



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **76279**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/53 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2012 08075**

(22) Дата подання заявки: **02.07.2012**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.12.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.12.2012, Бюл.№ 24**

(72) Винахідник(и):

**Лисунець Олена Михайлівна (UA),
Недзвецький Віктор Станіславович (UA),
Ханюкова Інна Ярославівна (UA),
Ткаченко Юлія Валеріївна (UA),
Танцура Олександр Віталіович (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "УКРАЇНСЬКИЙ
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
ІНСТИТУТ МЕДИКО-СОЦІАЛЬНИХ
ПРОБЛЕМ ІНВАЛІДІВ МОЗ УКРАЇНИ",
пров. Радянський, 1а, м. Дніпропетровськ,
49027 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ УРАЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У ХВОРИХ ПІСЛЯ ХІРУРГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ВРОДЖЕНИХ ВАД СЕРЦЯ

(57) Реферат:

Спосіб визначення ураження головного мозку у хворих після хірургічної корекції вроджених вад серця включає проведення імунохімічного дослідження крові та застосування ідентифікації аутоантитіл до нейроспецифічних білків та їх подальша оцінка. Оцінку виконують при перевищенні титру аутоантитіл до нейроспецифічних білків 1:400.

**U
UA 76279**

Корисна модель належить до медицини, зокрема до досліджень або аналізу матеріалів особливими способами, а саме периферичної крові, та може бути використана в кардіології, терапії та неврології.

Незважаючи на те, що серед пацієнтів з вродженими вадами серця (ВВС), які перенесли операцію на відкритому серці в умовах штучного кровообігу, частота ускладнень з боку центральної нервової системи складає 10-30 %, на теперішній час не існує достовірних маркерів, які за допомогою лабораторних методів дослідження периферичної крові дозволяють діагностувати причини та ступінь ураження головного мозку у віддаленому періоді після хірургічної корекції.

В спеціалізованих медичних закладах для визначення ураження головного мозку у хворих після хірургічної корекції ВВС застосовують нейропсихологічне тестування, електроенцефалографію (ЕЕГ), нейровізуалізацію (комп'ютерна томографія, магнітно-резонансна томографія, позитронно-емісійна томографія), огляд хворого лікарем-невропатологом, спосіб діагностики аутоімунного пошкодження головного мозку дитини, ехоенцефалографію, краніографію (рентгенівське дослідження черепа), діагностику захворювань на відкритому мозку після трепанції черепа або при проведенні пункції головного мозку. Перевагу віддають нейропсихологічному тестуванню, ЕЕГ, нейровізуалізації, огляду хворого лікарем-невропатологом, способу діагностики аутоімунного пошкодження головного мозку дитини.

Відомий метод визначення ураження головного мозку ґрунтується на проведенні ЕЕГ-дослідження. Такий метод дозволяє швидко виявити та оцінити ступінь нейродинамічних порушень центральної нервової системи за фактом наявності патологічних змін на ЕЕГ (порушень електроактивності головного мозку) [1].

Інший спосіб визначення ураження головного мозку ґрунтується на проведенні нейропсихологічного тестування, що передбачає проведення тестування з наступною інтерпретацією результатів згідно з особливостями і завданнями тесту [2].

Поширений спосіб визначення ураження головного мозку ґрунтується на проведенні нейровізуалізації: комп'ютерна томографія, магнітно-резонансна томографія головного мозку, позитронно-емісійна томографія [3].

Спосіб визначення ураження головного мозку шляхом огляду хворого лікарем-невропатологом ґрунтується на проведенні всебічного клінічного дослідження нервової системи [4].

Ще один спосіб визначення наявності ураження головного мозку ґрунтується на виявленні аутоімунного пошкодження головного мозку дитини, що дозволяє виявити наявність аутоімунного пошкодження головного мозку з виявленням конкретних структур головного мозку, до яких виробляються аутоантитіла шляхом дослідження крові дитини з проведенням реакції імунолейколізу з специфічними антигенами, що одержані з різних ділянок головного мозку плоду і при наявності лізису лейкоцитів діагностується ураження відповідної структури головного мозку, а за кількістю лізованих лейкоцитів судять про ступінь ураження, яка відображається у відсотках. Як найближчий за суттю цей метод вибрано за прототип [5].

