



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55886 (13) U
(51) МПК-2011.01
G01N 33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ НЕСПРИЯТЛИВОГО ПЕРЕБІГУ РЕАКТИВНОЇ ЛІМФАДЕНОПАТІЇ У ЧАСТО ХВОРІЮЧИХ ДІТЕЙ НА ГРВІ

1

2

(21) u201008113

(22) 29.06.2010

(24) 27.12.2010

(46) 27.12.2010, Бюл. № 24, 2010 р.

(72) ПОПОВ МИКОЛА МИКОЛАЙОВИЧ, САВВО
ОЛЕКСІЙ МИКОЛАЙОВИЧ(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИ-
ТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА(57) Спосіб діагностики несприятливого перебігу
реактивної лімфаденопатії у часто хворіючих дітей
на ГРВІ шляхом дослідження біологічного матері-

алу хворого, який **відрізняється** тим, що в сироватці крові визначають вміст ІЛ-2 і ІЛ-10, рівень спонтанної проліферативної активності лімфоцитів крові та активність проліферації лімфоцитів в РБТ під впливом ІЛ-2, про несприятливий перебіг реактивної лімфаденопатії свідчить достовірне підвищення в інтерморбідному періоді усіх зазначених показників, у порівнянні з нормою, та низький рівень в сироватці крові ІФН α' і ІФН γ .

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до клінічної імунології та педіатрії і може бути використана для диференційної діагностики та прогнозування несприятливого перебігу реактивної лімфаденопатії у часто та довгостроково хворіючих дітей (ЧХД) на гострі респіраторно-вірусні інфекції (ГРВІ).

Синдром лімфаденопатії (ЛАП) зустрічається при великій групі захворювань і являє собою збільшення однієї або декількох груп лімфатичних вузлів (ЛВ) в основному за рахунок гіперплазії лімфоїдної тканини. Це може бути початковим симптомом, як реактивних станів, так і місцем первинної локалізації злоякісних процесів.

Сучасна класифікація ЛАП згідно патогенетичних механізмів поділяє ЛАП тільки на реактивні й злоякісні, та не враховує гетерогенність реактивних форм лімфаденопатії. Вона не відповідає сучасним уявленням про патологічний процес, що протікає в лімфоїдній тканині та повністю його не відбиває.

У літературі наведені лише фактори та причини, здатні привести до збільшення лімфатичних вузлів, а також зазначені захворювання, що супроводжуються розвитком лімфаденопатії. Разом з тим, у літературі відсутні дані про імунопатогенез ЛАП та характер імунних перебудов в організмі сприятливого розвитку ЛАП. Розуміння цих процесів дозволить сконструювати ефективні підходи до профілактики й лікування ЛАП, істотно знизити

загальну захворюваність дітей і підвищити якість життя.

У зв'язку з вищевикладеним представляється актуальним подальше вивчення синдрому лимфаденопатії у дітей і вдосконалювання алгоритму обстеження та визначення уніфікованих критеріїв сприятливого та несприятливого перебігу ЛАП.

Найбільш близьким та обраним за прототип є спосіб диференційної діагностики лімфаденопатії в дітей (Мацеха Євген Петрович, автореферат дисертації на здобуття вченої ступені кандидата медичних наук, 2001 р., м. Іркутськ), у якому проводять дослідження складу вищих жирних кислот ліпідів тканини лімфатичних вузлів у комплексі із традиційними клініко-морфологічними й імунологічними методами діагностики захворювань лімфатичних вузлів у дітей. Це дозволяє сформувати групу ризику по розвитку неопластичних станів серед дітей з лімфаденопатіями неясного генеза. Зазначений спосіб не дозволяє оцінити перебіг реактивних ЛАП у дітей, прогнозувати перебіг захворювання у ЧХД та прогнозувати розвиток ускладнень.

В основу корисної моделі поставлено завдання удосконалення способу діагностики несприятливого перебігу реактивної лімфаденопатії у часто хворіючих дітей на ГРВІ, в якому, за рахунок змін досліджуваних показників, досягається визначення чітких прогностичних критеріїв, які дозволяють провести адекватно стану хворого терапію.

