УДК 616.831-005-036.11:[616-022.7:578.835.1]:57.083

КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ ЕНТЕРОВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ ТА ГОСТРИМ ПОРУШЕННЯМ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ НА ПІДСТАВІ ВІРУСОЛОГІЧНОГО, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО ТА СЕРОЛОГІЧНОГО МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Андрюшкова Н.Г., Турчина Н.С., Мельник В.В., Долінчук Л.В., Понятовський В.А., Ширококов В.П.

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Україна, Київ
valentyana.melnik777@gmail.com*

Рецензенти: проф. Войцеховський В.Г., проф. Рибалко С.Л.

Актуальність. Численні вірусологічні дослідження доводять значення ентеровірусів у соматичній патології людини. Водночас недостатньо висвітлено питання про етіопатогенетичну роль ентеровірусної інфекції у хворих з гострим порушенням мозкового кровообігу (ГПМК).

Мета: встановлення значення ентеровірусної інфекції, як тригерного чинника, у патогенезі ГПМК.

Матеріали та методи. Парні сироватки крові 72 хворих на ГПМК (основна група) та 35 неврологічних хворих без судинної патології (група порівняння) були обстежені на наявність ентеровірусів за допомогою вірусологічного методу, виявлення геномів ентеровірусів з використанням полімеразної ланцюгової реакції та наявність специфічних Ig M і Ig G до ентеровірусів в імуноферментному аналізі (ІФА).

Результати. У 23,6±5,9 % хворих на ГПМК з сироваток крові виділено геноми ентеровірусів, що є достовірно вище, ніж у пацієнтів групи порівняння – 2,9±2,8 % ($p < 0,05$). З 17 ПЛР-позитивних сироваток крові основної групи у 11 випадках було виділено ентеровіруси, які були ідентифіковані як віруси Коксаки В (серотипи 2, 3, 4) та віруси ЕСНО (серотипи 6, 9, 27 (два штами), 29), три штами вірусів не вдалося ідентифікувати. Встановлено присутність у сироватках крові специфічних Ig M та Ig G у чотирьох хворих на ГПМК, а також ентеровірусних геномів, що дає підстави говорити про наявність у них свіжої ентеровірусної інфекції або може свідчити про недавно перенесену ентеровірусну інфекцію, або про її загострення. У чотирьох ПЛР-позитивних хворих було виявлено лише специфічні Ig G за відсутності Ig M у сироватках крові хворих, що свідчить про наявність у них хронічної ентеровірусної інфекції. Виявлено лише Ig M за відсутності Ig G у сироватках крові шести ПЛР-позитивних хворих, що може свідчити про наявність у них гострої ентеровірусної інфекції. Не було виявлено ні Ig M, ні Ig G у сироватках крові трьох ПЛР-позитивних хворих, що можливо пов'язане з наявністю латентної ентеровірусної інфекції.

Висновки. Гостра та хронічна персистуюча ентеровірусна інфекція відіграє можливу тригерну роль у розвитку ГПМК. Для діагностики персистентної ентеровірусної інфекції у хворих на ГПМК доцільно застосовувати поєднання ПЛР для виявлення геномів ентеровірусів, вірусологічного для виділення та ідентифікації вірусів, ІФА для виявлення специфічних Ig M та Ig G до ентеровірусів.

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, ентеровіруси, геном ентеровірусів, імуноглобуліни M та G, імуноферментний аналіз, полімеразно-ланцюгова реакція.

Актуальність. За даними ВООЗ, в світі щорічно реєструється 15 млн. випадків інсультів, з яких близько 4,5 млн. випадків закінчуються летально. В нашій країні судинні захворювання мозку займають друге місце в структурі причин загальної смертності, не поступаючись захворюванням серця. При цьому 25 % хворих з гострими порушеннями мозкового кровообігу (ГПМК) гинуть протягом першої доби, 40 % – протягом 2-3 тижнів. Близько 50 % осіб, що перенесли ГПМК, вмирають в наступні 4-5 років, а 80 % хворих залишаються глибокими інвалідами [7, 21]. В Україні загальна летальність при геморагічних інсультах залишається високою – 40-48 % [6, 7, 10]. На даний час основною етіологічною передумовою ГПМК розглядається атеросклеротичний процес у судинах.

