

## ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМБІНОВАНОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ ПРОПЕСОМ ТА ІНФЛАМАФЕРТИНОМ ПРИ ВИБІРКОВОМУ ДЕФІЦИТІ НК- І НКТ-КЛІТИН У ДІТЕЙ З РОЗЛАДАМИ СПЕКТРУ АУТИЗМУ, АСОЦІЙОВАНИМИ З ГЕНЕТИЧНИМ ДЕФІЦИТОМ ФОЛАТНОГО ЦИКЛУ

<sup>1</sup>МАЛЬЦЕВ Д.В., <sup>2</sup>СТЕФАНИШИН В.М.

<sup>1</sup>Науково-дослідний інститут експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

<sup>2</sup>Клініка нейроімунології "Vivere", Київ, Україна

### Резюме

**Вступ.** Результати попередніх невеликих клінічних досліджень вказують на потенційну користь від комбінованої імунотерапії Пропесом та Інфламафертином для компенсації дефіциту НК- і НКТ-клітин, зумовленого генетичним дефіцитом фолатного циклу, у дітей з розладами спектру аутизму.

**Мета:** вивчити ефективність комбінованої імунотерапії Пропесом та Інфламафертином при дефіциті НК- і НКТ-клітин у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу.

**Матеріали і методи.** В даному одноцентровому проспективному контрольованому нерандомізованому клінічному дослідженні брали участь 96 дітей віком від 2 до 10 років, що страждали на розлади спектру аутизму, асоційовані з генетичним дефіцитом фолатного циклу (досліджувана група, ДГ). Діти ДГ отримували Пропес в дозі 2 мл в/м через день на ніч протягом 3 місяців підряд (45 ін'єкцій) та Інфламафертин в дозі 2 мл в/м через день на ніч протягом 3 місяців підряд, чергуючи з Пропесом (45 ін'єкцій). Контрольну групу (КГ) склали 32 дітей аналогічного вікового і гендерного розподілу, що страждали на розлади спектру аутизму, асоційовані з генетичним дефіцитом фолатного циклу, однак не отримували імунотерапії.

**Результати та їх обговорення.** Кількість НК-клітин досягла нижньої межі норми у 39 із 53 пацієнтів (74% випадків) з вихідним дефіцитом цих лімфоцитів, а середня кількість НК-клітин в крові в ДГ збільшилася майже вдвічі протягом 3-місячного курсу імунотерапії ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ), однак повернулася майже до вихідного рівня протягом 2-х наступних місяців після відміни імунотерапевтичних агентів ( $p > 0,05$ ;  $Z > Z_{0,05}$ ). Кількість НКТ-клітин нормалізувалася у 78 із 87 пацієнтів (89% випадків) з вихідним дефіцитом цих клітин, а середня кількість НКТ-клітин в крові в ДГ зросла під час курсу імунотерапії наполовину ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ) і продовжувала зростати протягом 2-х наступних місяців після відміни імунотропних препаратів ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ). Відзначалася спряженість між проведенням імунотерапії та нормалізацією кількості НК- ( $\chi^2 = 18,016$ ;  $OR = 13,929$ ;  $95\% CI = 3,498-55,468$ ) і НКТ-клітин ( $\chi^2 = 60,65$ ;  $OR = 46,800$ ;  $95\% CI = 14,415-151,937$ ) в крові з сильним зв'язком між цими процесами (критерій  $\phi = 0,504$  і  $0,715$  відповідно;  $C = 0,450$  і  $0,581$  відповідно).

**Висновки.** Комбінована імунотерапія за допомогою Пропесу та Інфламафертину – ефективна стратегія лікування імунodefіциту, зумовленого генетичним дефіцитом фолатного циклу, у дітей з розладами спектру аутизму.

### Ключові слова:

імунозалежні ускладнення, імунoproфілактика, імунomodуляція, клітинний імунodefіцит.

