



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41829 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/48
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 ВИЗНАЧЕННЯ НАПРУЖЕННЯ ІМУНІТЕТУ

1

(21) u2009000095
(22) 05.01.2009
(24) 10.06.2009
(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.
(72) ЄГОРОВА СВІТЛАНА ЮРІЇВНА, КУДРЯВЦЕВА ВАЛЕНТИНА ЄВГЕНІЇВНА, ТРОПКО ЛЮДМИЛА ВІТАЛІЇВНА, БОЙКО ТЕТЯНА ЙОСИПІВНА, ГАРКАВА КАТЕРИНА ГРИГОРІЇВНА, ЧЕЛКАН ВІРА ВОЛОДИМИРІВНА
(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА ІНСТИТУТ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ
(57) Спосіб визначення напруження імунітету, який включає дослідження рівня сироваткових проза-

2

пальних цитокінів ІЛ-8, ФНП- α та дослідження мікрофлори вмісту товстої кишки, який **відрізняється** тим, що напруження імунітету оцінюють за допомогою балів, які визначають за принципом - нормальний рівень цитокіну - 1 бал, підвищений (рівень цитокіну підвищений в 1,5-5 разів) - 2 бали, значно підвищений (рівень цитокіну підвищений в 5,5-10 разів) - 3 бали, при наявності дисбіозу ІІ-ІІІ ступенів і сумі балів 4 - напруженість імунітету оцінюють як нормальну (помірну), 2-3 бали - оцінюють напруженість імунітету як слабку, 5-6 балів - констатують виражену напруженість імунітету.

Спосіб, що заявляється, відноситься до медицини, а саме до імунології, до способів оцінки напруження імунітету, та може бути використаний для визначення стану захисних механізмів організму та прогнозу перебігу неспецифічних запальних захворювань кишечника.

Відомий спосіб оцінки напруження імунітету за допомогою визначення фагоцитарної активності лейкоцитів, концентрації циркулюючих імунних комплексів, імуноглобулінів класу G, та визначення їх співвідношення (показник ФГЦ) [Пат. RU 2058552 С1 G01N 33/53 «Способ оценки напряженности иммунитета», 1999].

Недоліком відомого способу - найближчого аналога є недостатній об'єм інформації, і відповідно, його точність. Відомо, що при неспецифічних запальних захворюваннях кишечника важливу роль в патогенезі відіграє дисбаланс цитокінів. Цитокіни (медіатори, фактори клітинної взаємодії) - низькомолекулярні білки, які продукуються і секретируються переважно активованими клітинами імунної системи і беруть участь в розвитку імунних реакцій за клітинним або гуморальним типом. Вони виробляються транзиторно (індуцибельно), мають короткий напівперіод життя і діють в дуже низьких концентраціях, зв'язуючись з високо афінними рецепторами на поверхні клітин-мішеней. Розгортання процесів запалення на регіональному рівні і на рівні організму є обов'язковою підготовчою фазою включення адаптивної складової сис-

тем імунореактивності. Від того, як протікає ця фаза, залежатиме функціонування всієї імунної системи на етапі розгортання подій адаптивного імунітету. Нездатність відновити баланс цитокінів приводить до поразки і деструкції тканин, що характеризує хронічне запалення. Кишкова мікрофлора в розвитку неспецифічних запальних захворювань кишечника розглядається як один із стимулів, що призводить до ініціації запалення, активуючи синтез макрофагами цитокінів. Цитокіни відіграють важливу роль не тільки в ініціації запального процесу, але й в регуляції активності кишкової мікрофлори. Кишечник є джерелом ліпополісахаридів (ЛПС) в організмі людини. Невеликі дози ЛПС вважаються корисними унаслідок його здатності підвищувати неспецифічну резистентність організму до інфекцій і пухлин. У нормальних умовах взаємин природної мікрофлори з організмом ліпополісахарид діє не як чинник вірулентності, а як гомеостатичний регулятор, індукуючи мережу цитокінів, контролюючих запальну відповідь.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити засіб визначення напруження імунітету, який забезпечував би більш точну оцінку напруження імунітету у пацієнтів на неспецифічні запальні захворювання кишечника.

