n=20	після лікування n=20		1-3	2-3	1-2
Групи	1	2	3			
АЛТ, МО/л	21,67±10,19	24,87±11,26	20,1±9,25	0,613	0,151	0,352
АСТ, МО/л	18,99±8,74	21,07±9,01	18,5±8,64	0,859	0,363	0,463
Креатинін, мкмоль/л	68,46±17,56	72,39±15,87	72,0±16,67	0,517	0,940	0,462
СРБ, мг/л	9,51±4,13	6,43±2,10	5,51±2,01	0,0001	0,936	0,0001

Згідно отриманих нами даних, після лікування у хворих з РСС (таблиця 3.4.1), ПТСП (таблиця 3.4.2) і в пацієнтів з поєднаною патологією (таблиця 3.4.3) майже усі показники біохімічного аналізу крові, вірогідно не змінилися порівняно з даними до лікування і знаходилися у межах нормальних величин здорових осіб контрольної групи.

Порівняльний аналіз показників біохімічного аналізу крові до та після лікування пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації ННV6, n=20

Біохімічні показники	Пацієнти з ПТСР +ННV6		Контрольна група n=20	P		
	до лікування n=20	після лікування n=20		1-3	2-3	1-2
Групи	1	2	3			
АЛТ, МО/л	23,05±8,82	26,78±8,12	20,1±9,25	0,308	0,020	0,172
АСТ, МО/л	20,33±7,65	23,17±6,85	18,5±8,64	0,483	0,066	0,224
Креатинін, мкмоль/л	77,55±18,03	84,00±19,07	72,0±16,67	0,318	0,041	0,239
СРБ, мг/л	7,23±3,31	6,21±1,25	5,51±2,01	0,834	0,739	0,887

Порівняльний аналіз показників біохімічного аналізу крові до та після лікування пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації ННV6, n=20

Показники	Пацієнти з РСС з ПТСР +ННV6		Контрольна група n=20	P		
	до лікування n=20	після лікування n=20		1-3	2-3	1-2
Групи	1	2	3			
АЛТ, МО/л	19,72±8,35	37,54±16,69	20,1±9,25	0,868	0,0002	0,0001
АСТ, МО/л	20,42±8,67	29,83±14,55	18,5±8,64	0,387	0,005	0,018
Креатинін, мкмоль/л	73,37±14,59	76,19±14,28	72,0±16,67	0,783	0,398	0,540
СРБ, мг/л	9,63±2,13	6,00±2,10	5,51±2,01	0,001	0,930	0,0001

Зокрема, показники АЛТ хоча й були вірогідно вищі за дані контрольної групи і рівні до лікування у крові пацієнтів з ПТСР на тлі активної фази хронічної ННV6-інфекції, але не більше за верхню межу загальноприйнятої норми. Це можна пояснити тяжкістю перебігу у цих пацієнтів постстресових системних уражень. Окрім цього у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації ННV6 після лікування рівень креатиніну незначно підвищився порівняно зі здоровими особами контрольної групи (p=0,041). Рівні СРБ вірогідно знизилися (p<0,0001) після лікування до рівнів здорових індивідуумів.

Узагалі лікування інозин пранобексом продемонструвало безпеку тривалого вживання препарату. Проведений аналіз переносимості досліджуваного препарату інозин пранобексу у добовій дозі 50 мг/кг/добу при лікуванні пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6. За оцінкою пацієнтів переносимість препарату відзначили як «добру» – 48 (80,0 %), «задовільну» - 12 (20,0%) осіб. Незадовільної переносимості визначено не було. У 12 хворих, які оцінили переносимість препарату на «задовільно» спостерігалися наступні побічні явища легкого ступеня, які не вимагали відміни препарату і проходили самостійно без призначення додаткового лікування: біль голови – 2 (3,3 %) пацієнт, біль у черевній порожнині - 4 (6,7 %), нудота - 4 (6,7 %), печія в епігастральній ділянці – одна (1,7 %), здуття живота – одна (1,7 %) особи. Загалом число побічних явищ становило 1,67 %. Таким чином, тривале лікування пацієнтів з усіх трьох груп дослідження препаратом інозин пранобекс продемонструвало безпечність і хорошу переносимість.

3.4.2 Порівняння змін експресії основних цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4, CD8 та НК клітинах пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС з ПТСР з реактивацією HHV6 після лікування противірусним препаратом інозин пранобекс

Було проведено порівняння змін експресії основних цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4⁺, CD8⁺ та на НК клітинах пацієнтів з РСС, ПТСР та поєднаною патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації HHV6 після лікування противірусним препаратом інозин пранобекс. Вплив лікарського засобу інозин пранобекс на зміни цитотоксичних властивостей НК клітин і Т лімфоцитів цитотоксичних CD8 визначали, провівши порівняння експресії основних маркерів цитотоксичності на лімфоцитах пацієнтів досліджуваних груп до та після лікування (ДОДАТОК 2; таблиця 7).

На основі проведених досліджень було визначено, що у пацієнтів з РСС на НК клітинах експресія рецептора Fas CD56⁺95⁺ на тлі реактивації HHV6 була вірогідно нижчою (2,51±1,45, p=0,0111), ніж у здорових осіб. А після 3-х

місячного курсу лікування препаратом Новірин Форте (інозин пранобекс, 1000 мг) спостерігалася тенденція до посилення експресії цього рецептора ($3,69 \pm 2,32$) без достовірної різниці з контрольною групою ($3,88 \pm 1,62$), тобто стимуляції з'єднання з імунними клітинами, які експресують FasL. У пацієнтів з РСС на НК клітинах експресія ліганда FasL CD56⁺178⁺ на тлі реактивації ННВ6 до лікування його рівень на НК клітинах був достовірно нижчим порівняно з контрольною групою ($1,03 \pm 0,72$, $p < 0,0001$), а після лікування виявлено достовірне підвищення даного показника у порівнянні з таким до лікування ($1,90 \pm 0,62$, $p = 0,0002$) і майже досягла рівня здорових осіб ($1,97 \pm 0,95$). Посилення експресії FasL на НК клітинах пацієнтів з РСС вказує на активацію апоптозу вірусінфікованих клітин під впливом лікування (таблиця 3.4.4; ДОДАТОК 2; таблиця 7).

Таблиця 3.4.4

Експресія цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4, CD8⁺ та НК клітинах у пацієнтів з РСС з реактивацією ННВ6 до лікування

Назва імунологічного параметру	РСС (+ННВ6) n=20	Контроль n=20	p
CD56 ⁺ CD95 ⁺ (Fas) на НК клітинах	$2,51 \pm 1,45$	$4,21 \pm 2,45$	Нижче статистично достовірно p = 0,0111
CD56 ⁺ CD178 ⁺ (FasL) на НК клітинах	$1,03 \pm 0,72$	$5,67 \pm 2,13$	Нижче статистично достовірно p < 0,0001
CD8 ⁺ CD279 ⁺ (PD-1) на CD8 клітинах	$2,91 \pm 1,66$	$5,76 \pm 2,65$	Нижче статистично достовірно p=0,0002
CD8 ⁺ CD274 ⁺ (PD-1L) на CD8 клітинах	$3,76 \pm 1,15$	$5,82 \pm 2,25$	Нижче статистично достовірно p=0,0008
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻ (Treg)	$4,28 \pm 3,22$	$7,43 \pm 3,17$	Нижче статистично достовірно p=0,004

У пацієнтів з РСС на тлі реактивації ННВ6 на НК клітинах та Т цитотоксичних клітинах CD8 визначали експресію рецептора PD-1 (CD8⁺CD279⁺). Експресія була достовірно зниженою ($2,91 \pm 1,66$; $p = 0,0002$) у порівнянні з контрольною групою ($5,76 \pm 2,65$). Основна функція PD-1 – гальмування імунної відповіді проти клітин, уражених вірусом. Після лікування

препаратом інозин пранобекс експресія PD-1 зросла ($4,19 \pm 2,85$), але все ще залишалася нижчою від такого ж показника у контрольній групі ($p=0,079$). Отримані зміни можна оцінити позитивно, оскільки дана тенденція вказує на початок розгальмовування функцій найважливіших цитотоксичних клітин та відновлення їх здатності знищувати вірусінфіковані клітини (ДОДАТОК 2; таблиця 7).

Щодо експресії ліганду PD-1L CD8⁺CD274⁺ на Т клітинах CD8⁺, було виявлено достовірне зниження у порівнянні з контролем до лікування ($3,76 \pm 1,15$; $p=0,0008$), а після лікування - зниження ($4,79 \pm 2,65$), однак залишалася нижчою показника у контрольній групі ($p=0,162$). Оскільки на Т цитотоксичних клітинах CD8⁺ після терапії спостерігалася тенденція до посилення експресії PD-1L, можна припустити, що під дією лікування відновилися їх здатність до негативної регуляції імунної відповіді, тобто зниження активації імунних клітин і сприяння утворенню регуляторних Т- і В-лімфоцитів (ДОДАТОК 2; таблиця 7).

Експресія регуляторного маркеру на активованих Т лімфоцитах CD4⁺CD25⁺CD127⁻ була нижчою ($4,28 \pm 3,22$, $p=0,004$), ніж у здорових осіб, і після 3-х місячного курсу лікування інозин пранобексом її рівень став ще нижчим, однак недостовірно у порівнянні з контрольною групою та показниками до лікування. Отримані зміни у експресії регуляторного маркеру на Т клітинах свідчать про поступове відновлення регуляції імунної відповіді для запобігання формування тяжких поствірусних ускладнень (ДОДАТОК 2; таблиця 7).

Таким чином, у результаті 3-х місячного курсу лікування інозин пранобексом пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 виявлено посилення експресії Fas (CD56⁺95⁺) і FasL (CD56⁺178⁺) на цитотоксичних клітинах, нормалізацію роботи ключових імунних точок PD-1/PD-1L, що покращило регуляцію імунної відповіді та зменшило ймовірність формування імунопатологічних синдромів (насамперед автоімунного) як постковідних ускладнень.

Дослідження аналогічних показників у пацієнтів з ПТРС на тлі реактивації HHV6 показало, що експресія рецептора Fas (CD56⁺CD95⁺) на НК клітинах була

вірогідно нижчою ($2,08 \pm 1,11$; $p=0,0011$) рівня експресії у контрольній групі ($3,88 \pm 1,62$), а після лікування підвищилась ($3,78 \pm 2,14$; $p=0,003$) майже до рівня контрольної групи. Подібна зміна виявлена щодо експресії ліганду FasL CD56⁺CD178⁺. Його експресія на NK клітинах у пацієнтів з ПТСП до лікування була достовірно нижчою ($1,05 \pm 0,66$; $p < 0,0001$) за контрольну групу ($1,97 \pm 0,95$) і достовірно підвищилася після 3-х місячного курсу терапії ($1,88 \pm 0,65$; $p=0,0003$). Таким чином, було виявлено посилення здатності NK клітин розпізнавати та доводити до апоптозу вірусінфіковані клітини, адже FasL є однією з молекул, які накопичуються у літичних зернах і при активації цитотоксичних клітин виконують важливу роль у першом етапі програмованої смерті вірусінфікованих клітин (таблиця 3.4.5; ДОДАТОК 2; таблиця 7).

Таблиця 3.4.5

Експресія цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4, CD8⁺ та NK клітинах у пацієнтів з ПТСП з реактивацією HHV6 до лікування

Назва імунологічного параметру	ПТСП (+HHV6) n=20	Контроль n=20	p
CD56 ⁺ CD95 ⁺ (Fas) на NK клітинах	2,08±1,11	4,21 ±2,45	Нижче статистично достовірно p = 0,0011
CD56 ⁺ CD178 ⁺ (FasL) на NK клітинах	1,05±0,66	5,67 ±2,13	Нижче статистично достовірно p<0,0001
CD8 ⁺ CD279 ⁺ (PD-1) на CD8 клітинах	3,44±1,68	5,76±2,65	Нижче статистично достовірно p=0,002
CD8 ⁺ CD274 ⁺ (PD-1L) на CD8 клітинах	4,18±2,32	5,82±2,25	Нижче статистично достовірно 0,029
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻ (Treg)	6,08±4,65	7,43±3,17	Нижче статистично недостовірно p=0,2901

Експресія рецептора PD-1(CD8⁺CD279⁺) на Т лімфоцитах до лікування була достовірно нижчою ($3,44 \pm 1,68$, $p=0,002$) порівняно з контролем ($5,76 \pm 2,65$). Після лікування рівень PD-1 достовірно підвищився ($5,64 \pm 3,58$; $p=0,017$) і був на рівні показника у контрольній групі. Експресія ліганду PD-1L(CD8⁺CD274⁺) на

Т лімфоцитах в осіб з ПТСР на тлі реактивації HHV6 до лікування була теж достовірно ($4,18 \pm 2,32$; $p=0,029$) нижчою, ніж у контрольній групі ($5,82 \pm 2,25$). Після проведеної терапії експресія ліганду підвищилася ($5,57 \pm 3,25$) порівняно з рівнем до лікування і була подібною до контрольної групи. Експресія регуляторного маркера на активованих Т лімфоцитах CD4⁺ CD25⁺CD127⁻ (тобто Treg) у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 була недостовірно нижчою до лікування ($6,08 \pm 4,65$; $p=0,2901$) порівняно зі здоровими особами ($7,43 \pm 3,17$), а після 3-х місячного курсу терапії рівень експресії збільшився ($6,28 \pm 3,24$; $p=0,029$) (ДОДАТОК 2; таблиця 7).

Таким чином, у результаті 3-х місячного курсу лікування інозин пранобексом пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 виявлено посилення цитотоксичності НК клітин та Т лімфоцитів цитотоксичних CD8⁺, яка ґрунтується на взаємодії рецептор-ліганд Fas/FasL. Ліганди FasL присутні на мембранах ефektorних клітин, тобто Т лімфоцитів-цитотоксичних взаємодіють з рецепторами Fas на клітинах-мішенях (вірусінфіковані клітини), внаслідок чого активується система каспаз та апоптоз. За посередництвом FasL більшою мірою цитотоксично діють НК клітини, CTL та CD4⁺. Протягом першого етапу, через 15-30 хвилин після розпізнавання клітини-мішені, FasL стимулює виділення цитотоксичних речовин (перфорину, гранзимів) з літичних зерен. Другий етап супроводжується синтезом FasL *de novo*. Другий етап має значення у патогенезі інфекційних хвороб з наступним знищенням не тільки інфіковані клітини, але і неінфіковані, які експресують на своїй поверхні FasL. На активованих Т лімфоцитах може з'явитися рецептор Fas, тоді ці клітини стають вразливі до дії FasL і гинуть від апоптозу. Внаслідок цього виснажується імунна відповідь, відбувається смерть клітин, індукована активацією – AICD. При більшості вірусних інфекцій AICD проходить після елімінації вірусу як наслідок масивного апоптозу активованих, специфічних до вірусних антигенів Т лімфоцитів. Апоптоз активованих лімфоцитів є сигналом, що: 1) відбувся перехід з природженої імунної відповіді до набутої; 2) розбалансована регуляція імунної відповіді; 3) посилився ризик розвитку імунопатологічних синдромів.

Згідно поставлених завдань було проведено порівняльний аналіз експресії апоптичних і регуляторних маркерів до та після лікування лікарським засобом інорзин пранобекс у пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСР з реактивацією ННВ6 (таблиця 3.4.6; ДОДАТОК 2; таблиця 8).

Таблиця 3.4.6

Експресія цитотоксичних маркерів на Т лімфоцитах CD4, CD8 та NK клітинах у пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСР з реактивацією ННВ6 до лікування

Назва імунологічного параметру	РСС + ПТСР (+ННВ6) n=20	Контроль n=20	p
CD56 ⁺ CD95 ⁺ (Fas)	1,32±0,82	4,21 ±2,45	Нижче статистично достовірно p=0,0001
CD56 ⁺ CD178 ⁺ (FasL)	1,05±0,65	5,67 ±2,13	Нижче статистично достовірно p=0,001
CD8 ⁺ CD279 ⁺ (PD-1)	2,44±1,14	5,76±2,65	Нижче статистично достовірно p=0,003
CD8 ⁺ CD274 ⁺ (PD-1L)	3,11±1,96	5,82±2,25	Нижче статистично достовірно p=0,003
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻ (Treg)	5,85±3,10	7,43±3,17	Нижче статистично недостовірно p=0,119

Отримані наступні результати: у пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСР на NK-клітинах експресія рецептора Fas (CD56⁺CD95⁺) була достовірно нижчою від такого ж показника у контрольній групі (1,32±0,82; p=0,0001). Після 3-х місячного лікування спостерігалось достовірне підвищення експресії Fas (p=0,011), порівняно з пацієнтами до лікування. Однак, рівень все ще залишався нижчим у порівнянні з контрольною групою (p=0,001). Експресія ліганду FasL (CD56⁺CD178⁺) до лікування була також достовірно нижчою порівняно з контролем (1,05±0,65; p=0,001). Після лікування експресія ліганду посилилася (p=0,491), проте все ще була вірогідно нижчою показника у контрольній групі (p=0,013) (ДОДАТОК_таблиця 8). Отже, після лікування NK-клітини краще розпізнають вірусінфіковані клітини і тому доводять їх до апоптозу, адже FasL відіграє важливу роль у реалізації першого етапу запуску програмованої смерті вірусінфікованих клітин. Хоча у пацієнтів з комбінованою патологією після

лікування спостерігалась менша ефективність впливу на дану функцію у порівнянні з монопатологією РСС чи ПТСР.

Щодо експресії рецептора PD-1 ($CD8^+CD279^+$) на Т лімфоцитах цитотоксичних до лікування, відмічалось достовірне зниження у порівнянні з контролем ($2,44 \pm 1,14$; $p=0,0001$). Після лікування даний показник достовірно підвищився порівняно з рівнем до лікування ($4,51 \pm 2,66$, $p=0,003$), проте залишався нижчим щодо контрольної групи. Експресія ліганду PD-1L ($CD8^+CD274^+$) на Т лімфоцитах до лікування, також, була зниженою щодо контрольної групи ($3,11 \pm 1,96$; $p=0,003$). Щодо змін даних показників, після проведеного курсу терапії відмічалась лише тенденція до збільшення ($4,12 \pm 2,9$; $p=0,206$) (ДОДАТОК_таблиця 8). Отже, після лікування, завдяки посиленню роботи контрольних точок імунної системи з гальмівною функцією PD-1, пригнічуються ефекторні функції циркулюючих та тканинних Т лімфоцитів, що може призвести до виснаження їх функцій і загибелі. Експресія PD-1L на Т лімфоцитах цитотоксичних $CD8^+$ пацієнтів з комбінованою патологією, також, підвищилась, однак меншою мірою, ніж у попередніх групах пацієнтів з монопатологією.

Експресія регуляторного маркера на Treg ($CD4^+CD25^+CD127^-$) до лікування у пацієнтів з комбінованою патологією РСС + ПТСР на тлі реактивації HHV6 була нижчою, але достовірно не відрізнялась ($5,85 \pm 3,10$; $p=0,119$) від контролю ($7,43 \pm 3,17$) (рис. 3.4.1, рис. 3.4.2). Після проведеного курсу терапії рівень експресії $CD4^+CD25^+CD127^-$ Т лімфоцитах мав лише тенденцію до підвищення ($6,46 \pm 3,65$; $p=0,572$), що продемонструвало корекцію дисрегуляції імунної відповіді проведеною терапією (ДОДАТОК_таблиця 8). Важливо зазначити, що Treg можуть впливати супресивно на інші лімфоцити, навіть доводити до апоптозу ефекторні лімфоцити Т і В, також, використовуючи перфорини, гранзими та FasL.

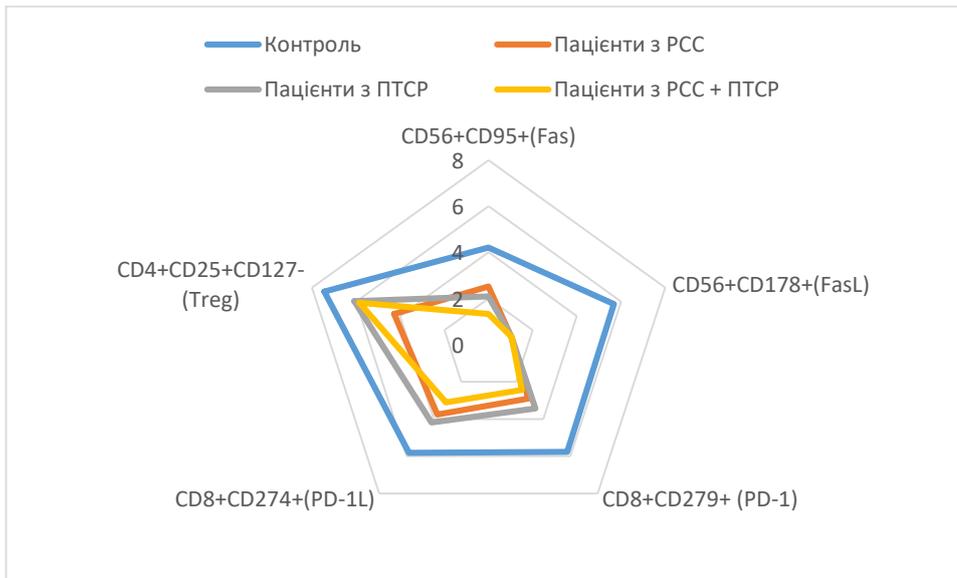


Рис. 3.4.1 Пелюсткова діаграма характерних змін експресії цитотоксичних маркерів у пацієнтів з РСС, ПТСП та змішаною патологією РСС+ПТСП з реактивацією ННВ6 до лікування порівняно з контрольною групою.

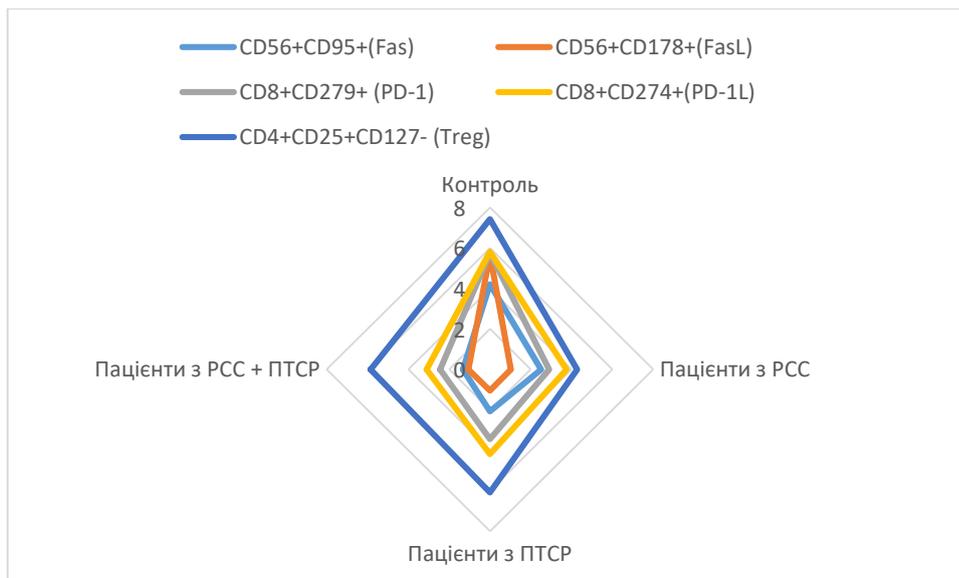


Рис. 3.4.2 Пелюсткова діаграма характерних для пацієнтів з РСС, ПТСП і змішаною патологією РСС+ПТСП з реактивацією ННВ6 змін експресії цитотоксичних маркерів до лікування порівняно з контрольною групою.

Отже, проведене лікування лікарським засобом інозин пранобекс у пацієнтів РСС, ПТСП і коморбідною патологією РСС з ПТСП на тлі реактивації ННВ6 призвело до покращення взаємодії рецептор-ліганд у системі Fas/FasL і пришвидшення старту першого етапу апоптозу, опосередкованого

цитолітичними речовинами у гранулах НК клітин і Т лімфоцитів цитотоксичних CD8⁺ (ДОДАТОК 2; таблиця 8). Достовірне підвищення експресії регуляторного маркера на Т лімфоцитах CD4⁺CD25⁺CD127⁻, також, свідчить про нормалізацію хелперно-супресорної регуляції імунної відповіді. Виявлені зміни можуть позитивно впливати на функціонування противірусних імунологічних механізмів у пацієнтів з відповідною патологією за умов реактивації HHV6. Покращення регуляції імунної відповіді асоціюється з підвищенням клінічної ефективності лікування – 60,4 % і здійсненням противірусної дії інозин пранобексом – 62,9 %. Група пацієнтів з коморбідною патологією порівняно з пацієнтами з монопатологією потребує більш тривалого етіотропного (противірусного) та патогенетичного (імунорегуляторного) лікування.

У пацієнтів з РСС, ПТСП та коморбідною патологією РСС з ПТСП доведено виснаження функцій НК клітин і CD8⁺ клітин. Дані висновки зроблені згідно аналізу експресії відповідних рецепторів на НК клітинах і CD8⁺, які характеризують різні функції клітини: від активації і проліферації – до супресії і апоптозу. У здорових людей неактивовані CD8⁺ експресують рецептор PD-1 (CD8⁺CD279⁺) і ліганд PD-1 - CD8⁺CD274⁺ (PD-1L), а НК клітини – рецептор Fas (CD56⁺/95⁺Fas) і CD178 (FasL). Їх взаємодія контролює здатність цитотоксичних клітин активуватися і здійснювати цитотоксичні функції. Отже, лікувальна противірусна та імуномодуюча дія інозину пранобексу найкраще реалізується у пацієнтів окремих груп з монопатологією РСС, ПТСП.

У пацієнтів з поєднаною патологією РСС + ПТСП отримані результати після лікування є недостовірними, таким чином, для досягнення бажаної ефективності лікування є потреба у призначати таргетного противірусного препарату. Вивчення впливу лікарського засобу інозин пранобекс на відновлення функціональної активності НК-клітин та різних субпопуляцій Т лімфоцитів пацієнтів з РСС, ПТСП та коморбідною патологією РСС з ПТСП з реактивацією HHV6 проводилось у добовій дозі 100 мг/кг/добу

У пацієнтів з монопатологією РСС та ПТСП противірусна дія інозину пранобексу реалізовувалась трьома механізмами: 1) посилення впливу на

систему Fas/FasL і запуск апоптозу вірусінфікованих клітин; 2) розблокування інгібіторних молекул PD-1 та PD-1L, що відновлює нормальну противірусну функцію інших субпопуляцій Т лімфоцитів; 3) відновлення нормальної диференціації Т лімфоцитів регуляторних, які: а) регулюють імунну відповідь; б) забезпечують периферичну імунологічну толерантність і не допускають розвиток аутоімунітету.

Висновки до розділу 3:

1. У пацієнтів після COVID-19 і стресу в анамнезі встановлені клінічні характеристики, що відповідали ПТСР і постковідному синдрому (РСС) і супроводжувались достовірними змінами лабораторних показників: лімфопенія – у 18,9 % осіб, лімфоцитоз – у 32,9 %, моноцитоз – у 39,2 %, нейтропенія – 22,8 %, а в 34,1 % пацієнтів – підвищення кількості нейтрофілів, підвищення рівнів СРП - у 23,4 %, ШОЕ - у 24,1 %, печінкових ферментів у 11,4 %. Виявлені клінічні та лабораторні дані свідчили про дисрегуляцію імунної відповіді та вказували на високий ризик формування імунопатології, що посилювався на тлі реактивації HHV-6.

2. У пацієнтів з постковідним синдромом після тяжкого перебігу COVID-19 в анамнезі на тлі реактивації HHV-6 виявлено: зниження кількості CD3⁺ Т клітин (p=0,009), NK клітин (p=0,013), CD8⁺ Т клітин (p=0,008), CD4⁺ Т клітин (p=0,045) і CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg клітин на тлі підвищення кількості В лімфоцитів CD19⁺ (p=0,0002) порівняно з відповідними пацієнтами без HHV-6, що сигналізує про формування дефіциту за клітинним типом з порушенням регуляторного контролю імунної відповіді.

3. У пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV-6 виявлене достовірне зниження кількості CD3⁺ Т клітин (p<0,05), тенденцію до зниження CD8⁺ Т клітин, CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg клітин, CD4⁺ Т клітин при одночасному підвищенні кількості В лімфоцитів CD19⁺ і NK клітин (p<0,05). Виявлені зміни вказували, що реактивація HHV-6 розбалансовує хелперно-супресорний тип регуляції і посилює ризик автоагресії за гуморальним і цитотоксичним механізмами.

