

ГЕНОТИПЫ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ИНФЕКЦИИ

Доц. Т. И. Лядова

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина

Определена частота верификации генотипов ВЭБ в сыворотке крови пациентов с различными формами ВЭБ-инфекции в Украине. Выделены две группы пациентов: больные инфекционным мононуклеозом (ИМ) ($n = 102$) и пациенты с хронической ВЭБ-инфекцией (ХВЭБ) ($n = 94$). Группу контроля составили здоровые молодые люди ($n = 20$). Генотипирование ВЭБ проводили с помощью рестрикционного анализа. Для верификации типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), были использованы специфические праймеры. В результате исследования установлено, что тип А (или ВЭБ-1) обнаружен в обеих группах пациентов (ИМ — 61,8 %; ХВЭБ — 36,2 %). Частота верификации генотипа В (или ВЭБ-2) в образцах от пациентов с ИМ составляла 9,8 %, тогда как при ХВЭБ генотип В не верифицировался. У большинства пациентов с ХВЭБ не удалось установить генотип вируса (ИМ — 28,4 %; ХВЭБ — 63,8 %). ВЭБ-1 является доминирующим как при остром, так и при хроническом течении ВЭБ-инфекции.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, генотипы вируса Эпштейна–Барр, инфекция.

ГЕНОТИПИ ВИРУСУ ЕПШТЕЙНА–БАРР У ПАЦІЄНТІВ ІЗ РІЗНИМИ ФОРМАМИ ІНФЕКЦІЇ

Доц. Т. І. Лядова

Визначена частота верифікації генотипів вірусу Епштейна–Барр (ВЕБ) у сироватці крові пацієнтів із різними формами ВЕБ-інфекції в Україні. Виділено дві групи пацієнтів: хворі на інфекційний мононуклеоз (ІМ) ($n = 102$) і пацієнти з хронічною ВЕБ-інфекцією (ХВЕБ) ($n = 94$). Групу контролю склали здорові молоді люди ($n = 20$). Генотипування ВЕБ проводили за допомогою рестрикційного аналізу. Для верифікації типів ВЕБ (ВЕБ-1 і ВЕБ-2), були використані специфічні праймери. В результаті дослідження встановлено, що тип А (або ВЕБ-1) виявлений в обох групах пацієнтів (ІМ — 61,8 %; ХВЕБ — 36,2 %). Частота верифікації генотипу В (або ВЕБ-2) у зразках від пацієнтів із ІМ становила 9,8 %, тоді як у разі ХВЕБ генотип В не верифікувався. У більшості пацієнтів із ХВЕБ не вдалося встановити генотип вірусу (ІМ — 28,4 %; ХВЕБ — 63,8 %). ВЕБ-1 є домінуючим як за гострого, так і за хронічного перебігу ВЕБ-інфекції.

Ключові слова: вірус Епштейна–Барр, генотипи вірусу Епштейна–Барр, інфекція.

GENOTYPES OF THE EPSTEIN-BARR VIRUS IN PATIENTS WITH VARIOUS FORMS OF INFECTION

T. I. Liadova

The aim of the study was to determine the frequency of verification of EBV genotypes in the serum of patients with various forms of EBV infection in Ukraine. Two groups of patients were identified: patients with infectious mononucleosis (IM) ($n = 102$) and patients with chronic EBV infection (ChEBV) ($n = 94$). The control group consisted of healthy young people ($n = 20$). EBV genotyping is performed by restriction analysis. To verify the types of EBV (EBV-1 and EBV-2), specific primers were used. As a result of the study, it was established that type A (or EBV-1) was found in both groups of patients (IM — 61.8 %, ChEBV — 36.2 %). The frequency of verification of genotype B (or EBV-2) in samples from patients with IM was 9.8 %, whereas in ChEBV genotype B was not verified. Most patients with ChEBV did not manage to establish the genotype of the virus (IM — 28.4 %, ChEBV — 63.8 %). EBV-1 is dominant in both acute and chronic EBV-infection.