Недоліки перших двох аналогів, ЕЕГ та нейропсихологічного тестування обумовлені недостатньою об'єктивністю відображення стану хворих, важкістю та неоднозначністю інтерпретації отриманих даних, що робить результат суб'єктивним, замало точним, який у клінічній практиці не піддається узагальненню.

Недоліки нейровізуалізації пов'язані з коштовними витратами, складністю проведення та потребують наявності спеціальної апаратури, при комп'ютерній томографії та позитронно-емісійній томографії хворий піддається дії рентгенівського випромінювання, а магнітно-резонансна томографія протипоказана при наявності у хворого електрокардіостимулятора, металевих протезів та стентів. Крім того, ці дослідження займають тривалий проміжок часу, впродовж якого хворий повинен лежати нерухомо, що не завжди можливо і створює додаткові ускладнення для проведення нейровізуалізації.

Недоліки клінічного дослідження хворого лікарем-невропатологом - недостатня об'єктивність відображення стану хворого.

Недоліки способу діагностики аутоімунного пошкодження головного мозку дитини пов'язані з неможливістю точної кількісної оцінки отриманих даних.

Інші об'єкти аналогічного призначення з досліджуваного рівня техніки не встановлені.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити такий спосіб діагностики ураження головного мозку у хворих після хірургічної корекції ВВС, який шляхом проведення малоінвазивного втручання з дослідженням периферичної крові забезпечує атравматичність

проведення, відсутність ризику ускладнень при визначенні наявності ураження головного мозку та подальшу кількісну оцінку.

Одним з напрямків дослідження патогенезу церебральних дегенерацій є аналіз вмісту в головному мозку, спинномозковій рідині або сироватці крові сполук, високоспецифічних для тканин головного мозку. До таких сполук належать нейроспецифічні білки - продукти біосинтетичної активності нейронів або гліальних клітин. У відсутність патологічних змін тканини головного мозку і гемато-енцефалічного бар'єру (ГЕБ) ці сполуки не ідентифікуються в крові або спинномозковій рідині. В умовах загибелі нейрональних або гліальних кліток і при підвищенні проникності ГЕБ нейроспецифічні білки можуть визначатися в спинномозковій рідині і сироватці крові. Динаміка зміни їх концентрації може відображати темп прогресування дегенеративного процесу. З іншого боку, зміни рівня нейроспецифічних білків можуть бути пов'язані з наростанням титру аутоантитіл до них і відповідно відображати ступінь аутоімунної агресії до церебральної тканини.

Гіпоксія, яка виникає на етапах перебігу та хірургічної корекції ВВС, може бути однією з важливих причин нейродегенеративних змін в нейронах і глії у цих хворих. Найбільшу проліферативну та метаболічну активність мають гліальні клітини, що отримали назву астроцитів. Астроцити виконують життєво важливі для нейронів функції - формують ГЕБ, поставляють поживні речовини нейронам, обмінюють їх метаболіти. Нейроспецифічні білки грають ключову роль в багатьох нервових процесах. Зокрема, процеси вищої нервової діяльності - пам'ять, навчання, складна мотиваційно-залежна поведінка в значній мірі опосередковані білками адгезії нервових клітин і цитоскелетними білками. Нервово-психічна патологія, нейродегенеративні розлади супроводжуються морфофункціональними порушеннями в нервовій тканині. У свою чергу порушення нервової системи опосередковано відображаються на функціонуванні клітин практично всіх органів і тканин.

Імунокомпетентні клітини можуть бути сенсibiliзовані нейроспецифічними антигенами в результаті дії різних за природою ушкоджувальних чинників або метаболічних порушень, що пов'язані із збільшенням проникності ГЕБ. Оскільки ГЕБ формується спеціалізованими астроцитами, то в першу чергу саме антигени, що характерні для цих гліальних клітин, можуть провокувати аутоімунну реакцію - виникнення аутоімунних клонів лімфоцитів і синтез аутоантитіл, які специфічно реагують з антигенами нервової тканини.