Результати досліджень, що представлені в цьому підрозділі, висвітлено в наукових публікаціях авторки [8, 11, 90, 212]:

1. Zubchenko S, Nadizhko O, Kril I, Havrylyuk A, Bakun O-N, Chopyak V. Study of the effectiveness of immunotropic therapy of long COVID patients with type 6 of human herpes virus reactivation. *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки*. 2024;73(1):240-253. DOI: 10.25040/ntsh2024.01.17

2.Зубченко СО, Надіжко ОМ. Оцінка ефективності препарату Новірин Форте в пацієнтів із тривалим COVID за реактивації вірусу герпесу 6 типу. *Здоров'я України 21 сторіччя*. 2024;(6):11. DOI: <https://surli.cc/xvolwy>

3.Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O, Chopyak V. Changes of expression of regulatory and inhibitory receptors on CD8 T cells in long-COVID-19 patients. In: Abstracts from the 7th Congress for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p.63. <https://surl.lu/fpjiau>

4.Zubchenko S, Havryliuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Immune system distant effects in patients with long-COVID on the background of reactivation HHV-6 infection. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2025;(1):31-42. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-03

Розділ 4.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Впродовж багатьох років науковці вивчали природу імунopatологічних змін у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР. У пацієнтів після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 дуже часто формується РСС, який супроводжується розвитком імунopatологічних синдромів, але фактори ризику даного процесу досліджені порівняно мало. Відносно небагато проведено досліджень щодо зв'язку ПТСР зі змінами імунної відповіді. У зв'язку з цим, було ініційоване дослідження пацієнтів з РСС, ПТСР та коморбідною патологією РСС+ПТСР і на основі отриманих результатів запропонували методи медикаментозної корекції дисрегуляції імунної відповіді, особливо на тлі реактивації HHV6.

У пацієнтів з РСС в основі патологічних змін лежить дисфункція імунної відповіді. Ключовими етапами формування груп пацієнтів з високим ризиком розвитку РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 є: 1) вибір лабораторних показників, чия динаміка змін відображає той чи інший імунopatологічний механізм; 2) їх ідентифікація та правильна інтерпретація.

Згідно даних Schniederova M. і співавторів (2025), кількість лімфоцитів різних популяцій та субпопуляцій Т лімфоцитів може служити потенційним біомаркером для раннього виявлення ризику важкого перебігу COVID-19, якому властиві ускладнення і пошкодження органів і перехід у РСС [171]. Catanzaro M. та співавтори (2020) і Malešević S. і співавтори (2023) підтвердили, що є відносно мало досліджень щодо того, за якими механізмами формується РСС після легкого і середнього перебігу COVID-19 [61, 127]. Renner K. та співавтори (2025) виділили основні не імунологічні фактори ризику розвитку РСС: жіноча стать, вік, супутні хвороби, тяжкість перебігу хвороби COVID-19 та надвага [161]. Veselga A. та співавтори (2014) і Schwarz Ch.M. та співавтори (2018) показали, що віруси герпетичної групи приєднуються у першу чергу, якщо у пацієнта є імунodefіцит. Після первинної інфекції, вірус HHV6 залишається у латентному стані та може бути реактивований за умови супресії імунної відповіді [47, 172].

Свого часу Verma I.M. та співавтори (2004) припустили, а Noviello M. та співавтори (2023) підтвердили, що вірус HHV6 реплікував переважно у CD4⁺ Т клітинах та спричиняв супресію імунної відповіді, інгібуючи проліферацію Т лімфоцитів та індукуючи їх апоптоз [144, 190]. Veserra A. та співавтори (2014) і Noviello M. і співавтори (2023) довели, що у пацієнтів реактивація HHV-6 після COVID-19 змінювала залежну від антигенів МНС класу I презентацію вірусних антигенів антигенпрезентуючими клітинами, що сповільнювало запуск Т-клітинної ланки набутого імунітету і блокувало сигнальний шлях NF-κB [47, 144]. Catanzaro M. та співавтори (2020) показали, що блокування цього сигнального шляху призводило до супресії противірусних механізмів природженого і набутого імунітету [61].

Liu L. та співавтори (2020), Poonia Bh. та Kottilil S. (2020), Iannetta M. та співавтори (2021), Lontos A. та співавтори (2023) і Noviello M. та співавтори (2023) досліджили, що кількість Т клітин CD3⁺, CD4⁺ та CD8⁺ достовірно знижена у пацієнтів з РСС після важкого та середнього перебігу COVID-19 порівняно зі здоровими особами [96, 118, 120, 144, 153]. Результати досліджень показали, що відсоткова кількість популяції CD3⁺ Т клітин була достовірно нижчою у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 як за відсутності (p=0,014), так і після реактивації вірусної інфекції HHV6, причому при реактивації вірусу дещо нижчою, ніж без нього (p=0,009), що узгоджується з даними інших дослідників.

Результати досліджень показали, що відсоткова кількість В лімфоцитів CD19⁺ у пацієнтів з легким, середнім і тяжким перебігом COVID-19 була достовірно вищою показника у контрольній групі (p=0,026; p=0,001; p=0,0002 відповідно), також їх кількість була вищою у пацієнтів з реактивацією вірусу, ніж у пацієнтів без неї (p=0,004; p=0,002; p=0,0001). Було виявлено підвищення кількості В лімфоцитів у пацієнтів з РСС, особливо після важкого перебігу COVID-19 без/з активацією HHV6.

Низкою авторів було проведено кілька досліджень кількості В лімфоцитів. Deiss TC. і співавтори (2019) виявили, що основні зміни у В-клітинній ланці

імунітету відбуваються після першої зустрічі з вірусом SARS-COV-2 - у таких пацієнтів посилюється відповідь антитілами [130]. Chowdhury M.A. та співавтори (2020) висловили припущення, що синтезовані плазматичними клітинами постковідних пацієнтів антитіла нездатні виконувати свою функцію нейтралізації вірусів [65]. Poonia Bh. і Kottilil S. (2020) визначили, що у пацієнтів, які перехворіли тяжкою формою COVID-19, відбувається олігоклональна експансія В лімфоцитів з подальшою продукцією антитіл, які мають змінену структуру послідовностей CDR3 [153]. Deiss TC. і співавтори (2019) і Zhang X. та співавтори (2020) пояснили, що структура і довжина ділянки антитіла CDR3 відповідає за розподіл на класи та визначає їх імуноглобулінпродукуючу здатність. Mark M. та співавтори (2023) виявили, що коротка CDR3 означає, що антитіло має низький афінитет і нездатне зв'язувати антиген, а довга CDR3 - підвищений афінитет, але обмежену здатність нейтралізувати різні вірусні епітопи [130]. Qin C. і співавтори (2020) та Mansourabadi AH. Та співавтори (2023) оприлюднили результати, що у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 кількість В лімфоцитів збільшувалася [128, 155]. Poonia Bh. та Kottilil S. (2020) показали, що функціональна здатність В лімфоцитів після тяжкого перебігу COVID-19 була низькою [153]. Sabbatino F. та співавтори (2021) вважають, що функціональну здатність В лімфоцитів найкраще оцінювати по концентрації і специфічності антитіл [169]. Отже, отримані дані узгоджуються з даними інших авторів і підтверджують збільшення кількості В клітин у пацієнтів з РСС, особливо після тяжкого перебігу COVID-19 без/з активацією HHV6. Імунна система таких хворих компенсаторно збільшує продукцію антитіл зі зниженими захисними властивостями.

Нами досліджено недостовірне зниження відсотка клітин субпопуляції Т лімфоцитів CD4⁺ (p=0,112) у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без реактивації HHV6. У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 порівняно з пацієнтами без HHV6 і контрольною групою зниження кількості Т лімфоцитів CD4⁺ було достовірним (p=0,045). Наші результати узгоджуються з даними інших авторів - Chowdhury M.A. та

співавторів (2020), Poonia Bh. і Kottilil S. (2020), Ashrafi F. і співавторів (2021) та Berentschot JC. і співавторів (2023) [42, 49, 65, 152]. Zhu J. та співавтори (2008) та Ashrafi F. та співавтори (2021) довели, що головну роль у клінічному прогресуванні COVID-19 відіграють саме CD4⁺ Т клітини [153, 211]. Schniederova M. та співавтори (2025) показали, що інфекція HHV6 поглиблює дефіцит CD4⁺ Т клітин у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 [171].

Отримано результати, які показують, що відсоткова кількість субпопуляції CD8⁺ у пацієнтів з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 без HHV6 достовірно не відрізнялися від контрольної групи (p=0,584; p=0,256). Однак, результат у пацієнтів з РСС після важкого COVID-19 був достовірно нижчим порівняно з контрольною групою (p=0,016). Також, отримано достовірне зниження кількості CD8⁺ Т клітин у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19. Результат був достовірно нижчим, а у пацієнтів з реактивацією HHV-6 – ще нижчим (p=0,005). У дослідженнях Jiang M. і співавторів (2019), Lian L. та співавторів (2020), Zheng HY. і співавторів (2020) і Lontos A. та співавторів (2023) також встановлено, що зниження кількості CD8⁺ Т клітин асоційоване з тяжкістю перебігу COVID-19 [99, 118, 120, 209]. Дані Poonia Bh. та співавтори (2020), Liu G. та співавтори (2021), Moderbacher CR. та співавтори (2020) і Rha MS. та співавтори (2021) підтвердили значний ступінь виснаження цитотоксичної функції CD8⁺ Т клітин у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 [119, 153, 162, 168]. При цьому Poonia Bh. та Kottilil S. (2020), Chen X. та співавтори (2020) і Lontos A. та співавтори (2023) підкреслили, що ступінь значущості CD8⁺Т клітин у патогенезі РСС ще потрібно встановити [63, 118, 153]. Хоча Berentschot JC. та співавтори (2023) виявили підвищену кількість CD8⁺ Т клітин у периферичній крові пацієнтів з РСС, але ці клітини перебували на пізній стадії диференціації з експресованими маркерами виснаження/старіння [49]. Згідно даних Rallo N. і співавторів (2018), CD8⁺ Т клітини пацієнтів з РСС проявляють гіперреактивність та експресують активаційний маркер CD25, сприяючи автоагресії здебільшого після важкого перебігу COVID-19 [159]. Наші результати здебільшого узгоджувалися з даними

досліджень інших авторів. Що стосується уточнення Nogimori T. і співавторів (2023), які показали, що функціональним завданням CD8⁺ Т лімфоцитів є індукція апоптозу клітин, інфікованих вірусами, за допомогою молекул FasL [143], ми припустили, що цей процес буде порушений більшою мірою в пацієнтів з реактивацією HHV6. Таким чином, дане питання стало напрямком наших наступних досліджень.

Було визначено, що відсоток клітин CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 був достовірно нижчим порівняно з контролем (p=0,045). Даний показник у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з HHV6 був достовірно нижчим порівняно з контрольною групою (p=0,008) та недостовірно нижчим – у пацієнтів з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 (p=0,227; p=0,158, відповідно). Відсоткова кількість CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg становила 5,74±1,82% у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 та 5,17±1,73% у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6, тобто цей показник не змінювався залежно від реактивації вірусу HHV6 (p=0,876). Дані Dhawan M. та співавторів (2023) свідчать, що, якщо кількість CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg знижується, то врівноваження надмірно активованої імунної відповіді в пацієнтів з тяжким перебігом COVID-19 не відбувається. У таких випадках Treg набувають «біфазних» властивостей - їх кількість та активність може як знижуватися, так і підвищуватись [74]. Rallo N. та співавтори (2018) і Verentschot J.C. та співавтори (2023) підтвердили процес старіння/виснаження Treg у всіх пацієнтів з РСС та ослаблення їх регуляторної функції залежно від тяжкості перебігу COVID-19 [49, 159]. Ще свого часу Wang F. та співавтори (2014) припустили, що зниження кількості Treg у пацієнтів з РСС порівняно зі здоровими особами не залежить від реактивації HHV6 [192]. На нашу думку, яка узгоджується з іншими авторами, у пацієнтів з РСС надмірно проявляється біфазність функцій Treg, що створює ґрунт для формування глибшої імунопатології за HHV6 незалежним механізмом. Наші дані це підтверджують.

Отримані результати демонструють достовірне зниження кількості НК клітин ($p=0,0001$) у групі пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6. Оскільки даних літератури щодо змін кількості НК клітин та їх функціональної здатності у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 є мало і вони суперечливі, дана проблематика стала наступним напрямком наших досліджень.

Дослідження посттравматичного стресового розладу полягало у визначенні його соціальних та клінічних характеристик та низки лабораторних досліджень. ПТСР був більшою мірою виявлений серед осіб жіночої статі молодого віку. З анамнезу стало відомо, що у 22,8 % пацієток і пацієнтів симптоматика з'явилась під час/після COVID-19 і утримується понад 6 місяців. Ми припустили наявність у цих пацієнтів постковідних порушень (або формування РСС), що асоціюються з ПТСР. Отримані нами результати досліджень, також, узгоджувалися з результатами Ivey-Stephenson AZ. та співавторів (2017), Zubchenko S. та співавторів (2022), Zubchenko S. та співавторів (2022) [7, 97, 217]. Нами виявлено клінічні прояви та зміни загальноклінічних та біохімічних показників крові у пацієнтів з діагностованим ПТСР, що додатково підтверджує зацікавленість імунної системи у його розвитку. Проведений нами ретроспективний аналіз амбулаторних карт даних пацієнтів свідчив про асоціативні зв'язки між клінічними, загальнолабораторними та імунними показниками: підвищення чи зниження кількості лімфоцитів, нейтрофілів, зростання кількості моноцитів, рівнів СРП, печінкових ферментів. Таких пацієнтів ми охарактеризували як імунокомпрометованих осіб, тим більше, що при ПТСР часто реактивуються мляві імунотропні інфекції. Loskutov OE. та співавтори (2016), Maltsev OV. (2017) і Chorna, VV. та співавтори (2023) підтвердили, що найпоширенішим представником млявих інфекцій на сьогоднішній день є HHV6. Цей вірус може інфікувати та ремоделювати функції не тільки імунних, але і клітин нервової системи [15, 18, 31]. Складна взаємодія між HHV6 та імунною системою може сприяти розвитку ПТСР.

Впродовж тривалого часу ведеться дискусії між вченими щодо зв'язку між ПТСП та імунною системою, тому нами була проведена низка імунологічних досліджень. Отримані власні результати вказують на зниження відсотку Т лімфоцитів CD3⁺ у пацієнтів з ПТСП без HHV-6 в порівнянні з контрольною групою, проте даний показник в 1,15 рази вищий у пацієнтів з ПТСП та реактивацією HHV6 ($p < 0,05$). Відсоток клітин CD19⁺ у пацієнтів з ПТСП без HHV6 був в 1,15 разів нижчим у групі з реактивацією герпесвірусу. Відсоток CD56⁺ у пацієнтів з ПТСП без HHV6 був в 1,4 рази вищим порівнянно з таким же показником у пацієнтів з реактивацією HHV-6 та у контрольній групі. Відсоток Т лімфоцитів CD4⁺ у пацієнтів з ПТСП без реактивації вірусу HHV6 був недостовірно нижчим показника у контрольній групі і недостовірно вищим порівняно з пацієнтами з реактивацією HHV6. Відсоток Т лімфоцитів CD8⁺ у пацієнтів з ПТСП без HHV6 були недостовірно вищим показників і в пацієнтів з реактивацією герпесвірусу, і контрольної групи. Відсоток Т лімфоцитів CD4⁺CD25⁺127⁻ у пацієнтів з ПТСП без HHV6 був достовірно вищим показника у контрольній групі ($p = 0,019$) і в групі з реактивацією HHV6 ($p = 0,017$).

Отримані нами результати підтверджують дані літератури. У пацієнтів з ПТСП без HHV6 кількість субпопуляцій Т лімфоцитів CD8⁺ та CD4⁺CD25⁺127⁻ є вищою, ніж у контрольній групі. Натомість, пацієнти з ПТСП з реактивацією HHV6 мають нижчі показники та наближаються до їх рівня в контрольній групі.

Зниження кількості CD4⁺CD25⁺127⁻ у пацієнтів з ПТСП на тлі реактивації HHV6 не зустрічалися згідно даних літератури. Згідно власних спостережень та висновків, виявлені зміни у хворих ПТСП без HHV6 відображають компенсаторну реакцію імунної системи щодо наростання запалення. При чому зниження даного показника у пацієнтів з ПТСП з реактивацією HHV6 підтверджує факт відміни HHV6 природніх імуносупресивних механізмів і може призвести до патологічної активації імунної системи і ризику формування імунопатології.

Shelestova OV. (2017) і Radetskaya LV. і співавтори (2021) свого часу повідомили, що результати визначення кількості популяцій лімфоцитів і

субпопуляцій Т лімфоцитів при ПТСР є дещо контраверсійними, однак більшість з них вказують на зміни прозапального характеру [25, 33]. Lauten ТН. та співавтори (2024) показали, що Т лімфоцитам пацієнтів з ПТСР характерні прозапальна функція та здатність до активації, зниження кількості Т-регуляторно-супресорних клітин і співвідношення CD4/CD8. Щодо В лімфоцитів, дослідники не виявили суттєвих відмінностей від контролю [114].

Що є основною причиною дисрегуляції імунної відповіді при ПТСР? Свого часу Michopoulos V. і співавтори (2017) і Hori H. і Kim Y. (2019) дослідили, що при ПТСР імунопатологія розвивається насамперед внаслідок реакції на стрес ВНС і ГГНС [94, 134]. Горбаченко ВА. та співавтори (2024) показали, що при ПТСР активується СНС і синтез адреналіну та норадреналіну, що мають імуномодулюючу дію [3]. Herman JP. і співавтори (2012) довели, що при стресі посилюється синтез кортизолу корою наднирників [91], а Michopoulos V. і співавтори (2017) показали, що під його впливом відбувається апоптоз моноцитів, макрофагів, Т лімфоцитів та пригнічується сигнальний шлях NF-κB.

А при ПТСР Wohleb ES. та співавтори (2013), O'Donovan A. та співавтори (2015), Fleshner M. і співавтори (2017) і Kuan PF. і співавтори (2019) виявили підвищену активність NF-κB [79, 111, 145, 197]. Tan KS. і співавтори (2007) і Elkhatib SK. та співавтори (2022) припустили, що підвищена концентрація норадреналіну при ПТСР також стимулює шлях NF-κB [78, 185]. За умов хронічного стресу кортизол не інгібує NF-κB-опосередковане вивільнення прозапальних цитокінів, отже, хронізує запальний процес [134]. Зубченко С. і співавтори (2023) показали, що у пацієнтів з ПТСР розвивається нейрозапалення [6]. Lutshumba J. та співавтори (2021), Zefferino R. і співавторів (2021) і Carvalho LFC. і Rodrigues FAA. (2022) довели, що при ПТСР розвивається резистентність до глюкокортикостероїдів, і ГГНС сприяє посиленню запалення. Зсувається поляризація наївних CD4⁺ Т клітин у бік Th2, що робить пацієнта більш сприйнятливим до інфекцій та автоімунних хвороб [59, 125, 207].

Levkovitz Y. і співавтори (2015), Deslauriers J. та співавтори (2017), Serhiyenko V. та співавтори (2022), Toczyska K. і співавтори (2024) і Reininghaus

EZ. і співавтори (2024) продемонстрували, що клінічні симптоми ПТСР розвиваються внаслідок нейрозапальних процесів [187, 173, 139, 116, 73]. Hori H. та Kim Y. (2019) довели, що зниження концентрації серотоніну призводить до когнітивних і соматичних симптомів ПТСР [94]. Zhou J. та співавтори (2014), Stein MB. і співавтори (2016), Yuan N. і співавтори (2019), Katrinli S. та співавтори (2020), Sumner JA. та співавтори (2020), Snijders C. та співавтори (2020) і Carvalho MC. і співавтори (2021) довели, що залучення нейро-імуно-ендокринних механізмів у патогенез ПТСР часто є генетично детермінованим [106, 137, 176, 180, 183, 206, 210]. Власне дисрегуляція нейро-імуно-ендокринних механізмів, притаманна ПТСР, лежить в основі змін імунної відповіді у цих хворих. Franklin TC. та співавтори (2017) виявили підвищені кількості моноцитів, CD4⁺ Т лімфоцитів, CD8⁺ Т лімфоцитів, НК клітин і В-лімфоцитів у периферичній крові пацієнтів з ПТСР. Імовірно, у цих пацієнтів активація імунних клітин відбулася внаслідок впливу алярмінів без впливу патогенів або фрагментів зруйнованих тканин [82]. Отримані нами результати щодо підвищення кількості CD56⁺, CD8⁺ та CD4⁺25⁺127⁻ підтверджують дані вищезгаданих дослідників, враховуючи, аналіз отриманих нами результатів пацієнтів з ПТСР без HHV6. Також, виявили зниження кількості CD4⁺CD25⁺127⁻ Т регуляторних клітин під впливом реактивації вірусу HHV6. Отримані дані, ймовірно свідчать про відміну природніх регуляторно-супресорних механізмів під впливом HHV6 і зростання ризику патологічної активації імунної системи з можливістю формування імунопатології.

Подальші дослідження полягали у визначенні маркерів, які відображають зміни цитотоксичних функцій НК клітин, оскільки саме ці клітини здійснюють імунний нагляд, знищуючи уражені вірусами клітини без попередньої сенсibilізації. Доведення таких клітин до апоптозу відбувається екстрацелюлярним і мітохондріальним шляхами. Як показали Skoroplit SM. та співавтори (2022), власне екстрацелюлярний шлях активується зовнішніми сигналами, що зв'язуються з рецепторами на клітинній мембрані – насамперед Fas-рецептором [29].

Згідно отриманих результатів виявлено, що відсотковий вміст НК клітин CD56⁺ при РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 без/з реактивацією HHV6 не відрізнялися від результатів у контрольній групі, але у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 без реактивації HHV6 був достовірно нижчим (p=0,013). Кількість НК клітин у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 з активацією HHV6 була достовірно нижчою, ніж у таких пацієнтів без HHV6 (p=0,0001). Очевидно, НК клітини загинули від апоптозу, тому що були інфіковані HHV6. Дане пояснення (обґрунтування) узгоджується з даними Eliassen E. та співавторів (2017) і Cao W-J. та співавторів (2023), які підтвердили, що зменшення кількості циркулюючих НК клітин спричинялося посиленням їх апоптозу. Науковцями встановлене посилення експресії рецептора Fas (CD95⁺) на НК клітинах і каспази-3 у їх цитоплазмі у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 [58, 77].

За даними Chen X. та співавторів (2020), Mingyue L. та співавторів (2020), Lontos A. та співавторів (2023), функціональна активність CD16⁺56⁺ НК клітин при РСС виснажується, проте науковцями не було остаточно доведено достовірну асоціацію з тяжкістю перебігу COVID-19 [63, 117, 118]. Liu L. та співавтори (2020), Poonia Bh. та Kottilil S. (2020), Perlman S. (2020) і Iannetta M. та співавтори (2021) продемонстрували, що кількість нормальних CD16⁺56⁺ НК клітин зворотно пропорційна до тяжкості перебігу COVID-19 [96, 120, 150, 153]. Mingyue L. та співавтори (2020) показали, що у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 виявлене достовірне зниження кількості активних форм НК клітин з високою цитотоксичною здатністю CD3⁺CD56^{dim}CD16⁺ та достовірне підвищення кількості НК клітин CD3⁺CD56^{dim}CD16⁻ із зниженою цитотоксичною здатністю та високою експресією інгібіторних KIR-рецепторів 2DL1 та 2DL1/S1 [117]. Vito CD. та співавтори (2022) підтвердили, що тяжкість перебігу COVID-19 залежить від адекватності функції НК клітин проти вірусу SARS-COV-2 [75].

Відтак, актуальним питанням у межах нашого дослідження було виявлення впливу HHV6 на функції НК клітин у процесі розвитку РСС. Дані Azzi T. та співавторів (2014), Rizzo R. і співавторів (2017), Münz C. (2018) і Rizzo R. та

співавторів (2019) довели, що HHV-6 не тільки інфікує НК клітини, але й ремоделює їх фенотип і здатність контролювати вірусні інфекції [43, 138, 163, 164]. Almine JF. і співавтори (2017) показали, що після реактивації HHV6 змінюється система Fas-FasL на мембранах клітин [39]. Vito CD. і співавтори (2022) підтвердили, що HHV6 індукує експресію рецепторів Fas на інфікованих клітинах, котрі взаємодіють з FasL на НК клітинах [75]. Forrester JV. та співавтори (2018) і Krzyzowska M. і співавтори (2021) довели, що активація системи Fas/FasL полегшує персистенцію HHV6 і його проникнення у ЦНС, внаслідок чого гинуть лімфоцити, нейрони і посилюється нейрозапалення [80, 110]. De la Roche M. та співавтори (2016) і Yamada A. та співавтори (2017) показали, що FasL не тільки індукує апоптоз вірусінфікованих клітин, але і негативно регулює імунну відповідь, ініціюючи знищення інфільтрованих лімфоцитів у імунологічно привілейованих тканинах (зокрема, ЦНС і СНС), які посилюють ризик автоімунізації [71, 199]. Saleki K. і співавтори (2022) продемонстрували, що підвищена експресія FasL асоціюється з тяжкістю нейропатії, особливо у пацієнтів з GBS [170]. Yang Y. та співавтори (2021) та Krzyzowska M. і співавтори (2021) виявили розлад у системі Fas/FasL і при інших автоімунних хворобах – СЧВ, РА, діабеті 1-го типу, первинному біліарному цирозі та тиреоїдиті Хашімото [77, 110, 204].

Було досліджено, що у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без реактивації HHV6 експресія CD56⁺95⁺ (Fas) була підвищена у 1,5 рази порівняно з такими ж пацієнтами з реактивацією HHV6, але достовірно нижча у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,01$). Експресія CD56⁺178⁺ (FasL) у пацієнтів без реактивації HHV6 була у 4,5 разів нижчою, ніж у таких же пацієнтів з реактивацією HHV6, але обидва показники були нижчими, ніж у контрольній групі ($p < 0,01$). У пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 експресія CD56⁺95⁺ (Fas) у пацієнтів без HHV6 була в 1,7 разів вищою, ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6, але обидва результати були нижчими порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Експресія CD56⁺178⁺ (FasL) у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 без HHV6 була в 1,2 рази недостовірно

нижчою, ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6, а обидва результати були вищими порівняно з контрольною групою ($p > 0,05$). У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 ми виявили, що експресія CD56⁺95⁺ (Fas) була незначно підвищеною у порівнянні з пацієнтами з реактивацією HHV6 ($p > 0,05$) і нижчими порівняно з контрольною групою ($p > 0,05$). Експресія CD56⁺178⁺ (FasL) у цих пацієнтів без HHV6 була нижчою, ніж у таких пацієнтів з реактивацією HHV6 і подібною до показника у контрольній групі.

Таким чином, у результаті наших досліджень ми встановили, що експресія Fas у пацієнтів з постковідним синдромом без HHV6 була вищою порівняно з такими ж пацієнтами з реактивацією HHV6, але нижчою порівняно зі здоровими особами ($p < 0,01$). Було виявлено, що ступінь експресії Fas дійсно залежить від тяжкості перебігу COVID-19, і він був найвищим у пацієнтів після тяжкого перебігу COVID-19. У всіх пацієнтів з РСС та у двох групах пацієнтів після легкого та середнього (але не тяжкого) перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6 було виявлено зниження експресії Fas порівняно з пацієнтами без HHV6. У пацієнтів з постковідним синдромом після легкого, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 експресія FasL була нижчою, ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6. Цей показник після середнього і тяжкого перебігу COVID-19 перевищував результат у контрольній групі. Отже, ми виявили, що експресія Fas була вищою у пацієнтів без реактивації HHV6, а експресія FasL була вищою у пацієнтів з реактивацією HHV6. Це означає, що НК клітини пацієнтів з постковідним синдромом після легкого, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 без реактивації HHV6 більше експресують рецептор загибелі Fas і мають підвищений ризик загибелі через апоптоз. Зниження експресії даними клітинами FasL означає, що вони володіють меншою здатністю доводити до апоптозу клітини, уражені вірусом. Особливо, представлений механізм характерний для пацієнтів з РСС після середнього та тяжкого перебігу COVID-19. Натомість НК клітини пацієнтів з РСС з реактивацією HHV6 мали підвищену експресію FasL, отже, підвищену здатність доводити інші клітини до апоптозу, тобто їх цитотоксична активність посилюється за умов реактивації вірусу HHV6. Дані

зміни найбільш виражені у пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19. Таким чином, ми підтвердили зв'язок між реактивацією HHV6 і клінічними проявами патології ЦНС у пацієнтів з РСС після середнього та важкого перебігу COVID-19. Як наслідок, було посилення руйнування не уражених вірусом, а здорових імунних і нервових клітин. Сао W-J. та співавтори (2023), також, отримали подібні результати, що підтверджують збільшення пацієнтів з реактивацією HHV6 після важкого перебігу COVID-19 [58].