Відомо кілька десятків гіпотез щодо появи, розвитку та прогресування атеросклеротичного процесу (ліпідно-інфільтративна, запальна, гіпотеза «відповіді на пошкодження» стінок судин, гіпотеза хронічного ураження ендотелію, дисфункції ендотелію, гіпотеза щодо впливу бактеріальних та вірусних інфекцій тощо), хоча жодна з них не є достатньо вивченою та доведеною [9, 17]. Вказані гіпотези можуть доповнювати одна одну, пояснюючи певні ланки атерогенезу [20, 23]. Водночас, все більше вчених приділяють значну увагу інфекційній теорії розвитку атеросклерозу (АС) [3, 15]. Наявність персистуючої інфекції у організмі людини спричинює появу хронічного інфекційно-запального процесу, який може призвести до структурних, морфологічних, метаболічних та інших по-

рушень у тканинах та органах організму господаря. Такий інфекційно-запальний процес може бути передумовою та основою формування соматичної патології, зокрема, серцево-судинних хвороб [19].

Тригерним фактором може бути будь-який про-вокуючий фактор або дія, що призводить до запуску або прогресування патологічного процесу. Слід акцентувати увагу, що тригерний фактор є додатковим поштовхом, який запускає уже сформований, але досі «дрімаючий» патологічний процес. Тригерні фактори можуть бути різноманітними: віруси, бактерії або ж мікст-інфекції [16]. Близько третини випадків ішемічного інсульту, на думку науковців, може бути спричинено інфекційними агентами, як тригерними чинниками у виникненні і прогресуванні запальних процесів у судинній стінці та розвитку атеросклеротичних бляшок [22]. При цьому вагому роль відіграють як гострі, так і хронічні інфекції [4, 8, 25, 27].

Найбільш переконливими є дані щодо інфекційної природи запальних змін при АС, ініційованих вірусами родини *Herpesviridae*: цитомегаловірусом (CMV), вірусом простого герпесу 1 і 2 (HSV 1, HSV 2), вірусом Епштейна-Барр (EBV) [15, 17]. Розвиток атеросклеротичного процесу може бути спровокований також при одночасній персистенції кількох інфекційних агентів у хворих з вираженою імунореактивністю на фоні генетичної передумовленості та наявності інших факторів ризику. Вплив кількох інфекційних агентів на розвиток атеросклеротичного процесу отримав у літературі назву «гіпотези інфекційної накладки» [13, 24, 26].

В наш час з'ясовано безперечну етіопатогенетичну роль ентеровірусів при виникненні ряду соматичної патології. Доведено патогенетичну роль ентеровірусів при інфаркті міокарду, міокардиті, перикардиті, дилатаційній кардіоміопатії, атеросклерозі, гострому коронарному синдромі [12, 18]. Ріст захворюваності на ентеровірусну інфекцію, а також численні вірусологічні дослідження вчених доводять інтенсивну циркуляцію ентеровірусів в різноманітних об'єктах навколишнього середовища [11]. Водночас недостатньо висвітлено питання про етіопатогенетичну роль ентеровірусної інфекції у хворих з інсультами [13, 15, 17]. Актуальність вирішення вказаної проблеми зростає в умовах збільшення питомої ваги в загальній структурі захворюваності інфекцій, спричинених вірусами, що обумовило виконання даного дослідження, визначило його мету і завдання [1, 12].

Метою даної роботи було встановлення значення ентеровірусної інфекції у патогенезі гострого порушення мозкового кровообігу.

Задачами, які дозволяли досягти поставленої мети, були: визначення наявності геномів ентеровірусів у сироватках крові хворих на ГПМК за допомогою молекулярно-генетичного методу, виділення

та ідентифікація ентеровірусів з використанням вірусологічного методу, визначення імуноглобулінів класів М та G до ентеровірусів у сироватках крові хворих на ГПМК з використанням імуноферментного аналізу (ІФА).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До дослідження було включено дві групи пацієнтів: основна група хворих, до якої увійшли 72 хворих з різними формами ГПМК, які перебували на стаціонарному лікуванні у неврологічному відділенні та відділенні церебро-васкулярної патології Олександрівської клінічної лікарні м. Києва у 2009-2016 роках; група порівняння, до якої увійшли 35 осіб, які проходили стаціонарне лікування з приводу неврологічних захворювань, що не пов'язані із судинною патологією. Молекулярно-генетичні, вірусологічні та серологічні дослідження були проведені на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології НМУ імені О.О. Богомольця.

Матеріалом для дослідження були парні сироватки крові з ліктьової вени, взяті у перші години після госпіталізації натщесерце та через 10-14 днів.

