



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41893 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/53МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ПРОГРЕДІЄНТНОГО ПЕРЕБІГУ ЛАЙМ-БОРЕЛІОЗУ

1

2

(21) u200901048

(22) 10.02.2009

(24) 10.06.2009

(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.

(72) ЗІНЧУК ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ, ЧО-
П'ЯК ВАЛЕНТИНА ВОЛОДИМИРІВНА, ВАЛЬЧУК
ІННА ВОЛОДИМИРІВНА(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) Спосіб виявлення прогресивного перебігу Лайм-бореліозу шляхом лабораторного дослідження сироватки крові, який **відрізняється** тим, що методом імуноферментного аналізу з використанням стандартних комерційних тест-систем визначають вміст цитокінів інтерферону- γ (INF- γ) та інтерлейкіну-4 (IL-4) в сироватці крові і при зростанні співвідношення INF- γ /IL-4 виявляють прогресування хвороби.

Корисна модель стосується медицини, зокрема клініки інфекційних хвороб, і може бути використана для визначення прогресивного перебігу і хронізації Лайм-бореліозу (ЛБ).

ЛБ притаманна поліорганність ураження, схильність до прогресування інфекційного процесу і хронізації з розвитком органної патології у вигляді уражень центральної і периферичної нервової системи, опорно-рухового апарату, серця, очей, що є наслідком тривалої персистенції збудника в організмі, трансформації його в L-форми, імунопатологічних зрушень [1]. Встановлено, що навіть після адекватної протимікробної терапії у 10-15 % хворих спостерігається прогресування хвороби, що диктує необхідність повторних курсів специфічної терапії.

Перебіг інфекційного процесу при ЛБ великою мірою можна оцінити за напруженістю факторів гуморального імунітету. Для цього використовуються серологічні методи визначення рівня протибореліозних антитіл класів М та G. Про хронізацію ЛБ також можуть свідчити результати полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), проте цей метод не знайшов широкого практичного поширення і часто дає хибнонегативні результати [2].

Відомим способом визначення напруженості гуморального імунітету при ЛБ є імуноферментний аналіз (ІФА), який дозволяє в ході диспансерного спостереження за хворими оцінювати динаміку рівня протибореліозних антитіл класів М та G. Отримані дані можуть опосередковано свідчити про прогресування хвороби та хронізацію [3]. Проте, оцінку рівня протибореліозних антитіл в ІФА з використанням методу парних сироваток для прогнозування хронізації ЛБ можна проводити тільки

через 6 місяців після проведеної терапії, а робити конкретні висновки через 12 місяців.

В основу корисної моделі поставлено завдання створення якнайбільш інформативного способу виявлення прогресивного перебігу ЛБ, який дозволив би передбачати хронізацію хвороби зразу ж після проведеної протимікробної терапії.

Поставлене завдання досягається тим, що у способі виявлення прогресивного перебігу ЛБ шляхом лабораторного дослідження сироватки крові, згідно з корисною моделлю, методом ІФА з використанням стандартних комерційних тест-систем визначають вміст цитокінів інтерферону- γ (INF- γ) та інтерлейкіну-4 (IL-4) в сироватці крові і при зростанні співвідношення INF- γ /IL-4 виявляють прогресування хвороби.

Перевага запропонованого способу полягає у тому, що динаміка співвідношення цитокінів INF- γ /IL-4 дозволяє оцінювати формування типу імунної відповіді у хворих на ЛБ, що має велике значення для прогнозування перебігу хвороби. У випадку гострої фази ЛБ можливе зростання рівня INF- γ після проведеного специфічного лікування буде вказувати про домінування імунної відповіді за клітинним типом (Т_H1 тип), що свідчить про прогресивний перебіг хвороби і можливу хронізацію з розвитком органних уражень. З іншої сторони, швидке зниження рівня INF- γ при зростанні рівня IL-4 є відображенням переважання гуморальної (Т_H2 тип) імунної відповіді, що сприяє повній елімінації збудника з організму, розвитку репаративних процесів. Запропоноване визначення співвідношення INF- γ /IL-4 є більш інформативним для прогнозування наслідків хвороби, ніж оцінка рівня кожного цитокіну окремо. У випадку зростання після

(19) UA (11) 41893 (13) U

проведеного лікування співвідношення $\text{INF-}\gamma/\text{IL-4}$ до рівня 1,5-2,0 можна передбачати помірний ризик прогресивного перебігу і хронізації ЛБ, а більше 2,0 - високий.