**Вступ.** Дані останніх мета-аналізів результатів рандомізованих контрольованих клінічних досліджень вказують на асоціацію розладів спектру аутизму і генетичного дефіциту фолатного циклу у дітей [14, 15]. Встановлено, що генетичний дефіцит фолатного циклу впливає на

стан імунітету дітей з розладами спектру аутизму, формуючи своєрідний імунodefіцит, основу якого складає зниження кількості і функціональної активності природних кілерів (НК-клітин) та природних кілерних Т-лімфоцитів (НКТ-клітин) [10]. Імуносупресія, зумовлена генетичним де-

фіцитом фолатного циклу, опосередковує розвиток ряду імунозалежних ускладнень, які визначають формування запальної енцефалопатії у дітей з розладами спектру аутизму, зокрема – реактивованих опортуністичних інфекцій [3, 13], автоімунних реакцій проти нейронів та мієліну [4, 5] та системного запалення з феноменом гіперцитокінемії [12, 16]. Компенсація імунодефіциту, індукованого генетичним дефіцитом фолатного циклу, видається привабливою перспективою попередження або, принаймні, послаблення проявів пов'язаних імунозалежних ускладнень, які впливають на важкість ураження ЦНС у дітей з аутистичними розладами. Однак наразі такі терапевтичні підходи залишаються не розробленими, тому є недоступними для пацієнтів. Результати попередніх невеликих клінічних досліджень вказують на потенційну користь від комбінованої імунотерапії Пропесом та Інфламафертином для компенсації дефіциту NK- і NKT-клітин при дефіциті фолатного циклу [1, 2], однак ці обнадійливі дані мають бути перевірені у крупніших контрольованих клінічних випробуваннях з більшою вагомістю отриманих результатів. Пропес – біологічний агент, що містить альфа-і бета-дефензини, має виразні імуноактивуючу та лімфопроліферативну дію. В той самий час, Інфламафертин, до складу якого входять аларміни та адренотомедулін, навпаки, чинить проти-запальну дію, опосередковану інтерлейкіном 10, що важливо у попередженні автоімунних ускладнень при медикаментозно-індукованій активації імунітету. Як вказує накопичений досвід застосування іншого високоактивного імуномодельючого агенту – рекомбінантного інтерлейкіну 2 – терапевтична імунна активація може спричинити небажане підвищення ризику розвитку автоімунних ускладнень [7], тому комбінація імуноактиваційного препарату Пропесу з проти-запальним толерогенним імунотропним засобом видається запорукою досягнення безпечної імуномодельючої терапевтичної дії.

**Мета дослідження:** вивчити ефективність комбінованої імунотерапії Пропесом та Інфламафертином при дефіциті NK- і NKT-клітин у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу.

**Матеріали і методи.** В даному одноцентровому проспективному контрольованому нерандомізованому клінічному дослідженні брали участь 96 дітей віком від 2 до 10 років, що страждали на розлади спектру аутизму, асоційовані з генетичним дефіцитом фолатного циклу. Ці пацієнти склали досліджувану групу (ДГ). Діагноз розладів спектру аутизму виставляли психіатри обласних лікарень або профільних кафедр за критеріями DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders) і ICD-10 (The International Statistical Classification of

Diseases and Related Health Problems). Основою для включення пацієнта в дане випробування була наявність письмової згоди батьків на участь дитини в дослідженні (Протокол № 128 від 23.12.2019 року Комісії з біоетики НМУ імені О. О. Богомольця).

Для верифікації генетичного дефіциту фолатного циклу проводили визначення замін нуклеотидів в генах циклу фолієвої кислоти: MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTRR 66 A>G і MTR 2756 A>G в різних комбінаціях в гомо- і гетерозиготному стані методом ПЛР з рестрикцією. У таких дітей визначалася персистуюча гіпергомоцистеїнемія – сироваткова концентрація го-моцистеїну вище рівня 5,2 мкмоль/л, що є біомаркером дефіциту фолатного циклу. Кількість NK- і NKT-клітин в крові вимірювали за допомогою лазерної проточної цитофлуориметрії (цитометр Epics XI, США) з використанням методу непрямой імунофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл до CD-маркерів лімфоцитів (потрійна мітка; реактиви Beckman Coulter, США). Під NK-клітинами розуміли субпопуляцію лімфоцитів з фенотипом CD3-CD16+CD56+, а під NKT-клітинами – субпопуляцію лімфоцитів з фенотипом CD3+CD16+CD56+. На момент початку дослідження дефіцит NKT-клітин мав місце серед пацієнтів досліджуваної групи в 84% випадків, тоді як дефіцит NK-клітин – в 51% випадків, в тому числі комбінований дефіцит NKT- і NK-клітин – в 35% випадків (рис. 1). Дослідження імунного статусу проводили щомісяця протягом 5 місяців поспіль як під час проведення 3-місячного курсу імунотерапії, так і протягом подальших 2-х місяців після завершення імунотерапевтичних втручань.

