



УКРАЇНА

(19) UA (11) 43211 (13) U  
(51) МПК (2009)  
G01N 33/53

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ НЕСПРИЯТЛИВОГО ПЕРЕБІГУ ЕПШТЕЙНА-БАРР ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

1

(21) u200901725

(22) 27.02.2009

(24) 10.08.2009

(46) 10.08.2009, Бюл.№ 15, 2009 р.

(72) ПОКРОВСЬКА ТЕТЯНА ВАЛЕРІЇВНА, ЗІНЧУК  
ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ, ЧОП'ЯК ВАЛЕН-  
ТИНА ВОЛОДИМИРІВНА

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) Спосіб прогнозування несприятливого перебі-  
гу Епштейна-Барр вірусної інфекції шляхом лабо-

2

раторного дослідження, який **відрізняється** тим,  
що на ранніх термінах хвороби (1-2-й день поступ-  
лення хворого у стаціонар) методом імуноферме-  
нтного аналізу визначають комплекс сироваткових  
концентрацій прозапальних ( $\alpha$ -інтерферон, інтер-  
лейкін-2) та протизапальних (інтерлейкін-4, інтер-  
лейкін-10) цитокінів, встановлюють їх рівні в крові  
та прогнозують розвиток рецидивуючого і хроніч-  
ного перебігу Епштейна-Барр вірусної інфекції.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до інфекційних хвороб, клінічної імунології, дитячих хвороб, лабораторної діагностики і може бути використана для прогнозування несприятливого перебігу Епштейна-Барр вірусної інфекції (ЕБВІ) у пацієнтів, що дозволить оптимізувати терапію для профілактики розвитку рецидивів, хронічного перебігу та ускладнень хвороби.

Вірус Епштейна-Барр (ЕБВ) широко поширений в людській популяції і може чинити на організм тривалу дію внаслідок своєї здатності спричинювати латентну інфекцію, тривало персистувати в клітинах імунної системи, зумовлювати хронічні маніфестні і стерті форми хвороби. Проте механізми формування рецидивуючого і хронічного перебігу ЕБВІ залишаються мало вивченими, і, відповідно, погано прогнозованими. У зв'язку з цим не викликає сумніву необхідність точного і раннього прогнозування рецидивуючого і хронічного перебігу хвороби, що дозволить своєчасно коригувати терапію хворих вже на ранніх стадіях хвороби.

Відомий спосіб прогнозування рецидивуючого і хронічного перебігу ЕБВІ у пацієнтів, у якому прогностичними параметрами є розміри печінки та селезінки, концентрація специфічних імунних комплексів з превалюванням антигену, кількість атипових мононуклеарів, концентрація  $\alpha$ -інтерферону ( $\alpha$ -ІФ), активність лімфоцитів в реакції бласттрансформації на фітогемаглютинін у дітей [Родионова О.В., Букина А.А. Клинико-этиологические аспекты и новые подходы к терапии инфекционного мононуклеоза у детей. - Санкт-Петербург, 2000г.] з

урахуванням коефіцієнта кожного параметру вираховується сумарний бал, за величиною якого прогнозують тяжкість перебігу хвороби. Проте, недоліком цього способу є складність розробленого алгоритму, велика кількість параметрів та необхідність використання 4-х варіантів кількісної реакції зв'язування комплексу. Спосіб важко застосувати на практиці з огляду на його складність. Окрім цього, цей спосіб застосовується для прогнозу тяжкого і затяжного перебігу ЕБВ-інфекції, тоді як відомо, що рецидиви спостерігаються як після тяжкої, так і середньотяжкої форми хвороби. Ці недоліки суттєво обмежують можливість раннього прогнозування перебігу ЕБВІ, а критерії не відображають регулюючих змін такої важливої ланки імунітету, як система цитокінів, яка відображає співвідношення субпопуляцій Th1 і Th2 типів, а саме порушення Т-клітинної відповіді, що може визначати розвиток несприятливого перебігу хвороби.

Поставлене завдання досягається тим, що у способі прогнозування несприятливого перебігу Епштейна-Барр вірусної інфекції шляхом лабораторного дослідження, згідно з корисною моделлю, на ранніх термінах хвороби (1-2-й день поступлення хворого у стаціонар) методом імуноферментного аналізу (ІФА) визначають комплекс сироваткових концентрацій прозапальних ( $\alpha$ -інтерферон, інтерлейкін-2) та протизапальних (інтерлейкін-4, інтерлейкін-10) цитокінів, встановлюють їх рівні в крові та прогнозують розвиток рецидивуючого і хронічного перебігу ЕБВІ.

