



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58513 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
G01N 33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЗАЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ

1

2

(21) u201013054

(22) 03.11.2010

(24) 11.04.2011

(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.

(72) ТАТАРКО СЕРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, КЛИМЕНКО  
МИКОЛА ОЛЕКСІЙОВИЧ(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб діагностики хронізації запалення шляхом визначення в крові медіаторів запалення, який **відрізняється** тим, що в периферичній крові визначають вміст цитокіну ІФН- $\gamma$  і, якщо він підвищений у порівнянні до контролю в 2 рази та більше, запалення діагностують як хронічне.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до патологічної фізіології, і може бути використаною для діагностики хронізації запалення.

Запалення - це найбільш поширений патологічний процес, який лежить в основі більшості хвороб. На той час як гостре запалення зі звичайним перебігом, як захисно-приспосувальна реакція організму, потребує лише етіотропної терапії, хронічне запалення потребує патогенетичної, тобто протизапальної терапії, для визначення об'єму якої оцінюють особливості перебігу хронічного запалення, що обумовлює необхідність діагностики його хронізації.

Найбільш точними методами діагностики хронізації запалення є методи, які включають дослідження клітин і речовин самого вогнища при наявності можливості взяття для дослідження матеріалу безпосередньо з вогнища запалення (А. М. Чернух Воспаление. - М: Медицина, 1979. - 448 с.; Маянский Д. Н. Хроническое воспаление. - М.: Медицина, 1991. - 272 с.; Дыгай А. М., Клименко Н. А. Воспаление и гемопоз. - Томск: Изд-во Том. у-та, 1992. - 276 с.).

Так, наприклад, відомий спосіб визначення перебігу фази хронічного запалення, що включає визначення тканинних базофілів (ТБ). Фази хронічного запалення визначають, підраховуючи та оцінюючи ступені дегрануляції ТБ і, якщо вони виражено дегранульовані та знижена їх кількість, визначають першу фазу хронічного запалення, при повторній помірній їх дегрануляції та збільшенні кількості визначають другу фазу запалення; при зниженні дегрануляції по відношенню до такої в першій фазі, яка однак залишається більшою, ніж в нормі, та початку відновлення кількості ТБ визначають перехідну фазу хронічного запалення

(Пат. № 33696 У, Україна, МПК: G01N 33/00, Спосіб визначення фаз хронічного запалення / Клименко М.О., Лупир М. В.; Харківський національний медичний університет. - З. № u 200801916; заявл. 14. 02. 2008; опубл. 10. 07. 2008, бюл. № 13).

Найбільш поширеним способом діагностики запалення, оцінки його перебігу та фаз, ефективності протизапальних лікарських засобів та відповідної терапії є виявлення характеру лейкоцитозу (А. М. Чернух Воспаление. - М: Медицина, 1979. - 448 с.). Однак лейкоцитоз при запаленні виражений не завжди, це залежить від розповсюдженості й інтенсивності запалення.

Відомий також спосіб діагностики хронізації запалення шляхом визначення різних речовин, в тому числі медіаторів запалення, в крові (Дыгай А. М., Клименко Н. А. Воспаление и гемопоз. - Томск: Изд-во Том. у-та, 1992.-276 с.).

Даний спосіб діагностики хронізації запалення є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за прототип.

В основу корисної моделі покладено задачу розширення арсеналу способів та засобів діагностики хронізації запалення.

Задачу, яку покладено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі діагностики хронізації запалення шляхом визначення в крові медіаторів запалення, згідно з корисною моделлю, в периферичній крові визначають вміст цитокіну ІФН- $\gamma$  і, якщо він підвищений у порівнянні до контролю в 2 рази та більше, запалення діагностують як хронічне.

Технічний ефект корисної моделі, а саме розширення арсеналу способів та засобів для діагно-

(13) U  
(11) 58513  
(19) UA

стики хронізації запалення обумовлений тим, що ІФН- $\gamma$  відноситься до Th1-цитокінів, які секретуються переважно Th1-лімфоцитами та відносяться до прозапальних.

Специфічність та достовірність зміни вмісту ІФН- $\gamma$  для діагностики хронізації запалення встановлені експериментально.

Експериментальні дослідження виконані на 246 щурах-самцях лінії Wistar масою 180-200 г.