Виявлення геному ентеровірусів в сироватках крові хворих проводилось з застосуванням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у варіанті зворотної транскрипції (ЗТ-ПЛР). Для цього було використано комерційну тест-систему «АмплиСенс» (ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзор», Москва). Виділення ентеровірусної РНК з сироватки крові проводилось шляхом афінної сорбції на частинках силікагелю за допомогою набору реагентів «РИБО-сорб» («Ампли-Сенс», РФ). Ампліфікація вірусної кДНК була проведена на багатоканальному ампліфікаторі «Parkin Elmer 2400» (США) із застосуванням реактивів тест-системи «АмплиСенс Enterovirus-207». Виявлення продуктів ампліфікації проводилось методом горизонтального електрофорузу у 1,5 % агарозному гелі з етидієм бромідом. Облік результатів був здійснений візуально, за допомогою УФ-транслюмінатора (довжина хвилі 254 нм) з використанням червоного світлофільтру.

За загально прийнятими методами, що рекомендовані ВООЗ, для виділення вірусів з сироваток крові та їх ідентифікації було використано культури клітин: HEp-2 (Cincinnati, похідні епідермальної карциноми людини), RD (клітини рабдіоміосаркоми людини) та HeLa (клітини карциноми шийки матки) [14]. Культури клітин вирощували в полістеролових флакончиках з використанням середовищ 199 та RPMI-1640, яке містило 10 % ембріональної телячої сироватки (Sigma, Німеччина). Наявність ентеровірусів визначалась мікрометодом в мікротитраційних панелях на культурах клітин до 100 % цитопатичної дії (ЦПД). Для накопичення вірусу здійснювали «сліпі» пасажі вірусу на культурах клітин до 100 % ЦПД.

З метою ідентифікації ентеровірусів було застосовано реакцію віруснейтралізації за допомогою мікрометоду з використанням стерильних 96-лункових планшетів за загальноприйнятою методикою з полівалентними та моновалентними ентеровірусними сироватками виробництва Інституту поліомієліту і вірусних енцефалітів імені М. П. Чумакова РАМН [14].

Визначення імуноглобулінів класу М та G в парних сироватках крові хворих основної та порівняльної груп проводили за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням комерційної тест-системи Enterovirus ELISA (IgG Teskit / IgA Teskit / IgM Teskit, виробник Sekisui Virotech GmbH, Німеччина). Облік результатів було здійснено на імуноферментному аналізаторі HumaReader (Human GmbH, Germany). Вираховували отримані дані за формулою, запропонованою виробником, інтерпретували результати за шкалою виробника: як негативні при значенні менше 9,0 VE (Virotech Units), сумнівні – при значенні 9,0-11,0 VE, позитивні – більше 11,0 VE.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами було встановлено, що ентеровірусний генотип виявлявся у сироватці крові 17 з 72 хворих основної групи (23,6±5,1 %). У сироватці крові лише одного хворого з 35 осіб групи порівняння була виявлена РНК ентеровірусів (2,9±2,8 %), р<0,007 (табл. 1).

Нами було використано для виділення ентеровірусів три лінії культур клітин: RD, HEp-2 та HeLa, які представлено на рисунку 1.

Про наявність цитопатогенних агентів в сироватці крові хворих свідчила цитопатична дія в культурі клітин за типом повної деструкції моношару (рис.2). Віруси Коксаки В краще культивувались на клітинах HEp-2, тоді як віруси ECHO краще спричинювали цитопатичний ефект на культурі клітин RD та дещо менше – на HeLa та HEp-2. Нетиповані ентеровіруси було виділено на клітинах RD (2 штамми), а 1 штам – на культурах клітин RD і HEp-2. Інтенсивність розвитку та проявів ЦПД залежала від культури клітин та типу ЕВ. Вже через 24 годин після інфікування моношару цитодеструкція

а)

б)

в)

Рис. 1. Моношар культури клітин: а) HEp-2 (збільшення x 80); б) RD (збільшення x 80); в) HeLa (збільшення x 80).

Таблиця 1
Виявлення геному ентеровірусів у сироватках крові осіб у основній та порівняльній групах

Результати молекулярно-генетичного дослідження	Число осіб			
	основна група		група порівняння	
	абс.	% (M±m)	абс.	% (M±m)
ПЛР +	17	23,6±5,1	1	2,9±2,8
ПЛР-	55	76,4± 5,1	34	97,1±2,8
Всього	72	100	35	100

найінтенсивніше була виражена в клітинах HEp-2 та проявлялась появою у моношарі клітин із зернистістю та подальшою круглоклітинною дегенерацією (рис. 2).

За допомогою вірусологічного методу дослідження було виділено на культурах клітин 11 цитопатичних вірусних агентів із сироватки крові хво-

а)

б)

Рис. 2. Прояв цитопатичної дії ентеровірусів у вигляді повної дегенерації моношару культури клітин HEp-2 (збільшення $\times 80$): а, б – цитопатична дія у динаміці.