UA (11) 43211 (13) U

У запропонованому способі прогнозування перебігу ЕБВІ визначальним є оцінка цитокінової регулюючої ланки імунної системи, що відрізняє запропонований спосіб від раніше використовуваних.

Власне цитокіновий статус є основною характеристикою Т-клітинної імунної відповіді, від стану якого залежить чи відбудеться швидка елімінація вірусу із організму зі зникненням клінічних симптомів хвороби і появою про-тективної антитільної відповіді, чи хвороба прийме затяжний, а в наступному - хронічний перебіг, з реплікацією вірусу. Сукупність дій і баланс між ефектами прозапальних ( $\alpha$ -ІФ, ІЛ-2) та протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів асоціюється з вірусною персистенцією та хронізацією інфекційного процесу при ВЕБ-інфекції, визначає тяжкість його перебігу і довготерміновий прогноз. Визначення рівнів цих цитокінів дає інформацію про шлях розвитку імунної відповіді. У випадку отримання показників, які будуть свідчити про можливий несприятливий перебіг і хронізацію хвороби, доцільно проводити етіотропне і патогенетичне лікування, направлене як на самий збудник, так і на формування адекватної імунної відповіді макроорганізму.

Таким чином, пропонується спосіб прогнозування несприятливого перебігу ЕБВІ базується на оцінці спектру і рівня цитокінів, які визначають на самому початку гострого інфекційного процесу і які відображають індивідуальний тип імунної відповіді та дозволяють оцінювати на ранніх етапах хвороби, вже з 1-го - 2-го дня госпіталізації, подальший хід розвитку хвороби.

Під спостереженням було 63 хворих на гостру ЕБВІ, які лікувалися у Львівській обласній інфекційній клінічній лікарні. Серед хворих було 35 підлітків (55,6%) віком від 14 до 17 років і 28 дорослих (44,4%) віком від 18 до 40 років.

У всіх пацієнтів верифікацію діагнозу здійснювали на підставі виявлення специфічних маркерів до ВЕБ - антитіл класу IgM VCA, IgG EA при відсутності IgG EBNA методом ІФА, використовуючи діагностичну тест-систему ЗАО "Вектор-Бест" (Санкт-Петербург, Росія). Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проводили індикацію ДНК ВЕБ у сліні і зішкрябу задньої стінки слизової оболонки ротоглотки.

Рівень концентрації сироваткових цитокінів вивчали з використанням твердофазного імуноферментного методу із застосуванням пероксидази хрому в якості індикаторного фермента за допомогою тест-систем (ООО "Протеїновий контур", Санкт-Петербург, Росія). Кількісний вміст цитокінів у сироватці крові виражали в пг/мл. Дослідження рівня цитокінів проведено у 39 (61,9%) пацієнтів на ГЕБВІ при поступленні у стаціонар. Контрольну групу склали 20 здорових осіб відповідного віку.

Хворі були розділені на 4-ї групи в залежності від динаміки зворотніх симптомів. На момент виписки 32 (50,8%) хворих одужали (1-а група).

У хворих 2-ї, 3-ї та 4-ї груп на момент виписки залишилися деякі клінічні симптоми: астеновегетативний синдром (35,5%), генералізована лімфаденопатія (19,4%), збільшені шийні лімфатичні вузли (58,1%), збільшена печінка (61,3%) і селезін-

ка (51,6%), артралгічний синдром (29,0%), що диктувало необхідність подальшого спостереження за ними.

Після виписки з лікарні у 10 осіб (32,3%) протягом місяця наступило видужання (2-а група). У 14 (45,2%) пацієнтів через 1-1,5 міс після виписки виник рецидив хвороби (3-а група) і у 7 (22,5%) осіб мав місце хронічний перебіг ЕБВІ (4-а група).

Клініка рецидиву (3 група) у 14 осіб в загальних рисах повторювала клініку гострої ЕБВІ, але у більш легкій формі - був менше виражений лімфопроліферативний синдром, рідше спостерігалися нальоти на мигдаликах і спленомегалія. Дорослі були більш схильні до рецидивуючого перебігу, ніж підлітки (10 проти 3), а також особи з тяжкою формою хвороби (7 проти 6).

У хворих 4-ї групи протягом 6-7 міс після виписки зі стаціонару періодично спостерігалася субфебрильна температура (87,5%), астеновегетативний синдром (75,0%), шийний лімфаденіт (85,7%), гепатомегалія (62,5%), спленомегалія (69,2%), артралгічний синдром (38,5%), що свідчило про хронічний перебіг ЕБВІ.

