



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66177 (13) U  
(51) МПК  
G01N 33/53 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ЧАСТО РЕЦИДИВУЮЧОЇ ІНФЕКЦІЇ ВІРУСІВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ ПЕРШОГО ТА ДРУГОГО ТИПУ

1

2

(21) u201107110

(22) 06.06.2011

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.

(72) ЧОП'ЯК ВАЛЕНТИНА ВОЛОДИМИРІВНА, ДО-  
СЕНКО ВІКТОР ЄВГЕНОВИЧ, ПОТЬОМКІНА ГА-  
ЛИНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ПУКАЛЯК РОМАН МИ-  
ХАЙЛОВИЧ, ПАВЛЮСТ ЛЮДМИЛА ПАВЛІВНА(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО(57) Спосіб прогнозування розвитку часто рециди-  
вуючої інфекції ВПГ 1/2, що включає проведення  
генетично-молекулярних досліджень у хворих на  
ВПГ 1/2 інфекцію, який **відрізняється** тим, що  
здійснюють генотипування LMP2, аналізують варі-  
анти поліморфізму гена, що кодує LMP2, і на осно-  
ві отриманих даних прогнозують ризик розвитку  
частоти рецидивів герпетичної інфекції I та II типу.

Корисна модель належить до медицини, зокрема до клінічної імунології, і може використовуватись для прогнозування розвитку часто рецидивуючої інфекції вірусів простого герпесу першого та другого типу (ВПГ 1/2).

Формування адекватної протигерпетичної імунної відповіді залежить від фізіологічного стану природженого і набутого імунітету. Відомо, що презентація вірусних антигенів першого класу забезпечується імунопротеосою антиген-презентуючих клітин. Вона утворюється при  $\gamma$ -інтерфероніндукованій заміні трьох конституційних каталітичних субодиниць ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 5$ ) у внутрішньому кільці протеосоми цих клітин на три індукбельні субодиниці - мультифункціональні протеїнази (LMP2, LMP7, LMP10 відповідно). Імунопротеосома, завдяки злагодженій роботі своїх ферментів, зокрема мультифункціональній протеїназі-2 (LMP2), забезпечує передачу специфічної інформації про пептидний склад вірусного агенту і активує адаптивний противірусний імунітет. Порушення цих процесів призводить до дефектів антигензалежної презентації вірусних пептидів, що в подальшому може сприяти розвитку часто рецидивуючої герпетичної інфекції I та II типів, і ці порушення часто можуть мати генетичну основу.

Генетичнодетерміновані порушення противірусного імунного нагляду зараз зустрічаються все частіше і можуть супроводжуватись клінічними проявами імунодефіцитів. Однією з основних ознак імунодефіцитів за умов герпесвірусної інфекції є частота рецидивів протягом року з пошко-

дженням шкіри, слизових оболонок, нервової системи тощо та її резистентність до етіотропної терапії [1].

Розвиток та частота клінічних загострень інфекції ВПГ 1/2 залежать від вираженості імунологічної недостатності, рівня і виду пошкоджень патогенетичних ланок імунної відповіді. Рання діагностика генетичної схильності пацієнтів до частого рецидивування ВПГ 1/2 інфекції зробить доцільним раннє застосування протирецидивної антивірусної терапії. У зв'язку з відсутністю впевненості щодо наступного рецидиву ВПГ 1/2 некоректним є призначення противірусної терапії в ранній період після перенесеної герпетичної інфекції I та II типів.

Найближчим аналогом запропонованої корисної моделі є спосіб виявлення поліморфізму гена, аналогічного до LMP2, - LMP7, за яким визначають генетичну схильність попомок процесингу в антиген-презентуючих клітинах [2].

Проте у цьому способі фермент LMP7 виявляє меншу чутливість до забезпечення процесингу вірусного пептиду у зв'язку з нижчою активністю цього ферменту у забезпеченні пептидної переробки вірусних антигенів.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб прогнозування розвитку частоти рецидивів інфекції ВПГ 1/2, який дасть можливість покращити своєчасну діагностику осіб з генетично детермінованою схильністю до проявів часто рецидивуючої герпесвірусної інфекції I та II типу.

(13) U  
(11) 66177  
(19) UA

Поставлена задача вирішується тим, що у способі прогнозування розвитку часто рецидивуючої інфекції ВПГ 1/2, що включає проведення генетично-молекулярних досліджень у хворих на ВПГ 1/2 інфекцію, згідно з корисною моделлю, здійснюють генотипування LMP2, аналізують варіанти поліморфізму гена, що кодує LMP2, і на основі отриманих даних прогнозують ризик розвитку частоти рецидивів герпетичної інфекції I та II типу.

Імунопатогенез рецидивуючої інфекції ВПГ 1/2 з проявами імунodefіцитних порушень характеризується наявністю у хворих гомозиготного поліморфного варіанту His/His гену LMP2, який контролює активність імунопротексоми, що впливає на процесинг вірусних пептидів у фагоцитах, в подальшому може зумовлювати стійке формування інфекційно-автоімунної клінічної форми імунodefіцитних порушень.