Діти ДГ у зв'язку з дефіцитом NK- і/або NKT-клітин отримували апробовану комбіновану імунотерапію. Пропес застосовували в дозі 2 мл в/м через день на ніч протягом 3 місяців підряд (45 ін'єкцій). Відповідно до цього, Інфламафертин вводили в дозі 2 мл в/м через день на ніч протягом 3 місяців підряд, чергуючи з Пропесом (45 ін'єкцій).

Контрольну групу (КГ) склали 32 дітей аналогічного вікового і гендерного розподілу, що страждали на розлади спектру аутизму, асоційовані з генетичним дефіцитом фолатного циклу, однак не отримували імунотерапевтичних втручань для компенсації дефіциту NK- і NKT-клітин. Ці діти проходили тільки рекомендовані нині освітні розвиваючі програми в спеціалізованих центрах для пацієнтів з особливими потребами.

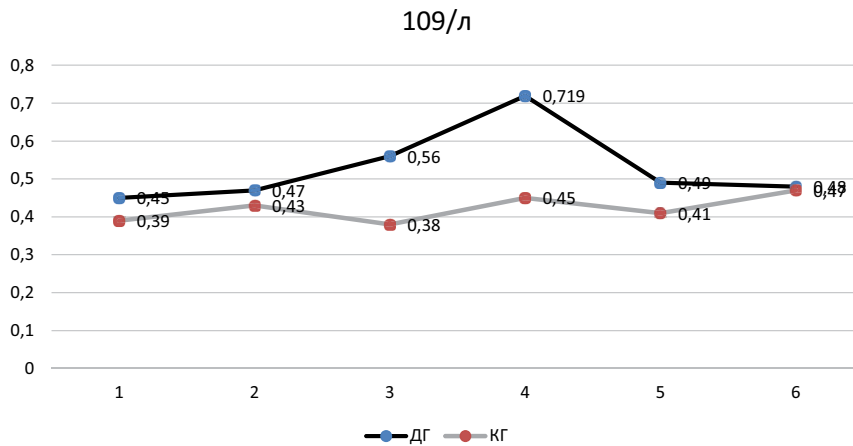


Рис. 1. Структура ДГ (n=96) за дефіцитами НКТ- і НК-клітин в крові

Для статистичного аналізу отриманої інформації застосовували методи структурного та порівняльного аналізів. З метою встановлення достовірності відмінностей результатів, застосовували Т-критерій Стьюдента з розрахунком коефіцієнта довірчої ймовірності  $p$  (параметричний критерій) і число знаків  $Z$  за Урбахом (непараметричний критерій). Для вивчення пов'язаності між призначенням імунотерапії і динамікою досліджуваних показників імунного статусу розраховували  $\chi^2$  квадрат Пірсона ( $\chi^2$ ) з визначенням поправки Йейтса. Для визначення сили виявлених зв'язків додатково розраховували критерій  $\phi$ , коефіцієнт спряженості Пірсона ( $C$ ) і його нормоване значення ( $C'$ ). Для перевірки отриманих даних застосовували розрахунок показника співвідношення шансів (OR) та 95% довірчого інтервалу (95% CI). Інформацію обробляли за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Дослідження виконувалось як фрагмент наукової роботи на замовлення МОЗ України, грант № 0118U001218.

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Результати структурного аналізу в групах спостереження вказують, що кількість НК-клітин досягла нижньої межі норми у 39 із 53 пацієнтів (74%

випадків) з вихідним дефіцитом цих лімфоцитів, а середня кількість НК-клітин в крові в ДГ збільшилася майже вдвічі протягом 3-місячного курсу імунотерапії, однак повернулася майже до вихідного рівня протягом 2-х наступних місяців після відміни імунотерапевтичних агентів. На відміну від цього, кількість НКТ-клітин нормалізувалася у 78 із 87 пацієнтів (89% випадків) з вихідним дефіцитом цих клітин, а середня кількість НКТ-клітин в крові в ДГ зросла під час курсу імунотерапії щонайменше на половину і продовжувала неухильно зростати протягом 2-х наступних місяців після відміни апробованих імунотропних препаратів, збільшившись майже вдвічі в кінці періоду спостереження.