Було виявлено, що зміни експресії Fas та FasL відбуваються і в пацієнтів з РСС після середнього, а не тільки важкого перебігу COVID-19. Аналізуючи літературні дані та отримані результати досліджень, необхідно зауважити, що середній перебіг COVID-19, також, є фактором ризику розвитку імунопатології. Saleki K. і співавтори (2022) також виявили, що в групах пацієнтів після середнього і важкого перебігу COVID-19 експресія Fas підвищена порівняно з групою пацієнтів після легкого перебігу COVID-19, зокрема, функціонування системи Fas/FasL залежить від тяжкості перенесеного COVID-19 [170]. Свого часу Guriev SO. та співавтори (2016) дослідили, що активація системи Fas-FasL сприяє реактивації HHV6 з його латентного стану, а гіперактивація даної системи викликає загибель нейронів і втрату провідності нервових синапсів [4], а Maltsev OV. (2017) довів, що наявність інфекції HHV6 у ЦНС «скасовує» її імунологічну привілейованість, що створює ризик старту автоагресії [18]. Nogimori T. та співавтори (2023) продемонстрували, що CTL (активовані Т клітини CD8⁺) і NK, експресуючі FasL, проявляють свою цитотоксичну дію поетапно. Протягом першого етапу FasL стимулює виділення перфोरину та гранзимів з літичних зерен, а другий етап супроводжується синтезом FasL *de novo*. FasL грає провідну роль у патогенезі багатьох вірусіндукованих хвороб, оскільки він експресується не тільки на інфікованих, але й здорових клітинах і спричиняє їх знищення. Натомість, на активованих Т лімфоцитах та NK клітинах з'являється рецептор Fas, що підвищує ризик руйнування через FasL і апоптоз. При хронічних вірусних інфекціях «клітини-нападники» і «клітини-мішені»

«обмінюються ролями». Гинуть «клітини-нападники», тобто імунні клітини з цитотоксичними властивостями і розвивається супресія імунної відповіді [143].

У пацієнтів з ПТСР без HHV6 загальна кількість НК клітин була вищою порівняно з контрольною групою в 1,2 раз ($p=0,020$), а у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV6 була нижчою порівняно з пацієнтами без HHV6 та контрольною групою ($p=0,022$). Експресія рецептора CD56⁺95⁺ (Fas) була нижчою у групі пацієнтів з ПТСР та реактивацією HHV6 порівняно з пацієнтами з ПТСР без HHV6 ($p<0,05$) і контрольною групою ($p<0,05$). За результатами визначення експресії ліганду CD56⁺178⁺ (FasL) встановлено, що між групами пацієнтів з ПТСР з/без реактивації HHV6 не було достовірної різниці. Однак експресія FasL була майже в 2 рази меншою у здорових осіб контрольної групи порівняно з пацієнтами з ПТСР і реактивацією вірусу HHV6 ($p<0,05$). Отримані результати вказують на виснаження і пригнічення основної ланки протівірусної відповіді. Було визначено, що експресія CD56⁺95⁺ (Fas) у пацієнтів з ПТСР без HHV6 була вищою, ніж у пацієнтів з ПТСР і реактивацією HHV6 і нижчою порівняно з контрольною групою. Експресія CD56⁺178⁺ (FasL) у пацієнтів без HHV6 була нижчою, ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6. Проте обидва показники були нижчими, ніж у контрольній групі. Таким чином, у всіх пацієнтів з ПТСР спостерігалось зниження експресії Fas і достовірне підвищення експресії FasL, тобто цитотоксична активність НК клітин ставала набагато сильнішою при реактивації HHV6. Це підтверджує наше припущення щодо зв'язку між реактивацією HHV6 і наростанням клінічних симптомів нейропатології у пацієнтів з ПТСР. Ймовірно, реактивація HHV6 посилювала руйнування інфікованих вірусом імунокомпетентних клітин і клітин нервової системи. Отже, так як система Fas/FasL є частиною комплексної регуляції ЦНС при HHV6 і дисфункція даної системи призводить як до розладів протівірусної імунної відповіді, так і до посилення нейрозапалення.

Оскільки РСС ускладнений реактивацією HHV6 здатний спричинити дисрегуляцію імунної відповіді і формування імунопатологічних синдромів, було заплановано провести дослідження експресії активізаційно-регуляторного

маркера CD38⁺ на НК клітинах пацієнтів. CD38 є важливим прозапальним та регуляторним маркером, асоційованим із запальним процесом та автоімунітетом. Згідно отриманих даних, експресія CD56⁺/38⁺ у порівнянні з контролем була вищою (у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV6 - у 2,3 рази (p<0,01); після середнього перебігу COVID-19 без HHV6 – у 3,2 рази (p<0,01); у пацієнтів після важкого перебігу COVID-19 без HHV6 – у 2,2 рази (p<0,01)). У групі пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 і реактивацією HHV6 експресія CD38⁺ була нижчою в 1,3 рази порівняно з результатами у таких же пацієнтів без HHV6 (p<0,05); у групі пацієнтів з РСС після середнього перебігу COVID-19 та реактивацією HHV6 – в 1,5 рази (p<0,05); у групі пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 і реактивацією HHV6 експресія не відрізнялася від показника у таких групах без HHV6 (p>0,05). Експресія CD56⁺38⁺ на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 без HHV6 була достовірно вищою (p<0,01), ніж у таких пацієнтів з реактивацією HHV6, та у 2,2 рази вищою, ніж у контрольній групі (p<0,01).

Згідно даних Björkström NK. і співавтори (2021) і Horenstein AL. та співавтори (2021), рівень експресії CD38⁺ посилюється під час інфекції SARS-COV-2 [51, 93]. Як показано в дослідженнях Qu Y. та співавторів (2022), CD38⁺ працює і як фермент, і як рецептор одночасно. Підвищення експресії рецептора CD38⁺ відбувається при активації В лімфоцитів, які диференціюються у плазмоцити. А фермент CD38, контактуючи з вторинним месенджером циклічною АДФ-рибозою сприяє транскрипційній активності NF-κB і синтезу медіаторів запалення. Внаслідок активації ферменту CD38 виснажуються клітинні ресурси і загибель клітини переключається з апоптотичного на некротичний. Вірусна інфекція впливає на зміни експресії CD38⁺ та індукує обидва шляхи загибелі клітин [157]. На нашу думку, пацієнти з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 в анамнезі без HHV6 мали більший ступінь дисрегуляції імунної відповіді, ніж пацієнти з реактивацією HHV6, тільки у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 ступінь дисрегуляції був практично таким самим. Встановлене підвищення експресії CD38⁺ і,

відповідно, посилення дисрегуляції у пацієнтів навіть після легкого та середнього перебігу COVID-19, а в пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 експресія CD38⁺ не залежала від реактивації HHV6.

Одним з основних напрямків роботи було дослідження цитотоксичної функції NK клітин у пацієнтів з РСС без/з реактивацією HHV6. Попередні дослідження Wang H. і співавторів (2022) і Cao W-J. та співавторів (2023) показали, що посилення експресії TIM-3 асоціювалося з виснаженням та обмеженням цитотоксичності NK клітин [58, 194]. У дослідженнях Panda S. і співавторів (2021) і Cao W-J. і співавторів (2023) було продемонстровано, що сироваткові рівні TIM-3 корелюють з тяжкістю перебігу постковідного синдрому [58, 147], а Vito CD. і співавторів (2022) підтвердили, що TIM-3 є негативним регулятором імунної відповіді [75]. Nogimori T. і співавторами (2023) показали, що експресія молекул TIM-3 на регуляторних Т лімфоцитах сприяє реалізації їх супресивної функції [143]. Björkström NK. і співавторів (2021) висунули гіпотезу, що присутність функціонально виснажених NK клітин асоціюється з тяжким перебігом COVID-19 [51]. Hsieh WC. і співавторів (2021) продемонстрували, що у пацієнтів після COVID-19 клітини CD56^{dim}CD16⁺ експресують високі рівні TIM-3 [95]. Згідно з цими літературними даними, встановлені зміни експресії рецепторів TIM-3 та CD38⁺ у пацієнтів з РСС без/з реактивацією HHV6 дозволили прогнозувати ризик формуванням імунопатології (ймовірно, автоімунітету). Інгібіторна функція рецептора TIM-3 полягає у підтримці імунологічної толерантності та пригніченні Th1-залежної імунної відповіді. Тому ми визначали експресію інгібіторного рецептора TIM-3 на NK клітинах пацієнтів з РСС без/з реактивацією HHV6.

Отримано результати, що у пацієнтів з РСС після легкого перебігу COVID-19 експресія TIM-3 (CD56⁺366⁺) у пацієнтів без реактивації HHV6 була недостовірно вищою ($p > 0,05$), ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6, та достовірно нижчою ($p < 0,01$), ніж у контрольній групі. При РСС після середнього перебігу COVID-19 експресія цього рецептора у пацієнтів без HHV6 була достовірно вищою ($p < 0,01$), ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6, і достовірно

нижчою від показника у контрольній групі ($p < 0,01$). У пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 експресія цього рецептора у пацієнтів без HHV6 була недостовірно вищою ($p > 0,05$), ніж у пацієнтів з HHV6, і достовірно нижчою ($p < 0,01$) від цього показника у контрольній групі. У всіх пацієнтів з РСС без HHV6 експресія TIM-3 була нижчою, ніж у контрольній групі та пацієнтів після легкого перебігу COVID-19 (у 2,3 рази), середнього перебігу COVID-19 (у 2,6 рази) і тяжкого перебігу COVID-19 (у 2,8 рази). У пацієнтів з реактивацією HHV6 експресія TIM-3 була достовірно нижчою, ніж у пацієнтів без HHV6 – у пацієнтів після легкого перебігу COVID-19 у 2,1 рази нижча, у пацієнтів після середнього перебігу COVID-19 залишилася такою ж самою, у пацієнтів після тяжкого перебігу COVID-19 – в 1,12 разів нижчою.

Аналізуючи отримані дані, зниження експресії TIM-3 при реактивації HHV-6 відображає посилення ризику формування аутоімунної патології за Th1-типом. Особливо дані результати є показовими у наших пацієнтів з РСС після середнього і тяжкого перебігу COVID-19, адже рівень експресії TIM-3 істотно корелює з активністю хвороби та визначає її прогноз. Отримані результати співпадають з даними Schniederova M. і співавторів (2025) і дозволяють використовувати рівень експресії TIM-3 на NK і T клітинах як прогностичний біомаркер ризику розвитку імунопатології [171].

Згідно отриманих даних, дійшли до висновку, що пацієнтам груп дослідження необхідно визначати експресію цитотоксичних і регуляторних маркерів, також, на інших клітинах з цитотоксичними функціями - особливо цитотоксичних T лімфоцитах CD8⁺. Провели вивчення експресії асоційованого з апоптозом рецептора PD-1 і його ліганда PD-1L на цитотоксичних T лімфоцитах CD8. Schniederova M. і співавтор (2025) вивчили, що у пацієнтів з високим ризиком формування РСС після тяжкого перебігу COVID-19 був високий рівень експресії PD-1 і TIM-3 [171].

Враховуючи результати попередніх досліджень пацієнтів з РСС, ПТСР та поєднаною патологією РСС з ПТСР без/з реактивацією HHV6 та виявлення відповідних зміни загальноклінічних лабораторних показників, імунограми та

експресії ряду рецепторів на імунних клітинах, було прийняте рішення провести лікування таких пацієнтів противірусним препаратом інозин пранобекс. По-перше, лікування даним препаратом призначалося з метою впливу на клінічний стан, загальноклінічні та вірусологічні лабораторні показники у пацієнтів, а, по-друге, нами бралися до уваги імунокоригуючі властивості цього препарату.

Попередні результати показали значне зниження кількісних і функціональних показників у пацієнтів з РСС після середнього та тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією вірусу HHV6, тому було проведене лікування таких пацієнтів противірусним препаратом інозин пранобексом (таблетки 1000 мг). Таке ж лікування було проведене пацієнтам з ПТСР та пацієнтам з коморбідною патологією РСС з ПТСР з виявленою реактивацією HHV6. За даними Sydorenko A. (2023), хоча зазвичай лікування хронічних вірусних інфекцій полягає у застосуванні противірусних препаратів, які допомагають контролювати симптоми та знижувати частоту рецидивів, але повністю вилікувати інфекцію неможливо, оскільки вірус залишається в організмі в латентному стані [28]. Для лікування пацієнтів з реактивацією HHV6 нами був вибраний інозину пранобекс (противірусний засіб) – оскільки, він володіє ще й імуномодулюючими властивостями. Препарат усуває дефіцит або дисфункцію клітинного імунітету, індукуючи дозрівання і диференціювання Т-лімфоцитів, і потенціює індукцію антигенспецифічної диференціації лімфоцитів. Інозину пранобекс модулює цитотоксичність Т-лімфоцитів і NK клітин, функцію CD4⁺25⁺127⁻ Т регуляторно-супресорних клітин, CD4⁺ хелперних клітин, а також збільшує концентрацію IgG, синтез IL-1, IL-2 та IFN-γ, посилює експресію рецепторів до IL-2. Інозин пранобекс покращує функції нейтрофілів, моноцитів і макрофагів та пригнічує розмноження вірусних часток. Нами проведено порівняння ефективності противірусного ефекту лікування інозин пранобексом пацієнтів різних груп, внаслідок якого встановлено, що в групі пацієнтів з ПТСР ефективність була найбільшою - 80,7 %, а в групі пацієнтів з комбінованою патологією РСС з ПТСР - 45,3%, тобто в групі хворих з ПТСР ефект був у в 1,8

рази вищим порівняно з пацієнтами з комбінованою патологією. Ефект лікування пацієнтів з РСС був в 1,3 рази нижчим, ніж у групі пацієнтів з ПТСП, та в 1,4 рази вищим, ніж у групі ПТСП з РСС.

Виявлено, що після лікування пацієнтів з РСС з реактивацією ННВ6 кількість ДНК ННВ6 у слині і слизовій достовірно зменшилась порівняно з такими ж хворими до лікування ($p=0,0001$; $p=0,0057$), але у крові виявилась лише тенденція до зниження ($p=0,555$). Всього кількість випадків наявності ДНК ННВ6 у біологічних середовищах через 12 тижнів після закінчення лікування інозин пранобексом зменшилася у 3,1 рази. При цьому виразно зменшилися клінічні прояви РСС і покращилися загальноклінічні лабораторні показники. Загалом 11 (55,0 %) пацієнтів перейшли в латентну фазу хронічної ННВ6-інфекції. Пацієнтам було проведено аналіз вірусологічної ефективності лікування інозин пранобексом пацієнтів з ПТСП і виявлено, що після лікування кількість ДНК ННВ6 вірогідно зменшилась у слині та слизовій ($p=0,0004$; $p<0,0001$), а в крові вірусу взагалі не ідентифіковано.

Таким чином, кількість випадків наявності ДНК ННВ6 у біологічних середовищах через 12 тижнів після закінчення лікування інозин пранобексом зменшилася у 3,2 рази. Зменшення клінічних проявів РСС і покращення загальноклінічних лабораторних показників свідчить, що 12 (40,0%) пацієнтів перейшли в латентну фазу хронічної ННВ6-інфекції. Щодо групи пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСП, то після лікування інозин пранобексом кількість ДНК ННВ6 достовірно зменшилась у слині ($p=0,0012$), слизовій задньої стінки глотки ($p=0,0057$), а в крові виявлена лише тенденція до зниження ($p=0,634$). Кількість випадків наявності ДНК ННВ6 у біологічних середовищах через 12 тижнів після закінчення лікування інозин пранобексом зменшилася у 2,7 рази. Проаналізувавши динаміку зменшення клінічних проявів РСС і ПТСП та покращення загальних лабораторних показників, можна вважати, що 12 (60,0%) пацієнтів перейшли в латентну фазу хронічної ННВ6-інфекції. Щодо біохімічних показників – вірогідних змін після лікування не спостерігалось і знаходилися у межах показників контрольної групи. Тільки у пацієнтів з ПТСП

на тлі активної фази хронічної HHV6-інфекції після лікування рівень креатиніну незначно підвищився порівняно зі здоровими особами контрольної групи ($p=0,041$). Незначне підвищення рівня креатиніну може бути побічним ефектом прийому інозин пранобексу. Лікування вплинуло на порушення пуринового обміну: зросла концентрація сечової кислоти - в усіх групах вірогідно ($p<0,0001$) порівняно зі здоровими особами і рівнями до лікування. Відомо, що в організмі виробляється занадто багато сечової кислоти при масовій загибелі клітин, а лікування інозин пранобексу призводить до загибелі клітин, уражених вірусом HHV6, тому зростання концентрації сечової кислоти є передбачуваним і тимчасовим явищем.

Ефективність лікарського засобу інозин пранобекс (таблетки 1000 мг) визначали, провівши порівняльний аналіз експресії маркерів PD-1 ($CD8^{+279^{+}}$) і ліганда PD-1 - $CD8^{+274^{+}}$ (PD-1L) на $CD8^{+}$ цитотоксичних Т клітинах і рецептора Fas ($CD56^{+95^{+}}$) і $CD56^{+178^{+}}$ (FasL) на НК клітинах у всіх трьох групах пацієнтів (РСС, ПТСП та поєднана патологія РСС+ПТСП) до та після лікування. Відомо, що функції НК-клітин і $CD8$ -цитотоксичних клітин при тривалих вірусних інфекціях виснажуються, а цитотоксична функція змінюється. Маркерами виснаження є зміна експресії рецепторів на НК-клітинах і $CD8$ -цитотоксичних Т лімфоцитах, які відображають різні механізми доведення до апоптозу клітин-мішеней.

Nogimogі T. та співавтори (2023) виявили на активованих Т-, В-лімфоцитах посилену експресію PD-1, що асоціювалася з гальмуванням ефекторних функцій клітин, їх виснаженням і загибеллю. PD-1 запобігає активації автореактивних лімфоцитів, підтримує імунологічну толерантність, диференціювання та функціонування Treg. Власне тому PD-1 називають контрольною точкою імунної системи. При хронічних вірусних інфекціях Т лімфоцити поступово втрачають цитотоксичну функцію, при цьому на них експресуються молекули - контрольні точки, індукуючі супресію або апоптоз (PD-1, TIM-3 і т.п.) [143]. Malesevic S. та співавтори (2023) додали інформацію, що комплекс Gal-9/TIM-3 також є інгібіторною імунною точкою, менше вивченою, ніж PD-1 [126]. Schniederova

М. та співавтори (2025) показали, що посилення експресії інгібіторних імунних контрольних точок є індикатором прогресування хвороби та її несприятливого прогнозу. Вченими встановлено достовірно підвищену експресію PD-1 на CD4⁺ клітинах (але не на CD8⁺ клітинах) пацієнтів, які померли після COVID-19. Експресія PD-1 на Т лімфоцитах пацієнтів з COVID-19 у критичній стадії була вищою порівняно з пацієнтами після середнього перебігу COVID-19 [171]. Свого часу Rallo N. та співавтори (2018) аналізували динаміку змін експресії PD-1 та TIM-3 на CD4⁺ Т клітинах і показали, що у пацієнтів з нелікованою хронічною вірусною інфекцією експресія є зниженою і відновлюється тільки після лікування. Проте, на активованих CD8⁺ Т клітинах, які експресували CD38⁺ та HLA-DR, експресія PD-1 і TIM-3 була посиленою [151]. Yang R. та співавтори (2021) виявили, що виснажені Т клітини PD-1⁺TIM-3⁺ мають коротший термін виживання у порівнянні з такими, які експресують тільки PD-1 без експресії TIM-3 [203]. Rallo N. та співавтори (2018) припустили, що експресія цих маркерів на CD8⁺ Т клітинах залежить від стадії інфекційного процесу (гострого чи хронічного). Зростання експресії PD-1 і TIM-3 спостерігали на виснажених CD8⁺ та CD4⁺ Т клітинах нелікованих пацієнтів з великою кількістю копій вірусу [159]. Poonia Bh. і Kottilil S. (2020) виявили у пацієнтів з РСС після важкого перебігу COVID-19 низьку кількість повноцінних CD8⁺ Т клітин [153]. На нашу думку, ефективність такого лікування якнайкраще відобразилася на зміні експресії системи PD-1/PD-1L, що посприяло покращенню функцій імунних клітин.

У пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 на НК-клітинах експресія рецептора Fas CD56⁺95⁺ після 3-х місячного курсу лікування лікарським засобом інозин пранобекс стала в 1,5 разів вищою і практично дорівнювала такому показнику в контрольній групі (p=0,061). Щодо ліганду FasL CD56⁺178⁺, до лікування його експресія на НК клітинах був достовірно нижчою порівняно з особами контрольної групи (p=0,001), а після лікування підвищився у 1,6 разів і його експресія майже досягла показника контрольної групи (p=0,0002). Дослідження аналогічних показників у пацієнтів з ПТРС на тлі реактивації HHV6 показало, що експресія рецептора Fas CD56⁺95⁺ на НК-клітинах після лікування

збільшилась в 1,8 рази і досягла рівня контрольної групи ($p=0,003$). Подібна тенденція спостерігалась і з відповідним лігандом FasL CD56⁺CD178⁺ - його експресія на НК-клітинах у пацієнтів з ПТСП підвищилася після 3-х місячного курсу терапії у 1,8 рази ($p=0,0003$). У пацієнтів з комбінованою патологією РСС з ПТСП з реактивацією HHV6 експресія рецепторів Fas на НК-клітинах після 3-х місячного курсу лікування підвищилася в 1,7 разів порівняно з показником до лікування, однак, рівень все ще залишався нижчим щодо здорових осіб контрольної групи ($p=0,001$). Експресія ліганду FasL CD56⁺CD178⁺ підвищилася в 1,15 разів після лікування, однак все ще була вірогідно меншою за контрольну групу ($p=0,013$). Аналізуючи отримані дані, після лікування найвище зросли рівні експресії Fas і FasL, обидва у 1,8 разів ($p=0,001$, $p=0,013$, відповідно). Щодо групи пацієнтів з комбінованою патологією РСС з ПТСП, то рівень Fas після лікування зріс у 1,5 разів більше, ніж рівень FasL. Якщо при поєднаній патології РСС з ПТСП з реактивацією HHV6 на НК клітинах навіть після лікування рівень експресії FasL майже не змінився, а рівень Fas зріс – це свідчить про незначні зміни щодо здатності доводити клітини-мішені до апоптозу. Натомість у пацієнтів з РСС і пацієнтів з ПТСП нами виявлено суттєве посилення експресії і Fas, і FasL. Як наслідок, НК клітини після лікування можуть краще «нападати», але, на жаль, і можуть ставати «жертвами». Низький у порівнянні з контролем рівень експресії Fas може означати: 1) зниження відповіді на сигнал до запуску апоптозу; 2) уникнення апоптозу; 3) загальне ослаблення здатності організму боротися з вірусними інфекціями. FasL, зв'язуючись з Fas, стимулює запуск сигнального каскаду, який веде до апоптозу інфікованих вірусами клітин та автореактивних лімфоцитів. Тому зниження його експресії загрожує ще й накопиченням автореактивних лімфоцитів і ризиком автоагресії.

Krzyzowska M. і співавтори (2021) і Vito CD. та співавтори (2022) дослідили, що апоптоз, який ініціюється Fas/FasL, відбувається у дві фази – ініціації та ефекторної. Ініціація починається з взаємодії Fas-рецептора на поверхні клітини-мішені з його лігандом FasL на цитотоксичній клітині з утворенням комплексу DISC, який запускає каскад активації інших каспаз. Під

час ефекторної фази відбувається деградація ДНК, білків і ліпідів та її апоптична загибель. При вірусних інфекціях шлях Fas/FasL найчастіше використовують NK клітини, меншою мірою - CD8⁺ Т цитотоксичні лімфоцити [75, 110]. Sabbatino F. та співавтори (2021) виявили, що найважливішими клітинами у боротьбі проти SARS-COV-2 є CD8⁺ цитотоксичні Т клітини, а постійна стимуляція вірусом ослаблює їх функції і посилює експресію інгібіторних рецепторів [169]. Björkström NK. і співавтори (2021) і Van Eeden Ch. та співавтори (2021) довели, що здійснення апоптозу шляхом Fas/FasL є критично важливим для підтримки периферичної імунологічної толерантності, тобто запобігання автоагресії [51, 189]. Krzyzowska M. і співавтори (2021), Sabbatino F. і співавтори (2021) і Saleki K. і співавтори (2022) виявили у пацієнтів з COVID-19 підвищену експресію Fas на NK клітинах, CD4⁺ та CD8⁺ Т лімфоцитах [110, 169, 170]. Перцева ТО. та співавтори (2017) і Albert MC. і співавтори (2024) підтвердили, що здійснення апоптозу шляхом Fas/FasL є найбільш характерним для пацієнтів з РСС [23, 38]. Більше того, Krzyzowska M. і співавтори (2021) виявили, що у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 навіть нейтрофіли починають експресувати FasL, який активує апоптоз експресуючих Fas лімфоцитів [110].

У пацієнтів з РСС на тлі реактивації HHV6 експресія рецептора PD-1 (CD8⁺279⁺) на CD8⁺ Т цитотоксичних клітинах після лікування підвищилася в 1,5 разів (p=0,090), однак все ще залишалася нижчою порівняно зі здоровими особами (p=0,0008). Щодо ліганда PD-1L CD8⁺274⁺, його експресія на CD8⁺ Т клітинах після лікування підвищилась в 1,3 рази (p=0,119), однак залишалася нижчою, ніж у контрольній групі (p=0,162). Щодо експресії рецепторів PD-1 (CD8⁺CD279⁺) на CD8⁺ Т клітинах пацієнтів з ПТСП з HHV6, рівень його експресії після лікування вірогідно підвищився в 1,6 рази (p=0,017) і досягнув показника у контрольній групі. Експресія ліганда PD-1L (CD8⁺274⁺) на CD8⁺ Т цитотоксичних лімфоцитах у групі з ПТСП на тлі реактивації HHV6 після проведеної терапії вірогідно підвищилася в 1,3 рази (p=0,029) і досягла рівня контрольної групи.

Експресія рецепторів PD-1 (CD8⁺279⁺) на CD8⁺ Т лімфоцитах пацієнтів РСС з ПТСР з реактивацією HHV6 підвищилась у 2,1 рази після лікування (p=0,0001), проте, знизилась щодо у контрольній групі (p=0,003). Експресія ліганду PD-1L (CD8⁺274⁺) на CD8⁺ Т цитотоксичних лімфоцитах таких пацієнтів після лікування недостовірно збільшилася в 1,3 рази (p=0,206). Отже, здатність CD8⁺ цитотоксичних Т лімфоцитів доводити до апоптозу клітини-мішені у пацієнтів з комбінованою патологією після лікування, також, посилилася, проте, меншою мірою, ніж у групах пацієнтів з монопатологією.

Функціонування системи рецептор PD-1/ ліганд PD-L1 у постковідних пацієнтів вивчалось низкою авторів. Sabbatino F. і співавтори (2021) і Chen R-Y. та співавтори (2023) підтвердили, що зв'язок інгібіторного рецептора PD-1 з лігандом PD-L1 спричиняє загибель гіперактивованих Т клітин пацієнтів після тяжкого перебігу COVID-19 [62, 169]. Loretelli C. та співавтори (2021) визначили високу експресію PD-1 і PD-L1 на Т лімфоцитах постковідних пацієнтів і припустили, що це прогностичний фактор тяжкого перебігу COVID-19 [122]. Chen R-Y. та співавтори (2023) дослідили, що система PD-1/PD-L1 забезпечує роботу ще одного механізму апоптозу, який реалізується за участю лектину Gal-9. Gal-9 індукуює апоптоз різних типів клітин, взаємодіючи як з поверхневими рецепторами, так і внутрішньоклітинними сигнальними шляхами. Його проапоптичну здатність оцінюють, вимірюючи інтенсивність зв'язування Annexin V у клітинній мембрані. Велика кількість Annexin V-позитивних клітин вказує на «ранній», але значний апоптоз. Gal-9 взаємодіє з PD-1 на поверхні Т клітин сприяє персистенції PD-1⁺TIM-3⁺ Т клітин та послаблює Gal-9/TIM-3-індуковану загибель клітини [62]. Lv Y. і співавтори (2023) підтвердили недостатність літературних даних про значення «раннього» апоптозу в захисті від герпесвірусної інфекції. Зокрема, відомо, що Gal-9, взаємодіючи з Tim-3, індукуює апоптоз антигенспецифічних субпопуляцій Т клітин, особливо CD8⁺, при автоімунних та запальних хворобах. Gal-9 позитивно корелює і з PD-1/PD-L1. PD-1, взаємодіючи з Gal-9 та Tim-3, зменшує апоптоз Т клітин шляхом Gal-9/TIM-3 [126]. Таким чином, системою PD-1/PD-L1: 1) підтримується імунний

гомеостаз – фізіологічний захист від запального процесу та акумуляції автореактивних Т клітин; 2) регулює апоптоз шляхом Gal-9/TIM-3.