(19) UA (11) 55886 (13) U

Поставлена задача вирішується у способі діагностики несприятливого перебігу реактивної лімфаденопатії у часто хворіючих дітей на ГРВІ шляхом дослідження біологічного матеріалу хворого, згідно з корисною моделлю, в сироватці крові визначають рівень ІЛ-2 і ІЛ-10, рівень спонтанної проліферації лімфоцитів крові *in vitro*, активність проліферації лімфоцитів в РБТ (реакції бласної трансформації) під впливом ІЛ-2, і при підвищенні усіх зазначених показників у інтерморбідному періоді у порівнянні з нормою, та низькому рівні в сироватці крові ІФН α' і ІФН γ діагностують несприятливий перебіг реактивної лімфаденопатії.

У переважній більшості часто хворіючих дітей на ГРВІ реактивне збільшення лімфатичних вузлів зникає на 3-14 день закінчення клінічної маніфестації хвороби. В 10 % хворих ЛВ залишаються збільшені більше 40 днів і нове захворювання (рецидив) відбувається на тлі збільшених ЛВ, що здатне привести до розвитку різного роду ускладнень.

На основі проведених досліджень виявлені наступні діагностичні критерії несприятливого перебігу реактивної лімфаденопатії у часто хворіючих дітей (ЧХД) на ГРВІ. У інтерморбідний період у таких дітей виявляється:

1. Високий вміст ІЛ-2 і ІЛ-10 в сироватці крові;
2. Підвищений рівень спонтанної проліферативної активності лімфоцитів.
3. Підвищений рівень ІЛ-2 індукованої проліферації лімфоцитів в РБТ.
4. Низький рівень в сироватці крові ІФН α' і ІФН γ .

Обґрунтування кожного з зазначених прогностичних критеріїв:

1. У часто хворіючих дітей на ГРВІ, у яких реактивне збільшення лімфатичних вузлів спостерігалось більш 40 днів в гострому періоді захворювання, вміст ІЛ-2 в сироватці крові складав $4,8 \pm 0,6$ пг/мл в інтерморбідному періоді, $3,3 \pm 0,4$ пг/мл; ІЛ-10 - $33,9 \pm 6,8$ пг/мл і $13,9 \pm 2,1$ пг/мл. У епізодично хворіючих дітей ці показники дорівнювались: $6,2 \pm 0,8$ пг/мл і $1,8 \pm 0,24$ пг/мл (відповідно); ІЛ-10 - $48,8 \pm 6,9$ пг/мл і $8,1 \pm 0,9$ пг/мл. У ЧХД, у яких реактивне збільшення лімфатичних вузлів спостерігалось 3-14 днів, вміст ІЛ-2 в сироватці крові складає: в гострому періоді - $4,0 \pm 0,49$ пг/мл, в інтерморбідному періоді - $2,2 \pm 0,28$ пг/мл; ІЛ-10 - $33,6 \pm 5,9$ пг/мл і $11,3 \pm 2,1$ пг/мл.

2. Аналіз наявності цитокінів в крові засвідчує, що у часто хворіючих дітей з ЛАП концентрація ІЛ-2 достовірно вище в інтерморбідному періоді, ніж у часто хворіючих дітей без ЛАП. Також для часто хворіючих дітей з ЛАП властиво сполучення підвищеного вмісту ІЛ-2 та ІЛ-10. Відомо, що ці цитокіни є стимуляторами проліферації та диференцировки Т- і В-лімфоцитів. Крім того ІЛ-10 володіє здатністю пригнічувати апоптоз клітин. Показано, що поєднання дії цих чинників здатне приводити до полікланальної активації імунокомпетентних клітин і до посиленої їх проліферації.

Відмінною рисою часто хворіючих дітей з ЛАП від часто хворіючих дітей без ЛАП є вищий рівень спонтанної проліферації лімфоцитів в гострий період захворювання і інтерморбідний період (табл.1). Відомо, що підвищена проліферативна активність лімфоцитів може служити причиною збільшення лімфовузлів.

Таблиця 1

Проліферативна активність лімфоцитів часто хворіючих дітей і епізодично хворіючих дітей в гострому періоді захворювання (1) і інтерморбідному періоді (2) (M \pm m)

Показники		ЧХД + ЛАП (1 група)	ЧХД без ЛАП (2 група)	ЕХД (3 група)
Спонтанна БТЛ %	1	$22,8 \pm 2,0^{***}$	$11,6 \pm 1,5^*$	$9,3 \pm 0,7$
	2	$15,8 \pm 1,4^{***}$	$8,8 \pm 0,9$	$7,5 \pm 0,5$

* - $p < 0,05$ між показниками дітей 1, 2 груп і 3 групи.

