



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **41917** (13) **U**
(51) МПК (2009)
A61B 5/145

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СИМПТОМАТИЧНОЇ ПАРЦІАЛЬНО-ГЕНЕРАЛІЗОВАНОЇ ЕПІЛЕПСІЇ

1

2

(21) u200901571

(22) 23.02.2009

(24) 10.06.2009

(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.

(72) ВОЛОШИН ПЕТРО ВЛАСОВИЧ, UA, ВОЛО-
ШИНА НАТАЛІЯ ПЕТРІВНА, UA, ЖУКОВ ВІКТОР
ІВАНОВИЧ, UA, ГОРБАЧ ТЕТЯНА ВІКТОРІВНА,
UA, ГУБІНА-ВАКУЛІК ГАЛИНА ІВАНІВНА, UA, ЛЕ-
КОМЦЕВА ЄВГЕНІЯ ВОЛОДИМИРІВНА, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ НЕВРО-
ЛОГІЇ, ПСИХІАТРІЇ ТА НАРКОЛОГІЇ АМН УКРАЇ-
НИ", UA

(57) Спосіб діагностики симптоматичної парціаль-
но-генералізованої епілепсії за допомогою імуно-
ферментного методу, який **відрізняється** тим, що
у хворих на епілепсію визначають вміст анти-GM₁
аутоантитіл до моносіалових гангліозидів у сиро-
ватці крові.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до неврології, психіатрії та медичної біохімії, і може бути використана для діагностики симптоматичної парціально-генералізованої епілепсії.

Симптоматична епілепсія, що обумовлена інтракраніальною інфекцією у вигляді менінгоенцефаліту або енцефаліту, є однією з основних причин інвалідизації хворих на епілепсію внаслідок не своєчасної діагностики, що зменшує ефективність подальшого патогенетичного лікування (Зенков Л.Р. Лечение фармакорезистентных эпилепсий // Русский медицинский журнал. - 2001. - Т. 9, №7-8. - С.301-311.). Розвиток неонатальних або фебрильних генералізованих чи парціальних судом у 10-12% випадків обумовлено інтракраніальною інфекцією, що найбільш часто зустрічається при бактеріальних та вірусних менінгоенцефалітах та енцефалітах. Встановлено, що подалі фебрильні судороги трансформуються у комплексні парціальні та парціально-генералізовані напади у 18-20% випадках (Эпилепсии и судорожные синдромы у детей. Руководство для врачей / Под ред. П. А. Темина, М. Ю. Никаноровой. - М.: Медицина, 1999. - 656 с). Одним із факторів ризику подальшого розвитку та трансформування в симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію фебрильних судом є імунологічна реактивність організму, неадекватна гіперактивність якої, виникаючи під час інфекційного процесу призводить до появи аутореактивних Т-лімфоцитів сенсibiliзованих до ткани мозку та/або субпопуляції В-лімфоцитів продуцируючих низькоафінні аутоантитіла класу IgM (Palace J., Lang B. Epilepsy: an autoimmune disease? // J. Neurol. Neurosurg. Psy-

chiatry. - 2000. - Vol.69. - P.711-714.).

Гангліозиди це кислі глікоосфінголіпіди, що утримують в своїй структурі нейрамінову кислоту. Вони знаходяться у зовнішньому шарі плазматичної мембрани нейронів, де їх вуглеводні залишки діють як антигени при аутоімунних неврологічних захворюваннях. Крім того, існує молекулярна мімікрія між гангліозідами та бактеріальними вуглеводними антигенами (особливо з бактеріальним ліпополісахаридом [LPS]), таким чином, існує клініко-біохімічна асоціація між антигенами цитомегаловірусної інфекції та анти-GM₂ антитілами: антитіла, що зв'язані з вуглеводними антигенами інфекції подібно зв'язуються із вуглеводними антигенами глікоосфінголіпідів як анти-гангліозид або анти-MAG (мієлін асоційований глікопротеїн) аутоантитіла, і в такому випадку, діють як маркери пошкодження нейромембран (Bansal A.S. et al IgM ganglioside GM₁ antibodies in patients with autoimmune disease or neuropathy, and controls // J. Clin. Pathol. - 1994. - Vol.47(4). - P.300-302.).

Тому, визначення вмісту аутоантитіл, маркерів поразки нейронних ліпідних мембран особливо в їх синаптичних ділянках, дозволить вирішити питання ранньої та своєчасної діагностики аутоімунних парціально-генералізованих епілепсій, дозволить підвищити точність біохімічної діагностики симптоматичних епілепсій до 90-98%, знизити відсоток інвалідизації та покращити якість життя цієї групи хворих.