Вищезазначений технічний результат досягається застосуванням визначення наявності та титру аутоантитіл до нейроспецифічних білків в сироватці крові методом імуноблотингу, наявність ураження головного мозку встановлюють за наявності специфічних аутоімунних реакцій, якщо титр виявлюваних аутоантитіл до нейроспецифічних білків перевищує 1:400.

Загальними ознаками найближчого аналогу та розробленого методу є імунохімічне дослідження крові та застосування ідентифікації аутоантитіл до нейроспецифічних білків для визначення наявності аутоімунного пошкодження головного мозку та їх подальша оцінка.

Відмітні ознаки: за допомогою виявлених антитіл діагностуються ураження головного мозку на основі точної кількісної оцінки, а саме якщо титр виявлюваних аутоантитіл до нейроспецифічних білків перевищує 1:400.

Спосіб здійснюють наступним чином. Кров брали у пацієнтів з ВВС через 2-3 дні після надходження в стаціонар, центрифугували 5 хвилин при 3000 об/хв. У отриманих супернатантах методом імуноблотингу визначали наявність аутоантитіл, які реагували з поліпептидами розчинної, мембранних та цитоскелетних фракцій білків мозку людини [1]. Імуноблотінг проводили згідно з наступною схемою. Зразки білків мозку розділяли електрофоретично в пластині поліакриламідного гелю з градієнтом густини 7-20 % акриламід у присутності додецилсульфату натрію. Після закінчення електрофорезу гель покривали нітроцелюлозною мембраною, фіксували з обох боків фільтрувальним папером і переносили розділені зони білків на нітроцелюлозу в 0,025 М трис-гліциновому буфері рН 8,3 90 хвилин при струмі 100 мА. Після перенесення нітроцелюлозу відмивали забуференим фізрозчином, блокували 1,0 % розчином бичачого сироваткового альбуміну 60 хвилин при температурі 37 °С. Потім нітроцелюлозу інкубували 60 хвилин з розведеними (1: 200-1:800) у фізіологічному розчині сироватками пацієнтів з ВВС, відмивали тричі фізіологічним розчином і інкубували 60 хвилин з міченими пероксидазою антитілами проти імуноглобулінів людини. Потім нітроцелюлозу відмивали фізрозчином також як і після першої інкубації. Прояв поліпептидних зон, з якими реагували аутоантитіла, проводили в 50 мМ трис-буфері рН 7,4 що містить 0,01 % діамінобензидин і 0,05 % пероксид гідрогену. Отримані результати сканували та аналізували за допомогою комп'ютерної програми Alfamager 2000 [6]. Відносно високе розведення сироваток, а також використання детергента у всіх інкубаційних розчинах дозволяло виключити неспецифічне зв'язування імуноглобулінів з антигенами.

Апробація способу визначення ураження головного мозку у хворих після хірургічної корекції ВВС здійснювалась на 98 особах (72 - пацієнти з ВВС, 26 - контрольна група). Наявність специфічних до антигенів нервової тканини аутоантитіл було виявлено у 69 з 72 пацієнтів з групи ВВС (95,8 %) і у 2 з 26 контрольних зразків (7,7 %), з титром вище 1:400 було виявлено у 47 зразках з групи ВВС та не знайдено у групі контролю.

Визначена залежність результатів аналізу психодіагностичного дослідження пацієнтів з ВВС від рівня титру аутоантитіл до нейроспецифічних білків. Це ґрунтується на статистично достовірному зниженні позитивних результатів у вирішенні задач на виявлення складних аналогій в групі пацієнтів з ВВС з титром аутоантитіл до нейроспецифічних білків вище 1:400 (56,7 % обстежених не можуть вирішити дані задачі). З підвищенням титру аутоантитіл до нейроспецифічних білків (1:400) спостерігається зниження якості життя для даних пацієнтів (від $14,8 \pm 0,26$ до $12,0 \pm 0,58$ бали). Найістотніше зниження якості життя визначено за зниженням показників рівня незалежності ($9,8 \pm 0,58$ балів) і психологічної сфери ($10,1 \pm 0,10$ балів). Виявлена пряма залежність між показниками титру аутоантитіл (1:400 і вище) до нейроспецифічних білків і рівнем якості життя в цілому й рівнем незалежності зокрема. Виявлена також пряма залежність між іпохондричними та істеричними включеннями в структуру особистісної організації і зниженням якості життя на фоні підвищення титру аутоантитіл до нейроспецифічних білків.