У пацієнтів, які видужали (1-а і 2-а групи), рівень в крові  $\alpha$ -ІФ при поступленні у стаціонар не перевищував показників контрольної групи ( $22,24 \pm 2,0$  пг/мл,  $P > 0,05$ ), а рівень сироваткового ІЛ-2 вірогідно перевищував рівень цього інтерлейкіну у порівнянні з даними контрольної групи в 9 разів ( $450,10 \pm 66,9$  пг/мл,  $P < 0,0001$ ). Рівні сироваткових протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10 в цих групах статистично вірогідно перевищували показники контрольної групи в 15 і в 8 разів (відповідно  $328,82 \pm 40,9$  пг/мл і  $303,43 \pm 44,5$  пг/мл,  $P < 0,0001$ ).

Аналіз рівня цитокінів у гострому періоді ЕБВІ при поступленні у стаціонар у пацієнтів 3-ї групи виявив вірогідне зменшення рівня в крові  $\alpha$ -ІФ ( $14,93 \pm 0,66$  пг/мл), у порівнянні з показниками цього цитокіну у осіб 1-ї групи ( $P < 0,001$ ) і у порівнянні з даними контрольної групи ( $P < 0,05$ ). Показники в крові ІЛ-2 були дещо нижчими ( $409,48 \pm 76,9$  пг/мл) у порівнянні з рівнем цього інтерлейкіну у осіб 1-ї групи ( $P > 0,05$ ) і вищими у порівнянні з даними контрольної групи ( $P < 0,001$ ).

Рівень в крові протизапального ІЛ-4 у пацієнтів 3-ї групи на момент поступлення у стаціонар були дещо вищим ( $337,98 \pm 45,4$  пг/мл), ніж показники у осіб 1-ї групи ( $P > 0,05$ ), а рівень в крові ІЛ-10 при поступленні був вірогідно вищим ( $453,75 \pm 52,4$  пг/мл) у порівнянні з показниками цього інтерлейкіну у пацієнтів 1-ї групи ( $P < 0,03$ ). Показники рівнів цих інтерлейкінів статистично вірогідні у порівнянні з показниками контрольної групи ( $P < 0,001$ ).

У хворих 4-ї групи на момент поступлення у стаціонар виявлено вірогідне зменшення рівня в крові  $\alpha$ -ІФ ( $15,44 \pm 1,2$  пг/мл) та ІЛ-2 ( $138,84 \pm 32,1$  пг/мл) у порівнянні з показниками цього цитокіну у осіб 1-ї та контрольної груп ( $P < 0,005$ ). Рівень сироваткових ІЛ-4 в крові були дещо нижчим у порівнянні з пацієнтами 3-ї групи ( $241,94 \pm 27,5$  пг/мл), але виявлені відмінності не були статистично вірогідними. Рівень сироваткового ІЛ-10 був вірогідно нижчим ( $242,23 \pm 9,2$  пг/мл) порівняно з показниками 3-ї і контрольної груп ( $P < 0,001$ ).

Оцінка комплексу імунологічних показників, які виявлялися на самому початку гострого інфекційного процесу, дозволяє прогнозувати перебіг хвороби вже на момент поступлення хворих у лікарню і прослідкувати у віддалений період про подальший хід розвитку хвороби. Умовою формування рецидивуючого і хронічного перебігу ЕБВІ є недостатня активація в гострий період хвороби синтезу прозапальних цитокінів  $\alpha$ -ІФ та ІЛ-2 при посиленій секреції протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, що свідчить про Th2 тип імунної відповіді. Клітинна імунна відповідь є недостатньою на початкових етапах гострої ЕБВІ: продукція  $\alpha$ -ІФ та ІЛ-2 є низькою, тому хвороба прогресує і носить системний характер.

Таким чином, Th2 тип імунної відповіді в гострий період ЕБВІ (на що вказує низький рівень  $\alpha$ -ІФ та ІЛ-2 і високий рівень в крові ІЛ-10) можна вважати прогностичним фактором, який свідчить про ризик несприятливого перебігу і хронізації хвороби в період диспансерного спостереження.

Запропонований спосіб прогнозування перебігу Епштейна-Барр вірусної інфекції у пацієнтів може використовуватися у роботі інфекційних відділень лікарень, центрів клінічної імунології та алергології, що дозволить передбачити хронізацію інфекційного процесу і підвищити ефективність лікування хворих.