рих основної групи. Виділити цитопатичні вірусні агенти з сироватки крові у осіб групи порівняння не вдалося. Порівняльна кількісна характеристика наведена в таблиці 2.

Порівняння та аналіз отриманих даних молекулярно-генетичного та вірусологічного методів дослідження, результати яких були наведені раніше у таблицях 1 та 2, дозволив встановити, що з сироваток крові 17 ПЛР-позитивних хворих основної групи виділити вдалося 11 цитопатогенних агентів,

Таблиця 2

Виявлення цитопатичних вірусних агентів у сироватках крові осіб основної та порівняльної групи

Результати Результати вірусологічного дослідження	Кількість осіб у основній групі Кількість осіб			
	основна група		група порівняння	
	абс.	% ($M \pm m$)	абс.	% ($M \pm m$)
Виділені ентеровіруси	11	15,3 $\pm$ 4,2	0	0
Не виділені ентеровіруси	61	84,7 $\pm$ 4,2	35	100
Всього	72	100	35	100

тоді як з інших 6 ПЛР-позитивних сироваток крові хворих основної групи цитопатогенні агенти виділити не вдалося ($p=0,015$). З однієї ПЛР-позитивної сироватки крові хворого групи порівняння також не було виділено вірусів (рис. 3).

Для серологічної ідентифікації виділених штамів було застосовано реакцію віруснейтралізації з використанням діагностичних сироваток до вірусів поліомієліту I-III типів, вірусів Коксаки В 1-6 типів та ЕЧНО 1-34 типів. Вдалося протипувати вісім виділених штамів, тоді як три штами не нейтралізувалися набором використаних діагностичних сироваток, тому були віднесені до групи неідентифікованих ентеровірусів.

Виділені штами вірусів були ідентифіковані в реакції віруснейтралізації як віруси Коксаки В (серотипи 2, 3, 4) та віруси ЕЧНО (серотипи 6, 9, 27 (два штами), 29).

Отже, з виділених ентеровірусів віруси Коксаки В склали 27 %, віруси ЕЧНО – 46 % та неідентифіковані ентеровіруси – 27 % (рис. 4).

Отримані дані свідчать про циркуляцію вірусів серед населення. Зважаючи на фекально-оральний механізм передачі ентеровірусної інфекції як основний та широке розповсюдження у зовнішньому середовищі, цікавим було порівняти серотипи, що є клінічними ізолятами, та ізоляти вірусів, виділені з оточуючого середовища. За даними Gerald Sedmak et al., серотипи ентеровірусів, які виявляються у стічних водах, відповідають серотипам клінічних ізолятів вірусів. Так, автори виділяли віруси ЕЧНО 6, ЕЧНО 11, ЕЧНО 13, ЕЧНО 30, Коксаки В5 як з стічних вод, водопровідної води, так і з клінічного матеріалу [2, 5].

Рис. 3. Частота виявлення ентеровірусів за допомогою ПЛР та вірусологічного методу у хворих на ГПМК.

Рис. 4. Питома вага різних серогруп ентеровірусів, виділених з крові хворих на ГПМК.

За даними Гіріна В.Н. (1982), у стічних водах м. Києва частіше всього були виділені наступні ентеровіруси: поліомієліту І-ІІ типів, Коксакі В1, В4, віруси ЕЧНО серотипів 10, 11, 12, 24 [5]. За даними Понятовського В.А. (2014), в стічних водах м. Києва з 23 виділених штамів ентеровірусів було ідентифіковано як віруси Коксакі В 8 штамів (34,7 %), ЕЧНО віруси – 7 штамів (30,4 %), поліовіруси – 2 штами (8,7 %) та нетипованих ентеровірусів вірусних агентів – 6 штамів (26,1%) [11]. Серед 8 виділених вірусів Коксакі В були серотипи Коксакі В5 (4 штами), Коксакі В4 (2 штами), В1 (1 штама) та В6 (1 штама). Серед вірусів ЕЧНО виділялися ЕЧНО 5 (1 штама), ЕЧНО 7 (1 штама), ЕЧНО 11 (1 штама) [11].

За нашими даними, з клінічного матеріалу було виділено та ідентифіковано віруси Коксакі В2, В3, В4 та віруси ЕЧНО 6, 9, 27 (два штами), 29.

Визначення антитіл до ентеровірусів класів Ig M та Ig G у сироватці крові хворих на ГПМК було використано імуноферментний аналіз (ІФА). Вказане дослідження є високочутливим та високоспецифічним, однак досі відсутні універсальні панелі, які б включали діагностику з всіх відомих ентеровірусів на сьогодні.