Спосіб здійснюють таким чином.

Проводять забір венозної крові для дослідження перед призначенням протимікробної терапії і на 14-й день лікування. Для визначення цитокінів $\text{INF-}\gamma$ та IL-4 у сироватці крові використовують комерційні тест-системи для проведення імуноферментного аналізу (ІФА). В ході дослідження за допомогою методу твердофазного ІФА використовують два типи моноклональних антитіл: один - іммобілізований на полістиролі (внутрішня поверхня лунок планшету для мікротитрації), другий - до незалежного епітопу молекул цитокіну, який досліджується (знаходиться у вигляді кон'югату з біотином). Індикаторним компонентом є кон'югат пероксидази хрому зі стрептавідином,

що споріднений до біотину. Після відповідної інкубації та промивання визначають активність зв'язаної пероксидази за допомогою субстрату методом фотометрії. Для обліку результатів, згідно з інструкцією виробника тест-систем, будують калібрувальну криву із використанням стандартних розчинів з відомим вмістом цитокіну. Зростання співвідношення $\text{INF-}\gamma/\text{IL-4}$ після проведеного лікування свідчить про прогресивний перебіг ЛБ, збільшення ризику виникнення органних уражень з можливим формуванням в подальшому аутоімунного синдрому.

Клінічне спостереження за хворими на еритемні форми ЛБ свідчить, що у пацієнтів без ознак дисемінації ($n = 17$) до початку лікування рівень $\text{INF-}\gamma$ був значно вищим, ніж у групі порівняння, і сягав $40,68 \pm 5,33$ пг/мл ($P < 0,001$), тоді як у хворих з ознаками дисемінації ($n = 5$) цей рівень незначно відрізнявся від показників групи порівняння, яку склали 20 здорових донорів крові (відповідно

$22,92 \pm 2,48$ пг/мл і $21,88 \pm 1,64$ пг/мл, $P > 0,05$). На 14-й день лікування спостерігалася тенденція до нормалізації рівня $\text{INF-}\gamma$ у хворих без ознак дисемінації ($26,42 \pm 1,64$ пг/мл) і, навпаки, до підвищення рівня цього цитокіну у хворих з органними ураженнями ранньої фази ЛБ (з $22,92 \pm 2,48$ до $27,99 \pm 2,78$ пг/мл).

У хворих на ЛБ без ознак дисемінації спостерігалася зниження співвідношення $\text{INF-}\gamma/\text{IL-4}$ з 1,69 (до лікування) до 0,62 (на 14-й день лікування), в той час, коли в групі порівняння це співвідношення було 1,31. У групі хворих з ознаками дисемінації і органними ураженнями ранньої фази ЛБ спостерігалася зовсім інша динаміка співвідношення $\text{INF-}\gamma/\text{IL-4}$ - зростання від 1,27 до 2,08.

Отримані дані свідчать, що у хворих з циклічним перебігом ЛБ без ознак дисемінації в ході одужання спостерігається Th2 тип імунної відповіді з домінування реакцій гуморального типу. Таке зрушення типу імунної відповіді, що проявляється достатнім синтезом протиборе́ліозних антитіл, призводить до більш повної елімінації збудника і сприяє репаративним процесам. У хворих з ознаками дисемінації ЛБ зростання співвідношення $\text{INF-}\gamma/\text{IL-4}$ свідчить про домінування у цієї категорії хворих реакцій клітинного імунітету (Th1 тип імунної відповіді), що є відображенням прогресивного перебігу ЛБ з ризиком хронізації.

Джерела інформації:

1. Воробьева Н.Н. Иксодовые клещевые боррелиозы // Рос. мед. журн. - 2000. - №6. - С. 33-38.
2. Steere A.C. Lyme Disease // N. Engl. J. Med. - 2001. - V. 345. - P. 115-125.
3. Лобзин Ю.В., Усков А.Н., Козлов С.С. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы). - С-Пб : Фолиант, 2000. - 156 с.