Дані порівняльного та варіаційного аналізів вказують на вірогідну відмінність у середніх кількостях НК-клітин в крові в ДГ і КГ протягом періоду 1-3 місяця курсу імунотерапії ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ), однак не після відміни імунотерапевтичних препаратів. Вірогідна відмінність у середніх кількостях НКТ-клітин в крові в групах спостереження мала місце в період з 2 по 5 місяць дослідження ( $p < 0,05$ ;  $Z < Z_{0,05}$ ), однак не після першого місяця лікування, зберігаючись щонайменше протягом найближчих 2-х місяців після відміни апробованих імунотропних агентів.

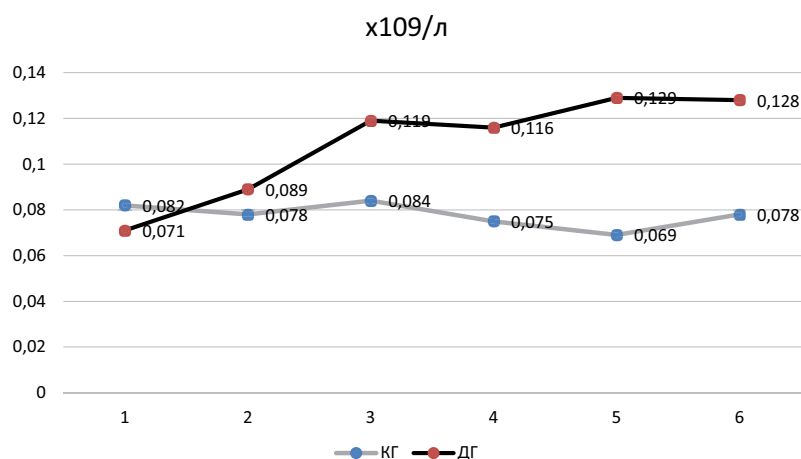


Рис. 2. Динаміка кількості НКТ-клітин в крові в групах спостереження протягом клінічного дослідження

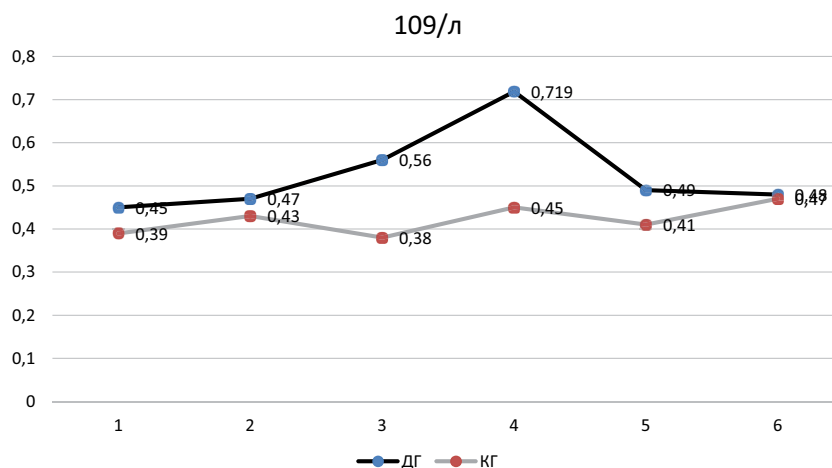


Рис. 3. Динаміка кількості НК-клітин в крові в групах спостереження протягом клінічного дослідження

Отримані дані свідчать про здатність застосовуваної комбінованої імунотерапії збільшувати кількість НК- і НКТ-клітин в крові у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованих з генетичним дефіцитом фолатного циклу, нормалізуючи їх імунний статус. Однак патерни відповіді з боку різних субпопуляцій лімфоцитів на апробовувані імунотерапевтичні агенти відрізняються один від одного. Так, НК-клітини реагують на імунотерапію швидше та інтенсивніше, однак досягнутий ефект короточасний і тримається тільки на тлі застосовуваної імунотерапії, в той час як кількість НКТ-клітин в крові зростає повільніше, – з 1-місячним відтермінуванням, однак досягається пролонгований позитивний ефект, оскільки поступове збільшення кількості цих лімфоцитів в крові зберігається навіть протягом перших 2-х місяців після відміни імунотропних препаратів.