** - $p < 0,05$ між показниками дітей 1 і 2 групи.

3. Для часто хворіючих дітей з ЛАП є характерним підвищений рівень в інтерморбідному періоді ІЛ-2 індукованої проліферації лімфоцитів в РБТ в порівнянні з нормою та ЧХД без ЛАП. У інтерморбідному періоді у часто хворіючих дітей з ЛАП рівень РБТЛ складає $41,2 \pm 4,0$ %, у часто хворіючих дітей без ЛАП $30,1 \pm 3,1$ % ($p < 0,05$), у епізодично хворіючих дітей $33,3 \pm 3,1$ %. Слід відмітити, що у часто хворіючих дітей з ЛАП спостерігається поєднання підвищеної спонтанної продукції ІЛ-2 і високої спонтанної проліферативної активності лімфоцитів.

4. Вивчення інтерференового статусу дітей засвідчило, що у часто хворіючих дітей з ЛАП рівень ІФН α' і ІФН γ у сироватці крові як в гострий період захворювання, так і інтерморбідний період

значно нижче чим у епізодично хворіючих дітей. У дослідженнях *in vitro* встановлено, що моноклеарні клітини часто хворіючих дітей володіють нижчим потенціалом в продукції інтерферону, чим моноклеарні клітини епізодично хворіючих дітей.

Інтерферони (ІФН α' ІФН γ , ІФН β) є важливими чинниками протівірусного імунітету, їх низький рівень сприяє розвитку вірусних інфекцій та виникненню ускладнень. Крім того інтерферони є чинниками, які стримують підвищену проліферативну активність клітин.

Отримані результати свідчать про те, що особливістю часто хворіючих дітей з ЛАП є низька імунореактивність поєднана з полікланальним

характером реагування лімфоцитів на інфекційні агенти.

Для ілюстрації наданого матеріалу наводяться наступні клінічні випадки (виписки з історії хвороби). 1. Хворий на ГРВІ без ЛАП. 2. Хворий на ГРВІ з ЛАП.

Приклад 1: хворий 9 років, діагноз при госпіталізації: Імунодефіцитний стан. Рецидивуюча вірусна інфекція. Дитина поступила зі скаргами на малопродуційний кашель, субфебрильну температуру тіла (37,3 °C). З анамнезу відомо: дитина на протязі року 8 разів хворіла гострими вірусними інфекціями.

Діагноз клінічний: Імунодефіцитний стан. ГРВІ. Гострий аденофарингіт.

Об'єктивно: загальний стан дитини середнього ступеню важкості, температура тіла – 37 °C, А/т – 90/50, пульс – 86 ударів на хвилину. Шкірні покриви чисті. Носове дихання утруднене. Слизова зеву гіперемована. У хворого пальпуються всі групи периферичних лімфатичних вузлів, від 1,0 до 1,5 см в діаметрі, безбольові, неспаяні з прилеглими тканинами, шкіра над ними не змінена. Перкуторно над легеньми – легеневиий звук.

Аускультативно – дихання жорстке. Тони серця ритмові. Живіт м'який, безбольовий. Печінка – +2 см. Селезінка не пальпується.

Клінічний аналіз крові (10.12.2009 р.): Ер. – $4,35 \times 10^{12}/л$ ($H-4,7 \pm 0,29 \times 10^{12}/л$), Hb – 128 г/л ($H-145,6 \pm 7,7$ г/л), КП-0,9, Лейк. – $10,9 \times 10^9/л$ ($H-6,3 \pm 0,52 \times 10^9/л$), Лф – 61 % ($H-36,2 \pm 3,36$ %), Нф п/я – 10 % ($H-2,5 \pm 0,11$ %), Нф с/я – 24 % ($H-57,3 \pm 1,78$ %), Еф – 1 % ($H-2,2 \pm 0,10$ %), Бф – 0 % ($H-0,51 \pm 0,02$ %), Мн – 4 % ($H-7,1 \pm 0,17$ %), ШОЕ – 3 мм/год.