Keywords: Epstein–Barr virus, genotypes of Epstein–Barr virus, infection.

Актуальность исследования инфекций, вызванных герпесвирусами, а именно вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) обусловлена наличием инфекции более чем у 90 % населения [1, 2], быстрым ростом заболеваемости в последнее

время, высокой степенью контагиозности и длительной персистенцией в организме человека, что затрудняет диагностику таких инфекций и увеличивает их распространение среди людей [4, 5, 6]. Также

ВЭБ-инфекция влияет на гестационный процесс [3, 5], имеет высокий риск канцерогенеза, в том числе возникновение лимфомы Ходжкина, рака носоглотки, аденокарциномы желудка, лимфоэпителиомы, назофарингеальной карциномы, Т-клеточной лимфомы, лейомисаркомы и др. [11, 13], и характеризуется значительными материальными затратами на проводимую противовирусную и патогенетическую терапию. У людей с иммуносупрессией различной этиологии персистенция вируса перестает быть бессимптомной и характеризуется наличием широкого спектра клинических проявлений и тяжелыми, в том числе летальными последствиями. Эта категория инфекций представляет собой область клинической медицины, находящуюся на стыке интересов врачей различных специальностей: инфекционистов, невропатологов, дерматовенерологов, терапевтов, гинекологов, иммунологов, офтальмологов, стоматологов, гематологов, онкологов.

Вирус принадлежит к подсемейству *Gammaherpesviridae*, роду *Lymphocryptovirus* и является возбудителем инфекционного мононуклеоза (ИМ) и ряда заболеваний, которые с ним ассоциированы [3, 4, 7]. Этот вирус является лимфотропным агентом, вызывающим болезни иммунной системы с развитием синдромов лимфолиферации и иммунной недостаточности. Наибольший тропизм проявляет по отношению к лимфоцитам (особенно В-клеткам), моноцитам, макрофагам, нейтрофилам и эпителиоцитам носоглотки, что определяет характер клинических поражений [10, 13, 16].

В организме человека вирус способен пребывать в латентной, персистирующей и реактивированной форме. ВЭБ состоит из суперкапсида, нуклеокапсида кубической формы и двуспиральной ДНК. В настоящее время известно 4 группы иммуногенных протеинов, определение антител к которым дает возможность дифференцировать стадию инфекции:

1) ранний антиген (англ. — early antigen, EA) появляется первым в ответ на инфицирование и первым исчезает (через 4–6 недель);

2) вирусный капсидный антиген (англ. — viral capsid antigen, VCA) появляется при первичной или реактивированной инфекции;

3) Эпштейна–Барр ядерный антиген (англ. — Epstein–Barr nuclear antigen, EBNA) является маркером иммунной памяти после выздоровления (появляется через 6 мес. после инфицирования и сохраняется пожизненно);

4) латентный мембранный белок (англ. — latent membrane protein, LMP) свидетельствует о скрытой или персистирующей инфекции.

Выделяют два типа ВЭБ, инфицирующих людей. Эти штаммы различаются по последовательности вирусных генов, экспрессируемых при латентной инфекции и в их способности к трансформации лимфоцитов. Хотя ранее исследования показали, что тип А (или ВЭБ-1) был более распространен в Северной Америке и Европе, тогда как тип В (или ВЭБ-2) больше регистрировался в странах Африки. Современные данные показали, что оба штамма регистрируются в Соединенных Штатах, и что люди могут быть Ко-инфицированы обоими штаммами вируса [9, 12].

Оба ВЭБ-генотипа показывают обширную гомологию за исключением генов, которые кодируют ядерные антигены (EBNAs и EBERs) — Epstein-Barr early regions (EBERs) в латентно инфицированных клетках. Виды EBNA2, EBNA3, EBNA4 и EBNA6 субтипа ВЭБ-1 отличаются по аминокислотной последовательности от ВЭБ-2-субтипа от 16 до 47 %. Последовательности в EBERs-антигене отличаются меньшей закономерностью в отношении подтипов, но показывают существенные различия в штаммах ВЭБ. Почти половина африканских клеточных линий лимфомы Беркитта инфицированы ВЭБ-2. Хотя ВЭБ-2 ДНК часто обнаруживается в орфарингеальных секретах от пациентов, проживающих в западных странах [12, 17].