За прототип корисної моделі правлять факти наявності аутоантитіл до потенціал-залежних калієвих та кальцієвих каналів, анти-GM₂ аутоантитіл до гангліозидів у хворих на симптоматичну аутоі-

(19) **UA** (11) **41917** (13) **U**

мунну генералізовану епілепсію (McKnight K., Jiang Y., Hart Y., Cavey A., Wroe S., Blank M., Shoenfeld Y., Vincent A., Palace J., Lang B. Serum antibodies in epilepsy and seizure-associated disorders // *Neurology*. - 2005. - Vol.65. - P.1730-1736.). Серед недоліків прототипу звертає на себе увагу низька специфічність методу (Roubertie A., Boukhaddaoui H. et al. Antigial cell autoantibodies and childhood epilepsy: a case report // *Epilepsia*. - 2005. - Vol.46 (8). - P.1308-1312.).

В основу корисної моделі покладено задачу вдосконалення способу діагностики симптоматичної парціально-генералізованої епілепсії виникнення якої обумовлено запально-алергічним пошкодженням на тлі інтракраніальної інфекції у вигляді менінгоенцефаліту або енцефаліту чи поствакцинальним запально-алергічним ураженням шляхом вимірювання рівню анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів, які мають прямий пошкоджуючий патогенетичний вплив на головний мозок, у сироватці крові імуноферментним методом, що забезпечить покращення специфічності та однозначності способу.

Суть корисної моделі полягає в тому, що в сироватці крові хворих на симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію вимірюють кількісний вміст анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів порівняно з даними хворих на ідіопатичну та криптогенну епілепсію, виникнення якої обумовлено генетичними, клінічно й електроенцефалографічно не встановленими причинами та контрольної групи.

Для вирішення поставленої задачі використовують метод імуноферментного аналізу (ІФА) для визначення антитіл до гангліозидів GM₁ (Aykutlu E., Baykan B., Gurses C., Gokyigit A., Saruhan-Direskeneli G. No association of anti-GM₁ and anti-GAD antibodies with juvenile myoclonic epilepsy: a pilot study // *Seizure*. - 2005. - Vol.14. - P.362-366). Метод визначення анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів - імуноферментний метод при довжині хвилі 450нм. Метод ІФА дуже поширений й популярний для клінічного визначення більшої кількості антигенів та антитіл у сироватці людини, характеризується швидкістю у виконанні, чутливістю й високою специфічністю (98%), відсутністю у складі наборів небезпечних для здоров'я реактивів. Таким чином, застосування корисної моделі у клініці надасть можливість своєчасної та адекватної діагностики симптоматичної парціально-генералізованої епілепсії, обумовленою перенесеною інтракраніальною інфекцією у вигляді менінгоенцефаліту або енцефаліту.

Спосіб діагностики здійснюється таким чином.

У пацієнта одержують кров, відстоюють її протягом години при кімнатній температурі, центрифугують при 3тис/об. 15-20хв. і заморожують при -20°C-28°C. Для визначення кількісного вмісту анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів методом ІФА використовують стандартні набори фірми Buhlmann (Швейцарія). Всі процедури виконуються згідно доданим сертифікованим інструкціям. Імуноферментний метод виконується при довжині хвилі 450нм та об'єму дослідного зразка: 20мкл сироватці у розведенні 1:50 та 1:200, час

інкубації 4,5 години при 2-8°C. Алгоритм методики полягає в наступному: в лункі додають дослідний антиген і кон'югат, де під час інкубації утримується рівновага між кон'югатом та антигеном у сироватці крові за конкурентне зв'язування з антитілами, що іммобілізовані на внутрішньої поверхні лунок; кількість дослідного антигену у зразку сироватці обернено пропорційно кількості сполученого з антитілами кон'югату. Далі формують базу даних з показників здорових осіб (контрольна група) порівняно з даними показників хворих на симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію (основана клінічна група) та порівняно з даними показників хворих на криптогенну та ідіопатичну парціально-генералізовану епілепсію (група порівняння).