У таблиці 2 наведені результати дослідження імунного статусу на день госпіталізації та після одужання.

Дитині було проведено традиційне лікування.

На сьомий день від початку лікування спостерігалось повне зникнення або помірне зменшення основних клінічних проявів захворювання: задишка, інтоксикація. У подальшому – запальні явища зникли. Збільшені лімфовузли зменшились до розмірів норми на 7 день зникнення клінічних проявів захворювання. Динаміка змін деяких показників імунітету наведена у таблиці 2.

Таблиця 2

Імунний статус (10.12.2009 р.) на день госпіталізації	Імунний статус (11.01.2010 р.) після одужання
Т – лф (CD_3^+) – 40% ($H-66-76\%$)	Т – лф (CD_3^+) – 58% ($H-66-76\%$)
Т – лф (CD_4^+) – 23% ($H-33-41\%$)	Т – лф (CD_4^+) – 33% ($H-33-41\%$)
Т – лф (CD_8^+) – 17% ($H-27-35\%$)	Т – лф (CD_8^+) – 24% ($H-27-35\%$)
В – лф (CD_{20}^+) – 20% ($H-11-22\%$)	В – лф (CD_{20}^+) – 18% ($H-11-22\%$)
IgA – 0,75 г/л ($H-1,37 \pm 0,15$ г/л)	IgA – 1,04 г/л ($H-1,37 \pm 0,15$ г/л)
IgM – 0,56 г/л ($H-0,94 \pm 0,08$ г/л)	IgM – 1,14 г/л ($H-0,94 \pm 0,08$ г/л)
IgG – 6,00 г/л ($H-10,19 \pm 20,53$ г/л)	IgG – 9,44 г/л ($H-10,19 \pm 0,53$ г/л)
Фагоцитоз с латексом-55 % ($H-45-65$ %)	Фагоцитоз с латексом-60 % ($H-45-65$ %)
ІФН α – 6,1 пг/мл ($H-8,0 \pm 1,0$)	ІФН α – 6,3 пг/мл ($H-8,0 \pm 1,0$)
ІФН γ – 7,3 пг/мл ($H-9,8 \pm 1,2$)	ІФН γ – 7,9 пг/мл ($H-9,8 \pm 1,2$)
РБТЛ спонт. – 13% ($H-7,5 \pm 0,5$)	РБТЛ спонт. – 8% ($H-7,5 \pm 0,5$)
РБТЛ з ІЛ – 2 – 48% ($H-33,3 \pm 3,1$)	РБТЛ з ІЛ – 2 – 32% ($H-33,3 \pm 3,1$)
ІЛ – 2 – 4,0 пг/мл ($H-1,8 \pm 0,23$)	ІЛ – 2 – 2,1 пг/мл ($H-1,8 \pm 0,23$)
ІЛ – 10 – 33,7 пг/мл ($H-8,1 \pm 0,9$)	ІЛ – 10 – 12,1 пг/мл ($H-8,1 \pm 0,9$)

Приклад 2: хворий 11 років, діагноз при госпіталізації: імунодефіцитний стан. Гостра респіраторна вірусна інфекція. Гострий фарингіт. Лімфаденопатія. Дитина поступила зі скаргами на підвищення температури тіла (38,3 °C), біль у горлі, збільшення периферичних лімфатичних вузлів.

З анамнезу відомо: дитина на протязі року 7 разів переносила гостре респіраторне захворювання. Лімфаденопатія зберігається більше 6 місяців.

Діагноз клінічний: імунодефіцитний стан. ГРВІ (гострий фарингіт). Лімфаденопатія.

Об'єктивно: загальний стан дитини важкого ступеню, температура тіла – 38,3 °C, А/т – 90/50, пульс – 86 ударів на хвилину. Шкірні покриви чис-

ті. Носове дихання утруднене. Слизова зеву гіперемована, мигдалики гіпертрофовані. Пальпуються всі групи периферичних лімфатичних вузлів, від 1,5 до 2 см в діаметрі, безбольові, неспаяні з прилеглими тканинами, шкіра над ними не змінена. Перкуторно над легеньми – легеневиий звук. Аускультативно – дихання жорстке. Тони серця ритмові. Живіт м'який, безбольовий. Печінка – +1,5 см. Селезінка не пальпується.