Запропонована корисна модель ілюструється рисунком, на якому відображена частота алельних варіантів гена LMP2 у практично здорових осіб, хворих на ВПГ 1/2 та хворих на ВПГ 1/2 із проявами імунodefіцитних порушень (ІДП).

Спосіб прогнозування розвитку часто рецидивуючої інфекції ВПГ 1/2 здійснюють таким чином.

Проводять молекулярно-генетичні дослідження хворих на інфекцію ВПГ 1/2. Матеріалом досліджень слугує венозна кров. Генотипування LMP2 здійснюють за допомогою методу полімеразно-ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів та оцінкою поліморфізму гена LMP2 за J.Vinasco [3].

У хворих на ВПГ 1/2 інфекцію аналізують різні варіанти можливої асоціації між генетичними нуклеотидами генів [аргінін-аргінін (Arg-Arg), аргінін-гістидин (Arg-His), гістидин-гістидин (His-His)], які кодують LMP2, та ймовірністю розвитку герпесвірусної інфекції I та II типів, тяжкості її перебігу. Наявність у хворих на рецидивуючу інфекцію ВПГ 1/2 з проявами імунodefіцитних порушень гомозиготного варіанту His/His гену LMP2, який контролює активність імунопротексоми, що впливає на процесинг вірусних пептидів у фагоцитах, в подальшому може зумовлювати стійке формування інфекційно-автоімунної клінічної форми імунodefіцитних порушень, а також може вказувати на існування у цих хворих генетично детермінованих імунodefіцитів.

Для підтвердження ефективності способу прогнозування розвитку часто рецидивуючої інфекції ВПГ 1/2 були проведені молекулярно-генетичні дослідження здорових осіб, хворих на ВПГ 1/2 та хворих на ВПГ 1/2 із проявами імунodefіцитних порушень.

Для генотипування імунопротексом LMP2 венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) як антикоагулянт ("Sarstedt", Німеччина). З цільної

крові, стабілізованої як вказано вище, виділяли ДНК з використанням наборів "Изоген" (Росія). Методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначали Arg60→His поліморфізм гена LMP2 за Vinasco J. з модифікаціями. Для цього ампліфікували ділянку зазначеного гена за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) - 5'-CTTGAACCAGGGAGGCGAAGj ITG-3' і зворотного (antisense) - 5'-CAGCTGAACCAGAGAGTGCATAGT-3'. Ампліфікати гена LMP2 та його фрагменти, отримані в результаті рестрикції, розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив бромистий етидій. Візуалізація ДНК після горизонтального електрофорезу (160 В протягом 40 хв.) проводилася за допомогою трансілюмінатора і програмного забезпечення ViTran ("Биоком", Росія).

При проведенні аналізу поліморфізму гену, що кодує LMP2, встановлено, що переважаюча частота нуклеотидів алельних варіантів гену LMP2 у хворих на рецидивуючу інфекцію ВПГ 1/2 типів була Arg/His, а у хворих з проявами імунodefіцитних порушень був встановлений гомозиготний генотип - His/His, який не виявлявся у здорових та хворих на рецидивуючу інфекцію ВПГ 1/2 типів без проявів імунodefіцитних порушень. Як видно з діаграми, частота генотипів Arg/Arg, Arg/His та His/His становила в контрольній групі (практично здорових людей) відповідно - 83,4 %, 16,6 % та 0 відсотків; у хворих на рецидивуючу інфекцію ВПГ 1/2 домінував генотип Arg/His-60,8 %. Гомозиготний генотип His/His виявився у 30,8 % хворих на рецидивуючу ВПГ 1/2 інфекцію з проявами імунodefіцитних порушень, який не виявлявся в хворих на рецидивуючу інфекцію ВПГ 1/2 та здорових осіб.

Спосіб прогнозування розвитку часто рецидивуючої інфекції ВПГ 1/2 дозволяє визначити клінічні та імунологічні особливості у хворих на рецидивуючу герпетичну інфекцію I та II типів та ранні діагностичні критерії формування одного з видів імунodefіцитних порушень, визначити тактику протівірусної терапії в цих хворих.

Джерела інформації:

1. Чоп'як В.В., Пукаляк Р.М., Гончаров С.В., Косенко В.Е. Асоціація алельного поліморфізму гена імунопротексоми LMP2 із важкістю перебігу репетичної інфекції // Acta Medica Leopoliensia. - 2008. - Vol.14, №1. - С.175-178.

2. Kuzushita N., Sugimoto Y., Sasaki Y., Hayashi N. Involvement of TAP2 and LMP7 gene polymorphism in HCV infection // Nippon Rinsho. - 2001. - Vol.59. - P.1248-1253.

3. Vinasco J., Fraile A., Nieto A. et al. Analysis of LMP and TAP polymorphism in rheumatoid arthritis // Ann. Rheum. Dis.-1998. - Vol.57. - P.33-37.