Для перевірки спряженості між проведенням комбінованої імунотерапії та нормалізацією кількості НК- і НКТ-клітин в крові провели дослідження хі квадрату Пірсона ( $\chi^2$ ), критерію хі квадрат з поправкою Йейтса та критерію хі квадрат з поправкою на правдоподібність. Ці дані дозволили б визначити, чи саме застосовувані імунотерапевтичні втручання були причиною отриманих змін в імунному статусі пацієнтів ДГ. Виходили з даних, що кількість НКТ-клітин відновилася у 78 із 87 пацієнтів ДГ з вихідним дефіцитом цих лімфоцитів і тільки у 5 із 32 пацієнтів КГ із дефіцитом цих клітин до початку дослідження, а кількість НК-клітин досягла норми у 39 із 53 пацієнтів з відповідним дефіцитом в ДГ і тільки у 3 із 18 осіб з вихідним дефіцитом у КГ. Отримані результати представлені в табл. 1.

Таблиця 1

**Оцінка хі ( $\chi^2$ ) квадрату Пірсона та інших показників спряженості між призначенням імунотерапії та нормалізацією показників імунного статусу у пацієнтів ДГ (n=96)**

Показник	НК-клітини		НКТ-клітини	
	значення	вірогідність	значення	вірогідність
хі квадрат Пірсона	18,016	<0,001	60,65	<0,001
хі квадрат з поправкою Йейтса	15,737	<0,001	57,307	<0,001
хі квадрат з поправкою на правдоподібність	18,613	<0,001	60,282	<0,001

Отримані результати (табл. 1) вказують на спряженість між проведенням імунотерапії та досягненням нормалізації порушених показників імунного статусу – кількості НК- і НКТ-клітин в крові – у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу. Це свідчить про те, що саме призначені

імунотропні препарати були найбільш ймовірною причиною отриманих позитивних змін в імунному статусі пацієнтів ДГ.

Для вивчення сили зв'язку між проведенням апробовуваних імунотерапевтичних втручань та нормалізацією досліджуваних показників стану імунітету розраховували значення коефіцієнту  $\phi$ ,

коефіцієнту спряженості Пірсона та його нормованого значення. Це дозволило б оцінити, наскільки ефективно діють Пропес та Інфламафертин на порушену ланку імунітету у дітей з

розладами спектру аутизму, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу. Отримані результати містяться в табл. 2.

Таблиця 2

**Оцінка критерію  $\phi$  та інших показників сили зв'язку між проведенням імунотерапії та нормалізацією показників імунного статусу у пацієнтів ДГ (n=96)**

Показник	NK-клітини		NKT-клітини	
	значення	сила зв'язку	значення	сила зв'язку
критерій $\phi$	0,504	відносно сильний	0,715	сильний
коефіцієнт спряженості Пірсона (C)	0,450	відносно сильний	0,581	відносно сильний
нормоване значення коефіцієнту спряженості Пірсона (C')	0,636	сильний	0,822	дуже сильний

Як видно з даних табл. 2, відзначалися переважно сильний або відносно сильний зв'язки між проведенням імунотерапії та досягнутими змінами в імунному статусі, що вказує на високу ефективність апробовуваних імунотерапевтичних засобів в ДГ. NKT-клітини виявилися дещо чутливішими до комбінованої імунотерапії, ніж NK-лімфоцити, хоча щодо обох субпопуляцій лімфоцитів отримані переконливі дані щодо сильного зв'язку між проведенням імунотерапії та нормалізацією їх кількості в крові.