Окрім високої чутливості та специфічності, метод має перевагу у тому, що дозволяє за динамікою синтезу антитіл визначити період захворювання. За допомогою цього методу досліджуються парні сироватки (перша – на початку захворювання, друга – через 10-14 днів після першої) [14].

У сироватках крові 10 хворих з основної групи було виявлено Ig M до ентеровірусів (13,9 %). Звертає на себе увагу, що у чотирьох хворих у першій сироватці крові Ig M до ентеровірусів виявлено не було (негативний результат), у трьох хворих результат на виявлення Ig M до ентеровірусів був сумнівним, але у других сироватках крові цих хворих були виявлені Ig M до ентеровірусів (позитивний результат), тобто ми спостерігали наростання титру антитіл класу M. У інших трьох хворих Ig M до ентеровірусів були виявлені у обох взятих сироватках крові. У основній групі Ig G до ентеровірусів були виявлені в сироватках крові у 17 хворих (23,6 ± 5,9 %). У решти хворих основної групи (55 осіб) Ig G у діагностичному титрі виявлено не було.

Аналіз отриманих даних демонструє, що у 5 з 17 хворих були відсутні Ig G у першій сироватці, однак з'явилися у другій сироватці у діагностичному титрі. У трьох осіб у першій сироватці крові результат щодо виявлення Ig G був сумнівним, натомість у другій сироватці – позитивним. У дев'яти осіб основної групи хворих Ig G виявлялися у діагностичних титрах як у першій, так і у другій сироватках.

При проведенні дослідження парних сироваток крові хворих групи порівняння на наявність Ig G до ентеровірусів за допомогою ІФА було визначено Ig G у діагностичному титрі лише у 2 з 35 осіб (5,7 %). У одного з них у першій сироватці результат був сумнівний, проте у другій – позитивний, тоді як у другого хворого у обох сироватках результат щодо наявності Ig G у діагностичних титрах був позитивний. Водночас, у жодного пацієнта з групи порівняння не було виявлено Ig M до ентеровірусів.

При порівнянні частоти виявлення Ig G у парних сироватках крові хворих основної групи та групи порівняння, звертає на себе увагу значно більша частка серопозитивних за Ig G хворих основної групи – 23,6 %, порівняння частка серопозитивних за Ig G хворих склала 5,7 % (p=0,023). Наведені результати нашої роботи на думку про наявність у цієї групи хворих хронічної (персистуючої) ентеровірусної інфекції, яка передувала розвитку ГПМК та могла зіграти патогенетичну тригерну роль у розвитку такої судинної патології як ГПМК [18]. Співставлення результатів молекулярно-генетичного, вірусологічного та серологічного методів дослідження у ПЛР-позитивних хворих основної групи представлено у таблиці 3.

Звертає на себе увагу, що у двох ПЛР-позитивних хворих було виділено вірус та виявлено Ig M та Ig G у сироватці крові. У інших двох ПЛР-позитивних хворих вірус не було виділено вірусу, але були Ig M та Ig G у сироватках крові хворих. Виявлення Ig M та Ig G водночас у обох сироватках крові хворих дає підстави говорити про свіже ентеровірусне захворювання або про наявність хронічної (персистуючої) інфекції у стадії загострення.

У трьох ПЛР-позитивних хворих було виділено вірус та виявлено лише Ig G за відсутності Ig M у сироватках крові хворих. У одного ПЛР-позитивного хворого не було виділено вірус, та виявлено лише Ig G за відсутності Ig M у сироватках крові. Відсутність Ig M та наявність Ig G у сироватках крові цих хворих вказує на наявність у них хронічної ентеровірусної інфекції.

У шести ПЛР-позитивних хворих було виділено вірус та виявлено лише Ig M за відсутності Ig G у сироватках крові хворих, що дає підстави припускати наявність у них гострої ентеровірусної інфекції. У трьох ПЛР-позитивних хворих вірус не було виділено та не виявлено ні Ig M, ні Ig G у сироватках

Таблиця 3

Співставлення результатів молекулярно-генетичного, вірусологічного та серологічного методів дослідження у ПЛР-позитивних хворих основної групи

№ п/п	№ хворого	ПЦР	Виділення вірусу	Ig M		Ig G	
				перша	друга	перша	да
1	17	+	+	-	-	±	+ ↑
2	28	+	+	-	+ ↑	-	-
3	34	+	+	+	+	-	-
4	38	+	+	+	+	+	+
5	39	+	+	±	+ ↑	-	-
6	41	+	+	-	-	+	+
7	42	+	-	-	+ ↑	±	+ ↑
8	47	+	+	-	-	+	+
9	49	+	+	-	+ ↑	-	-
10	51	+	-	-	-	+	+
11	52	+	+	±	+ ↑	+	+
12	54	+	-	-	-	-	-
13	63	+	-	-	-	-	-
14	66	+	-	-	-	-	-
15	69	+	+	-	+ ↑	-	-
16	91	+	+	+	+	-	-
17	95	+	-	±	+ ↑	-	+ ↑
Всього:		17	11	3	10	5	8

крові, що можна розцінити як наявність латентної ентеровірусної інфекції.