Приклад

В ході дослідження було обстежено 3 клінічні групи: 1 клінічна група складалася з 19 хворих на ідіопатичну та криптогенну парціально-генералізовану епілепсію у віці від 18 до 38 років, середній вік хворих 1 групи складав 28,85±10,32 років. Етіологічний фактор хворих цієї групи не було виявлено ні клінічними даними, ні нейровізуалізаційними методами та багато численними електроенцефалографічними дослідженнями; 2 клінічну групу було складено з 5 хворих на симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію, виникнення якої було обумовлено перенесеною інтракраніальною інфекцією у вигляді менінгоенцефаліту та енцефаліту, середній вік хворих 2 групи складав 23,7±6,44 років, та 3 групу, було складено з 20 здорових осіб (з них 16 жінок, 80% та 4 чоловіка, 20% у віці від 27 до 33 років); середній вік контрольної групи - 29,11±7,14 років. 2 група складалася з 3 хворих жінок (19, 23 та 27р., відповідно), що у віці 2 р. та 4р. зазнали інфекційного бактеріального менінгоенцефаліту та 2 хворих жінок (24 та 32р.), які у віці 3 та 4р. зазнали вірусний гриппозний енцефаліт. Інфекційний бактеріальний менінгоенцефаліт та вірусний гриппозний енцефаліт супроводжувалися розвитком високої температури тілу, сильним головним болем, блюванням, менінгальними знаками та на фоні значущої гіпертермічної реакції (t_т+39-40°C) діти мали перші генералізовані судороги. У неврологічному статусі на момент обстеження вогнищевої симптоматики не відмічалось. Після інтенсивної антибактеріальної, дезінтоксикаційної терапії діти були виписані під диспансерний нагляд неврологів по місту мешкання.

Парціально-генералізовані напади з'явилися через рік після початку захворювання. Згідно з міжнародною класифікацією епілепсії та епілептичних синдромів (Нью-Делі, 1989р.) у хворих II гр. пароксизмальний синдром був представлений вторинно-генералізованими нападами: простими та комплексними парціальними нападами з вторинною генералізацією та їх сполученням; хворі I групи мали комплексні вторинно-генералізовані напади. Клінічне неврологічне сучасне обстеження хворих виявило наявність розсіяної неврологічної симптоматики, що вказує на ураження мезенцефальних та стовбурових структур головного мозку, яка була більш виражена у хворих II групи. З об'єктивних органічних неврологічних симптомів часті-

ше за інші зустрічалися порушення черепно-мозкової іннервації та рефлекторно-рухової сфери у вигляді горизонтального ністагму (12 хворих I гр., 5 хворих II гр.), порушення іннервації зіниці (9 хворих I гр., 2 хворих II гр.), асиметрії обличчя (5 хворих I гр., 3 хворих II гр.), порушення статичної координації (3 хворих I гр., 1 хворий II гр.), збільшення сухожилкових рефлексів (3 хворих I гр., 3 хворих II гр.). У структурі неврологічних синдромів майже у всіх обстежених хворих зустрічався синдром вегетативної дистонії. Перебіг симптоматичної набуті парціально-генералізованої епілепсії після

інфекційного менингоенцефаліту та енцефаліту у хворих II групи - фармакорезистентний.

В дослідженні було з'ясовано, що хворі 1 клінічної групи - групи порівняння - мають рівень аутоантитіл до моносіалових гангліозидів GM₁ такий самий, як і здоровий контроль (показники наведені у таблиці), а хворі на симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію мають дуже високий позитивний рівень анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів у сироватці крові, які можна розцінити як маркер перенесеної нейроінфекції (табл.1).

Таблиця 1

Показники рівню анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів сироватки крові хворих 1 групи (група порівняння), 2 групи (основна група) та 3 групи (контроль), Log IgM/IgG GM₁ антитіл – титр

Показник	1 клінічна група, (n=19)	2 клінічна група, (n=5)	контрольна група, (n=20)
анти-GM ₁ ауто антитіла до моносіалових гангліозидів	28±0,64	126±9,21*	20±0,42

Примітка * - зміни статично значимі порівняно до контрольної групи та при зіставленні з групою порівняння (p<0,001)

В ході дослідження було з'ясовано, що хворі на симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію мають високий рівень анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів, який було розцінено як високо позитивний. Аналіз ступеню відхилення від контрольних даних (t - критерій) рівню анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів виявив, що у групах співставлення спостережлива різниця між показниками була значно виразною, а саме: t=3,45 і t=1,12 відповідно (p<0,001). Таким чином, у хворих на симптоматич-

ну парціально-генералізовану епілепсію на тлі інтракраніальної інфекції у вигляді менингоенцефаліту та енцефаліту відмічається підвищення рівню анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів у сироватці крові.

Даний специфічний діагностичний тест дає змогу відокремити симптоматичну парціально-генералізовану епілепсію від кріптогенної та ідіопатичної епілепсії за даними рівню анти-GM₁ аутоантитіл до моносіалових гангліозидів у сироватці крові.