Для перевірки отриманих даних щодо сильного зв'язку між застосовуваною імунотерапією та нормалізацією кількості NK- та NKT-клітин, у пацієнтів ДГ розраховували показник співвідношення шансів (OR), стандартну помилку співвідношення шансів (S) та 95% довірчий інтервал (95% CI). Це дозволило б уникнути помилок при оцінці спряженості між досліджуваними процесами на попередніх етапах статистичного аналізу. Отримані результати представлені у табл. 3.

Таблиця 3

**Оцінка показника співвідношення шансів (OR) та інших показників зв'язку між імунотерапією та нормалізацією показників імунного статусу у пацієнтів ДГ (n=96)**

Показник	NK-клітини	NKT-клітини
співвідношення шансів (OR)	13,929	46,800
стандартна помилка співвідношення шансів (S)	0,705	0,601
95% довірчий інтервал (95% CI)	3,498-55,468	14,415-151,937

Як видно з даних табл. 3., розрахунок OR та 95% CI підтверджує отримані раніше результати про тісний зв'язок між проведенням апробованої імунотерапії та нормалізацією досліджуваних показників імунного статусу у пацієнтів ДГ. Продемонстрований повторно факт, виявлений ще на попередньому етапі статистичного аналізу даних, щодо вищої чутливості з боку NKT-клітин порівняно з NK-лімфоцитами до комбінованої імунотерапії Пропесом та Інфламафертином в ДГ.

Ці дані вказують на належну імуноmodeleючу дію апробованої імунотерапевтичної стратегії при специфічній формі імунодефіциту, що відзначається у дітей з розладами спектру аутизму, асоційованими з генетичним дефіцитом фолатного циклу. Імунодефіцит у дітей з роз-

ладами спектру аутизму, найбільш ймовірно, відповідальний за розвиток ряду імунозалежних ускладнень, які впливають як на тяжкість психічних порушень, так і на рівень здоров'я в цілому. Зокрема, йдеться про аномально високе мікробне навантаження на організм [3, 13], персистуючий імунозапальний ентероколіт [6], схильність до генерації алергічних проявів [17], системне запалення з гіперцитокінемією [12, 16] та автоімунітет проти нейронів та мієліну [4, 5]. Нормалізація порушеного імунного статусу є запорукою профілактики розвитку ряду імунозалежних ускладнень у дітей з розладами спектру аутизму, що сприятиме поліпшенню їх клінічного стану та може суттєво покращити відповідь на нейропротекторні терапевтичні стратегії [8, 9, 11].

**Висновки.** Результати, отримані в даному контрольованому нерандомізованому клінічному дослідженні, вказують, що комбінована імунотерапія за допомогою Пропесу та Інфламафертину – ефективна стратегія лікування імунodefіциту, зумовленого генетичним дефіцитом фолатного циклу, у дітей з розладами спектру аутизму. Ці біологічні імунотропні препарати здатні нормалізувати раніше знижену кількість НК- і НКТ-клітин в крові у означеної категорії пацієнтів вже протягом 3-місячного курсу імунотерапії з частішим, сильнішим і стійкішим ефектом щодо НКТ-клітин порівняно з НК-лімфоцитами.