В развивающихся странах инфицирование ВЭБ обычно происходит в раннем детстве и протекает бессимптомно, а в развитых странах заражение происходит в более позднем детстве или молодом возрасте и может проявляться как ИМ [8, 11, 14].

Среди лиц с первичным иммунодефицитом (например, X-сцепленный лимфопролиферативный синдром) ВЭБ-инфекция часто приводит к развитию фатального ИМ или злокачественным лимфомам В-клеток. Пациенты-реципиенты, серонегативные по ВЭБ, могут подвергаться значительно повышенному риску развития у них лимфопролиферативных заболеваний после трансплантации в связи с первичной инфекцией ВЭБ и приемом иммуносупрессивных препаратов. Больные СПИДом подвергаются более высокому риску, чем население в целом в связи с развитием доброкачественных и злокачественных образований, в том числе оральной лейкоплакии, иммунобластной лимфомы, лимфомы Беркитта, лимфомы Ходжкина [13, 15, 17].

Причины для географического распространения структуры ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразований мало изучены, но факторы вируса, генетические факторы человека, факторы окружающей среды являются темой для современных исследований.

Цель работы — определить частоту верификации генотипов ВЭБ в сыворотке крови пациентов с острой и хроническими формами ВЭБ-инфекции в Украине.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе кафедры общей и клинической иммунологии и аллергологии медицинского факультета Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина в 2009–2015 гг.

Для реализации поставленной цели нами было обследовано 196 пациентов с ВЭБ-инфекцией. Возраст обследованных пациентов находился в диапазоне от 19 до 57 лет (средний возраст $33,1 \pm 11,7$ лет). Исходя из цели исследования, все пациенты с клиническим статусом были условно разделены на следующие группы. Группа I состояла из лиц с ИМ ($n = 102$), в которую вошли пациенты с лабораторно доказанными признаками первичной вирусной инфекции. Верификация клинического диагноза ИМ проводилась в соответ-

ствии с рекомендациями Ж. И. Возиановой и соавт. (2008) [2, 3]. Шифр ИМ в соответствии с МКБ-10 кодировался как B27. Во II группу были включены пациенты с различными формами хронической ВЭБ-инфекции (ХВЭБ) ($n = 94$), среди которых: серозный менингит, хронический тонзиллит, неспецифическая лимфаденопатия, длительный субфебрилитет, реактивный артрит, синдром хронической усталости.

Группа сравнения состояла из 20 клинически здоровых молодых людей, средний возраст которых составлял $24,1 \pm 3,2$ года, без признаков острой или любой хронической патологии, обследованных на маркеры ВЭБ. В анамнезе жизни отсутствовали данные о перенесенном ИМ, а серологический профиль характеризовался наличием в крови только EBNA-Ig G и отсутствием ДНК ВЭБ в плазме крови и слюне. Всем больным ИМ или лимфаденопатией обязательно проводили бактериологическое исследование мазков из носоглотки на патогенную микрофлору и дифтерию.

В комплекс обследования больных входили клинический анализ крови, выявление наличия атипичных мононуклеаров, выявление специфических противовирусных антител (VCA-Ig M, EA-Ig M и EBNA-Ig G) в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) наборами производства IBL (Германия) и «Вектор-Бест» (РФ), выявление ДНК ВЭБ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови.

У части пациентов для дифференциальной диагностики проводили серологические обследования на вирус простого герпеса 1 + 2 типа (ВПГ-1 + 2), цитомегаловирус (ЦМВ), токсоплазму, вирусы гепатитов (А, В и С), ВИЧ. Для этого использовали, соответственно, следующие тест-системы для тИФА: анти-ЦМВ-Ig M, анти-Токсо-Ig M, анти-ВГА-Ig M, HBsAg, анти-HBc-total и анти-ВИЧ-1 + 2 total производства: НПО «Диапроф» (Украина), «Диагностические системы», «Вектор-Бест» (РФ), IBL (Германия).