Отже, нами було визначено наявність у частини хворих основної групи ознак як гострої, так і хронічної (персистуючої) ентеровірусної інфекції. Водночас звертає на себе увагу більша частка осіб з хронічною персистентною ентеровірусною інфекцією, про що свідчить присутність Ig G та виділення вірусів або їх геномів у сироватках крові цих хворих.

На нашу думку, це свідчить про можливий зв'язок між ентеровірусами, як тригерного чинника, причому як гострої, так і хронічної персистуючої ентеровірусної інфекції і розвитком патогенезу ГПМК.

ВИСНОВКИ

У 23,6±5,9 % хворих на ГПМК геноми ентеровірусів із сироваток крові виділяються частіше ($p < 0,05$), ніж у неврологічних хворих без судинної патології.

З 17 ПЛР-позитивних сироваток крові основної групи у 11 випадках було виділено ентеровіруси, які були ідентифіковані як віруси Коксаки В (серотипи 2, 3, 4) та віруси ЕЧНО (серотипи 6, 9, 27 (два штамми), 29), у трьох пробах виділений штам вірусу не вдалося ідентифікувати.

У 4 хворих на ГПМК у сироватці крові встановлено присутність Ig M та Ig G, а також ентеровірусних геномів, що дає підстави думати про наявність у них інфекції у стадії загострення. У 6 ПЛР-позитивних хворих на ГПМК виявлено лише Ig M за відсутності Ig G у сироватках крові, що свідчить про наявність у них гострої ентеровірусної інфекції.

У 4 ПЛР-позитивних хворих на ГПМК було виявлено лише Ig G за відсутності Ig M у сироватках крові хворих, що свідчить про наявність у них хронічної ентеровірусної інфекції. У сироватках крові 3 ПЛР-позитивних хворих не було виявлено ні Ig M, ні Ig G, що можна розцінити як наявність латентної ентеровірусної інфекції.

Наявність у хворих основної групи ознак як гострої, так і хронічної ентеровірусної інфекції, про що свідчить присутність Ig M та/або Ig G, виділення вірусів або їх геномів у сироватках крові цих хворих свідчить про можливу тригерну роль як гострої, так і хронічної персистуючої ентеровірусної інфекції у патогенезі ГПМК.

Для діагностики персистуючої ентеровірусної інфекції у хворих на ГПМК доцільно застосовувати поєднання ПЛР для виділення геномів ентеровірусів та ІФА для виявлення специфічних Ig M та Ig G до ентеровірусів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організацій.

ЛІТЕРАТУРА

- Алибек К., Пашкова А. Инфекция как фактор риска развития атеросклероза: современные представления и перспективы лечения // Лікар. Справа. 2007. № 3. С. 3-13.