**Конфлікт інтересів.** Автор заявляє на відсутність конфлікту інтересів.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Мальцев Д.В. Эффективность иммунотерапии при дефиците естественных киллеров и/или естественных киллерных Т-лимфоцитов у людей // Матеріали тез доповідей науково-практичної конференції «Епідеміологія, імунопатогенез, діагностика, лікування хламідіозу і TORCH-інфекцій» (23-24 листопада 2016 року, м. Київ). Ж. Імунологія та алергологія. Додаток. – 2016. – №1. – С. 6–7.
2. Мальцев Д.В. Эффективность комбинированной иммунотерапии Пропесом та Інфламафертином при дефіциті природних кірців та природних кілерних Т-лімфоцитів, асоційованих з генетичним дефіцитом фолатного циклу // Матеріали Науково-практичної конференції «Нові досягнення в імунології та алергології», 15-16 вересня 2017 року, м. Київ. // Ж. Імунологія та алергологія. – 2017. – №1-2. – 48 с.
3. Binstock T. Intra-monocyte pathogens delineate autism subgroups // *Med. Hypotheses*. – 2001. – Vol. 56(4). – P. 523–531.
4. Cabanlit M., Wills S., Goines P. et al. Brain-specific autoantibodies in the plasma of subjects with autistic spectrum disorder // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 107. – P. 92–103.
5. Frye R.E., Sequeira J.M., Quadros E.V. et al. Cerebral folate receptor autoantibodies in autism spectrum disorder // *Mol. Psychiatry*. – 2013. – Vol. 18(3). – P. 369–381.
6. Furlano R.I., Anthony A., Day R. et al. Colonic CD8 and gamma delta T-cell infiltration with epithelial damage in children with autism // *J. Pediatr.* – 2001. – Vol. 138(3). – P. 366–372.
7. He J., Zhang R., Shao M. et al. Efficacy and safety of low-dose IL-2 in the treatment of systemic lupus erythematosus: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial // *Ann. Rheum. Dis.* – 2020. – Vol. 79(1). – P. 141–149.
8. Maltsev D., Natrus L. The Effectiveness of Infliximab in Autism Spectrum Disorders Associated with Folate Cycle Genetic Deficiency // *Psychiatry psychotherapy and clinical psychology*. – 2020. – Vol. 11(3). – P. 583–594.
9. Maltsev D.V. Efficiency of a high dose of intravenous immunoglobulin in children with autistic spectrum disorders associated with genetic deficiency of folate cycle enzymes // *Journal of global pharma technology*. – 2019. – Vol. 11(05). – P. 597–609.
10. Maltsev D.V. Features of folate cycle disorders in children with ASD // *Bangladesh Journal of Medical Science*. – 2020. – Vol. 19 (04). – P. 737–742.
11. Maltsev D.V. High-dose intravenous immunoglobulin therapy efficiency in children with autism spectrum disorders associated with genetic deficiency of folate cycle enzymes // *Psychiatry, Psychotherapy and Clinical Psychology*. – 2016. – Vol. 2. – P. 63–80.
12. Masi A., Quintana D.S., Glozier N. et al. Cytokine aberrations in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis // *Mol. Psychiatry*. – 2015. – Vol.20(4). – P. 440–446.
13. Nicolson G.L., Gan R., Nicolson N.L., Haier J. Evidence for Mycoplasma ssp., Chlamydia pneumoniae, and human herpes virus-6 coinfections in the blood of patients with autistic spectrum disorders // *J. Neurosci Res*. – 2007. – Vol. 85(5). – P. 1143–1148.
14. Pu D., Shen Y., Wu J. Association between MTHFR gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis // *Autism Res*. – 2013. – Vol. 6(5). – P. 384–392.
15. Sadeghiyeh T., Dastgheib S.A., Mirzaee-Khoramabadi K. et al. Association of MTHFR 677C>T and 1298A>C polymorphisms with susceptibility to autism: A systematic review and meta-analysis // *Asian. J. Psychiatr.* – 2019. – Vol. 46. – P. 54–61.
16. Saghadzadeh A., Ataeinia B., Keynejad K. A meta-analysis of pro-inflammatory cytokines in autism spectrum disorders: Effects of age, gender, and latitude // *J. Psychiatr. Res.* – 2019. – Vol. 115. – P. 90–102.
17. Xu G, Snetselaar LG, Jing J. et al. Association of Food Allergy and Other Allergic Conditions With Autism Spectrum Disorder in Children // *JAMA - Netw Open*. – 2018. – Vol. 1(2). – e180279.

## SUMMARY

## EFFECTIVENESS OF COMBINED IMMUNOTHERAPY WITH PROPEDES AND INFLAMAFERTIN FOR SELECTIVE DEFICIENCY OF NK AND NKT CELLS IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS ASSOCIATED WITH GENETIC DEFICIENCY OF THE FOLATE CYCLE

<sup>1</sup>Maltsev D., <sup>2</sup>Stefanyshyn V.<sup>1</sup>Research Institute of Experimental and Clinical Medicine at the Bogomolets NMU, Kyiv, Ukraine  
<sup>2</sup>"Vivere" Neuroimmunology Clinic, Kyiv, Ukraine

**Backgrounds.** The results of preliminary small clinical studies indicate the potential benefit of combined immunotherapy with Propes and Inflamafertin to compensate for NK and NKT cell deficiency caused by genetic deficiency of the folate cycle in children with autism spectrum disorders.