Молекулярно-генетические исследования включали определение репликативной

активности ВЭБ на основании обнаружения в сыворотке крови ДНК ВЭБ методом ПЦР с помощью тест-систем производства НПФ «Литех» (Россия). Высокомолекулярная ДНК ВЭБ была получена традиционным методом. Генотипирование ВЭБ проводили с помощью рестрикционного анализа. Для верификации типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) были использованы специфические праймеры.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программы Statistika 6.0 for Windows (Stat Soft Inc, США) на персональном компьютере с процессором Pentium II Celeron 850 PPGA. Данные результатов представлены в статье в виде абсолютных значений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение типов ВЭБ в сыворотке крови проведено у 196 пациентов, с ИМ (n = 102; 52 %) и с ХВЭБ (n = 94; 48 %). В результате

исследования было установлено, что тип А ВЭБ (или ВЭБ-1) был обнаружен при обеих формах ВЭБ-инфекции (ИМ — 63 из 102, 61,8 %; ХВЭБ — 34 из 94; 36,2 %). Частота верификации генотипа В (или ВЭБ-2) в образцах от пациентов с ИМ составляла 9,8 % (10 из 102), тогда как при ХВЭБ генотип В не верифицировался (рис. 1–3).

У пациентов с хроническими формами болезни в большей части случаев не удалось установить генотип вируса (ИМ — 29 из 102; 28,4 %; ХВЭБ — 60 из 94; 63,8 %), что, вероятнее всего, связано с низкой репликативной активностью ВЭБ, поскольку максимальная концентрация его сохраняется в слюне и лимфоидных органах.

В литературе нами не было найдено данных о распределении генотипов ВЭБ-инфекции в популяции. Выявленные закономерности требуют проведения более углубленных исследований для дальнейшего

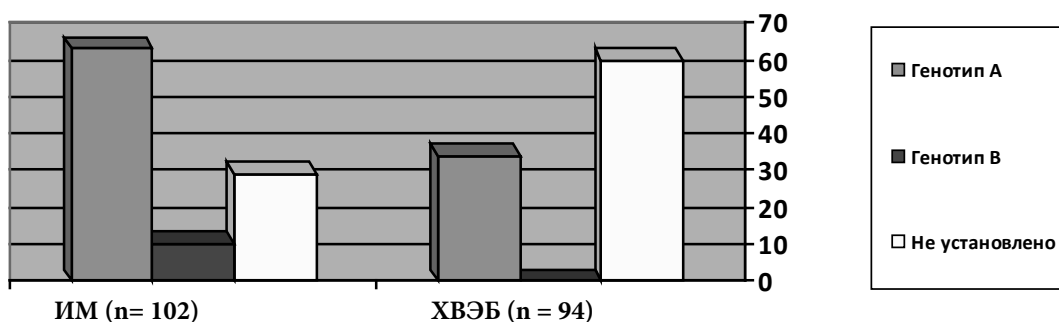


Рис. 1. Частота верификации генотипа А (ВЭБ-1) и генотипа В (ВЭБ-2) при различных формах инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр

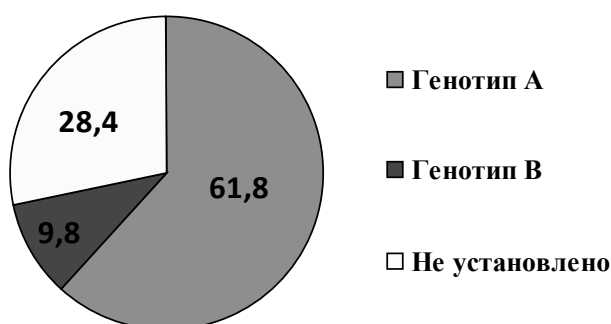


Рис. 2. Удельная часть верификации генотипа А (ВЭБ-1) и генотипа В (ВЭБ-2) у пациентов с инфекционным мононуклеозом