Дані апробації властивостей запропонованого способу інформують про те, що його використання виключає вплив на кінцевий результат неоднозначності інтерпретації отриманих даних, суб'єктивності шуканого результату, замалої точності, важкості узагальнення вимірних параметрів, а збільшує об'єктивність й точність визначення наявності ураження головного мозку у 2-3 рази і разом із цим розширює межі його клінічного використання.

Приклад 1. Хвора С. після хірургічної корекції ВВС, 1965 р.н. перебувала в УкрДержНДІ МСПІ з приводу обстеження та лікування (і/х №2717 від 17.05.2010р.), за результатами досліджень у хворі констатували органічний астенічний розлад, виражений астено-депресивний синдром. У крові хворі зареєстровані аутоантитіла до нейроспецифічних білків у титрі більш ніж 1:400, що свідчить про наявність ураження головного мозку.

Приклад 2. Хворий Х. після хірургічної корекції ВВС, 1989 р.н. перебував в УкрДержНДІ МСПІ з приводу обстеження та лікування (і/х №2365 від 26.04.2010р.), за результатами досліджень у хворого констатували органічний розлад особи. У крові хворого зареєстровані аутоантитіла до нейроспецифічних білків у титрі більш ніж 1:400, що свідчить про наявність ураження головного мозку.

Приклад 3. Хвора С. після хірургічної корекції ВВС, 1970 р.н. перебувала в УкрДержНДІ МСПІ з приводу обстеження та лікування (і/х №2384 від 18.04.2011р.), за результатами досліджень у хворі констатували органічний астенічний розлад, астено-іпохондричний синдром. У крові хворі зареєстровані аутоантитіла до нейроспецифічних білків у титрі більш ніж 1:400, що свідчить про наявність ураження головного мозку.

Перспектива застосування способу визначення наявності ураження головного мозку у хворих після хірургічної корекції ВВС збільшує об'єктивність й точність визначення наявності ураження головного мозку у 2-3 рази, а разом із цим розширює межі його клінічного використання.

Джерела інформації:

1. Зенков Л. Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии). Руководство для врачей/ Л.Р. Зенков. - М.: МЕДпресс-информ, 2004. - 368 с.

2. Лурия А. Р. Основы нейропсихологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений/ А. Р. Лурия. - М.: Издательский центр "Академия", 2004 - 384 с.

3. Штульман Д. Р. Неврология: Справочник практического врача/ Д.Р. Штульман, О.С. Левин. - М.: МЕДпресс-информ, 2008. - 1024 с.

4. Триумфов А. В. Топическая диагностика заболеваний нервной системы/ А. В. Триумфов. - М.: МЕДпресс-информ, 2007. - 264 с.

5. Пат. на корисну модель 30441 Україна, МПК (1998) А61В 10/00. Спосіб діагностики аутоімунного пошкодження головного мозку дитини/ Юліш Є.І., Колеснікова Г.Г., Кривущев Б.І., Чернишова О.Є. - заявл. 11.05.1998; опубл. 15.11.2000, Бюл. № 6.

6. Характеристика специфических белков промежуточных филаментов в опухолях головного мозга человека/ В. С. Недзвецкий, В. А. Березин, Т.И. Оберняк, Е.Н. Жмарева // Биохимия. - 1986. - Т. 51. - № 11. - С. 1843-1850.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб визначення ураження головного мозку у хворих після хірургічної корекції вроджених вад серця, що включає проведення імунохімічного дослідження крові та застосування ідентифікації аутоантитіл до нейроспецифічних білків та їх подальша оцінка, який **відрізняється** тим, що оцінку виконують при перевищенні титру аутоантитіл до нейроспецифічних білків 1:400.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601