Дослідження регуляторного маркера на Т регуляторних лімфоцитах ($CD4^+CD25^+CD127^-$) пацієнтів з РСС продемонструвало зниження експресії ($p=0,004$) щодо контрольної групи. Після 3-х місячного курсу лікування інозин пранобексом рівень експресії $CD4^+CD25^+CD127^-$ достовірно знизився ще більше порівняно з контрольною групою ($p=0,001$). Щодо регуляторного маркера на лімфоцитах $CD4^+CD25^+CD127^-$ у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6, рівень даного показника після терапії збільшився в 1,5 разів ($p=0,029$), але залишився недостовірно нижчим порівняно з контрольною групою ($p=0,264$). Щодо пацієнтів з комбінованою патологією РСС з ПТСР на тлі реактивації HHV6, експресія $CD4^+CD25^+CD127^-$ після курсу терапії відмічено лише недостовірну тенденцію до підвищення ($p=0,572$), що, однак, також свідчить про посилення регуляторних механізмів. Отримані результати щодо збільшення кількості регуляторних клітин після лікування можуть свідчити про зниження ризику тяжких поствірусних ускладнень[62]. Отже, тактика лікування інозин пранобексом з імуномодулюючою дією сприяла відновленню регуляторних функцій $CD4^+$ Treg лімфоцитам ($CD4^+CD25^+CD127^-$).

Підсумовуючи отримані результати, зосередимось на найважливіших з них. Було досліджено, що у пацієнтів після легкого, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 формується РСС з ризиком розвитку імунопатологічних синдромів. Найбільш значущі результати були отримані у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 з реактивацією HHV6. У таких пацієнтів знижувалася кількість $CD3^+$ Т клітин, підвищувалася кількість $CD19^+$ В клітин та знижувалася кількість НК клітин, знижувалась кількість $CD4^+$ Т лімфоцитів та $CD8^+$ Т лімфоцитів. Кількість клітин $CD4^+CD25^+CD127^-$ Treg у пацієнтів з РСС після тяжкого перебігу COVID-19 була зниженою у пацієнтів без/з реактивацією HHV-6.

У пацієнтів з ПТСР без/з реактивацією HHV6 кількість $CD3^+$ Т лімфоцитів, $CD19^+$ В лімфоцитів та НК клітин $CD56^+$ була зниженою, причому в пацієнтів з

реактивацією HHV6 - зниження було ще більшим. Кількості CD4⁺, CD8⁺ та CD4⁺CD25⁺127⁻ Т лімфоцитів у пацієнтів без реактивації HHV6 були вищими показників пацієнтів з реактивацією HHV6. Зниження кількості популяцій лімфоцитів і субпопуляцій Т лімфоцитів у пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV6 підтверджує, що даний вірус викликає дисрегуляцію імунної відповіді, сприяє активації імунної системи і формуванню імунопатології.

У пацієнтів з РСС після легкого, середнього і тяжкого перебігу COVID-19 експресія Fas у пацієнтів без HHV6 була вищою порівняно з такими ж пацієнтами з реактивацією HHV6. На тлі реактивації HHV6 у двох групах пацієнтів після легкого та середнього (але не тяжкого) перебігу COVID-19 було виявлено зниження експресії Fas порівняно з пацієнтами без HHV6. Експресія CD56⁺178⁺ (FasL) у пацієнтів з РСС після легкого і середнього перебігу COVID-19 без HHV6 була нижчою, ніж у пацієнтів з реактивацією HHV6. Посилення експресії FasL на тлі реактивації HHV6 характерне для пацієнтів з РСС після середнього та тяжкого перебігу COVID-19. Експресія CD56⁺38⁺ була підвищеною у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та тяжкого перебігу COVID-19 без реактивації HHV6, причому сягало вищих значень після перебігу середньої тяжкості. У групі пацієнтів з РСС та реактивацією HHV6 експресія CD38⁺ була найнижчою порівняно з іншими групами. Припускаємо, що посилення дисрегуляції імунної відповіді не залежало від реактивації HHV6. У пацієнтів з РСС після легкого та середнього перебігу COVID-19 без HHV6 експресія TIM-3 (CD56⁺366⁺) була зниженою; тільки у пацієнтів після тяжкого перебігу COVID-19 без HHV6 експресія TIM-3 була підвищеною порівняно з такими ж пацієнтами з реактивацією HHV6.

Були отримані наступні результати лікування препаратом інозин пранобекс пацієнтів з РСС, ПТСР та поєднаною патологією РСС з ПТСР з реактивацією HHV6: 1) зниження кількості ДНК HHV6 у слині і слизовій задньої стінки глотки; 2) нормалізацію біохімічних показників; 3) підвищення кількості CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Т регуляторних лімфоцитів; 4) експресія рецептора Fas CD56⁺CD95⁺ на НК клітинах після лікування підвищилася; 5) експресія ліганду

FasL CD56⁺CD178⁺ підвищилася, але меншою мірою у пацієнтів з поєднаною патологією РСС з ПТСП. Після лікування найвище зросли рівні експресії Fas і FasL – насамперед у пацієнтів з ПТСП, далі – у пацієнтів з РСС і найменшою мірою – у пацієнтів з коморбідною патологією РСС з ПТСП з реактивацією HHV6; б) експресія маркера PD-1 (CD8⁺CD279⁺) та його ліганду PD-1L (CD8⁺CD274⁺) у пацієнтів з РСС, ПТСП та поєднаною патологією РСС з ПТСП на тлі реактивації HHV6 на CD8⁺ Т цитотоксичних лімфоцитах після проведеної терапії підвищилася.

Аналізуючи отримані дані було досліджено, що після лікування інозин пранобексом пацієнтів з РСС та ПТСП з реактивацією HHV6 відбулося посилення «раннього» апоптозу вірусінфікованих клітин CD8⁺ Т клітинами шляхом Gal-9/TIM-3 за участю PD-1/PD-L1 та активація процесу остаточного доведення до апоптозу НК клітинами за участю системи Fas/FasL. Отриманий ефект впливає на обмеження розповсюдження інфекції в організмі. Також, лікування посилило функції регуляторних клітин. Порівняно з пацієнтами інших дослідних груп, найбільш значущі позитивні зміни були у групі пацієнтів з ПТСП. Таким чином, інозину пранобекс, крім противірусної дії, у пацієнтів з ПТСП забезпечує імуномодуючу дію, що, враховуючи етіологію розладу, є дуже перспективним результатом. У пацієнтів з коморбідною патологією РСС+ПТСП з реактивацією HHV6 незначна активація «раннього» апоптозу вірусінфікованих клітин рецепторною системою PD-1/PD-L1 шляхом Gal-9/TIM-3 за допомогою CD8⁺ залишалася на рівні або навіть нижче такого ж показника у контрольній групі. Тобто, у даній групі пацієнтів такий механізм апоптозу не став ведучим. Оновний механізм апоптозу пацієнтів коморбідної групи реалізується за участю рецепторної системи Fas/FasL, який здійснюють НК клітини. Відтак, група пацієнтів з комбінованою патологією потребує більш тривалого етіотропного (противірусного) та патогенетичного (імунорегуляторного) лікування. Проведений нами аналіз переносимості досліджуваного препарату інозин пранобекс у добовій дозі 100 мг/кг/добу при лікуванні пацієнтів трьох груп на тлі реактивації HHV6. Пацієнти відзначили

переносимість препарату як «добру» – 48 (80,0%), «задовільну» - 12 (20,0%) осіб, незадовільної не було.

Висновки до розділу 4:

1. Уперше показано, що у пацієнтів з постковідним синдромом на тлі реактивації HHV-6 були достовірно знижені рівні Fas ($p < 0,01$), TIM-3 ($p < 0,01$) і висока експресія активаційно-регуляторного маркера CD38 ($p < 0,01$) після середнього ступеня COVID-19 в анамнезі на відміну від пацієнтів після важкого перебігу COVID-19. Виявлене посилення експресії CD38 ($p < 0,01$) навіть після легкого перебігу COVID-19. Отримані дані дозволяють розглядати Fas, TIM-3 і CD38 як предиктивні маркери формування постковідного синдрому після легкого та середнього перебігу COVID-19. Зниження експресії Fas ($p = 0,019$) у пацієнтів із ПТСР може бути використане для прогнозування розвитку неврологічних і когнітивних ускладнень даної патології.

2. Доведено, що реактивація HHV-6 у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР призводить до зниження цитотоксичної активності імунокомпетентних клітин і розбалансування активізаційно-регуляторних механізмів імунної відповіді. Рівень експресії інгібіторного рецептора TIM-3 (CD56+/366+) доцільно використовувати як обґрунтування необхідності корекції лікувальної тактики з включенням протівірусної імуномодулюючої терапії.

3. Показано, що тривалий курс лікування інозин пранобексом пацієнтів з постковідним синдромом, ПТСР і коморбідною патологією продемонстрував клінічну (60,4 %), вірусологічну (62,9 %) та імунологічну ефективності, що проявлялось покращенням загального стану та якості життя пацієнтів, зменшенням клінічної симптоматики, позитивними достовірними змінами лабораторних показників і зниженням вірусного навантаження у всіх біологічних середовищах. Терапія супроводжувалась підсиленням процесів апоптозу на NK-клітинах і CD8 цитотоксичних лімфоцитах з посиленням регуляторної активності Т-хелперів.

4. Встановлено, що імуномодулюючий ефект інозин пранобексу щодо CD8+ цитотоксичних лімфоцитів реалізувався через активацію механізмів «раннього»

апоптозу вірусінфікованих клітин за участю PD-1/PD-L1 шляхом Gal-9/TIM-3 та активації процесу остаточного доведення їх до апоптозу НК- клітинами за участю системи Fas/FasL, що має ключове значення в обмеженні поширення вірусної інфекції в організмі.

5. Уперше запропоновано і впроваджено в практичну діяльність графічно-логістичні моделі прогнозу формування ПТСР і постковідного синдрому після перенесеного COVID-19 у різних формах перебігу на тлі реактивації HHV-6, які ґрунтуються на ступенях зниження експресії Fas ($p=0,0001$), FasL ($p=0,001$), PD-1 ($p=0,001$), PD-1L ($p=0,003$) і дозволяють обґрунтувати доцільність проведення тривалої противірусної терапії з імуномодулюючою дією інозин пранобексом.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі запропоновано шляхи вирішення актуального наукового та практичного завдання, яке полягало в оцінці стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу, оптимізації діагностики зумовленої герпесвірусом імунопатології, прогностичних моделей формування постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з підбором ефективної противірусної та імуномодулюючої терапії.

1. У пацієнтів після COVID-19 і стресу в анамнезі встановлені клінічні характеристики, що відповідали ПТСР і постковідному синдрому (РСС) і супроводжувались достовірними змінами лабораторних показників: лімфопенія – у 18,9 % осіб, лімфоцитоз – у 32,9 %, моноцитоз – у 39,2 %, нейтропенія – 22,8 %, а в 34,1 % пацієнтів – підвищення кількості нейтрофілів, підвищення рівнів СРП - у 23,4 %, ШОЕ - у 24,1 %, печінкових ферментів у 11,4 %. Виявлені клінічні та лабораторні дані свідчили про дисрегуляцію імунної відповіді та вказували на високий ризик формування імунопатології, що посилювався на тлі реактивації HHV-6.

2. У пацієнтів з постковідним синдромом після тяжкого перебігу COVID-19 в анамнезі на тлі реактивації HHV-6 виявлено: зниження кількості CD3⁺ Т клітин ($p=0,009$), NK клітин ($p=0,013$), CD8⁺ Т клітин ($p=0,008$), CD4⁺ Т клітин ($p=0,045$) і CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg клітин на тлі підвищення кількості В лімфоцитів CD19⁺ ($p=0,0002$) порівняно з відповідними пацієнтами без HHV-6, що сигналізує про формування дефіциту за клітинним типом з порушенням регуляторного контролю імунної відповіді.

3. У пацієнтів з ПТСР на тлі реактивації HHV-6 виявлене достовірне зниження кількості CD3⁺ Т клітин ($p<0,05$), тенденцію до зниження CD8⁺ Т клітин, CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg клітин, CD4⁺ Т клітин при одночасному підвищенні кількості В лімфоцитів CD19⁺ і NK клітин ($p<0,05$). Виявлені зміни вказували, що реактивація HHV-6 розбалансовує хелперно-супресорний тип регуляції і посилює ризик автоагресії за гуморальним і цитотоксичним механізмами.

4. Уперше встановлено, що у пацієнтів з постковідним синдромом експресія інгібіторного рецептора TIM-3 на НК клітинах була зниженою порівняно з контрольною групою, причому достовірно нижчі рівні виявлені на тлі реактивації HHV-6 ($p < 0,01$), що вказувало на пригнічення апоптичної активності з ймовірним ризиком формування імунних порушень за Th1-типом.

5. Уперше показано, що у пацієнтів з постковідним синдромом на тлі реактивації HHV-6 були достовірно знижені рівні Fas ($p < 0,01$), TIM-3 ($p < 0,01$) і висока експресія активаційно-регуляторного маркера CD38 ($p < 0,01$) після середнього ступеня COVID-19 в анамнезі на відміну від пацієнтів після важкого перебігу COVID-19. Виявлене посилення експресії CD38 ($p < 0,01$) навіть після легкого перебігу COVID-19. Отримані дані дозволяють розглядати Fas, TIM-3 і CD38 як предиктивні маркери формування постковідного синдрому після легкого та середнього перебігу COVID-19. Зниження експресії Fas ($p = 0,019$) у пацієнтів із ПТСР може бути використане для прогнозування розвитку неврологічних і когнітивних ускладнень даної патології.

6. Доведено, що реактивація HHV-6 у пацієнтів з постковідним синдромом і ПТСР призводить до зниження цитотоксичної активності імунокомпетентних клітин і розбалансування активізаційно-регуляторних механізмів імунної відповіді. Рівень експресії інгібіторного рецептора TIM-3 (CD56+/366+) доцільно використовувати як обґрунтування необхідності корекції лікувальної тактики з включенням протівірусної імуномодулюючої терапії.

7. Показано, що тривалий курс лікування інозин пранобексом пацієнтів з постковідним синдромом, ПТСР і коморбідною патологією продемонстрував клінічну (60,4 %), вірусологічну (62,9 %) та імунологічну ефективності, що проявлялось покращенням загального стану та якості життя пацієнтів, зменшенням клінічної симптоматики, позитивними достовірними змінами лабораторних показників і зниженням вірусного навантаження у всіх біологічних середовищах. Терапія супроводжувалась підсиленням процесів апоптозу на НК-клітинах і CD8 цитотоксичних лімфоцитах з посиленням регуляторної активності Т-хелперів.

8. Встановлено, що імуномодулюючий ефект інозин пранобексу щодо CD8+ цитотоксичних лімфоцитів реалізувався через активацію механізмів «раннього» апоптозу вірусінфікованих клітин за участю PD-1/PD-L1 шляхом Gal-9/TIM-3 та активації процесу остаточного доведення їх до апоптозу NK- клітинами за участю системи Fas/FasL, що має ключове значення в обмеженні поширення вірусної інфекції в організмі.

9. Уперше запропоновано і впроваджено в практичну діяльність графічно-логістичні моделі прогнозу формування ПТСР і постковідного синдрому після перенесеного COVID-19 у різних формах перебігу на тлі реактивації HHV-6, які ґрунтуються на ступенях зниження експресії Fas ($p=0,0001$), FasL ($p=0,001$), PD-1 ($p=0,001$), PD-1L ($p=0,003$) і дозволяють обґрунтувати доцільність проведення тривалої противірусної терапії з імуномодулюючою дією інозин пранобексом.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

У результаті проведеної роботи нами вибрані параметри, які достовірно відрізнялися від контролю. На основі цих характерних змін (тобто тенденції до підвищення/зниження) рекомендуємо лікування інозин пранобексом.

1. Постковідний синдром (РСС) після **легкого** перебігу COVID-19 з реактивацією HHV-6: $CD19^+ > 20,71 \pm 11,25 \%$, $CD56^+95^+$ (Fas) $< 0,94 \pm 0,55 \%$, $CD56^+366^+$ (Tim-3) $< 1,59 \pm 0,66 \%$ – призначаємо інозин пранобекс (рис. 1).

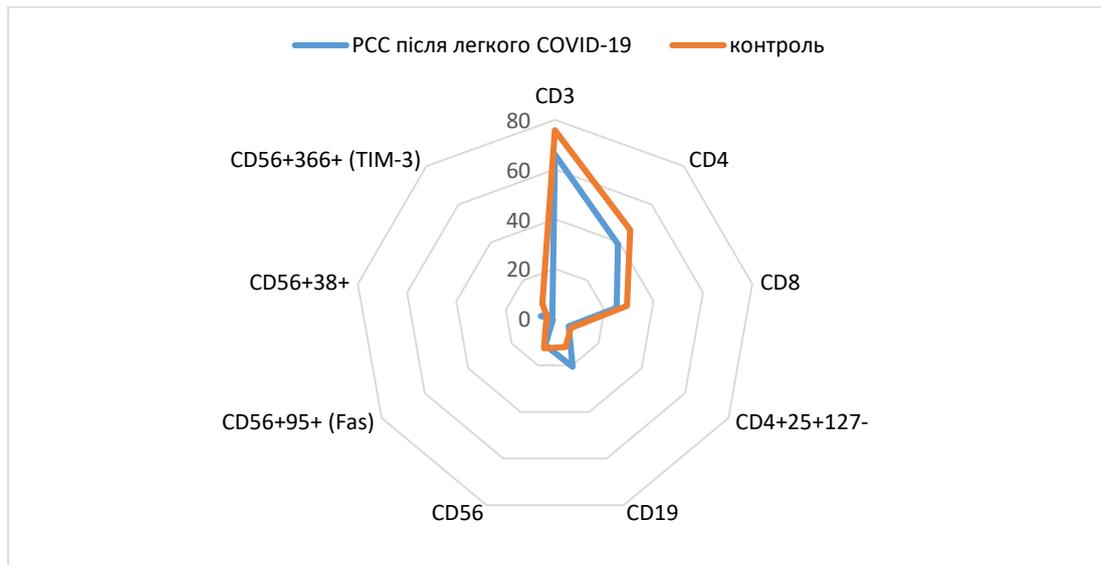


Рис 1. Графічно-логістична модель достовірних змін основних імунологічних параметрів $CD19^+$, $CD56^+95^+$ (Fas) та $CD56^+366^+$ (Tim-3) на тлі інших параметрів імунограми пацієнтів з РСС після **легкого** перебігу COVID-19 в анамнезі з реактивацією HHV-6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом.

2. Постковідний синдром (РСС) після **середньої** тяжкості перебігу COVID-19 в анамнезі з реактивацією HHV-6: $CD19^+ > 23,67 \pm 14,47 \%$; $CD56^+95^+$ (Fas) $< 1,26 \pm 0,56 \%$; $CD56^+38^+ > 7,09 \pm 3,58 \%$; $CD56^+366^+$ (Tim-3) $< 2,58 \pm 1,43 \%$ – призначаємо інозин пранобекс (рис. 2).

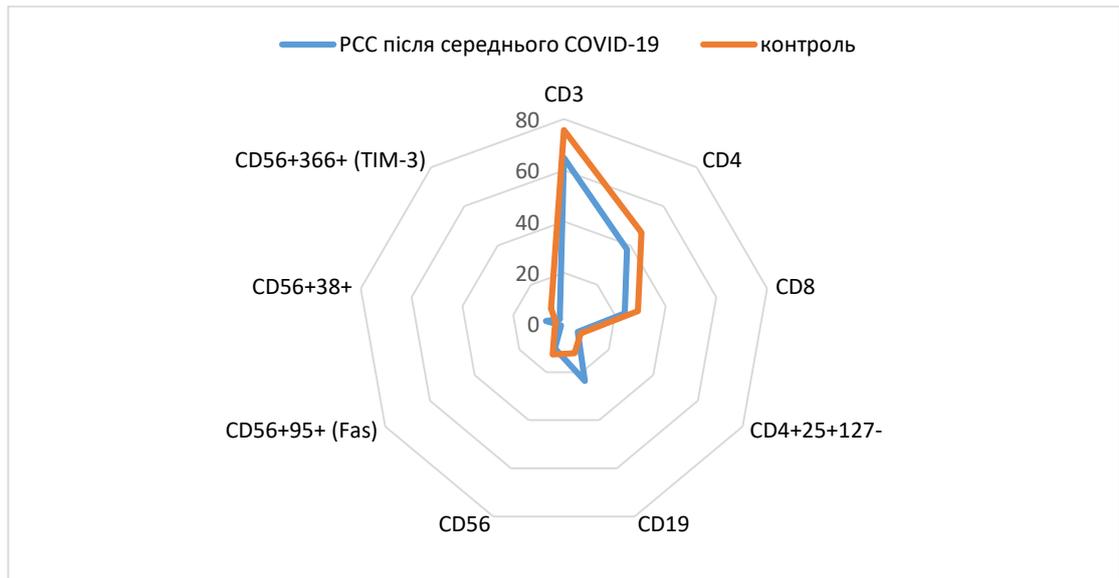


Рис 2. Графічно-логістична модель статистично достовірних змін основних імунологічних параметрів $CD19^+$, $CD56^+95^+$ (Fas), $CD56^+38^+$ та $CD56^+366^+$ (Tim-3) на тлі інших параметрів імунограми пацієнтів з постковідним синдромом (PCC) після перебігу **середньої** тяжкості COVID-19 з реактивацією HHV-6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом.

3. Постковідний синдром (PCC) після **тяжкого** перебігу COVID-19 з реактивацією HHV-6: $CD3^+ < 58,38 \pm 19,56 \%$; $CD19^+ > 32,46 \pm 18,83 \%$; $CD56^+ > 7,23 \pm 2,51 \%$, $CD4^+ < 36,16 \pm 12,33 \%$; $CD8^+ < 20,22 \pm 7,55 \%$; $CD4^+25^+127^- < 5,17 \pm 1,73 \%$; $CD56^+38^+ > 7,01 \pm 3,45 \%$; $CD56^+366^+$ (Tim-3) $< 2,55 \pm 1,47 \%$ - призначаємо інозин пранобекс (рис. 3).

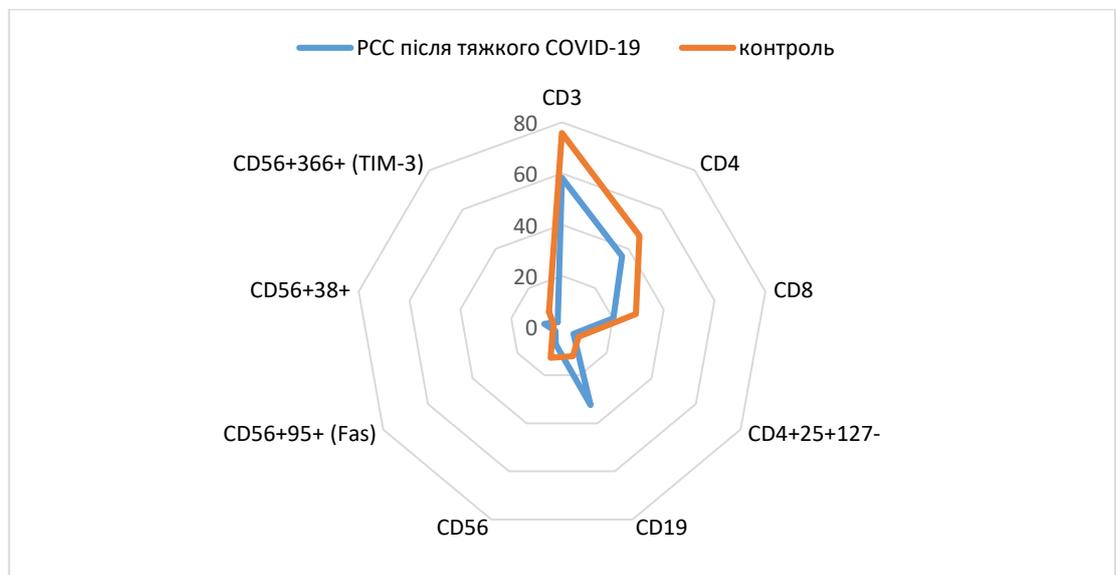


Рис 3. Графічно-логістична модель статистично достовірних змін основних імунологічних параметрів CD3⁺, CD19⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺25⁺127⁻, CD56⁺38⁺ та CD56⁺366⁺ (Тім-3) на тлі інших параметрів імунограми пацієнтів з постковідним синдромом (РСС) після **тяжкого** перебігу COVID-19 з реактивацією HHV-6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом.

4. На основі отриманих результатів вибрано ведучі імунологічні параметри, за якими відрізнялися лабораторні покази до лікування у пацієнтів з постковідним синдромом після **легкого, середнього і важкого** перебігу COVID-19 в анамнезі з реактивацією HHV-6 (рис. 4).

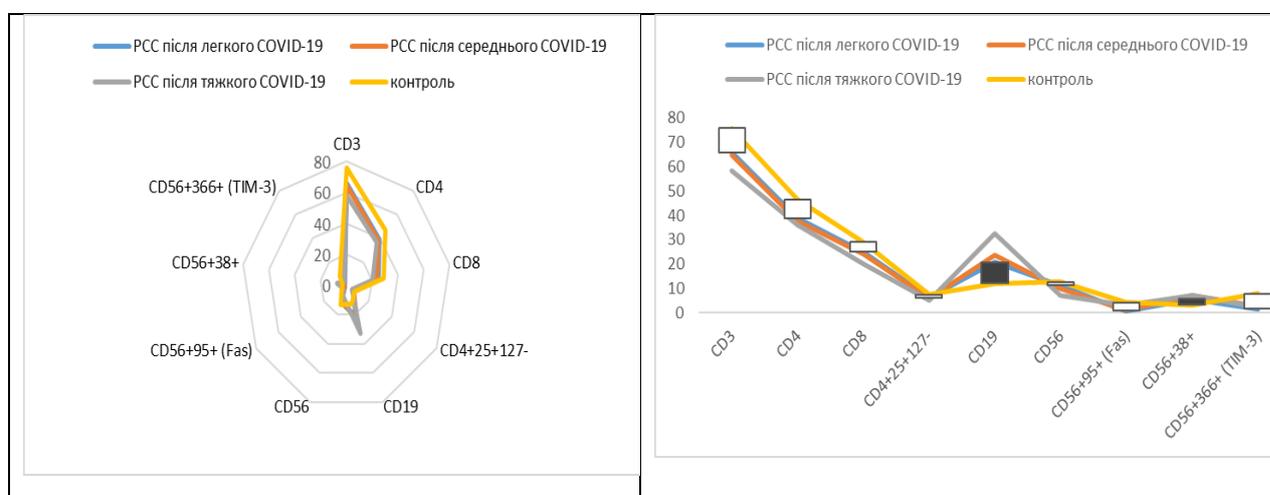


Рис 4. Графічно-логістична модель порівняння найбільш інформативних достовірних змін імунологічних параметрів CD3⁺, CD19⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺25⁺127⁻, CD56⁺95⁺ (Fas), CD56⁺38⁺ та CD56⁺366⁺ (Тім-3) у пацієнтів з постковідним синдромом (РСС) після **легкого, середнього і важкого** перебігу COVID-19 з реактивацією HHV-6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом (зліва); графічне відображення тенденції до зниження (білі квадратики) та підвищення (чорні) параметрів.

5. Пацієнти з **РСС** (загальна група, без поділу на легкий, середній і важкий COVID-19 в анамнезі) з реактивацією герпесвірусу HHV6: якщо рівні CD4⁺CD25⁺CD127⁻ <4,28±3,22 %; CD56⁺CD95⁺(Fas) <2,51±1,45 %; <CD56⁺CD178⁺(FasL) 1,03±0,72 %; CD8⁺CD279⁺ (PD-1) <2,91±1,66 %,

CD8⁺CD274⁺(PD-1L) <3,76±1,15 %, що є підставою для призначення інозин пранобексу (рис. 5).