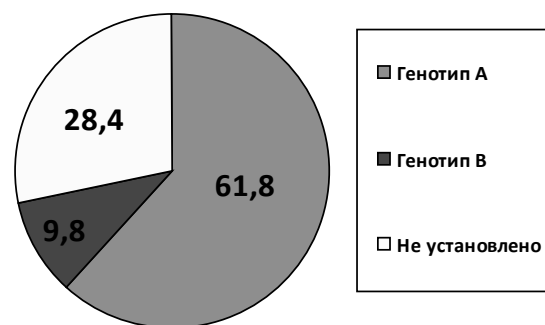


Рис. 3. Удельная часть верификации генотипа А (ВЭБ-1) и генотипа В (ВЭБ-2) у пациентов с хроническими формами ВЭБ

использования в клинической и экспериментальной медицине.

Полученные данные будут полезны не только для оценки эпидемиологической ситуации в популяции и разработки методов ее улучшения, но также для практикующих врачей с целью усовершенствования диагностических мероприятий, улучшения качества постановки диагноза и лучшего понимания тактики ведения пациента.

ВЫВОДЫ

Генотип ВЭБ-1 является доминирующим как при остром, так и при хроническом течении ВЭБ-инфекции. Актуальным является

поиск более чувствительных методов для выделения и генотипирования вируса, особенно это касается пациентов с хроническими формами ВЭБ, у которых очень часто не удается определить тип возбудителя.

В дальнейшем представляет интерес определить частоту встречаемости различных штаммов ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в популяции, корреляцию между клинической картиной и штаммом вируса. Кроме того, перспективным направлением является поиск эффективных методов диагностики, направленных на выявление наиболее встречаемых штаммов вируса Епштейна–Барр среди населения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Боднар В. А. Удосконалення діагностики хронічних форм інфекції, зумовленої вірусом Епштейна–Барр / В. А. Боднар // Проблеми екології і медицини. — 2013. — Т. 17, № 5–6. — С. 9–15.
2. Возіанова Ж. І. Інфекційний мононуклеоз як поліетіологічне захворювання / Ж. І. Возіанова, А. І. Глей // Сучасні інфекції. — 2004. — № 2. — С. 37–41.
3. Возіанова Ж. І. Інфекційні та паразитарні хвороби / Ж. І. Возіанова. — Т. 1. — 2-ге вид., перероб. і доп. — Київ : Здоров'я, 2008. — 884 с.
4. Завіднюк Н. Г. Актуальні проблеми діагностики Епштейна–Барр вірусної інфекції / Н. Г. Завіднюк // Інфекційні хвороби. — 2015. — № 4 (82). — С. 79–86.
5. Исаков В. А. Герпесвирусные инфекции человека : руководство для врачей / В. А. Исаков, Е. И. Архипова, Д. В. Исаков. — СПб, 2006. — 303 с.
6. Казмирчук В. Е. Диагностика и лечение инфекции, вызванной Эпштейна–Барр вирусом (вирусом герпеса человека 4-го типа) / В. Е. Казмирчук, Д. В. Мальцев // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. — 2011. — № 4 (43). — С. 69–75.
7. Клінічні форми хронічної Епштейна–Барр вірусної інфекції: питання сучасної діагностики та лікування / О. К. Дуда, Р. О. Колесник, М. В. Окружнов [та ін.] // Актуальна інфектологія. — 2015. — № 1 (6). — С. 35–40.
8. Прохорова Н. А. Клиническое знание молекулярно-генетических и серологических исследований в диагностике инфекционного мононуклеоза / Н. А. Прохорова, Е. В. Волчкова, Г. В. Михайловская // Инфекционные болезни. — 2008. — Т. 6, № 2. — С. 17–20.
9. Apolloni A. Detection of A-type and B-type Epstein–Barr virus in throat washings and lymphocytes / A. Apolloni, T. B. Sculley // Virology. — 1994. — № 202. — P. 978–981.
10. Cen O. Latent Membrane Protein 2 (LMP2) / O. Cen, R. Longnecker // Curr Top Microbiol Immunol. — 2015. — № 391. — P. 151–180.
11. EBV BILF1 evolved to downregulate cell surface display of a wide range of HLA class I molecules through their cytoplasmic tail / B. D. Griffin, A. M. Gram, A. Mulder [et al.] // J. Immunology. — 2013. — № 190. — P. 1672–1684.
12. EBV strain variation: geographical distribution and relation to disease state / M. Abdel-Hamid, J. J. Chen, N. Constantine [et al.] // Virology. — 1992. — № 190. — P. 168–175.