2. Бойко И.И. Энтеровирусы в водопроводной воде и обнаружение их с помощью бентонита. Автореф. дис. на соискание ученой степени канд биол. наук. Вірусологія 03.00.06 Київ, 1987. 21 с;
3. Борисов А.В., Семак А.Е., Чураков А.В. Роль инфекции в патогенезе церебрального атеросклероза и инфаркта мозга // Военная медицина. 2011. № 4. С. 65-71.
4. Виничук С.М., Черенько Т.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения / Киев: Изд-во ООО «Космополис», 2003. С. 120.
5. Гирин В. Н. Энтеровирусы в сточных водах и научное обоснование способов деконтаминации: дис. ... доктора медицинских наук: 03.00.06, 14.00.07 / Гирин Виталий Николаевич. — К., 1982. — 303 с.
6. Гострі порушення мозкового кровообігу за даними нейрохірургічного відділення лікарні швидкої медичної допомоги м. Києва / Поліщук М. Ю. та ін. / Міжнародний неврологічний журнал. 2009. № 8 (30). С. 75-77.
7. Гострі порушення мозкового кровообігу: діагностика і лікування: методичні рекомендації / Мурашко Н. К. та ін. Київ, 2013. 47 с.
8. Линдсберг П. Дж., Грау А. Дж. Инфекционно-воспалительные процессы как факторы риска развития ишемического инсульта // Stroke: Российское издание: Научно-практический медицинский журнал. 2004. № 5. С. 77-92.
9. Лутай М.И., Голикова И.П., Слободской В.А. Роль дисфункции эндотелия, воспаления и дислипидемии в атерогенезе // Укр. кардиол. журн. 2007. № 5. С. 37-47.
10. Офіційні матеріали Державного комітету статистики, 2015. URL: <http://www.unn.com.ua> (дата звернення: 20.07.2017).
11. Понятовський В.А., Бобир В.В., Ширококов В.П. Очищення стічних вод від ентеровірусів та бактеріофагів на спорудах бортницької станції аерації // Мікробіол. журн. 2014. Т. 76, № 2. С. 53-58.
12. Роль ентеровірусів в неінфекційній патології / Ширококов В. П. та ін. // Проблеми медицини. 1998. № 3. С. 20-25.
13. Рудык Ю. С. К вопросу о связи инфекции с атеросклерозом // Здоров'я України. 2004. № 94. С. 94-96.
14. Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита, ВООЗ, Женева. 4-е издание. Москва, 2005. — 112 с.
15. Современные представления о роли микроорганизмов в индуцировании и развитии атеросклероза (обзор) / Купрюшин А.С. и др. // Саратовский научно-медицинский журнал. 2016. №12 (2). 113-117.
16. Солопов В.Н. Астма. Как вернуть здоровье (издание 2-е). — М.: Электронная версия. 2002. 240 с. ISBN 5-7834-0030-0
17. Турчина Н.С. Клініко-експериментальне обґрунтування ролі вірусної інфекції в розвитку та наслідках ішемічного інсульту // Український неврологічний журнал. 2017. №1 (42). С.17-32.
18. Ширококов В.П., Амосова Е.Н., Кротенко А.В. Роль вирусов Коксаки В в патогенезе нестабильной стенокардии // Мат. науч. конф. "Актуальные вопросы медицинской вирусологии". М., 1999. С. 55.
19. Юлиш Е.И. Персистирующие инфекции и человек. Стратегия взаимоотношений // Здоровье ребенка. 2009. №4 (19). Электронный ресурс. <http://www.mif-ua.com/archive/article/9462>
20. Correlation between lipid deposition, immune in Aamatory cell content and MNC class II expression in diffuse intimal thickening of the human aorta / Bobrychev Y.V. et al. // Atherosclerosis. 2011. Vol. 219. No. 1. P. 171-183.
21. Hankey G. J. Stroke. Chuechill Livngstone, 2002. 359 p.
22. Infectious causes of stroke. The Lancet / Fugate J. E. et al. // Infectious diseases. 2014. Vol. 14. No. 9. P. 869-880.
23. Lusta K.A., Orechov A.N. Computer image simulation and mathematic modeling of the very early stage of atherosclerosis sn human // Atherosclerosis Supplements. 2006. Vol. 7. No. 3. P. 208-209.
24. Miller E.C., Elkind M.S. Infection and Stroke: an Update on Recent Progress // Curr Neurol Neurosci Rep. 2016. No. 1. P. 2. doi: 10.1007/s11910-015-0602-9 (дата звернення: 27.07.2017).
25. Reszka E., Jegier B. Detection of infectious agents by polymerase chain reaction in human aortic wall // Cardiovasc.Pathol. 2008. Vol. 17, No. 5. P. 297-302.
26. Stassen F.R., Vainas T., Cathrien A. Bruggeman Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis // Pharmacol. Reports. 2008. Vol. 60. P. 85-92.
27. Zoltan Kis. Chronic infection and genetic factors in the development of ischemic stroke / Zoltan Kis et al. // New Microbiologica. 2007. Vol. 30. P. 213-220.

Отримано: 15.05.2018.

КОРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ НА ОСНОВАНИИ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО И СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Андрюшкова Н.Г., Турчина Н.С., Мельник В.В., Долинчук Л.В., Понятовский В.А., Широбоков В.П.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Украина, Киев

Актуальность. Многочисленные вирусологические исследования доказывают значение энтеровирусов в соматической патологии человека. В то же время недостаточно освещены вопросы об этиопатогенетической роли энтеровирусной инфекции у больных с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК).

Цель: установление значения энтеровирусной инфекции как триггерного фактора в патогенезе ОНМК.

Материалы и методы. Парные сыворотки крови 72 больных ОНМК (основная группа) и 35 больных с неврологической патологией без сосудистой патологии (группа сравнения) были обследованы на наличие энтеровирусов с помощью вирусологического метода, выявление геномов энтеровирусов с использованием полимеразной цепной реакции и наличие специфических Ig M и Ig G к энтеровирусам в иммуноферментном анализе (ИФА).