Клінічний аналіз крові (06.12.2009 р.): Ер. – $4,6 \times 10^{12}/л$ ($4,7 \pm 0,29 \times 10^{12}/л$), Hb – 136 г/л ($145,6 \pm 7,7$ г/л), КП-0,9, Лейк. – $28,8 \times 10^9/л$ ($6,4 \pm 0,57 \times 10^9/л$), Лф – 7 % ($30,9 \pm 1,16$ %), Нф п/я – 6 % ($2,5 \pm 0,11$ %), Нф с/я – 82 % ($57,3 \pm 1,78$ %), Еф – од ($2,2 \pm 0,10$ %), Бф – 0 % ($0,51 \pm 0,02$ %), Мн – 5 % ($7,1 \pm 0,17$ %) ШОЕ – 45 мм/год.

У таблиці 3 наведена динаміка змін деяких показників імунітету до лікування та після одужання.

Дитині було проведено стандартне лікування.

На восьмий день від початку лікування спостерігалось повне зникнення або помірне зменшення основних клінічних проявів захворювання: зниження температури, зменшення інтоксикації.

Периферичні лімфатичні вузли залишались без змін. У подальшому запальні явища зникли. Обстеження дитини на 40 день після захворювання виявило у нього лімфаденопатію. Динаміка змін деяких показників імунітету наведена у таблиці 3.

Таблиця 3

Імунний статус до лікування (06.12.2009 р.) на день госпіталізації	Імунний статус (15.01.2010) після видужання
Т – лф (CD ₃ ⁺) – 45% (Н – 66 – 76%)	Т – лф (CD ₃ ⁺) – 56% (Н – 66 – 76%)
Т – лф (CD ₄ ⁺) – 30% (Н – 33 – 41%)	Т – лф (CD ₄ ⁺) – 36% (Н – 33 – 41%)
Т – лф (CD ₈ ⁺) – 17% (Н – 27 – 35%)	Т – лф (CD ₈ ⁺) – 19% (Н – 27 – 35%)
В – лф (CD ₂₀ ⁺) – 24% (Н – 11 – 22%)	В – лф (CD ₂₀ ⁺) – 20% (Н – 11 – 22%)
IgA – 0,65 г / л (Н – 1,37 ± 0,15 г / л ,	IgA – 0,92 г / л (Н – 1,37 ± 0,15 г / л ,
IgM – 0,50 г / л (Н – 0,94 ± 0,08 г / л ,	IgM – 0,99 г / л (Н – 0,94 ± 0,08 г / л ,
IgG – 7,25 г / л (Н – 10,19 ± 20,53 г / л .	IgG – 9,44 г / л (Н – 10,19 ± 20,53 г / л .
Фагоцитоз з латексом-50 % (Н-45-65 %).	Фагоцитоз з латексом-75 % (Н-45-65 %).
ІФН _α – 6,2 пг / мл (Н – 8,0 ± 1,0)	ІФН _α – 6,1 пг / мл (Н – 8,0 ± 1,0)
ІФН _γ – 7,1 пг / мл (Н – 9,8 ± 1,2)	ІФН _γ – 7,8 пг / мл (Н – 9,8 ± 1,2)
РБТЛ спонт. – 24 % (Н – 7,5 ± 0,5)	РБТЛ спонт. – 19 % (Н – 7,5 ± 0,5)
РБТЛ з ІЛ – 2 – 49 % (Н – 33,3 ± 3,1)	РБТЛ з ІЛ – 2 – 48 % (Н – 33,3 ± 3,1)
ІЛ – 2 – 4,8 пг / мл (Н – 1,8 ± 0,23)	ІЛ – 2 – 3,7 пг / мл (Н – 1,8 ± 0,23)
ІЛ – 10 – 35,1 пг / мл (Н – 8,1 ± 0,9)	ІЛ – 10 – 14,3 пг / мл (Н – 8,1 ± 0,9)

Запропонований спосіб завдяки визначенню чітких критеріїв, дозволяє провести своєчасну діагностику та прогнозування несприятливого

перебігу реактивної лімфаденопатії у часто хворюючих дітей на ГРВІ та призначити адекватну стану хворого терапію.