13. Fukuda M. Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein–Barr virus LMP2A-induced cell transformation. / M. Fukuda, Y. Kawaguchi // J. Virology. — 2014. — № 88. — P. 5189–5194.

14. Polymorphism analysis of Epstein–Barr virus isolates of nasopharyngeal carcinoma biopsies from Tunisian patients / W. Ayadi, L. Feki, A. Khabir [et al.] // Virus Genes. — 2007. — № 34. — P. 137–145.

15. The Extent of Genetic Diversity of Epstein–Barr virus and its Geographic and Disease Patterns: A Need for Reappraisal / C. Chang, K. Yu, S. Mbulaiteye [et al.] // Virus Res. — 2009. — № 142. — P. 209–221.

16. The pathogenesis of Epstein–Barr virus persistent infection / D. A. Thorley-Lawson, J. B. Hawkins, S. I. Tracy, M. Shapiro // Curr. Opin. Virol. — 2013. — № 3. — P. 227–232.

17. Widespread sequence variation in Epstein–Barr virus nuclear antigen 1 influences the antiviral T cell response / M. J. Bell, R. Brennan, J. J. Miles [et al.] // J. Infect. Dis. — 2008. — № 197. — P. 1594–1597.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН ХМАПО ПЛАТНИХ ЦИКЛІВ СПЕЦІАЛІЗАЦІЇ Й УДОСКОНАЛЕННЯ ЛІКАРІВ НА 2018 РІК

КАФЕДРА ФІЗІОТЕРАПІЇ, КУРОРТОЛОГІЇ ТА ВІДНОВЛЮВАЛЬНОЇ МЕДИЦИНИ

Зав. кафедри проф. Зінченко О. К.

тел. 349-44-15; 349-44-28

Фізіотерапевтичні методи лікування в кардіології (для лікарів лікувального профілю)	13.03–12.04
Фізичні чинники в лікуванні, реабілітації та профілактиці (для лікарів лікувального профілю, фізіотерапевтів)	27.08–25.09
Вибрані питання фізіотерапії (для лікарів лікувального профілю, фізіотерапевтів)	30.10–28.11

КАФЕДРА АНЕСТЕЗІОЛОГІЇ ТА ІНТЕНСИВНОЇ ТЕРАПІЇ

Зав. кафедри проф. Лисенко В. Й.

тел. 098-213-82-95

Анестезіологія та ІТ. Випуск 2018 р.	03.09–31.12
--------------------------------------	-------------

КАФЕДРА АНЕСТЕЗІОЛОГІЇ, ІНТЕНСИВНОЇ ТЕРАПІЇ, ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ ТА ГЕМАТОЛОГІЇ

Зав. кафедри проф. Павлов О. О.

тел. 349-42-14

Анестезіологія. Випуск 2018 р.	03.09–31.12
--------------------------------	-------------

КАФЕДРА ЗАГАЛЬНОЇ, ДИТЯЧОЇ ТА ОНКОЛОГІЧНОЇ УРОЛОГІЇ

Зав. кафедри доц. Антонян І. М.

тел. 738-71-34

Урологія. Випуск 2016 р.	01.03–29.06
--------------------------	-------------