Поставлена задача вирішується шляхом визначення ІЛ-8 та ФНП- α у сироватці крові методом кількісного імуноферментного аналізу. Принцип методу - „sandwich” варіант твердофазного трьох-

(13) U
(11) 41829
(19) UA

стадійного ІФА на планшетах. Вміст цитокінів в досліджуваних зразках визначають за допомогою каліброваних кривих із значеннями оптичної щільності стандартних зразків. Результати дослідження визначають в пікограмах на 1мл. Дослідження видового та кількісного складу мікрофлори вмісту товстої кишки проводять методом посіву десятикратних розведень на стандартний набір селективних та диференційно-діагностичних поживних середовищ. При наявності дисбіозу II-III ступенів

рівень прозапальних цитокінів оцінюють за допомогою балів: нормальний рівень цитокіна - 1 бал, підвищений рівень (рівень цитокіна підвищений в 1,5-5 разів) - 2 бала, значно підвищений рівень (підвищений в 5,5-10 разів) - 3 бала. При наявності дисбіозу II-III ступенів і сумі балів 4 - напруженість імунітету оцінюють як нормальну (помірну), 2-3 бали - оцінюють напруженість імунітету як слабку, 5-6 балів - констатують виражену напруженість імунітету (див. табл.).

Вміст цитокінів, пг/мл	Норма	Підвищений рівень	Значно підвищений
ІЛ-8	Від 0 до 35,4	Від 36 до 130	Від 135 і вище
Кількість балів	1	2	3
ФНП-α	Від 0 до 6,5	Від 7 до 30	Від 35 і вище
Кількість балів	1	2	3

Проведено дослідження напруження імунітету хворих на неспецифічний виразковий коліт по заявленому способу.

Спосіб ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1. Хворий Д. І. А., 43 роки, знаходився на лікуванні у відділенні захворювань кишечника Інституту гастроентерології АМН України. Клінічний діагноз: НВК. Дата дослідження: 9.01.08.

Рівень ІЛ-8 - 10,6пг/мл, рівень ФНП-α - 4,6пг/мл, ступінь дисбіозу - III (виявлені гемолітичні штами *E. coli* – 94%, умовно-патогенні мікроорганізми, значно зниженні біфідобактерії). Сума балів дорівнює 2.

Заключення: Слабке напруження імунітету, що можна розцінювати як результат пригніблення функціональної, у тому числі і цитокінпродукуючої, активності імункомпетентних клітин, розвитку вторинного дефіциту.

Приклад 2. Хворий Б. В. І., чоловік 49 років, знаходився на лікуванні у відділенні захворювань кишечника Інституту гастроентерології АМН України. Клінічний діагноз: НВК. Дата дослідження: 16.01.08.

Рівень ІЛ-8 - 143,7пг/мл, рівень ФНП-α - 70,6пг/мл, ступінь дисбіозу - III (виявлені гемолітичні штами *E. coli* – 100%, значно зниженні лакто- і біфідобактерії). Сума балів дорівнює 4.

Заключення: напруженість імунітету нормальна (помірна).

Спосіб визначення напруження імунітету використано в лабораторії мікробіології і імунології ДУ „Інститут гастроентерології АМН України” при обстеженні хворих на неспецифічний виразковий коліт.

Вищезазначені дані свідчать про те, що заявлений спосіб працездатний, від дозволяє визначити більш точно напруження імунітету. Підвищення точності способу вирішується завдяки включенню в інтегральну оцінку рівня прозапальних цитокінів і стану мікрофлори вмісту товстої кишки - чинників, що відіграють важливу роль в патогенезі неспецифічних запальних захворювань кишечника. Індивідуальні зміни рівня ІЛ-8 та ФНП-α в сукупності зі станом мікробіоценозу товстої кишки є інформативним параметром напруження імунітету.