Результаты. У $23,6 \pm 5,9$ % больных ОНМК из сывороток крови были выделены геномы энтеровирусов, что достоверно чаще, чем у пациентов группы сравнения – $2,9 \pm 2,8$ % ($p < 0,05$). Из 17 ПЦР-положительных сывороток крови основной группы в 11 случаях были выделены энтеровирусы, идентифицированные как вирусы Коксаки В (серотипы 2, 3, 4) и вирусы ЕСНО (серотипа 6, 9, 27 (два штамма), 29), три штамма вирусов не удалось идентифицировать. Установлено присутствие Ig M и Ig G в сыворотках крови у 4 больных ОНМК, а также энтеровирусных геномов, что дает основания говорить о свежей или недавно перенесенной энтеровирусной инфекцией, или о ее обострении. У 4 ПЦР-положительных больных были выявлены только специфические Ig G при отсутствии Ig M в сыворотках крови больных, что свидетельствует о наличии у них хронической энтеровирусной инфекции. Выявление только Ig M при отсутствии Ig G в сыворотках крови 6 ПЦР-положительных больных может свидетельствовать о наличии у них острой энтеровирусной инфекции. Не было выявлено ни Ig M, ни Ig G в сыворотках крови трех ПЦР-положительных больных, что, возможно, связано с наличием у них латентной энтеровирусной инфекции.

Выводы. Острая и хроническая персистирующая энтеровирусная инфекция играет возможно триггерную роль в развитии ОНМК. Для диагностики персистентной энтеровирусной инфекции у больных ОНМК целесообразно применять сочетание ПЦР для выявления геномов энтеровирусов, вирусологического метода для выделения и идентификации вирусов, а также ИФА для выявления специфических Ig M и Ig G к энтеровирусам.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, энтеровирусы, геном энтеровирусов, иммуноглобулины M и G, иммуно-ферментный анализ, полимеразная цепная реакция.

CORRELATION BETWEEN ENROVIRUS INFECTION AND ACUTE STROKE ON THE GROUND OF VIROLOGICAL, MOLECULAR GENETIC AND SEROLOGICAL METHODS OF DIAGNOSIS

Andriushkova N.G., Turchina N.S., Melnyk V.V., Dolinchuk L.V., Poniatovskyi V.A., Shyrobokov V.P.

O.O. Bogomolets National Medical University, Ukraine, Kyiv

Relevance. Numerous virological studies prove the importance of enteroviruses in human somatic pathology. However, the etiopathogenetic role of enterovirus infection in patients with acute cerebrovascular disorder (GVMD) is not sufficiently highlighted.

Objective: to establish the value of enterovirus infection as a trigger factor in the pathogenesis of acute stroke.

Materials and methods. The pair blood serum of 72 patients with acute stroke (main group) and 35 patients with neurological pathology without vascular pathology (group of comparison) were screened for presence of enteroviruses using the virological method, detection of enterovirus genomes using a polymerase chain reaction and the presence of specific Ig M and Ig G to enteroviruses in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results. The enterovirus genomes were isolated from blood serum in $23,6 \pm 5,9$ % of patients with acute stroke, that is significantly higher than in patients of the comparison group – $2,9 \pm 2,8$ % ($p < 0,05$). The enteroviruses were isolated in 11 cases of 17 PCR-positive blood serum samples of the main group. These viruses were identified as Cocksackie B viruses (serotypes 2, 3, 4) and ECHO viruses (serotypes 6, 9, 27 (two strains), 29), three strains of viruses could not be identified. The presence of specific Ig M and Ig G in blood serum of 4 patients with HPMK, as well as enterovirus genomes, has been established. It suggest that they have a recent enterovirus infection, or can indicate a recent enterovirus infection or exacerbation of chronic enterovirus infection. Only specific Ig G in the absence of Ig M were detected in blood serum of 4 PCR positive patients, that can indicate chronic enterovirus infection. Only Ig M in the absence of Ig G was detected in blood serum of 6 PCR-positive patients, that can indicate acute enterovirus infection. No Ig M or Ig G in serum from three PCR-positive patients were detected, possibly due to the presence of latent enterovirus infection.

Conclusions. Acute and chronic persistent enterovirus infection plays a possible trigger role in the development of acute stroke.

The combination of PCR to detect genomes of enteroviruses, virological for the isolation and identification of viruses, and ELISA for the detection of specific Ig M and Ig G to enteroviruses should be recommended for the diagnosis of persistent enterovirus infection in patients with acute stroke.

Key words: acute stroke, enterovirus, enterovirus genome, immunoglobulin M and G, immune enzyme analysis, polymerase chain reaction.