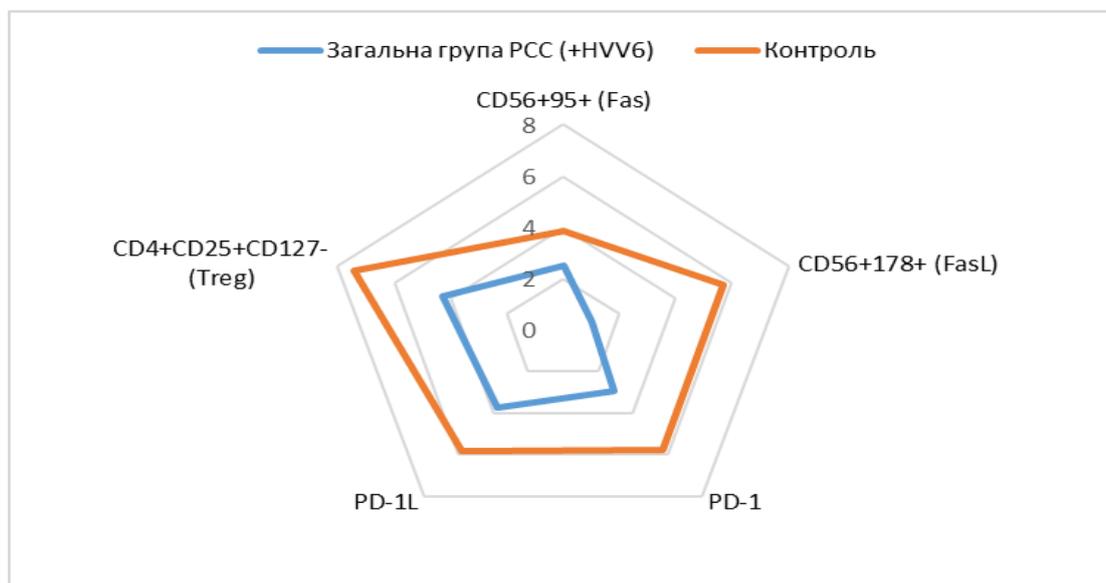


Рис 5. Графічно-логістична модель статистично достовірних змін основних імунологічних параметрів CD4⁺CD25⁺CD127⁻, CD56⁺95⁺ (Fas) CD56⁺CD178⁺(FasL), CD8⁺CD279⁺ (PD-1) і CD8⁺CD274⁺(PD-1L) у пацієнтів загальної групи з постковідним синдромом (ПСС) з реактивацією HHV-6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом.

6. Якщо у пацієнтів з ПТСР з реактивацією HHV-6 отримуємо результати CD4⁺CD25⁺CD127⁻ <4,06±2,97 %; CD56⁺95⁺ (Fas) <2,08±1,11 %; CD56⁺178⁺ (FasL) <1,05±0,66 %; CD8⁺CD279⁺ (PD-1) <3,44±1,68 %; CD8⁺CD274⁺(PD-1L) <4,18±2,32%, то вони є підставою для призначення інозин пранобексу (рис.6).

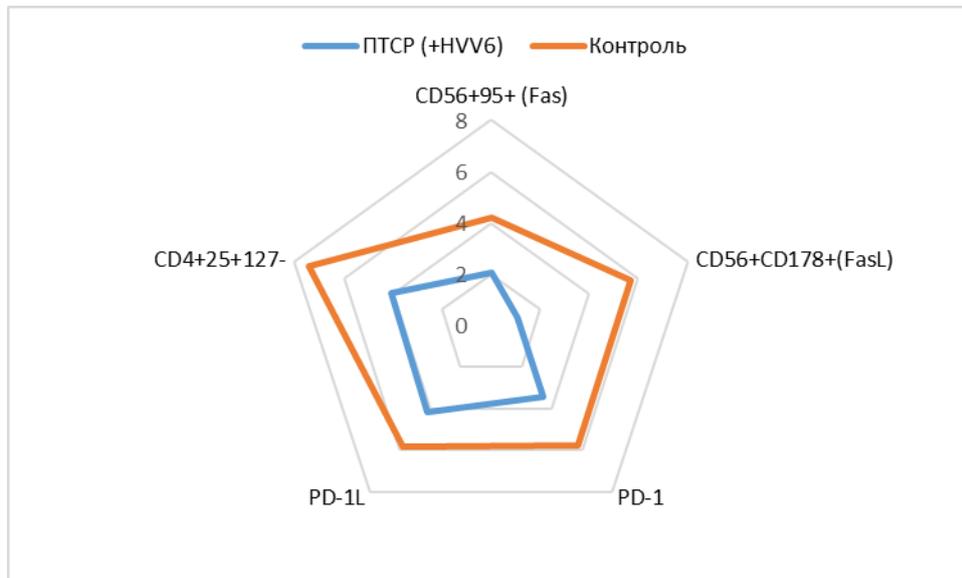


Рис. 6. Графічно-логістична модель статистично достовірних змін основних імунологічних параметрів CD4⁺CD25⁺CD127⁻, CD56⁺95⁺ (Fas) CD56⁺CD178⁺(FasL), CD8⁺CD279⁺ (PD-1) та CD8⁺CD274⁺(PD-1L) пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом (ПТСР) з реактивацією HHV-6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом.

7. Якщо у пацієнтів з **поєднаною патологією РСС + ПТСР** на тлі реактивації герпесвірусу HHV6 отримуємо результати: CD4⁺25⁺127⁻ <5,85±3,10 %; CD56⁺CD95⁺(Fas) <1,32±0,82 %; CD56⁺CD178⁺(FasL) <1,05±0,65 %; CD8⁺CD279⁺ (PD-1) <2,44±1,14 %; CD8⁺CD274⁺(PD-1L) <3,11±1,96 %, що є підставою для призначення інозин пранобексу (рис. 7).

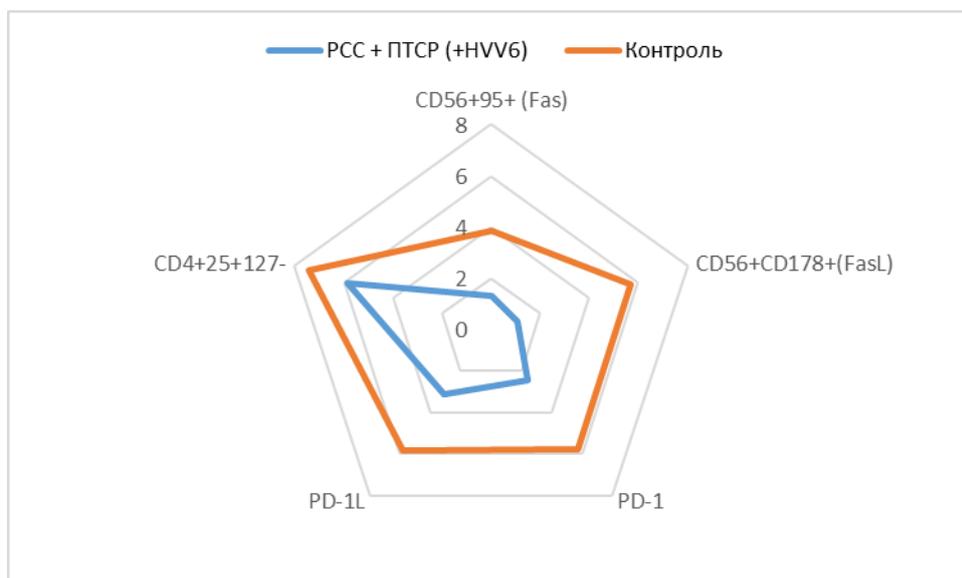


Рис 7. Графічно-логістична модель статистично достовірних змін основних імунологічних параметрів $CD4^+CD25^+CD127^-$, $CD56^{+}/95^+$ (Fas) $CD56^+CD178^+(FasL)$, $CD8^+CD279^+$ (PD-1) і $CD8^+CD274^+(PD-1L)$ пацієнтів загальної групи з посттравматичним стресовим розладом (ПТСР) з реактивацією HHV6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом.

8. На основі отриманих результатів вибрано ведучі імунологічні параметри, за якими відрізнялися лабораторні покази до лікування у пацієнтів загальної групи з постковідним синдромом (PCC) COVID-19, ПТСР та пацієнтів з поєднаною патологією PCC + ПТСР з реактивацією HHV6 (рис. 8).

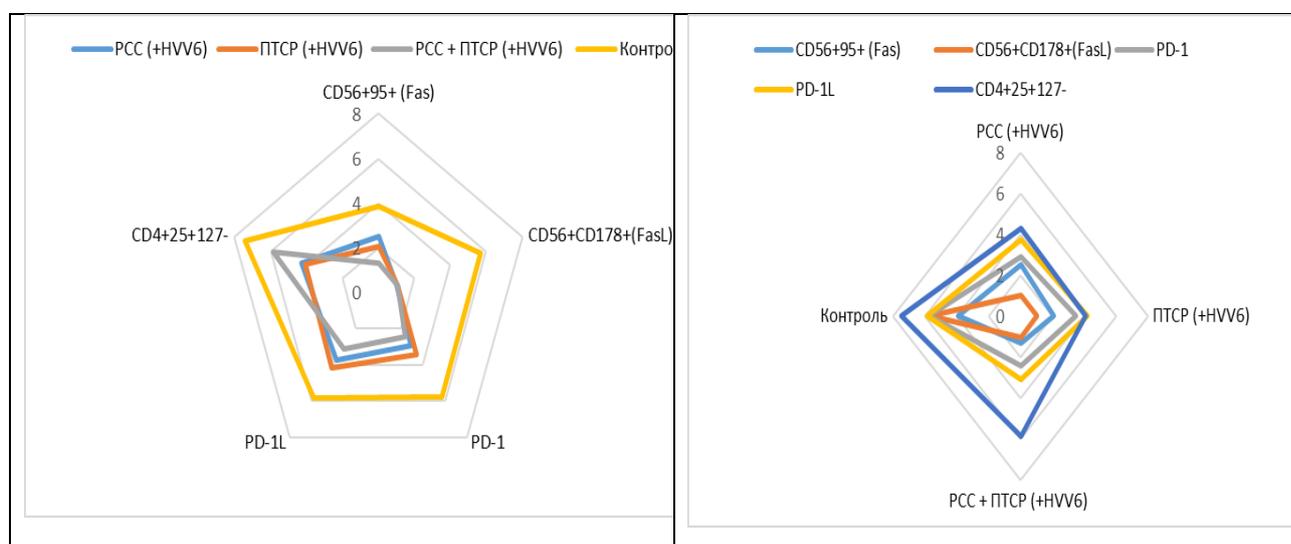


Рис 8. Графічно-логістична модель порівняння ведучих статистично достовірних змін імунологічних параметрів $CD4^+25^+127^-$, $CD56^+95^+$ (Fas), $CD56^+CD178^+(FasL)$, $CD8^+CD279^+$ (PD-1) та $CD8^+CD274^+(PD-1L)$ у пацієнтів загальної групи з PCC, ПТСР і пацієнтів з коморбідною патологією PCC + ПТСР з реактивацією HHV6, яка відображає лабораторні покази до лікування інозин пранобексом; порівняння за ведучими імунологічними параметрами (зліва); за діагнозами хворих (справа).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Білоконь ОО, Литвин КЮ. Оцінка рівня сироваткового інтерлейкіну-10 залежно від демографічних та загальних клініко-лабораторних характеристик коронавірусної хвороби-19 у госпіталізованих пацієнтів. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2024;(1): 21-27. DOI: <https://doi.org/10.30978/TB2024-1-21>
2. Гевкалюк НО, Пальчевський ТВ. Пост-COVID-19-синдром: діагностичні критерії, механізми патогенезу та імунна відповідь слизових оболонок. Огляд літератури. Клінічна стоматологія. 2023;(4):93-104. DOI: 10.11603/2311-9624.2023.4.14502
3. Горбаченко ВА, Олянін ВВ, Лук'янець ОО. Фізіологічні механізми стресу та посттравматичний стресовий розлад. Фізіол журн. 2024;70(6):98-109.
4. Гур'єв СО, Кравцов ДІ, Ордатій АВ, Казачков ВС. Клініко-нозологічна та клініко-анатомічна характеристика постраждалих із мінно-вибуховою травмою на ранньому госпітальному етапі надання медичної допомоги в умовах сучасних бойових дій на прикладі проведення антитерористичної операції на сході України. Хірургія України. 2016;(1):7-11.
5. Дуда ОК, Манжелеєва ІВ, Вега АР. Постковідний синдром – нова актуальна проблема сучасної медицини. Інфекційні хвороби. 2020;(4):5-11. DOI: 10.11603/1681-2727.2020.4.11890
6. Зубченко С, Кріль І, Надіжко О, Гаєвський В, Гайдучок І, Могильницька Л. Посттравматичний стресовий розлад: клініко-лабораторні зміни та перспектива імунних порушень = Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Gayevsky V, Hayduchok I, Mogylnytska L. Post-traumatic stress disorder: clinical and laboratory changes and potential for immune disorders. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2023;71(1):168-183.
7. Зубченко С, Надіжко О, Горбаль Н, Гайдучок І, Гаспарян А. Науково-практична конференція X міжнародні Різдвяні читання у Львові «COVID-19, LONG-COVID-19, постковідний синдром: їх багатолікість та імунні порушення» Zubchenko S, Nadizhko O, Horbal N, Gaiduch I, Gasparyan A. 10th

- International Scientific-Practical Conference «Christmas Readings in Lviv»: «COVID-19, LONG-COVID-19, POST-COVID-19: their multiplicity and immune disorders». Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2022;66(1):22-35. DOI: 10.25040/ntsh2022.01.03
8. Зубченко С, Надіжко О, Кріль І, Гаврилюк А, Бакун О-Н, Чопяк В. Дослідження ефективності імунотропної терапії з long COVID на тлі реактивації герпесвірусу людини 6 типу = Zubchenko S, Nadizhko O, Kril I, Havrylyuk A, Bakun O-N, Chopyak V. Study of the effectiveness of immunotropic therapy of long COVID patients with type 6 of human herpes virus eactivation. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2024;73(1):240-253. DOI: 10.25040/ntsh2024.01.17
 9. Зубченко СО, Гаврилюк АМ, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Fas-FasL як ключова система функціонування натуральних кілерів при посттравматичному стресовому розладі Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія. 2024;77(3):58-64. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820860>
 10. Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ, Чопяк ВВ. Поширеність герпесвірусних інфекцій серед пацієнтів з посттравматичними стресовими розладами: дані пілотного проекту. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2023;(3-4):5-12. DOI: 10.37321/immunology.2022.3-4-01
 11. Зубченко СО, Надіжко ОМ. Оцінка ефективності препарату Новірин Форте в пацієнтів із тривалим COVID за реактивації вірусу герпесу 6 типу. Здоров'я України 21 сторіччя. 2024;(6):11. DOI: <https://surli.cc/xvolwy>
 12. Курченко АІ, Федорук ГВ, Савченко ВС. Оцінка стану клітинного та гуморального імунітету людини під впливом препарату есберітокс на фоні вакцинації від SARS-COV-2. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2021;(4):23-33. doi:10.37321/immunology.2021.4-01
 13. Литвин КЮ, Білоконь ОО, Кушнерова ОА, Губар ІО, Волікова ОО. Стратифікація груп пацієнтів залежно від перебігу COVID-19 з урахуванням рівня інтерлейкінів-10 і -6 та їхнього співвідношення. Туберкульоз, легеневі

хвороби, ВІЛ-інфекція. 2025;(4):41-50. DOI: <https://doi.org/10.30978/TB2025-4-41>

- 14.Лінський ІВ, Підкоритов ВС, Кузьмінов ВН, Денисенко ММ, Заворотний ВІ, Лакинський РВ. та ін. Динаміка постстресової симптоматики у пацієнтів зі стрес-асоційованими розладами протягом стандартного стаціонарного
Український вісник психоневрології. 2025;33(1):4-12.
- 15.Лоскутов ОЄ, Доманський АМ, Олійник ОЄ, Жердев П. Помилки надання медичної допомоги при вогнепальних пораненнях кінцівок. Вісник морської медицини. 2016;(2):228-232.
- 16.Макієнко НВ, Мінухін ВВ, Коляда ТІ, Торяник П, Скляр АІ. Основні клініко-імунологічні аспекти постковідного синдрому. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022;(3):21-27. DOI: 10.5281/zenodo.7070908
- 17.Малий ВП, Асоян ІМ., Сай ІВ, Андрусович ІВ. Патогенез коронавірусної інфекції COVID-19. *Інфекційні хвороби*. 2020;(3):73-83. DOI 10.11603/1681-2727.2020.3.11555
- 18.Мальцев ОВ. Спорідненість вражень щодо впливу чинників бойового середовища на військовослужбовців, які брали участь в антитерористичній операції. *Український журнал з проблем медицини праці*. 2017;(4):42-53.
- 19.Міщиха ЛП, Якубовська Ю, Курилів ГМ. Психонейроімунологічні аспекти постковідного синдрому. *Психіатрія, неврологія та медична психологія = Psychiatry, Neurology and Medical Psychology*. 2021;16:58-65. DOI: 10.26565/2312-5675-2021-16-07
- 20.Остапченко ЛІ, Гребіник ДМ. Курс лекцій зі спецкурсу Біохімічні механізми ушкодження клітин та молекулярні механізми клітинної загибелі. Київ: В-во КНУ імені Тараса Шевченка; 2014. 92 с.
- 21.Павлікова КВ, Лядова ТІ, Волобуєва ОВ, Гаміловська АП, Шепилєва НВ. Клініко-імунологічна ефективність різних схем терапії у хворих на інфекційний мононуклеоз викликаний вірусом Епштейна-Барр. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія*

- «Медицина» = The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series «Medicine». 2021;(43):73-82. DOI:10.26565/2313-6693-2021-43-08
- 22.Павлікова КВ, Лядова ТІ, Волобуєва ОВ, Чернуський ВГ. Імунні та метаболічні порушення при гострій вірусній інфекції Епштейна-Барр: клінічне значення та підходи до терапії. = Pavlikova KV, Liadova TI, Volobuieva OV, Chernusky VH. Immune and metabolic violations in acute Epstein-Barr virus infection: clinical significance and approaches to therapy. Каразінський імунологічний журнал = Karazin Journal of Immunology. 2025;8(1): 60-71. DOI:<https://doi.org/10.26565/3083-5615-2025-15-05>
- 23.Перцева ТО, Конопкіна ЛІ, Басіна БО, Гордієнко ЮА. Роль матриксних металопротеїназ у визначенні особливостей системного запалення при хронічному обструктивному захворюванні легень. Медичні перспективи. 2017;17(2):45-49.
- 24.Пилипенко В. М. Нейроендокринні порушення при COVID-19 і постковідному синдромі й особливості їх лікування препаратами гамма-аміномасляної кислоти (огляд літератури і власні дані). Міжнародний неврологічний журнал. 2021;17(1):6-16.
- 25.Радецька ЛВ, Лаба ІО, Смачило АІ, Нечаєва ОО, Лопатенко КО., Баумер ММ. Особливості проявів бойових стресових розладів у поранених військовослужбовців Збройних Сил України – учасників бойових дій. Медсестринство. 2020;(4):23-26. DOI: 10.11603/2411-1597.2020.4.11868
- 26.Самчук ОО, Капустинська ОС, Склярів ЄЯ. Поширеність деяких коморбідних станів при коронавірусній хворобі. Клінічна та експериментальна патологія. 2021;20(4):66-73.
DOI: 10.24061/1727-4338.XX.4.78.2021.8
- 27.Самчук ОО, Капустинська ОС, Склярів ЄЯ. Особливості перебігу коронавірусної хвороби при серцевій недостатності. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2021;(3):153-156. DOI: 10.11603/1811-2471.2021.v.i3.12201.

28. Сидоренко АГ. Противірусні препарати при лікуванні COVID-19. Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2023;23(2.2):156-159. DOI: 10.31718/2077-1096.23.2.2.156
29. Скоропліт СМ, Михневич КГ, Замятін ПМ, Хорошун ЕМ., Бородай ВО, Тертишний СВ, та ін. Особливості сучасної бойової травми та організації медичної допомоги. Харківська хірургічна школа. 2022;(6):51-63. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.6.2022.10>
30. Чопяк ВВ, Гаврилюк АМ, Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Дисрегуляція імунної відповіді та її клінічні наслідки при посттравматичному стресовому розладі. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;(3-4):5-12.
31. Чорна ВВ., Заводяк АЮ., Матвійчук МВ., Івашкевич ЄМ., Сивак ВМ., Слободян ВВ, та ін. Тяжкість ушкоджень при мінно-вибуховій травмі залежно від місця знаходження особи на момент вибуху. Український журнал військової медицини. 2023;4(3):70-77. DOI:10.46847/ujmm.2023.3(4)-070
32. Чуклін СМ, Чуклін СС, Бариляк РВ. Нейтрофільні позаклітинні пастки як терапевтична мішень при системних ускладненнях гострого панкреатиту. Фізіол журн. 2022;68(6):80-89.
33. Шелестова ОВ. Медико-психологічні чинники розладів військово-професійної адаптації військовослужбовців. Медична психологія. 2017;12(3):32-36.
34. Юр'єва ЛМ, Шорніков АВ. Психотичні розлади при COVID-19: механізми розвитку, особливості клініки та терапії. Український вісник психоневрології. 2020;28(4):13-17. DOI: <https://doi.org/10.36927/2079-0325-V28-is4-2020-2>
35. Ablashi D, Agut H, Alvarez-Lafuente R, Clark DA, Dewhurst S, DiLuca D, et al. Classification of HHV-6A and HHV-6B as distinct viruses. Arch Virol. 2014 May;159(5):863-70. doi: 10.1007/s00705-013-1902-5.
36. Ahn E, Araki K, Hashimoto M, et al. Role of PD-1 during effector CD8 T cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(18):4749-4754. doi:10.1073/pnas.1718217115.

37. Aimola G, Beythien G, Aswad A, Kaufer BB. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *Antiviral Res.* 2020 Apr;176:104720. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104720.
38. Albert MC, Uranga-Murillo I, Arias M, De Miguel D, Peña N, Montinaro A, et al. Identification of FasL as a crucial host factor driving COVID-19 pathology and lethality. *Cell Death Differ.* 2024 May;31(5):544-557. doi: 10.1038/s41418-024-01278-6.
39. Almine JF, O'Hare CA, Dunphy G, Haga IR, Naik RJ, Atrih A, et al. IFI16 and cGAS cooperate in the activation of STING during DNA sensing in human keratinocytes. *Nat Commun.* 2017 Feb 13;8:14392. doi: 10.1038/ncomms14392.
40. Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, Hadley SH, Luegmayer A, Ablashi D, et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Mar 23;107(12):5563-8. doi: 10.1073/pnas.0913586107.
41. Asanova A, Khaustova O, Abdriakhimov R, Sapon D, Kleban K, Rakhman L. Cognitive impairment in patients hospitalized with COVID-19 pneumonia: correlation with demographic, clinical and emotional profile. *Wiadomości Lekarskie.* 2022;75(8, pt 1):1868-1875. DOI: 10.36740/WLek202208109
42. Ashrafi F, Nematollahi P, Salmasi M, Hedayat A, Amra B. Association of lymphocyte subsets with mortality in severe COVID-19 pneumonia patients. *J Clin Lab Anal.* 2021 Nov;35(11):e24046. doi: 10.1002/jcla.24046.
43. Azzi T, Lünemann A, Murer A, Ueda S, Béziat V, Malmberg KJ, et al. Role for early-differentiated natural killer cells in infectious mononucleosis. *Blood.* 2014 Oct 16;124(16):2533-2543. doi: 10.1182/blood-2014-01-553024.
44. Baiocchi GC, Vojdani A, Rosenberg AZ, Vojdani E, Halpert G, Ostrinski Y, et al. Cross-sectional analysis reveals autoantibody signatures associated with COVID-19 severity. *J Med Virol.* 2023 Feb;95(2):e28538. doi: 10.1002/jmv.28538.
45. Bam M, Yang X, Busbee BP, Aiello AE, Uddin M, Ginsberg JP, et al. Increased H3K4me3 methylation and decreased miR-7113-5p expression lead to enhanced Wnt/ β -catenin signaling in immune cells from PTSD patients leading to

- inflammatory phenotype. *Mol Med*. 2020 Nov 14;26(1):110. doi: 10.1186/s10020-020-00238-3.
46. Barozzi P, Riva G, Vallerini D, Quadrelli C, Lagreca I, Eccheli R, et al. Circulating functional T cells specific to human herpes virus 6 (HHV6) antigens in individuals with chromosomally integrated HHV6. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Oct;22(10):893-895. doi: 10.1016/j.cmi.2016.07.006.
47. Becerra A, Gibson L, Stern LJ, Calvo-Calle JM. Immune response to HHV-6 and implications for immunotherapy. *Curr Opin Virol*. 2014 Dec;9:154-161. doi: 10.1016/j.coviro.2014.10.001.
48. Béchet S, Dev KK. The Effects of the S1P Receptor Agonist Fingolimod (FTY720) on Central and Peripheral Myelin in Twitcher Mice. *Biomedicines*. 2024 Mar 6;12(3):594. doi: 10.3390/biomedicines12030594.
49. Berentschot JC, Drexhage HA, Aynekulu Mersha DG, Wijkhuijs AJM, GeurtsvanKessel CH, Koopmans MPG, et al. Immunological profiling in long COVID: overall low grade inflammation and T-lymphocyte senescence and increased monocyte activation correlating with increasing fatigue severity. *Front Immunol*. 2023 Oct 10;14:1254899. doi: 10.3389/fimmu.2023.1254899.
50. Bettters DM. Use of Flow Cytometry in Clinical Practice. *J Adv Pract Oncol*. 2015 Sep 1;6(5):435–440. doi: 10.6004/jadpro.2015.6.5.4
51. Björkström NK, Strunz B, Ljunggren HG. Natural killer cells in antiviral immunity. *Nat Rev Immunol*. 2022 Feb;22(2):112-123. doi: 10.1038/s41577-021-00558-3.
52. Bollard CM, Heslop HE. T cells for viral infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Blood*. 2016 Jun 30;127(26):3331-3340. doi: 10.1182/blood-2016-01-628982.
53. Bookwalter DB, Roenfeldt KA, LeardMann CA, Kong SY, Riddle MS, Rull RP. Posttraumatic stress disorder and risk of selected autoimmune diseases among US military personnel. *BMC Psychiatry*. 2020 Jan 15;20(1):23. doi: 10.1186/s12888-020-2432-9.

54. Brooks B, Tancredi C, Song Y, Mogus AT, Huang MW, Zhu H, et al. Epstein-Barr Virus and Human Herpesvirus-6 Reactivation in Acute COVID-19 Patients. *Viruses*. 2022 Aug 25;14(9):1872. doi: 10.3390/v14091872.
55. Bryceson YT, Fauriat C, Nunes JM, Wood SM, Björkström NK, Long EO, et al. Functional analysis of human NK cells by flow cytometry. *Methods Mol Biol*. 2010;612:335-352. doi: 10.1007/978-1-60761-362-6_23.
56. Bygdell M, Leach S, Lundberg L, Gyll D, Martikainen J, Santosa A, et al. A comprehensive characterization of patients diagnosed with post-COVID-19 condition in Sweden 16 months after the introduction of the International Classification of Diseases Tenth Revision diagnosis code (U09.9): a population-based cohort study. *Int J Infect Dis*. 2023 Jan;126:104-113. doi: 10.1016/j.ijid.2022.11.021.
57. Cabral-Marques O, Halpert G, Schimke LF, Ostrinski Y, Vojdani A, Baiocchi GC, et al. Autoantibodies targeting GPCRs and RAS-related molecules associate with COVID-19 severity. *Nat Commun*. 2022 Mar 9;13(1):1220. doi: 10.1038/s41467-022-28905-5.
58. Cao W-J, Wang F-S, Song J-W Characteristics and Potential Roles of Natural Killer Cells During SARS-CoV-2 Infection. *Infect Dis Immun*. 2023;3(1):29-35. <http://dx.doi.org/10.1097/ID9.0000000000000075>
59. Carvalho LFC, Rodrigues FAA Activation of the neuro-immuno-endocrine system for pain treatment. *Int J Health Sci*. 2022;2(44):2-11. DOI: 10.22533/at.ed.1592442202088
60. Caselli E, Zatelli MC, Rizzo R, Benedetti S, Martorelli D, Trasforini G, et al. Virologic and immunologic evidence supporting an association between HHV-6 and Hashimoto's thyroiditis. *PLoS Pathog*. 2012;8(10):e1002951. doi: 10.1371/journal.ppat.1002951.
61. Catanzaro M, Fagiani F, Racchi M, Corsini E, Govoni S, Lanni C. Immune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2. *Signal Transduct Target Ther*. 2020 May 29;5(1):84. doi: 10.1038/s41392-020-0191-1.