**The aim of the study:** to study the effectiveness of combined immunotherapy with Propes and Inflamafertin for NK- and NKT-cell deficiency in children with autism spectrum disorders associated with genetic deficiency of the folate cycle.

**Materials and methods.** In this single-center, prospective, controlled, non-randomized clinical trial, 96 children aged 2 to 10 years with autism spectrum disorders associated with genetic deficiency of the folate cycle participated (study group, SH). SH children received Propes at a dose of 2 ml i/m every other day at night for 3 months (45 injections) and Inflamafertin at a dose of 2 ml i/m every other day at night for 3 months, alternating with Propes (45 injections actions). The control group (CG) consisted

of 32 children of a similar age and gender distribution who suffered from autism spectrum disorders associated with a genetic deficiency of the folate cycle, but did not receive immunotherapy.

**Results and their discussion.** The number of NK cells reached the lower limit of normal range in 39 of 53 patients (74% of cases) with an initial deficiency of these lymphocytes, and the average number of NK cells in the blood in the SH increased almost twice during the 3-month course of immunotherapy ( $p < 0.05$ ;  $Z < Z_{0.05}$ ), but returned almost to the initial level during the next 2 months after withdrawal of immunotherapeutic agents ( $p > 0.05$ ;  $Z > Z_{0.05}$ ). The number of NKT cells normalized in 78 of 87 patients (89% of cases) with an initial deficiency of these cells, and the average number of NKT cells in the blood in the SH increased by half during the course of immunotherapy ( $p < 0.05$ ;  $Z < Z_{0.05}$ ) and continued to increase during the next 2 months after withdrawal of immunotropic drugs ( $p < 0.05$ ;  $Z < Z_{0.05}$ ). There was a correlation between immunotherapy and normalization of the number of NK- ( $\chi^2 = 18.016$ ; OR = 13.929; 95%CI = 3.498-55.468) and NKT-cells ( $\chi^2 = 60.65$ ; OR = 46.800; 95%CI = 14.415-151.937) in the blood with a strong connection between these processes (criterion  $\phi = 0.504$  and  $0.715$ , respectively;  $C = 0.450$  and  $0.581$ , respectively).

**Conclusions.** Combined immunotherapy with Propes and Inflamafertin is an effective strategy for the treatment of immunodeficiency caused by genetic deficiency of the folate cycle in children with autism spectrum disorders.

**Key words:** immune-dependent complications, immunophylaxis, immunomodulation, cellular immunodeficiency.

## АВТОРСЬКА ДОВІДКА

## Мальцев Дмитро Валерійович

Кандидат медичних наук, доцент, завідувач лабораторії імунології та молекулярної біології Інституту експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О. О. Богомольця МОЗ України.  
Адреса: 01601, просп. Перемоги, 34, Київ, Україна  
Тел.: (068)100-85-95  
E-mail: dmaltsev@ukr.net

## Maltsev Dmytro

Candidate of medical sciences, associate professor, head of the laboratory of immunology and molecular biology Experimental and Clinical Medicine Institute at the O. O. Bogomolets National Medical University  
Address: 34 Peremohy ave., Kyiv 01601, Ukraine  
Tel.: (068) 100-85-95  
E-mail: dmaltsev@ukr.net

## Стефанишин Володимир Михайлович

Головний лікар клініки "Vivere", президент Асоціації нейроімунологів України. Клініка нейроімунології "Vivere", Київ, Україна  
Адреса: вулиця Михайла Ломоносова, 71Б, Київ, Україна, 03022  
Моб. тел.: 0677582391  
E-mail: vmstefanyshyn@gmail.com

## Stefanyshyn Volodymyr

Chief physician of the "Vivere" clinic, president of the Association of Neuroimmunologists of Ukraine. "Vivere" neuroimmunology clinic, Kyiv, Ukraine  
Address: Mykhailo Lomonosov Street, 71B, Kyiv, Ukraine, 03022  
Mob. Phone: 0677582391  
E-mail: vmstefanyshyn@gmail.com

Отримано / Received 28.04.2022  
Рецензовано / Revised 06.05.2022  
Прийнято до друку / Accepted 30.05.2022