Тварини експериментальних груп знаходилися в однакових умовах, по 6 особин у стандартних металевих клітках, водяний і харчовий режим - *ad libitum*. Для виключення впливу сезонних і добових коливань на досліджувані показники основні дослідження були проведені в осінньо-зимовий період, у ранкові години.

Усі процедури з тваринами, а також виведення тварин з експерименту шляхом декапітації проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів дослідів на тваринах» (Україна, 2001). Використовували мінімально припустиму для статистичної обробки й одержання достовірних результатів загальноприйнятну кількість тварин (по 6 на групу).

Як матеріал для досліджень використовували периферичну кров.

При цьому досліджувались наступні моделі запалення:

1. Гостре інфекційне запалення викликали введенням в область стегна добової культури *Staphylococcus aureus*, штам ATCC-25923, що містить 2 млрд. мікробних тіл у 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію.

2. Вторинно хронічне запалення викликали підшкірним введенням в область стегна 5 мг  $\gamma$ -карагінена ("Sigma", США) у 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію.

3. Первинно хронічне неімунне запалення (гранулематозне) викликали введенням в область стегна сефадекса А-25 у дозі 1 мг у 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію.

4. Первинно хронічне імунне запалення типу ад'ювантного артриту викликали субплантарним введенням повного ад'юванта Фрейнда в дозі 0,1 мл.

Дослідження проводили в динаміці запалення, починаючи з 6-ої години до 28-ї доби.

При всіх видах запалення визначали вміст маркерних цитокінів Th1-лімфоцитів (ІЛ-12, ІФН- $\gamma$ ) та Th2-лімфоцитів (ІЛ-4) у периферичній крові.

Цитокіни визначали імуноферментним методом за допомогою відповідних тест-систем.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням комп'ютерної програми Stadia - 6.0 і t-критерію Стьюдента.

Вивчення маркерних цитокінів Th1 і Т12-лімфоцитів показало, що вміст ІЛ-4 при гострому запаленні був трохи підвищеним на 1-у-3-ю добу, вірогідно - на 7-у-28-у добу з максимумом на 28-у добу. При вторинно хронічному запаленні його рівень вірогідно підвищувався раніш - уже з 3-ї доби і до 28-ї доби з піком на 7-у добу. При первинно хронічному запаленні це підвищення було достовірним уже з 1-ї доби і зберігалось до 21-ї доби з піком на 3-ю добу. При імунному запаленні воно також починалося з 1-ї доби і поверталось до вихідного значення на 14-у добу з максимумами відповідно на 3-ю і 1-у добу. При гострому і вторинно хронічному запаленні рівень ІЛ-4 не повертався до норми до закінчення експерименту. У той же час при імунному запаленні в порівнянні з неімунним відзначалося більш раннє, але менш тривале підвищення рівня ІЛ-4.

Вміст ІЛ-12 при гострому запаленні коливався хвилюподібно і був трохи підвищеним на 1-у-3-ю і з 14-ї до 28-ї доби з максимумом на 28-у добу. При вторинно хронічному запаленні це підвищення було менш тривалим - на 7-у-10-у добу з достовірним піком на 7-у добу. При первинно хронічному запаленні рівень ІЛ-12 також коливався хвилюподібно, підвищуючись на 6-у годину-1-у добу і 7-у-21-у добу. Що стосується імунного запалення, то підвищення відзначалося на 1-у-3-ю добу з вираженим достовірним піком на 3-ю добу.

Вивчення рівня ІФН- $\gamma$  показало, що при гострому запаленні він був трохи вище контролю на 6-у годину, вірогідно - на 3-ю добу і залишався підвищеним у період з 10-ї і до 28-ї доби. У той же час при вторинно і первинно хронічному запаленні це підвищення було достовірним з 1-ї доби і до кінця дослідження з максимумами, відповідно, на 1-у і 7-у добу, при цьому в другому випадку було значно більш вираженим. Що ж стосується хронічного імунного запалення, то тут підвищення було достовірним в усі терміни дослідження, з піком на 7-у добу. При порівнянні імунного і неімунного запалення слід зазначити, що в першому випадку підвищення ІФН- $\gamma$  починалося раніше - на 6-у годину і було більш вираженим до 10-ї доби, тоді як з 14-ї і до 28-ї доби цей показник у першому випадку був нижче, ніж у другому.

Таким чином, було встановлено, що зміни вмісту ІФН- $\gamma$  є найбільш специфічними та достовірними для діагностики хронізації запалення.