62. Chen RY, Zhu Y, Shen YY, Xu QY, Tang HY, Cui NX, et al. The role of PD-1 signaling in health and immune-related diseases. *Front Immunol.* 2023 May 16;14:1163633. doi: 10.3389/fimmu.2023.1163633.
63. Chen X, Huang J, Huang Y, Chen J, Huang Y, Jiang X, et al. Characteristics of immune cells and cytokines in patients with coronavirus disease 2019 in Guangzhou, China. *Hum Immunol.* 2020 Dec;81(12):702-708. doi: 10.1016/j.humimm.2020.08.006.
64. Chopyak V, Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O. Long-COVID: the role of NK cells and herpes virus type 6 activation. In: Abstracts from the 7th Congress for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p. 60. <https://surl.lu/fpjiau>
65. Chowdhury MA, Hossain N, Kashem MA, Shahid MA, Alam A. Immune response in COVID-19: A review. *J Infect Public Health.* 2020 Nov;13(11):1619-1629. doi: 10.1016/j.jiph.2020.07.001.
66. Corbett B, Luz S, Sotuyo N, Pearson-Leary J, Moorthy GS, Zuppa AF, et al. FTY720 (Fingolimod), a modulator of sphingosine-1-phosphate receptors, increases baseline hypothalamic-pituitary adrenal axis activity and alters behaviors relevant to affect and anxiety. *Physiol Behav.* 2021 Oct 15;240:113556. doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113556.
67. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science.* 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063.
68. Das SN, Khare P, Singh MK, Sharma SC. Fas receptor (CD95) & Fas ligand (CD178) expression in patients with tobacco-related intraoral squamous cell carcinoma. *Indian J Med Res.* 2011 Jul;134(1):54-60.
69. Davis HE, McCorkell L, Vogel JM, Topol EJ. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nat Rev Microbiol.* 2023 Mar;21(3):133-146. doi: 10.1038/s41579-022-00846-2.

70. De Clercq E, Naesens L, De Bolle L, Schols D, Zhang Y, Neyts J. Antiviral agents active against human herpesviruses HHV-6, HHV-7 and HHV-8. *Rev Med Virol*. 2001 Nov-Dec;11(6):381-95. doi: 10.1002/rmv.336.
71. de la Roche M, Asano Y, Griffiths GM. Origins of the cytolytic synapse. *Nat Rev Immunol*. 2016 Jul;16(7):421-432. doi: 10.1038/nri.2016.54.
72. Deiss TC, Vadnais M, Wang F, Chen PL, Torkamani A, Mwangi W, et al. Immunogenetic factors driving formation of ultralong VH CDR3 in *Bos taurus* antibodies. *Cell Mol Immunol*. 2019 Jan;16(1):53-64. doi: 10.1038/cmi.2017.117.
73. Deslauriers J, van Wijngaarde M, Geyer MA, Powell S, Risbrough VB. Effects of LPS-induced immune activation prior to trauma exposure on PTSD-like symptoms in mice. *Behav Brain Res*. 2017 Apr 14;323:117-123. doi: 10.1016/j.bbr.2017.01.048.
74. Dhawan M, Rabaan AA, Alwarthan S, Alhajri M, Halwani MA, Alshengeti A, et al. Regulatory T Cells (Tregs) and COVID-19: Unveiling the Mechanisms, and Therapeutic Potentialities with a Special Focus on Long COVID. *Vaccines (Basel)*. 2023 Mar 19;11(3):699. doi: 10.3390/vaccines11030699.
75. Di Vito C, Calcaterra F, Coianiz N, Terzoli S, Voza A, Mikulak J, et al. Natural Killer Cells in SARS-CoV-2 Infection: Pathophysiology and Therapeutic Implications. *Front Immunol*. 2022 Jun 30;13:888248. doi: 10.3389/fimmu.2022.888248.
76. Dursun R, Temiz SA. The clinics of HHV-6 infection in COVID-19 pandemic: Pityriasis rosea and Kawasaki disease. *Dermatol Ther*. 2020 Jul;33(4):e13730. doi: 10.1111/dth.13730.
77. Eliassen E, Di Luca D, Rizzo R, Barao I. The Interplay between Natural Killer Cells and Human Herpesvirus-6. *Viruses*. 2017 Dec 1;9(12):367. doi: 10.3390/v9120367.
78. Elkhatib SK, Moshfegh CM, Watson GF, Case AJ. T-lymphocyte tyrosine hydroxylase regulates T_H17 T-lymphocytes during repeated social defeat stress. *Brain Behav Immun*. 2022 Aug;104:18-28. doi: 10.1016/j.bbi.2022.05.007.

79. Fleshner M, Frank M, Maier SF. Danger Signals and Inflammasomes: Stress-Evoked Sterile Inflammation in Mood Disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2017 Jan;42(1):36-45. doi: 10.1038/npp.2016.125.
80. Forrester JV, McMenamin PG, Dando SJ. CNS infection and immune privilege. *Nat Rev Neurosci*. 2018 Nov;19(11):655-671. doi: 10.1038/s41583-018-0070-8.
81. Francisco V, Ruiz-Fernández C, Pino J, Mera A, González-Gay MA, Gómez R, et al. Adipokines: Linking metabolic syndrome, the immune system, and arthritic diseases. *Biochem Pharmacol*. 2019 Jul;165:196-206. doi: 10.1016/j.bcp.2019.03.030.
82. Franklin TC, Xu C, Duman RS. Depression and sterile inflammation: Essential role of danger associated molecular patterns. *Brain Behav Immun*. 2018 Aug;72:2-13. doi: 10.1016/j.bbi.2017.10.025.
83. Gerdemann U, Keukens L, Keirnan JM, Katari UL, Nguyen CT, de Pagter AP, et al. Immunotherapeutic strategies to prevent and treat human herpesvirus 6 reactivation after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2013 Jan 3;121(1):207-218. doi: 10.1182/blood-2012-05-430413.
84. Gracia-Ramos AE, Martin-Nares E, Hernández-Molina G. New Onset of Autoimmune Diseases Following COVID-19 Diagnosis. *Cells*. 2021 Dec 20;10(12):3592. doi: 10.3390/cells10123592.
85. Haderlein TP, Wong MS, Yuan A, Llorente MD, Washington DL. Association of PTSD with COVID-19 testing and infection in the Veterans Health Administration. *J Psychiatr Res*. 2021 Nov;143:504-507. doi: 10.1016/j.jpsychires.2020.11.033.
86. Haidar G. HHV-6, HHV-7, and HHV-8: Forgotten Viruses in Transplantation. *Emerging Transplant Infections*. Springer; 2021. p 683-708. https://doi.org/10.1007/978-3-030-25869-6_28
87. Halawi M, Khan N, Blake N. Identification of novel CD8+ T cell epitopes in human herpesvirus 6B U11 and U90. *Immun Inflamm Dis*. 2015 Jun;3(2):118-31. doi: 10.1002/iid3.55.

- 88.Hansen N. Psychiatric Symptoms in Acute and Persisting Forms of COVID-19 Associated with Neural Autoantibodies. *Antibodies (Basel)*. 2023 Jul 27;12(3):49. doi: 10.3390/antib12030049.
- 89.Hanson DJ, Hill JA, Koelle DM. Advances in the Characterization of the T-Cell Response to Human Herpesvirus-6. *Front Immunol*. 2018 Jun 25;9:1454. doi: 10.3389/fimmu.2018.01454.
- 90.Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O, Chopyak V. Changes of expression of regulatory and inhibitory receptors on CD8 T cells in long-COVID-19 patients. In: Abstracts from the 7th Congres for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p.63. <https://surl.lu/fpjiau>
- 91.Herman JP, McKlveen JM, Solomon MB, Carvalho-Netto E, Myers B. Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms. *Braz J Med Biol Res*. 2012 Apr;45(4):292-298. doi: 10.1590/s0100-879x2012007500041.
- 92.Hill MN, Campolongo P, Yehuda R, Patel S. Integrating Endocannabinoid Signaling and Cannabinoids into the Biology and Treatment of Posttraumatic Stress Disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2018 Jan;43(1):80-102. doi: 10.1038/npp.2017.162.
- 93.Horenstein AL, Faini AC, Malavasi F. CD38 in the age of COVID-19: a medical perspective. *Physiol Rev*. 2021 Oct 1;101(4):1457-1486. doi: 10.1152/physrev.00046.2020.
- 94.Hori H, Kim Y. Inflammation and post-traumatic stress disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019 Apr;73(4):143-153. doi: 10.1111/pcn.12820.
- 95.Hsieh WC, Lai EY, Liu YT, Wang YF, Tzeng YS, Cui L, et al. NK cell receptor and ligand composition influences the clearance of SARS-CoV-2. *J Clin Invest*. 2021 Nov 1;131(21):e146408. doi: 10.1172/JCI146408.
- 96.Iannetta M, Buccisano F, Fraboni D, Malagnino V, Campogiani L, Teti E, et al. Baseline T-lymphocyte subset absolute counts can predict both outcome and severity in SARS-CoV-2 infected patients: a single center study. *Sci Rep*. 2021 Jun 17;11(1):12762. doi: 10.1038/s41598-021-90983-0.
- 97.Ivey-Stephenson AZ, Crosby AE, Jack SPD, Haileyesus T, Kresnow-Sedacca MJ. Suicide Trends Among and Within Urbanization Levels by Sex, Race/Ethnicity,

- Age Group, and Mechanism of Death – United States, 2001-2015. *MMWR Surveill Summ.* 2017 Oct 6;66(18):1-16. doi: 10.15585/mmwr.ss6618a1.
98. Jaworska J, Gravel A, Fink K, Grandvaux N, Flamand L. Inhibition of transcription of the beta interferon gene by the human herpesvirus 6 immediate-early 1 protein. *J Virol.* 2007 Jun;81(11):5737-48. doi: 10.1128/JVI.02443-06.
99. Jiang M, Guo Y, Luo Q, Huang Z, Zhao R, Liu S, et al. T-Cell Subset Counts in Peripheral Blood Can Be Used as Discriminatory Biomarkers for Diagnosis and Severity Prediction of Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis.* 2020 Jun 29;222(2):198-202. doi: 10.1093/infdis/jiaa252
100. Jiang T, Farkas DK, Ahern TP, Lash TL, Sørensen HT, Gradus JL. Posttraumatic Stress Disorder and Incident Infections: A Nationwide Cohort Study. *Epidemiology.* 2019 Nov;30(6):911-917. doi: 10.1097/EDE.0000000000001071.
101. Jiang Y, Wei X, Guan J, Qin S, Wang Z, Lu H, et al. COVID-19 pneumonia: CD8⁺ T and NK cells are decreased in number but compensatory increased in cytotoxic potential. *Clin Immunol.* 2020 Sep;218:108516. doi: 10.1016/j.clim.2020.108516.
102. Kajitani N, Iwata M, Miura A, Tsunetomi K, Yamanashi T, Matsuo R, et al. Prefrontal cortex infusion of beta-hydroxybutyrate, an endogenous NLRP3 inflammasome inhibitor, produces antidepressant-like effects in a rodent model of depression. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2020 Jun;40(2):157-165. doi: 10.1002/npr2.12099.
103. Kajka A, Antczak J, Wojtczak K, Lipska J, Fenrych U, Hamerska L, et al. The Link Between PTSD and Autoimmune Diseases: A Path to Effective Treatment. *Literature review. Quality Sport.* 2024;20:53147. <https://dx.doi.org/10.12775/QS.2024.20.53147>.
104. Katrinli S, Oliveira NCS, Felger JC, Michopoulos V, Smith AK. The role of the immune system in posttraumatic stress disorder. *Transl Psychiatry.* 2022 Aug 4;12(1):313. doi: 10.1038/s41398-022-02094-7.

105. Katrinli S, Smith AK. Immune system regulation and role of the human leukocyte antigen in posttraumatic stress disorder. *Neurobiol Stress*. 2021 Jul 12;15:100366. doi: 10.1016/j.ynstr.2021.100366.
106. Katrinli S, Zheng Y, Gautam A, Hammamieh R, Yang R, Venkateswaran S, et al. PTSD is associated with increased DNA methylation across regions of HLA-DPB1 and SPATC1L. *Brain Behav Immun*. 2021 Jan;91:429-436. doi: 10.1016/j.bbi.2020.10.023.
107. Kharbat AF, Lakshmi-Narasimhan M, Bhaskaran S, Parat S. Incidental Detection of Human Herpesvirus-6 in Cerebrospinal Fluid Analysis: To Treat or Not to Treat?. *Cureus*. 2022 Jun 3;14(6):e25629. doi: 10.7759/cureus.25629.
108. Klok FA, Boon GJAM, Barco S, Endres M, Geelhoed JJM, Knauss S, et al. The Post-COVID-19 Functional Status scale: a tool to measure functional status over time after COVID-19. *Eur Respir J*. 2020 Jul 2;56(1):2001494. doi: 10.1183/13993003.01494-2020.
109. Krämer B, Knoll R, Bonaguro L, ToVinh M, Raabe J, Astaburuaga-García R, et al. Early IFN- α signatures and persistent dysfunction are distinguishing features of NK cells in severe COVID-19. *Immunity*. 2021 Nov 9;54(11):2650-2669.e14. doi: 10.1016/j.immuni.2021.09.002.
110. Krzyzowska M, Kowalczyk A, Skulska K, Thörn K, Eriksson K. Fas/FasL Contributes to HSV-1 Brain Infection and Neuroinflammation. *Front Immunol*. 2021 Aug 30;12:714821. doi: 10.3389/fimmu.2021.714821.
111. Kuan PF, Yang X, Clouston S, Ren X, Kotov R, Waszczuk M, et al. Cell type-specific gene expression patterns associated with posttraumatic stress disorder in World Trade Center responders. *Transl Psychiatry*. 2019 Jan 15;9(1):1. doi: 10.1038/s41398-018-0355-8.
112. Kusakin AV, Goleva OV, Danilov LG, Krylov AV, Tsay VV, Kalinin RS, et al. The Telomeric Repeats of HHV-6A Do Not Determine the Chromosome into Which the Virus Is Integrated. *Genes (Basel)*. 2023 Feb 18;14(2):521. doi: 10.3390/genes14020521.

113. Lanneau D, Brunet M, Frisan E, Solary E, Fontenay M, Garrido C. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *J Cell Mol Med.* 2008 Jun;12(3):743-761. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00273.x.
114. Lauten TH, Natour T, Case AJ. Innate and adaptive immune system consequences of post-traumatic stress disorder. *Auton Neurosci.* 2024 Apr;252:103159. doi: 10.1016/j.autneu.2024.103159.
115. Leibovitch E, Wohler JE, Cummings Macri SM, Motanic K, Harberts E, Gaitán MI, et al. Novel marmoset (*Callithrix jacchus*) model of human Herpesvirus 6A and 6B infections: immunologic, virologic and radiologic characterization. *PLoS Pathog.* 2013 Jan;9(1):e1003138. doi: 10.1371/journal.ppat.1003138.
116. Levkovitz Y, Fenchel D, Kaplan Z, Zohar J, Cohen H. Early post-stressor intervention with minocycline, a second-generation tetracycline, attenuates post-traumatic stress response in an animal model of PTSD. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2015 Jan;25(1):124-132. doi: 10.1016/j.euroneuro.2014.11.012.
117. Li M, Guo W, Dong Y, Wang X, Dai D, Liu X, et al. Elevated Exhaustion Levels of NK and CD8⁺ T Cells as Indicators for Progression and Prognosis of COVID-19 Disease. *Front Immunol.* 2020 Oct 14;11:580237. doi: 10.3389/fimmu.2020.580237.
118. Lontos A, Asimakopoulos AG, Markopoulos GS, Biros D, Athanasiou L, Tsourlos S, et al. Correlation of Lymphocyte Subpopulations, Clinical Features and Inflammatory Markers during Severe COVID-19 Onset. *Pathogens.* 2023 Mar 6;12(3):414. doi: 10.3390/pathogens12030414.
119. Liu G, Jiang X, Zeng X, Pan Y, Xu H. Analysis of Lymphocyte Subpopulations and Cytokines in COVID-19-Associated Pneumonia and Community-Acquired Pneumonia. *J Immunol Res.* 2021 Jun 9;2021:6657894. doi: 10.1155/2021/6657894.
120. Liu L, Xu L, Lin C. T cell response in patients with COVID-19. *Blood Sci.* 2020 Jul 25;2(3):76-78. doi: 10.1097/BS9.0000000000000050.
121. Liu Y, Shu Q, Gao L, Hou N, Zhao D, Liu X, et al. Increased Tim-3 expression on peripheral lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis negatively

- correlates with disease activity. *Clin Immunol.* 2010 Nov;137(2):288-295. doi: 10.1016/j.clim.2010.07.012.
122. Loretelli C, Abdelsalam A, D'Addio F, Ben Nasr M, Assi E, Usuelli V, et al. PD-1 blockade counteracts post-COVID-19 immune abnormalities and stimulates the anti-SARS-CoV-2 immune response. *JCI Insight.* 2021 Dec 22;6(24):e146701. doi: 10.1172/jci.insight.146701.
123. Lubkowska A, Pluta W, Strońska A, Lalko A. Role of Heat Shock Proteins (HSP70 and HSP90) in Viral Infection. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 29;22(17):9366. doi: 10.3390/ijms22179366.
124. Lusso P, Crowley RW, Malnati MS, Di Serio C, Ponzoni M, Biancotto A, et al. Human herpesvirus 6A accelerates AIDS progression in macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Mar 20;104(12):5067-72. doi: 10.1073/pnas.0700929104.
125. Lutshumba J, Nikolajczyk BS, Bachstetter AD. Dysregulation of Systemic Immunity in Aging and Dementia. *Front Cell Neurosci.* 2021 Jun 22;15:652111. doi: 10.3389/fncel.2021.652111.
126. Lv Y, Ma X, Ma Y, Du Y, Feng J. A new emerging target in cancer immunotherapy: Galectin-9 (LGALS9). *Genes Dis.* 2022 Jun 4;10(6):2366-2382. doi: 10.1016/j.gendis.2022.05.020.
127. Malesevic S, Sievi NA, Baumgartner P, Roser K, Sommer G, Schmidt D, et al. Impaired health-related quality of life in long-COVID syndrome after mild to moderate COVID-19. *Sci Rep.* 2023 May 12;13(1):7717. doi: 10.1038/s41598-023-34678-8.
128. Mansourabadi AH, Aghamajidi A, Dorfaki M, Keshavarz F, Shafeghat Z, Moazzeni A, et al. B lymphocytes in COVID-19: a tale of harmony and discordance. *Arch Virol.* 2023 Apr 29;168(5):148. doi: 10.1007/s00705-023-05773-y.
129. Marino Gammazza A, Légaré S, Lo Bosco G, Fucarino A, Angileri F, Conway de Macario E, et al. Human molecular chaperones share with SARS-CoV-2 antigenic epitopes potentially capable of eliciting autoimmunity against endothelial cells: possible role of molecular mimicry in COVID-19. *Cell Stress Chaperones.* 2020 Sep;25(5):737-741. doi: 10.1007/s12192-020-01148-3.

130. Mark M, Reich-Zeliger S, Greenstein E, Biram A, Chain B, Friedman N, et al. Viral infection reveals hidden sharing of TCR CDR3 sequences between individuals. *Front Immunol.* 2023 May 30;14:1199064. doi: 10.3389/fimmu.2023.1199064.
131. Martin LK, Schub A, Dillinger S, Moosmann A. Specific CD8⁺ T cells recognize human herpesvirus 6B. *Eur J Immunol.* 2012 Nov;42(11):2901-12. doi: 10.1002/eji.201242439.
132. Maucourant C, Filipovic I, Ponzetta A, Aleman S, Cornillet M, Hertwig L, et al. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Sci Immunol.* 2020 Aug 21;5(50):eabd6832. doi: 10.1126/sciimmunol.abd6832.
133. Medina G, Vera-Lastra O, Peralta-Amaro AL, Jiménez-Arellano MP, Saavedra MA, Cruz-Domínguez MP, et al. Metabolic syndrome, autoimmunity and rheumatic diseases. *Pharmacol Res.* 2018 Jul;133:277-288. doi: 10.1016/j.phrs.2018.01.009.
134. Michopoulos V, Powers A, Gillespie CF, Ressler KJ, Jovanovic T. Inflammation in Fear- and Anxiety-Based Disorders: PTSD, GAD, and Beyond. *Neuropsychopharmacology.* 2017 Jan;42(1):254-270. doi: 10.1038/npp.2016.146.
135. Miller KD, Schnell MJ, Rall GF. Keeping it in check: chronic viral infection and antiviral immunity in the brain. *Nat Rev Neurosci.* 2016 Dec;17(12):766-776. doi: 10.1038/nrn.2016.140.
136. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein P. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Front Cell Neurosci.* 2019 Aug 7;13:363. doi: 10.3389/fncel.2019.00363.
137. Muniz Carvalho C, Wendt FR, Maihofer AX, Stein DJ, Stein MB, Sumner JA, et al. Dissecting the genetic association of C-reactive protein with PTSD, traumatic events, and social support. *Neuropsychopharmacology.* 2021 May;46(6):1071-1077. doi: 10.1038/s41386-020-0655-6.
138. Münz C. Human γ -Herpesvirus Infection, Tumorigenesis, and Immune Control in Mice with Reconstituted Human Immune System Components. *Front Immunol.* 2018 Feb 12;9:238. doi: 10.3389/fimmu.2018.00238.

139. Naik S, Nicholas SK, Martinez CA, Leen AM, Hanley PJ, Gottschalk SM, et al. Adoptive immunotherapy for primary immunodeficiency disorders with virus-specific T lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 May;137(5):1498-1505.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1311.
140. Nastke MD, Becerra A, Yin L, Dominguez-Amorocho O, Gibson L, Stern LJ, et al. Human CD4⁺ T cell response to human herpesvirus 6. *J Virol*. 2012 May;86(9):4776-92. doi: 10.1128/JVI.06573-11.
141. Ndhlovu LC, Lopez-Vergès S, Barbour JD, Jones RB, Jha AR, Long BR, et al. Tim-3 marks human natural killer cell maturation and suppresses cell-mediated cytotoxicity. *Blood*. 2012 Apr 19;119(16):3734-3743. doi: 10.1182/blood-2011-11-392951.
142. Neylan TC, O'Donovan A. Inflammation and PTSD. *PTSD Research Quarterly*. 2019;29(4):1-10. www.ptsd.va.gov
143. Nogimori T, Suzuki K, Masuta Y, Washizaki A, Yagoto M, Ikeda M, et al. Functional changes in cytotoxic CD8⁺ T-cell cross-reactivity against the SARS-CoV-2 Omicron variant after mRNA vaccination. *Front Immunol*. 2023 Jan 4;13:1081047. doi: 10.3389/fimmu.2022.1081047.
144. Noviello M, Lorentino F, Xue E, Racca S, Furnari G, Valtolina V, et al. Human herpesvirus 6-specific T-cell immunity in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood Adv*. 2023 Sep 26;7(18):5446-5457. doi: 10.1182/bloodadvances.2022009274.
145. O'Donovan A, Cohen BE, Seal KH, Bertenthal D, Margaretten M, Nishimi K, et al. Elevated risk for autoimmune disorders in Iraq and Afghanistan veterans with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2015 Feb 15;77(4):365-374. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.06.015.
146. Ota M, Serada S, Naka T, Mori Y. MHC class I molecules are incorporated into human herpesvirus-6 viral particles and released into the extracellular environment. *Microbiol Immunol*. 2014 Feb;58(2):119-25. doi: 10.1111/1348-0421.12121.

147. Panda S, Behera S, Alam MF, Syed GH. Endoplasmic reticulum & mitochondrial calcium homeostasis: The interplay with viruses. *Mitochondrion*. 2021 May;58:227-242. doi: 10.1016/j.mito.2021.03.008.
148. Papadopoulou A, Gerdemann U, Katari UL, Tzannou I, Liu H, Martinez C, et al. Activity of broad-spectrum T cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV, and HHV6 infections after HSCT. *Sci Transl Med*. 2014 Jun 25;6(242):242ra83. doi: 10.1126/scitranslmed.3008825.
149. Penninx BWJH, Eikelenboom M, Giltay EJ, van Hemert AM, Riese H, Schoevers RA, et al. Cohort profile of the longitudinal Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA) on etiology, course and consequences of depressive and anxiety disorders. *J Affect Disord*. 2021 May 15;287:69-77. doi: 10.1016/j.jad.2021.03.026.
150. Perlman S. COVID-19 poses a riddle for the immune system. *Nature*. 2020 Aug;584(7821):345-346. doi: 10.1038/d41586-020-02379-1.
151. Phan TL, Pritchett JC, Leifer C, Zerr DM, Koelle DM, Di Luca D, et al. HHV-6B infection, T-cell reconstitution, and graft-vs-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Dec;53(12):1508-1517. doi: 10.1038/s41409-018-0225-2.
152. Phetsouphanh C, Darley DR, Wilson DB, Howe A, Munier CML, Patel SK, et al. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol*. 2022 Feb;23(2):210-216. doi: 10.1038/s41590-021-01113-x.
153. Poonia B, Kottlil S. Immune Correlates of COVID-19 Control. *Front Immunol*. 2020 Sep 29;11:569611. doi: 10.3389/fimmu.2020.569611.
154. Primorac D, Vrdoljak K, Brlek P, Pavelić E, Molnar V, Matišić V, et al. Adaptive Immune Responses and Immunity to SARS-CoV-2. *Front Immunol*. 2022 May 4;13:848582. doi: 10.3389/fimmu.2022.848582.
155. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020 Jul 28;71(15):762-768. doi: 10.1093/cid/ciaa248.

156. Qiu D, Li Y, Li L, He J, Ouyang F, Xiao S. Infectious Disease Outbreak and Post-Traumatic Stress Symptoms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Psychol.* 2021 Aug 5;12:668784. doi: 10.3389/fpsyg.2021.668784.
157. Qu Y, Sun Y, Yang Z, Ding C. Calcium Ions Signaling: Targets for Attack and Utilization by Viruses. *Front Microbiol.* 2022 Jul 4;13:889374. doi: 10.3389/fmicb.2022.889374.
158. Rakhman LV, Plevachuk OYu, Shpylovyi IV, Dzis MO, Suvalo OB. An anxiety as a response to distress and as a symptom of stress disorders in wartime. *Wiadomości Lekarskie.* 2022;75(8,pt1):1882-1887. DOI: 10.36740/WLek202208111
159. Rallón N, García M, García-Samaniego J, Cabello A, Álvarez B, Restrepo C, et al. Expression of PD-1 and Tim-3 markers of T-cell exhaustion is associated with CD4 dynamics during the course of untreated and treated HIV infection. *PLoS One.* 2018 Mar 8;13(3):e0193829. doi: 10.1371/journal.pone.0193829.
160. Reininghaus EZ, Lenger M, Schönthaler EMD, Fellendorf FT, Stross T, Schwarz M, et al. Changes in tryptophan breakdown associated with response to multimodal treatment in depression. *Front Psychiatry.* 2024 Jun 21;15:1380620. doi: 10.3389/fpsyg.2024.1380620.
161. Renner K, Stauffenberg F, Paulus M, Neumayer S, Winter-Köhler F, Buchtler S, et al. Hyper-reactivity of CD8⁺ T cells and high expression of IL-3 correlates with occurrence and severity of Long-COVID. *Clin Immunol.* 2025 Aug;277:110502. doi: 10.1016/j.clim.2025.110502.
162. Rha MS, Shin EC. Activation or exhaustion of CD8⁺ T cells in patients with COVID-19. *Cell Mol Immunol.* 2021 Oct;18(10):2325-2333. doi: 10.1038/s41423-021-00750-4.
163. Rizzo R, Bortolotti D, Gentili V, Rotola A, Bolzani S, Caselli E, et al. KIR2DS2/KIR2DL2/HLA-C1 Haplotype Is Associated with Alzheimer's Disease: Implication for the Role of Herpesvirus Infections. *J Alzheimers Dis.* 2019;67(4):1379-1389. doi: 10.3233/JAD-180777.

164. Rizzo R, Soffritti I, D'Accolti M, Bortolotti D, Di Luca D, Caselli E. HHV-6A/6B Infection of NK Cells Modulates the Expression of miRNAs and Transcription Factors Potentially Associated to Impaired NK Activity. *Front Microbiol.* 2017 Oct 31;8:2143. doi: 10.3389/fmicb.2017.02143.
165. Rizzo R, Zatelli MC, Rotola A, Cassai E, Degli Uberti E, Di Luca D, et al. Increase in Peripheral CD3-CD56brightCD16- Natural Killer Cells in Hashimoto's Thyroiditis Associated with HHV-6 Infection. *Adv Exp Med Biol.* 2016;897:113-120. doi: 10.1007/5584_2015_5010.
166. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, Pollak TA, McGuire P, Fusar-Poli P, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry.* 2020 Jul;7(7):611-627. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30203-0.
167. Romeo MA, Santarelli R, Gilardini Montani MS, Gonnella R, Benedetti R, Faggioni A, et al. Viral Infection and Autophagy Dysregulation: The Case of HHV-6, EBV and KSHV. *Cells.* 2020 Dec 7;9(12):2624. doi: 10.3390/cells9122624.
168. Rydyznski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 2020 Nov 12;183(4):996-1012.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.038.
169. Sabbatino F, Conti V, Franci G, Sellitto C, Manzo V, Pagliano P, et al. PD-L1 Dysregulation in COVID-19 Patients. *Front Immunol.* 2021 Jun 7;12:695242. doi: 10.3389/fimmu.2021.695242.
170. Saleki K, Shirzad M, Javanian M, Mohammadkhani S, Alijani MH, Miri N, et al. Serum soluble Fas ligand is a severity and mortality prognostic marker for COVID-19 patients. *Front Immunol.* 2022 Aug 31;13:947401. doi: 10.3389/fimmu.2022.947401.
171. Schniederova M, Bobcakova A, Grendar M, Markocsy A, Ceres A, Cibulka M, et al. Lymphocyte Inhibition Mechanisms and Immune Checkpoints in COVID-19:

- Insights into Prognostic Markers and Disease Severity. *Medicina (Kaunas)*. 2025 Jan 22;61(2):189. doi: 10.3390/medicina61020189.
172. Schwarz CM, Strenger V, Strohmaier H, Singer G, Kaiser M, Raicht A, et al. HHV-6 Specific T-Cell Immunity in Healthy Children and Adolescents. *Front Pediatr*. 2018 Jul 2;6:191. doi: 10.3389/fped.2018.00191.
173. Serhiyenko V, Holzmann K, Holota S, Derkach Z, Nersesyan A, Melnyk S, et al. An exploratory study of physiological and biochemical parameters to identify simple, robust and relevant biomarkers for therapeutic interventions for ptsd: study rationale, key elements of design and a context of war in Ukraine. *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки*. 2022;69(2):177-189. DOI: 10.25040/ntsh2022.02.1
174. Shen LS, Wang J, Shen DF, Yuan XL, Dong P, Li MX, et al. CD4(+)CD25(+)CD127(low/-) regulatory T cells express Foxp3 and suppress effector T cell proliferation and contribute to gastric cancers progression. *Clin Immunol*. 2009 Apr;131(1):109-118. doi: 10.1016/j.clim.2008.11.010.
175. Sierra JM, Secchiari F, Nuñez SY, Iraolagoitia XLR, Ziblat A, Friedrich AD, et al. Tumor-Experienced Human NK Cells Express High Levels of PD-L1 and Inhibit CD8⁺ T Cell Proliferation. *Front Immunol*. 2021 Sep 20;12:745939. doi: 10.3389/fimmu.2021.745939.
176. Snijders C, Maihofer AX, Ratanatharathorn A, Baker DG, Boks MP, Geuze E, et al. Longitudinal epigenome-wide association studies of three male military cohorts reveal multiple CpG sites associated with post-traumatic stress disorder. *Clin Epigenetics*. 2020 Jan 13;12(1):11. doi: 10.1186/s13148-019-0798-7.
177. Sokolovska L, Cistjakovs M, Matroze A, Murovska M, Sultanova A. From Viral Infection to Autoimmune Reaction: Exploring the Link between Human Herpesvirus 6 and Autoimmune Diseases. *Microorganisms*. 2024 Feb 9;12(2):362. doi: 10.3390/microorganisms12020362.
178. Song H, Fang F, Tomasson G, Arnberg FK, Mataix-Cols D, Fernández de la Cruz L, et al. Association of Stress-Related Disorders With Subsequent Autoimmune Disease. *JAMA*. 2018 Jun 19;319(23):2388-2400. doi: 10.1001/jama.2018.7028.

179. Steenkamp MM, Blessing EM, Galatzer-Levy IR, Hollahan LC, Anderson WT. Marijuana and other cannabinoids as a treatment for posttraumatic stress disorder: A literature review. *Depress Anxiety*. 2017 Mar;34(3):207-216. doi: 10.1002/da.22596.
180. Stein MB, Chen CY, Ursano RJ, Cai T, Gelernter J, Heeringa SG, et al. Genome-wide Association Studies of Posttraumatic Stress Disorder in 2 Cohorts of US Army Soldiers. *JAMA Psychiatry*. 2016 Jul 1;73(7):695-704. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2016.0350.
181. Stein MB, Jain S, Simon NM, West JC, Marvar PJ, Bui E, et al. Randomized, Placebo-Controlled Trial of the Angiotensin Receptor Antagonist Losartan for Posttraumatic Stress Disorder. *Biol Psychiatry*. 2021 Oct 1;90(7):473-481. doi: 10.1016/j.biopsych.2021.05.012.
182. Strenger V, Kayser S, Witte KE, Lassner D, Schwinger W, Jahn G, et al. Individuals with inherited chromosomally integrated human herpes virus 6 (ciHHV-6) have functionally active HHV-6 specific T-cell immunity. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Feb;22(2):209.e5-209.e8. doi: 10.1016/j.cmi.2015.10.006.
183. Sumner JA, Nishimi KM, Koenen KC, Roberts AL, Kubzansky LD. Posttraumatic Stress Disorder and Inflammation: Untangling Issues of Bidirectionality. *Biol Psychiatry*. 2020 May 15;87(10):885-897. doi: 10.1016/j.biopsych.2019.11.005.
184. Sun Y, Qu Y, Zhu J. The Relationship Between Inflammation and Post-traumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry*. 2021 Aug 11;12:707543. doi: 10.3389/fpsy.2021.707543.
185. Tan KS, Nackley AG, Satterfield K, Maixner W, Diatchenko L, Flood PM. Beta2 adrenergic receptor activation stimulates pro-inflammatory cytokine production in macrophages via PKA- and NF-kappaB-independent mechanisms. *Cell Signal*. 2007 Feb;19(2):251-260. doi: 10.1016/j.cellsig.2006.06.007.
186. Tejada-Simon MV, Zang YC, Hong J, Rivera VM, Zhang JZ. Cross-reactivity with myelin basic protein and human herpesvirus-6 in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2003 Feb;53(2):189-197. doi: 10.1002/ana.10425.

187. Toczyska K, Haq N, Lyu Z, Bewick G, Zhao M, Rosa H, et al. The selective serotonin reuptake inhibitors, sertraline and paroxetine, improve islet beta-cell mass and function in vitro. *Diabetes Obes Metab.* 2024 Sep;26(9):3606-3617. doi: 10.1111/dom.15701.
188. Tzannou I, Papadopoulou A, Naik S, Leung K, Martinez CA, Ramos CA, et al. Off-the-Shelf Virus-Specific T Cells to Treat BK Virus, Human Herpesvirus 6, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *J Clin Oncol.* 2017 Nov 1;35(31):3547-3557. doi: 10.1200/JCO.2017.73.0655.
189. van Eeden C, Khan L, Osman MS, Cohen Tervaert JW. Natural Killer Cell Dysfunction and Its Role in COVID-19. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep 1;21(17):6351. doi: 10.3390/ijms21176351.
190. Verma IM. Nuclear factor (NF)-kappaB proteins: therapeutic targets. *Ann Rheum Dis.* 2004 Nov;63 (Suppl 2):ii57-ii61. doi: 10.1136/ard.2004.028266.
191. Vojdani A, Vojdani E, Saidara E, Maes M. Persistent SARS-CoV-2 Infection, EBV, HHV-6 and Other Factors May Contribute to Inflammation and Autoimmunity in Long COVID. *Viruses.* 2023 Jan 31;15(2):400. doi: 10.3390/v15020400.
192. Wang F, Chi J, Peng G, Zhou F, Wang J, Li L, et al. Development of virus-specific CD4+ and CD8+ regulatory T cells induced by human herpesvirus 6 infection. *J Virol.* 2014 Jan;88(2):1011-1024. doi: 10.1128/JVI.02586-13.
193. Wang F, Yao K, Yin QZ, Zhou F, Ding CL, Peng GY, et al. Human herpesvirus-6-specific interleukin 10-producing CD4+ T cells suppress the CD4+ T-cell response in infected individuals. *Microbiol Immunol.* 2006;50(10):787-803. doi: 10.1111/j.1348-0421.2006.tb03855.x.
194. Wang H, Cao K, Liu S, Xu Y, Tang L. Tim-3 Expression Causes NK Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes Patients. *Front Immunol.* 2022 Apr 5;13:852436. doi: 10.3389/fimmu.2022.852436.

195. Wichers MC, Maes M. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon-alpha-induced depression. *J Psychiatry Neurosci.* 2004 Jan;29(1):11-17.
196. Witkowski M, Tizian C, Ferreira-Gomes M, Niemeyer D, Jones TC, Heinrich F, et al. Untimely TGF β responses in COVID-19 limit antiviral functions of NK cells. *Nature.* 2021 Dec;600(7888):295-301. doi: 10.1038/s41586-021-04142-6.
197. Wohleb ES, Powell ND, Godbout JP, Sheridan JF. Stress-induced recruitment of bone marrow-derived monocytes to the brain promotes anxiety-like behavior. *J Neurosci.* 2013 Aug 21;33(34):13820-13833. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1671-13.2013.
198. Wu Y, Xu X, Chen Z, Duan J, Hashimoto K, Yang L, et al. Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain Behav Immun.* 2020 Jul;87:18-22. doi: 10.1016/j.bbi.2020.03.031.
199. Yamada A, Arakaki R, Saito M, Kudo Y, Ishimaru N. Dual Role of Fas/FasL-Mediated Signal in Peripheral Immune Tolerance. *Front Immunol.* 2017 Apr 5;8:403. doi: 10.3389/fimmu.2017.00403.
200. Yamanashi T, Iwata M, Shibushita M, Tsunetomi K, Nagata M, Kajitani N, et al. Beta-hydroxybutyrate, an endogenous NLRP3 inflammasome inhibitor, attenuates anxiety-related behavior in a rodent post-traumatic stress disorder model. *Sci Rep.* 2020 Dec 10;10(1):21629. doi: 10.1038/s41598-020-78410-2.
201. Yang J, Chang T, Tang L, Deng H, Chen D, Luo J, et al. Increased Expression of Tim-3 Is Associated With Depletion of NKT Cells In SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol.* 2022 Feb 16;13:796682. doi: 10.3389/fimmu.2022.796682.
202. Yang JJ, Jiang W. Immune biomarkers alterations in post-traumatic stress disorder: A systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 2020 May 1;268:39-46. doi: 10.1016/j.jad.2020.02.044.
203. Yang R, Sun L, Li CF, Wang YH, Yao J, Li H, et al. Galectin-9 interacts with PD-1 and TIM-3 to regulate T cell death and is a target for cancer immunotherapy. *Nat Commun.* 2021 Feb 5;12(1):832. doi: 10.1038/s41467-021-21099-2.

204. Yang Y, Day J, Souza-Fonseca Guimaraes F, Wicks IP, Louis C. Natural killer cells in inflammatory autoimmune diseases. *Clin Transl Immunology*. 2021 Feb 1;10(2):e1250. doi: 10.1002/cti2.1250.
205. Yuan K, Gong YM, Liu L, Sun YK, Tian SS, Wang YJ, et al. Prevalence of posttraumatic stress disorder after infectious disease pandemics in the twenty-first century, including COVID-19: a meta-analysis and systematic review. *Mol Psychiatry*. 2021 Sep;26(9):4982-4998. doi: 10.1038/s41380-021-01036-x.
206. Yuan N, Chen Y, Xia Y, Dai J, Liu C. Inflammation-related biomarkers in major psychiatric disorders: a cross-disorder assessment of reproducibility and specificity in 43 meta-analyses. *Transl Psychiatry*. 2019 Sep 18;9(1):233. doi: 10.1038/s41398-019-0570-y.
207. Zefferino R, Di Gioia S, Conese M. Molecular links between endocrine, nervous and immune system during chronic stress. *Brain Behav*. 2021 Feb;11(2):e01960. doi: 10.1002/brb3.1960.
208. Zhang X, Zeng J, Tong Y, Zhang L, Lu X, Zhu S, et al. CDR3 sequences in IgA nephropathy are shorter and exhibit reduced diversity. *FEBS Open Bio*. 2020 Dec;10(12):2702-2711. doi: 10.1002/2211-5463.13006.
209. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, Zhang N, Wang XC, Yang XP, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020 May;17(5):541-543. doi: 10.1038/s41423-020-0401-3.
210. Zhou J, Nagarkatti P, Zhong Y, Ginsberg JP, Singh NP, Zhang J, et al. Dysregulation in microRNA expression is associated with alterations in immune functions in combat veterans with post-traumatic stress disorder. *PLoS One*. 2014 Apr 23;9(4):e94075. doi: 10.1371/journal.pone.0094075.
211. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood*. 2008 Sep 1;112(5):1557-1569. doi: 10.1182/blood-2008-05-078154.
212. Zubchenko S, Havryliuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Immune system distant effects in patients with long-COVID on the background of reactivation

- HHV-6 infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;(1):31-42.
DOI: 10.37321/immunology.2025.1-03
213. Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). *Rheumatol Int.* 2024 Dec;44(12):2873-2883. doi: 10.1007/s00296-024-05677-3.
214. Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Research of receptor expression on NK cells in patients with long- COVID (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. Valencia; 2024. p. 847. <https://doi.org/10.1111/all.16300>
215. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. The post-COVID syndrome and post-traumatic stress disorders in patients from Ukraine (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2023 June 9-11 ; Hamburg. Hamburg; 2023. p. 431-432. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.15925>
216. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Havrylyuk A, Chopyak V. Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections. In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. Valencia; 2024. p. 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.16300>
217. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Matsyura O, Chopyak V. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. *Rheumatol Int.* 2022 Sep;42(9):1523-1530. doi: 10.1007/s00296-022-05146-9.
218. Zubchenko S, Nadizhko O. Immunological features of COVID-19 in patients with neuropsychiatric symptoms and HHV-6-infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2023;(4):12-22. doi: 10.37321/immunology.2023.4-02

ДОДАТОК 1. АНКЕТИ

1.1 АНКЕТА КЛІНІЧНИХ ДАНИХ

АНКЕТА КЛІНІЧНИХ ДАНИХ ПАЦІЄНТІВ ПКС І/АБО ПТСР / ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ

Прізвище, ім'я, по батькові: _____ Дата народження: _____
Паспортні дані: стать – ж/ч, вік..... професія..... статус..... інше.....

Анамнез:

- коли переніс COVID-19.....
- перебіг COVID-19 (підкреслити): середньої тяжкості/тяжкий/надтяжкий
- інші особливості (підкреслити) (проведена екстракорпоральна киснева терапія під час лікування, підключення до АШВЛД COVID-19)
 - вакцинований від COVID-19 (підкреслити): первинна доза/бустерна доза(якою вакциною)...../...../не вакцинований (причина).....
- коли вперше відчув прояви ПТСР.....
- тривалість проявів ПТСР.....
- супутні захворювання (серцево-судинної, дихальної с-ми, цукровий діабет, аутоімунний тиродит тощо - препарати, які отримує пацієнт.....

Візит	I (1 день)	II (45 день)	III (90 день)
Клінічний огляд			
Імунна система			
т° тіла (показник)			
збільшення л/в	так ні	так ні	так ні
Спленомегалія	так ні	так ні	так ні
інші прояви (вписати)			
Шкіра та слизові оболонки			
Висип	так ні	так ні	так ні
сухість шкіри та слизових	так ні	так ні	так ні
інші прояви (вписати)			
Дихальна система			
ЧД (показник)			
інші прояви (вписати)			
Серцево-судинна система			
ЧСС (показник)			
АТ (показник)			
біль за грудиною	так ні	так ні	так ні
Тахікардія	так ні	так ні	так ні
Аритмія	так ні	так ні	так ні
інші прояви (вписати)			
Травна система			
біль у животі	так ні	так ні	так ні
блювання	так ні	так ні	так ні
метеоризм	так ні	так ні	так ні
закрепи	так ні	так ні	так ні
діарея	так ні	так ні	так ні
зниження апетиту	так ні	так ні	так ні
втрата ваги	так ні	так ні	так ні
гепатомегалія	так ні	так ні	так ні
інші прояви (вписати)			

Сечовидільна система			
Набряки	так	ні	так
Ніктурія	так	ні	так
інше (вписати)	так	ні	так
Нервова система			
біль голови	так	ні	так
Запаморочення	так	ні	так
депресивні розлади	так	ні	так
порушення когніцій	так	ні	так
Полінейропатія	так	ні	так
порушення слуху	так	ні	так
порушення зору	так	ні	так
Дискоординація	так	ні	так
інші прояви (вписати)			
*Проводиться оцінка наявності уражень про системах (так/ні) з урахуванням основних клінічних проявів ПКС та ПТСР, вказаних нижче (якщо є ураження, то систему підкреслити)			
Клінічні прояви			
Підвищення температури	0	1	2
Підвищена втомлюваність	0	1	2
Хронічна втома	0	1	2
Підвищене потовиділення	0	1	2
Емоційна лабільність	0	1	2
Порушення сну	0	1	2
Відчуття страху	0	1	2
Втрата нюху	0	1	2
Втрата смаку	0	1	2
Біль у горлі	0	1	2
Задишка	0	1	2
Стиснення в грудній клітці	0	1	2
Кашель	0	1	2
Підвищений пульс	0	1	2
Підвищений тиск	0	1	2
Диспепсія	0	1	2
Нудота	0	1	2
Порушення рухової активності	0	1	2
Лімфаденопатія	0	1	2
Випадіння волосся	0	1	2
<i>Ступінь вираженості основних клінічних проявів буде проводитися у балах за наступною аналоговою шкалою: 0-відсутність проявів – 0 балів; 1-незначна вираженість – сумарно 1-20 балів; 2-помірна вираженість – сумарно 21-40 балів; 3-інтенсивна вираженість – сумарно 41-60 балів</i>			
Гематологічні показники			
ЗАК	I візит (1 день)		III візит (90 день)
ШОЕ мм/год			
Еритроцити × 10 ¹² /л			
Гемоглобін г/л			
Лейкоцити × 10 ⁹ /л			
Тромбоцити × 10 ⁹ /л			
Лімфоцити %			
Еозинофіли %			
Паличкоядерні %			

Сегментроядерні %		
Моноцити %		
ALT МО/л		
AST МО/л		
Креатинін мкмоль/л		
Сечова кислота (кров) ммоль/л		
СРП мг/л		
Імунологічні показники		
CD 56 ⁺ 95 ⁺ 178 ⁺ %		
CD 56 ⁺ 366 ⁺ 38 ⁺ %		
CD 8 ⁺ 279 ⁺ 274 ⁺ %		
CD 8 ⁺ 38 ⁺ 366 ⁺ %		
CD 4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻ %		
кількість копій ДНК HHV6 (кров) копій/мл		
кількість копій ДНК HHV6 (слина) копій/мл		
кількість копій ДНК HHV6 (слизова) копій/мл		

Дата:..... Підпис лікаря-дослідника..... Лікуючий лікар.....

1.2 Опитувальник ПТСР

ОПИТУВАЛЬНИК ПТСР		
Прізвище, ім'я, по батькові: _____		
Дата народження: _____		
Стать: чол. жін. _____		
Статус: _____		
СИМПТОМИ	1 візит (до лікування)	3 візит (після лікування)
Симптоми повторного переживання травматичної події (мін 1 с-м) - спогади - повторне переживання травматичної події, включаючи такі фізичні симптоми, як прискорене серцебиття або пітливість	так ні	так ні
-повторювані спогади або сни, пов'язані з подією	так ні	так ні
- тривожні думки	так ні	так ні
-фізичні ознаки стресу (серцебиття, пітливість тощо)	так ні	так ні
-дані симптоми можуть виникати після спогадів про подію або слів, предметів чи ситуації, які нагадують про подію	так ні	так ні
Симптоми уникання (мін. 1 с-м) -чи уникаєте місць, подій або об'єктів, які нагадують про пережите	так ні	так ні
-чи уникаєте думок або почуттів, пов'язаних із травматичною подією	так ні	так ні
-чи змушують симптоми уникання змінити ваш розпорядок життя	так ні	так ні
Симптоми збудження та реактивності (мін. 2 с-ми) - чи можете легко злякатися	так ні	так ні
-чи відчуваєте напругу, настороженість або перебуваєте «на межі»	так ні	так ні
-труднощі з концентрацією	так ні	так ні
-труднощі із засинанням	так ні	так ні
-почуття дратівливості, спалахів гніву, агресивності	так ні	так ні
-участь у ризикованих, безрозсудних або руйнівних діях	так ні	так ні
-симптоми збудження часті (1 і більше разів на тиж.)	так ні	так ні
-чи вони порушують сон	так ні	так ні
-чи вони викликають гнів	так ні	так ні
-чи вони викликають розлади споживання їжі	так ні	так ні
Симптоми когнітивних функцій і настрою (мін 2 с-ми) -проблеми із запам'ятовуванням ключових особливостей травматичної події	так ні	так ні
-негативні думки про себе чи світ	так ні	так ні
-спотворені думки про подію, які викликають почуття провини	так ні	так ні

-постійні негативні емоції, такі як страх, гнів, провина чи сором	так	ні	так	ні
-втрата інтересу до попередньої діяльності	так	ні	так	ні
-почуття соціальної ізоляції	так	ні	так	ні
-труднощі з відчуттям позитивних емоцій, таких як щастя чи задоволення	так	ні	так	ні
-зміна настрою після травматичної події призводять до відчуття відчуженості від друзів	так	ні	так	ні
-зміна настрою після травматичної події призводять до відчуття відчуженості від членів родини	так	ні	так	ні
Тривалість симптомів:				
-більше 1 міс	так	ні	так	ні
-менше 1 місяця	так	ні	так	ні
Загальна кількість балів				

Для постановки діагнозу посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) усі вказані симптоми повинні турбувати пацієнта триваліше 1 місяця (мін 1 місяць): симптоми повторного переживання, симптоми уникнення, симптоми збудження та реактивності, симптоми когнітивних функцій і настрою. Кожна позитивна відповідь (Так) оцінюється як наявність симптому.

- симптоми повторного переживання (мін 1 позитивна відповідь)
- симптоми уникнення (мін 1 позитивна відповідь)
- симптоми збудження та реактивності (мін 2 позитивні відповіді)
- симптоми когнітивних функцій і настрою (мін 2 позитивні відповіді)

Сумарна (мінімальна) кількість позитивних відповідей для постановки діагнозу - шість

Дана анкета-опитувальник сформована на основі діагностичних критеріїв ПТСР розроблених Національним інститутом психічного здоров'я (National Institute of Mental Health — NIMH), який є структурним підрозділом Департаменту охорони здоров'я та соціального забезпечення (Department of Health and Human Services) США (guideline PTSD 2020)

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES National Institutes of Health NIH Publication No. 20-MH-8124 Revised 2020 NIMH website www.nimh.nih.gov MedlinePlus (National Library of Medicine) <https://medlineplus.gov>

ДОДАТОК 2; ТАБЛИЦІ

Таблиця 1

Зміни кількості лімфоцитів CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 (без реактивації HHV6)

Групи	РСС лег. -HHV6	РСС серед. -HHV6	РСС тяж. -HHV6	Контроль	Вірогідність між групами, P<0,05					
					1—7	2--7	3--7	1-2	1-3	2-3
CD3 ⁺	69,31±14,8	66,43±17,96	61,43±14,53	75,77±20,03	0,253	0,129	0,014	0,583	0,097	0,339
CD19 ⁺	17,06±8,01	20,18±9,07	27,29±15,81	12,14±5,13	0,026	0,001	0,0002	0,256	0,013	0,089
CD56 ⁺	13,14±6,72	12,02±5,37	9,33±2,99	12,73±5,02	0,828	0,670	0,013	0,564	0,026	0,057

Таблиця 2

Зміни кількості лімфоцитів CD3⁺, CD19⁺, CD56⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 (з реактивацією HHV6)

Групи	РСС лег. +HHV6	РСС сер. +HHV6	РСС тяж. +HHV6	Контроль	Вірогідність між групами, P<0,05					
					4—7	5—7	6--7	4-5	4-6	5-6
CD3 ⁺	65,96±13,72	64,91±14,65	58,38±19,56	75,77±20,03	0,078	0,058	0,009	0,816	0,164	0,239
CD19 ⁺	20,71±11,25	23,67±14,47	32,46±18,83	12,14±5,13	0,004	0,002	<0,0001	0,475	0,022	0,106
CD56 ⁺	11,34±4,04	10,17±3,85	7,23±2,51	12,73±5,02	0,341	0,085	0,0001	0,354	0,0004	0,007

Таблиця 3

Зміни кількості лімфоцитів CD4⁺, CD4⁺25⁺127⁻, CD8⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього і важкого перебігу COVID-19 (без реактивації ННВ6)

Групи	РСС лег. -ННВ6	РСС серед. -ННВ6	РСС тяж. -ННВ6	Контроль	Вірогідність між групами, P<0,05					
	1	2	3		7	1—7	2—7	3--7	1-2	1-3
CD3 ⁺	69,31±14,8	66,43±17,96	61,43±14,53	75,77±20,03	0,253	0,129	0,014	0,583	0,097	0,339
CD4 ⁺	40,03±18,24	40,09±17,37	38,09±13,73	46,63±19,01	0,282	0,263	0,112	0,992	0,706	0,688
CD8 ⁺	27,28±10,34	25,34±9,85	21,34±8,36	29,14±10,98	0,584	0,256	0,016	0,547	0,052	0,174
CD4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻	7,32±3,38	7,19±3,35	5,74±1,82	7,43±3,17	0,916	0,811	0,045	0,903	0,074	0,097

Таблиця 4

Зміни кількості лімфоцитів CD4⁺, CD4⁺25⁺127⁻, CD8⁺ у пацієнтів з РСС після легкого, середнього та важкого перебігу COVID-19 (з реактивацією ННВ6)

Групи	РСС лег. +ННВ6	РСС сер. +ННВ6	РСС тяж. +ННВ6	Контроль	Вірогідність між групами, P<0,05					
	4	5	6		7	4—7	5—7	6--7	4-5	4-6
CD3 ⁺	65,96±13,72	64,91±14,65	58,38±19,56	75,77±20,03	0,078	0,058	0,009	0,816	0,164	0,239
CD4 ⁺	39,01±17,56	37,95±13,57	36,16±12,33	46,63±19,01	0,95	0,104	0,045	0,832	0,556	0,665
CD8 ⁺	24,96±9,45	23,96±8,72	20,22±7,55	29,14±10,98	0,205	0,1	0,005	0,729	0,087	0,155
CD4 ⁺ 25 ⁺ 127 ⁻	6,27±2,79	6,14±2,46	5,17±1,73	7,43±3,17	0,227	0,158	0,008	0,876	0,142	0,157

Зміни експресії ключових рецепторів на NK клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього і важкого перебігу COVID-19 (без реактивації ННВ6)

Показник	I група (n=21)	II група (n=21)	III група (n=20)	Конт- роль (N) (n=20)	Вірогідність між групами, Q (p)					
					Me (95% CI)				I,II	I,III
CD56 ⁺ 95 ⁺ (Fas)	1,46 (0,58- 2,30)	2,14 (1,39- 2,31)	3,07 (2,90- 3,28)	4,21 (3,81- 4,90)	Q=1,10 (p>0,05)	Q=4,65 (p<0,01)	Q=6,41 (p<0,01)	Q=3,56 (p<0,01)	Q=5,32 (p<0,01)	Q=1,74 (p>0,05)
CD56 ⁺ 178 ⁺ (FasL)	0,96 (0,48- 1,38)	6,03 (3,75- 7,25)	5,59 (5,35- 5,92)	5,67 (4,95- 6,20)	Q=5,69 (p<0,01)	Q=4,99 (p<0,01)	Q=5,11 (p<0,01)	Q=0,70 (p>0,05)	Q=0,59 (p>0,05)	Q=0,11 (p>0,05)
CD56 ⁺ 38 ⁺	7,23 (5,89- 7,74)	10,25 (9,00- 11,13)	7,01 (6,55- 7,48)	3,22 (3,07- 3,33)	Q=4,28 p<0,01	Q=0,46 p>0,05	Q=4,68 (p<0,01)	Q=3,82 p<0,01	Q=8,96 p<0,01	Q=5,14 p<0,01
CD56 ⁺ 366 ⁺ (Tim-3)	3,34 (2,57- 3,58)	2,97 (2,35- 4,79)	2,82 (2,17- 3,74)	7,85 (7,58- 8,32)	Q=0,14 (p>0,05)	Q=1,06 (p>0,05)	Q=3,94 (p<0,01)	Q=0,92 (p>0,05)	Q=4,08 (p<0,01)	Q=5,01 (p<0,01)

Примітки: Me - медіана; CI - довірчий інтервал; (95% CI)- це інтервал розподілу значення індикатора з імовірністю 95%; Q – критерій Dunn's; p – імовірність помилки.

Зміни експресії ключових рецепторів на НК клітинах пацієнтів з РСС після легкого, середнього і тяжкого перебігу COVID-19 (з реактивацією HHV6)

Показник	IV група (n=21)	V група (n=21)	VI група (n=20)	Контроль (N) (n=20)	Вірогідність між групами, Q (p)					
	Me (95% CI)				IV, V	IV, VI	IV, N	V, VI	V, N	VI, N
CD56 ⁺ 95 ⁺	0,94 (0,48- 1,26)	1,26 (0,92- 1,75)	3,00 (2,90- 3,28)	4,21 (3,81- 4,90)	Q=1,14, p>0,05	Q=6,43 p<0,01	Q=8,03 p<0,01	Q=5,28 p<0,01	Q=6,89 p<0,01	Q=1,69 p>0,05
CD56 ⁺ 178 ⁺	4,38 (4,27- 5,25)	6,89 (4,98- 9,47)	6,07 (5,77- 6,75)	5,67 (4,95- 6,20)	Q=3,02, p>0,05	Q=2,83 p>0,05	Q=1,40 p>0,05	Q=0,19 p>0,05	Q=1,62 p>0,05	Q=1,43 p>0,05
CD56 ⁺ 38 ⁺	5,73 (4,21- 6,34)	7,09 (6,36- 9,66)	7,01 (6,55- 7,48)	3,22 (3,07- 3,33)	Q=3,57, p<0,01	Q=3,26 p<0,05	Q=1,88 p>0,05	Q=0,32 p>0,05	Q=5,46 p<0,01	Q=5,14 p<0,01
CD56 ⁺ 366 ⁺	1,59 (1,48- 2,68)	2,58 (1,54- 3,34)	2,55 (2,00- 3,14)	7,85 (7,58- 8,32)	Q=1,88, p>0,05	Q=1,28 p>0,05	Q=7,63 p<0,01	Q=0,60 p>0,05	Q=5,75 p<0,01	Q=6,35 p<0,01

Примітки: Me - медіана; CI - довірчий інтервал; (95% CI)- це інтервал розподілу значення індикатора з імовірністю 95%; Q – критерій Dunn's; p – імовірність помилки.

Таблиця 7

Дослідження апоптичних і регуляторних маркерів на CD8, NK (CD56) і регуляторного маркеру на CD4

Суб-популяції	Маркер	контроль p1	РСС До лікування p2	РСС Після лікування p3	ПТСР До лікування p4	ПТСР Після лікування p5	p1-2	p1-3	p1-4	p1-5	p2-3	p4-5
CD56 (CD95 receptor)	CD56 ⁺ CD95 ⁺	3,88±1,62	2,51±1,45	3,69±2,32	2,08±1,11	3,78±2,14	0,007	0,765	0,0002	0,869	0,061	0,003
	CD56 total	12,73±5,02	14,25±8,65	11,22±6,54	18,89±9,58	15,34±8,65	0,501	0,418	0,015	0,250	0,219	0,226
CD56 (CD178 ligand)	CD56 ⁺ CD178 ⁺	1,97±0,95	1,03±0,72	1,90±0,62	1,05±0,66	1,88±0,65	0,001	0,784	0,001	0,728	0,0002	0,0003
	CD56 total	12,73±5,02	16,35±9,22	14,24±8,65	18,74±10,35	15,32±7,65	0,131	0,050	0,015	0,250	0,460	0,226
CD8 (CD279 receptor)	CD8 ⁺ CD279 ⁺	5,76±2,65	2,91±1,66	4,19±2,85	3,44±1,68	5,64±3,58	0,0002	0,079	0,002	0,905	0,090	0,017
	CD8 total	28,89±15,88	28,72±16,57	26,72±14,25	19,11±9,15	23,18±12,98	0,974	0,652	0,022	0,221	0,685	0,259
CD8 (CD274 ligand)	CD8 ⁺ CD274 ⁺	5,82±2,25	3,76±1,15	4,79±2,65	4,18±2,32	5,57±3,25	0,0008	0,162	0,029	0,778	0,119	0,127
	CD8 total	28,89±15,88	26,02±14,58	28,17±14,98	20,22±11,32	24,33±12,54	0,555	0,883	0,054	0,320	0,648	0,283
Th reg. CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	7,43±3,17	4,28±3,22	6,08±4,65	4,06±2,97	6,28±3,24	0,004	0,290	0,001	0,264	0,163	0,029
	CD4 ⁺	45,24±22,55	35,18±23,44	39,98±19,66	31,94±14,55	36,48±18,21	0,175	0,437	0,033	0,185	0,487	0,389

Дослідження апоптичних і регуляторних маркерів на CD8, NK та регуляторного маркеру на CD4

Субпопуляції	Маркер	контроль р1	РСС з ПТСР До лікування р6	РСС з ПТСР Після лікування р7	р1-6	р1-7	Р6-7
CD56 (CD95 receptor)	CD56 ⁺ CD95 ⁺	3,88±1,62	1,32±0,82	2,26±1,35	0,0001	0,001	0,011
	CD56 total	12,73±5,02	18,27±9,26	16,28±8,54	0,024	0,117	0,484
CD56 (CD178 ligand)	CD56 ⁺ CD178 ⁺	1,97±0,95	1,05±0,65	1,22±0,88	0,001	0,013	0,491
	CD56 total	12,73±5,02	17,56±9,25	13,42±6,95	0,047	0,721	0,118
CD8 (CD279 receptor)	CD8 ⁺ CD279 ⁺	5,76±2,65	2,44±1,14	4,51±2,66	0,0001	0,145	0,003
	CD8 total	28,89±15,88	31,74±25,61	29,85±14,63	0,675	0,844	0,776
CD8 (CD274 ligand)	CD8 ⁺ CD274 ⁺	5,82±3,25	3,11±1,96	4,12±2,91	0,003	0,089	0,206
	CD8 total	28,89±15,88	24,74±12,54	27,19±13,54	0,365	0,717	0,556
Th reg CD4⁺CD25⁺CD127⁻	CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	7,43±3,17	5,85±3,10	6,46±3,65	0,119	0,375	0,572
	CD4 ⁺	45,24±22,55	35,13±22,65	38,02±19,35	0,165	0,284	0,667

ДОДАТОК 3; ВПРОВАДЖЕННЯ

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Директор
КНП ЛОР Львівський обласний
діагностичний центр
ПУКАЛЯК Р.М.
79010, Пекарська, 69б, Львів

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів дисертаційної роботи Надіжко Олени Миколаївни - аспіранта кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» на тему: «Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу».

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Алгоритм ведення пацієнтів за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу.
- 2. Установа, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», м. Львів, вул. Пекарська, 69; 79010, Україна, Надіжко Олена Миколаївна, Зубченко Світлана Олександрівна.
- 3. Джерело інформації:** Zubchenko S, Nadizhko O, Havrylyuk A, Kril I, Bakum O-N, Chopyak V Study of effectiveness of immunothropic therapy of long-COVID-19 patients with type 6 of human herpes virus reactivation. Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences. 2024; 1 (73):1-6. <http://orcid.org/0000-0003-4471-4884>; Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). Rheumatology International, 2024 <https://doi.org/10.1007/s00296-024-05677-3>; S. Zubchenko; I. Kril; O. Nadizhko; A. Havrylyuk; V. Chopyak Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections Allergy Volume 79: Supplement: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Hybrid Congress, 31 May – 3 June, 2024 Oct 2024 Pages 1-955, p 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.1630>.
- 4. Впроваджено:** поліклінічне відділення, КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня».
- 5. Переваги впровадженої пропозиції.** Вчасне діагностування реактивованої інфекції, викликаной герпесвірусом 6 типу в пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом і застосування розробленої лікувально-профілактичної програми у практику лікаря-клінічного імунолога дасть можливість попередження розвитку імунозалежних ускладнень. Ведення пацієнтів за етапами лікувально-профілактичного алгоритму з використанням імуномодуючих

медикаментозних засобів дозволить підвищити ефективність лікування пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом.

6. Термін впровадження: 2024-2025 р.р.
7. Загальна кількість спостережень – 65
8. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелах інформації (п.3)
 - позитивні – 48 (кількість спостережень)
 - невизначені - 1 (кількість спостережень)
 - негативні - 0 (кількість спостережень)
9. Зауваження, пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Керівник регіонального медичного
центру клінічної імунології
та алергології



проф. Чопяк В.В.

Директор
КНП ЛОР Львівський обласний
діагностичний центр



Пукаляк Р.М.

6. Термін впровадження: 2024-2025 р.р.
7. Загальна кількість спостережень – 65
8. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелах інформації (п.3)
 - позитивні – 65 (кількість спостережень)
 - невизначені - 3 (кількість спостережень)
 - негативні - 0 (кількість спостережень)
9. Зауваження, пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Лікар – клінічний імунолог
обласної консультативної поліклініки
КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня»



Толстяк Я.Ф.

Генеральний директор КНП ЛОР
«Львівська обласна клінічна лікарня»

Гичка М.М.

"ЗАТВЕРДЖУЮ"



Перший проректор з наукової-педагогічної
роботи ДНП «Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького»

доц. СОЛОНИНКО І.І.

« 3 » квітня 2025р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів дисертаційної роботи Надіжко Олени Миколаївни - аспіранта кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» на тему: «Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу».

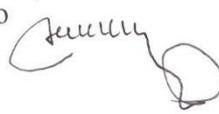
1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Алгоритм ведення пацієнтів за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу.
2. **Установа, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», м. Львів, вул. Пекарська, 69; 79010, Україна, Надіжко Олена Миколаївна, Зубченко Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** Zubchenko S, Nadizhko O, Havrylyuk A, Kril I, Bakum O-N, Chopyak V Study of effectiveness of immunothropic therapy of long-COVID-19 patients with type 6 of human herpes virus reactivation. Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences. 2024; 1 (73):1-6. <http://orcid.org/0000-0003-4471-4884>; Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). Rheumatology International, 2024 <https://doi.org/10.1007/s00296-024-05677-3>; S. Zubchenko; I. Kril; O. Nadizhko; A. Havrylyuk; V. Chopyak Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections Allergy Volume 79: Supplement: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Hybrid Congress, 31 May – 3 June, 2024 Oct 2024 Pages 1-955, p 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.1630>.
4. **Впроваджено:** кафедра інфекційних хвороб ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»
5. **Переваги впровадженої пропозиції.** Вчасне діагностування реактивованої інфекції, викликаной герпесвірусом 6 типу в пацієнтів з постковідним синдромом

та посттравматичним стресовим розладом і застосування розробленої лікувально-профілактичної програми у практику лікаря-клінічного імунолога дасть можливість попередження розвитку імунозалежних ускладнень. Ведення пацієнтів за етапами лікувально-профілактичного алгоритму з використанням імуномодуючих медикаментозних засобів дозволить підвищити ефективність лікування пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом.

6. **Включено:** у навчальний процес на практичних заняттях для студентів 6 курсу при розгляді розділу «Актуальні питання лікування та діагностики нейроінфекцій»,
7. **Термін впровадження:** 2024-2025 р.р.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри інфекційних хвороб,
ДНП «Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького



проф. **ЗІНЧУК О.М.**

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Проректор з післядипомної освіти
ДНП «Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького»

доц. Орест СІЧКОРІЗ

Орест Січкоріз 2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

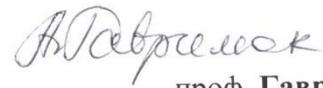
Результатів дисертаційної роботи Надійко Олени Миколаївни - аспіранта кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» на тему: «Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу».

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Алгоритм ведення пацієнтів за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу.
2. **Установа, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», м. Львів, вул. Пекарська, 69; 79010, Україна, Надійко Олена Миколаївна, Зубченко Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** Zubchenko S, Nadizhko O, Havrylyuk A, Kril I, Bakum O-N, Chopyak V Study of effectiveness of immunothropic therapy of long-COVID-19 patients with type 6 of human herpes virus reactivation. Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences. 2024; 1 (73):1-6. <http://orcid.org/0000-0003-4471-4884>; Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). Rheumatology International, 2024 <https://doi.org/10.1007/s00296-024-05677-3>; S. Zubchenko; I. Kril; O. Nadizhko; A. Havrylyuk; V. Chopyak Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections Allergy Volume 79: Supplement: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Hybrid Congress, 31 May – 3 June, 2024 Oct 2024 Pages 1-955, p 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.1630>.
4. **Впроваджено:** кафедра клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»
5. **Переваги впровадженої пропозиції.** Вчасне діагностування реактивованої інфекції, викликаной герпесвірусом 6 типу в пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом і застосування розробленої лікувально-профілактичної програми у практику лікаря-клінічного імунолога дасть можливість попередження розвитку імунозалежних ускладнень. Ведення

пацієнтів за етапами лікувально-профілактичного алгоритму з використанням імуномодулюючих медикаментозних засобів дозволить підвищити ефективність лікування пацієнтів з постковідним синдромом та посттравматичним стресовим розладом.

6. **Включено:** у навчальний процес на лекціях та семінарських заняттях для лікарів курсантів циклів ТУ «Сучасні питання вакцинації», «Імунопатологічні синдроми в клінічній практиці».
7. **Термін впровадження:** 2024-2025 р.р.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:
Завуч кафедри клінічної імунології
та алергології, ДНП «Львівський
національний медичний
університет імені Данила Галицького



проф. Гаврилюк А.М.

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
Генеральний директор
КНП «Територіальне медичне
об'єднання м. Львова»
Самчук О.О.
« 7 » листопада 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результатів дисертаційної роботи Надіжко Олени Миколаївни - здобувача кафедри клінічної імунології та алергології ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» на тему: «Оцінка стану імунної відповіді за умов постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу з активацією герпесвірусу 6 типу».

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** графічно-математична модель прогнозу формування посттравматичного стресового розладу у пацієнтів з реактивацією герпесвірусу людини 6 типу, що відображає необхідність проведення протівірусної імуномодуючої терапії.
2. **Установа, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», м. Львів, вул. Пекарська, 69; 79010, Україна, Надіжко Олена Миколаївна, Зубченко Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко О. М, Чопяк В. В. Поширеність герпесвірусних інфекцій серед пацієнтів з посттравматичними стресовими розладами: дані пілотного проекту. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2023;(3-4):5-12. DOI: 10.37321/immunology.2022.3-4-01; Зубченко С, Кріль І, Надіжко О, Гаєвський В, Гайдучок І, Могильницька Л. Посттравматичний стресовий розлад: клініко-лабораторні зміни та перспектива імунних порушень. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Gayevsky V, Hayduchok I, Mogylnytska L. Post-traumatic stress disorder: clinical and laboratory changes and potential for immune disorders. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2023;71(1):168-183; Чопяк ВВ, Гаврилюк АМ, Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Дисрегуляція імунної відповіді та її клінічні наслідки при посттравматичному стресовому розладі. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;(3-4):5-12; Зубченко СО, Гаврилюк АМ, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Fas-FasL як ключова система функціонування натуральних кілерів при посттравматичному стресовому розладі Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія. 2024;77(3):58-64. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820860>
4. **Впроваджено:** центр UNBROKEN Першого територіального медоб'єднання Львова.
1. **Переваги впровадженої пропозиції.** Продемонстровано, що пацієнти з посттравматичним стресовим розладом на тлі реактивації герпесвірусу людини 6 (HHV-6) типу мають пригнічену цитотоксичну активність імунокомпетентних клітин, що супроводжується розбалансуванням

імунокомпетентних клітин, що супроводжується розбалансуванням активізаційно-регуляторних механізмів. Знижений рівень експресії відповідних маркерів на NK та Т клітинах ($CD4^+CD25^+CD127^- < 4,06 \pm 2,97\%$; $CD56^+/95^+$ (Fas) $< 2,08 \pm 1,11\%$; $CD56^+/178^+$ (FasL) $< 1,05 \pm 0,66\%$; $CD8^+CD279^+$ (PD-1) $< 3,44 \pm 1,68\%$; $CD8^+CD274^+$ (PD-1L) $< 4,18 \pm 2,32\%$) асоційований з підвищеним ризиком формування імунопатологічних синдромів (автоімунного, інфекційного тощо) і дозволяє рекомендувати корекцію терапевтичних заходів з проведенням противірусної імуномодуючої терапії пацієнтів з ПТСР і реактивацією ННВ-6. Застосування графічно-логістичної моделі оцінки потенційних ризиків внаслідок дизрегуляції імунної відповіді спричиненої хронізацією інфекційного процесу в поєднанні з пригніченням клітинного імунітету при ПТСР у практику лікаря-психіатра дасть можливість прогнозувати розвиток імунозалежних неврологічних ускладнень і вчасно проводити курс імуномодуючої противірусної терапії з метою їх профілактики.

5. **Термін впровадження:** 2024-2025 р.р.
6. **Загальна кількість спостережень** – 38
7. **Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, викладених у джерелах інформації (п.3)**
 - позитивні – 36 (кількість спостережень)
 - невизначені - 1 (кількість спостережень)
 - негативні - 1 (кількість спостережень)
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Лікар – психіатр
керівник напрямку ментального здоров'я
Центру UNBROKEN.
КНП «Перше територіальне медичне
об'єднання м. Львова»



Березюк О.Р.

ДОДАТОК 4;

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

13. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Matsyura O, Chopyak V. Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. *Rheumatol Int.* 2022 Sep;42(9):1523-1530. doi: 10.1007/s00296-022-05146-9.
14. Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ, Чопяк ВВ. Поширеність герпесвірусних інфекцій серед пацієнтів з посттравматичними стресовими розладами: дані пілотного проекту. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* 2023;(3-4):5-12. DOI: 10.37321/immunology.2022.3-4-01
15. Зубченко С, Надіжко О, Горбаль Н, Гайдучок І, Гаспарян А. Науково-практична конференція X міжнародні Різдвяні читання у Львові «COVID-19, LONG-COVID-19, постковідний синдром : їх багатолікість та імунні порушення» = Zubchenko S, Nadizhko O, Horbal N, Gaiduch I, Gasparyan A. 10th International Scientific-Practical Conference «Christmas Readings in Lviv»: «COVID-19, LONG-COVID-19, POST-COVID-19: their multiplicity and immune disorders». *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки.* 2022;66(1):22-35. DOI: 10.25040/ntsh2022.01.03
16. Zubchenko S, Nadizhko O. Immunological features of COVID-19 in patients with neuropsychiatric symptoms and HHV-6-infection. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* 2023;(4):12-22. doi: 10.37321/immunology.2023.4-02
17. Зубченко С, Кріль І, Надіжко О, Гаєвський В, Гайдучок І, Могильницька Л. Посттравматичний стресовий розлад: клініко-лабораторні зміни та перспектива імунних порушень = Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Gayevsky V, Hayduchok I, Mogylnytska L. Post-traumatic stress disorder: clinical and laboratory changes and potential for immune disorders. *Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки.* 2023;71(1):168-183. DOI: 10.25040/ntsh2023.01.11
18. Чопяк ВВ, Гаврилюк АМ, Зубченко СО, Кріль ІЙ, Надіжко ОМ. Дисрегуляція імунної відповіді та її клінічні наслідки при

- посттравматичному стресовому розладі. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2024;(3-4):5-12. DOI:[10.37321/immunology.2024.3-4-01](https://doi.org/10.37321/immunology.2024.3-4-01)
- 19.Зубченко СО, Гаврилюк АМ, Криль ІЙ, Надіжко ОМ. Fas-FasL як ключова система функціонування натуральних кілерів при посттравматичному стресовому розладі Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія. 2024;77(3):58-64. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820860>
- 20.Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadishko O, Kolinkovskyi O, Chopyak V. Changes in the cytotoxic and regulatory functions of NK cells in patients with long-COVID under the influence of the human herpesvirus 6 (pilot study). Rheumatol Int. 2024 Dec;44(12):2873-2883. doi: 10.1007/s00296-024-05677-3.
- 21.Зубченко С, Надіжко О, Криль І, Гаврилюк А, Бакун О-Н, Чопяк В. Дослідження ефективності імунотропної терапії з long COVID на тлі реактивації герпесвірусу людини 6 типу = Zubchenko S, Nadishko O, Kril I, Havrylyuk A, Bakun O-N, Chopyak V. Study of the effectiveness of immunotropic therapy of long COVID patients with type 6 of human herpes virus reactivation. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки. 2024;73(1):240-253. DOI: 10.25040/ntsh2024.01.17
- 22.Зубченко СО, Надіжко ОМ. Оцінка ефективності препарату Новірин Форте в пацієнтів із тривалим COVID за реактивації вірусу герпесу 6 типу. Здоров'я України 21 сторіччя. 2024;(6):11. DOI: <https://surli.cc/xvolwy>
23. Zubchenko S, Havryliuk A, Kril I, Nadishko O, Chopyak V. Immune system distant effects in patients with long-COVID on the background of reactivation HHV-6 infection. Імунологія та алергологія: наука і практика. 2025;(1):31-42. DOI: 10.37321/immunology.2025.1-03
- 24.Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadishko O, Synenkyi O, Nesterovska L, Kurpysz M. Changes in the expression of regulatory receptors on CD8⁺ T cells as risk factors for the formation of long-COVID in patients after a severe course

of COVID-19. Праці Наукового товариства ім. Шевченка. Медичні науки.
2025Dec.20;77(2). DOI: <https://doi.org/10.25040/ntsh2025.02.11>.

ДОДАТОК 5; АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Опубліковані тези доповідей за темою дисертації:

7. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. The post-COVID syndrome and post-traumatic stress disorders in patients from Ukraine (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2023 June 9-11 ; Hamburg. Hamburg; 2023. p. 431-432. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.15925>
8. Chopyak V, Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O. Long-COVID: the role of NK cells and herpes virus type 6 activation. In: Abstracts from the 7th Congress for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p. 60. <https://surl.lu/fpjau>
9. Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O, Chopyak V. Changes of expression of regulatory and inhibitory receptors on CD8 T cells in long-COVID-19 patients. In: Abstracts from the 7th Congress for Ukrainian Society of Cell Biology; 2024 Sept 11-13; Lviv. Lviv; 2024. p.63. <https://surl.lu/fpjau>
10. Zubchenko S, Kril I, Nadizhko O, Havrylyuk A, Chopyak V. Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections. In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. Valencia; 2024. p. 519-520. <https://doi.org/10.1111/all.16300>
11. Zubchenko S, Havrylyuk A, Kril I, Nadizhko O, Chopyak V. Research of receptor expression on NK cells in patients with long- COVID (the pilot study). In: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology; 2024 May-June 31-3; Valencia. 2024. p. 847. <https://doi.org/10.1111/all.16300>
12. Zubchenko S., Gavrylyuk A., Kril I., Nadizhko O., Chopyak V. Study of lymphocyte populations and subpopulations in patients with long-COVID with reactivation of herpesvirus type 6 infection, 2025. June 13-16; Glasgow, United Kingdom; 2025. P 565. <https://doi.org/10.1111/all.70138>.

Перелік виступів на конференціях за темою дисертації:

1. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Імунодефіцитні стани та алергічні захворювання в клінічній практиці» м. Харків 10-11.11.22 (он-лайн); сертифікат №2022-1007-1008657-100 181 (усна доповідь)
2. EAACI Hybrid Congress 2023: «The post-COVID syndrome and post-traumatic stress disorders in patients from Ukraine (the pilot study)» S.Zubchenko, I.Kril, O.Nadizhko, V.Choryak Hamburg (Німеччина), 11-12.05.2023 (стендова доповідь)
3. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Стрес-індуковані імунні розлади та їх наслідки в умовах військового часу» м Харків, 29 лютого - 1 березня 2024 (он-лайн): «Роль герпесвірусів у формуванні постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу»; сертифікат №2024-1007-3701741-100027 (усна доповідь)
4. І міжнародна науково практична конференція “Лікарі та медсестринство – медичний фронт в Україні та світі”з нагоди150-ліття Наукового Товариства Шевченка (НТШ).м. Луцьк, 11-12.05.2023 (оф-лайн): ”Сучасні лабораторні показники в оцінці тяжкості перебігу інфекційного процесу за сучасних умов” Сертифікат: 2023-10755502399-100244 (усна доповідь)
5. Міжнародний симпозіум Львів-Україна “SMART LION 2023 Реабілітація в Україні” м.Львів, 26.09.2023 (оф-лайн): “Імунологічні маркери ПТСР” Сертифікат: 21 (усна доповідь)
6. Ювілейний міжнародний медичний форум «Медицина України та світу: основи, реалії та стратегічні перспективи» м. Львів, 13-15.12.2023 (оф-лайн): «Поширеність герпесвірусу 6 типу у пацієнтів з посттравматичним стресовим розладом» Сертифікат: 2023-1056-5508279-100331 (усна доповідь)
7. European Academy of Allergy and Clinical Immunology (Hybrid Congress): “Research of receptor expression on NK cells in patients with long- COVID (the pilot study)” (співдоповідачі S. Zubchenko; A. Havrylyuk; I. Kril; O.

- Nadizhko; V. Chopyak) Valencia, Spain 31 May – 3 June 2024 (стендова доповідь)
8. European Academy of Allergy and Clinical Immunology (Hybrid Congress): “Association of long- COVID-19 with reactivation of herpesvirus infections” (співдоповідачі S. Zubchenko; A. Havrylyuk; I. Kril; O. Nadizhko; V. Chopyak) Valencia, Spain 31 May – 3 June 2024 (стендова доповідь)
 9. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Стрес-індуковані імунні розлади та їх наслідки в умовах військового часу»: «Роль герпесвірусів у формуванні постковідного синдрому та посттравматичного стресового розладу»; сертифікат № 2024-1007-3701741-100027 Харків, Україна; лютий-березень 29.02-1.03, 2 дні (усна доповідь)
 10. II Міжнародна науково-практична конференція «Лікарі та медсестринство в умовах війни та поствоєнне відновлення»: «Постмаркетингове дослідження пацієнтів з активованою герпесвірусною інфекцією 6 типу»; Луцьк, Україна травень 16-17.2024 (усна доповідь)
 11. 7th Congress for All-Ukrainian public organization Ukrainian Society of Cell Biology with international representation “Long-COVID: the role of NK cells and herpes virus type 6 activation“ Lviv, Ukraine September 11-13, 2024 (співдоповідачі Chopyak V, Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O) Lviv, Ukraine September 11-13, 2024 (усна доповідь)
 12. 7th Congress for All-Ukrainian public organization Ukrainian Society of Cell Biology with international representation Lviv, Ukraine September 11-13, 2024: “Changes of expression of regulatory and inhibitory receptors on CD8 T cells in long-COVID-19 patients” (співдоповідачі Havrylyuk A, Kril I, Zubchenko S, Nadizhko O, Chopyak V.) Lviv, Ukraine September 11-13, 2024 (усна доповідь)
 13. Міжнародна науково-практична конференція «Імунологія, алергологія, ревматологія в світі та Україні: сучасні реалії та виклики» (Різдвяні читання у Львові): «Features of expression of regulatory and inhibitory

receptors on cytotoxic T lymphocytes in long COVID patients» (співдоповідачі Анна Гаврилюк, Ірина Кріль, Світлана Зубченко, Валентина Чопяк, Олена Надіжко) Львів, Україна 27-28 листопада 2024 року (усна доповідь)

14. Міжнародна науково-практична конференція «Імунологія, алергологія, ревматологія в світі та Україні: сучасні реалії та виклики» (Різдвяні читання у Львові) «Immunopathology in post-traumatic stress disorder» (співдоповідачі Олена Надіжко, Світлана Зубченко, Анна Гаврилюк) Львів, Україна 27-28 листопада 2024 року Сертифікат БПР № 2024-2141-1003623-10003 (усна доповідь)
15. EAACI Congress 2025: «Study of lymphocyte populations and subpopulations in patients with long-COVID with reactivation of herpesvirus type 6 infection» S.Zubchenko, I.Kril, O.Nadizhko, V.Chopyak Glasgow, (United Kingdom) 13-16.06.2023 (стендова доповідь)
16. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Мультидисциплінарний підхід в медицині: сучасні нароби та виклики в імунології, алергології та ревматології» (Різдвяні читання у Львові): «Immunopathology in post-traumatic stress disorder» (співдоповідачі Олена Надіжко, Світлана Зубченко, Анна Гаврилюк) Львів, Україна 26-27 листопада 2025 року Сертифікат БПР № 2025-2141-1018507-100063 (усна доповідь)