



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 121021

(13) U

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 05527	(72) Винахідник(и): Попов Микола Миколайович (UA), Лядова Тетяна Іванівна (UA), Сорокіна Ольга Георгіївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 06.06.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.11.2017	(73) Власник(и): Попов Микола Миколайович, просп. Л. Свободи, 36-а, кв. 63, м. Харків, 61202 (UA), Лядова Тетяна Іванівна, вул. Клочківська, 191-а, кв. 105, м. Харків, 61145 (UA), Сорокіна Ольга Георгіївна, просп. Жуковського, 5, кв. 144, м. Харків, 61085 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.11.2017, Бюл.№ 22	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МОЖЛИВОГО ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОЇ ЕПШТЕЙНА-БАРР ІНФЕКЦІЇ

(57) Реферат:

Спосіб визначення можливого перебігу хронічної Епштейна-Барр інфекції здійснюють шляхом оцінки клінічних проявів захворювання. В сироватці крові визначають значення прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ФНО- α , ІЛ-6, регуляторного ІЛ-2 та протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, і при низьких показниках прозапальних цитокінів і регуляторного ІЛ-2 на фоні помірно підвищених значеннях протизапальних цитокінів, визначають дисоціативний тип імунного реагування та затяжний перебіг захворювання, при низьких значеннях всіх показників діагностують гіпореактивний тип і визначають можливий затяжний перебіг захворювання.

UA 121021 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до інфекційних хвороб, і може бути використана для діагностики можливих наслідків хронічної інфекції Епштейна-Барр.

Хвороби, спричинені вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ), характеризуються системним ураженням внутрішніх органів, широким діапазоном клінічних проявів хвороби, що призводить до діагностичних помилок на догоспітальному етапі (від 30 до 60 %). ВЕБ здатний залишатися необмежено довго в організмі людини в латентному стані, зумовлювати хронічні маніфести і стерті форми хвороби, реактивуватися під впливом несприятливих екзо- та ендогенних факторів.

Хронічний перебіг ЕБ-інфекції є наслідком гострої ВЕБ-інфекції або розвивається як первинно-хронічна хвороба, клініка якої включає хронічний моноклеозоподібний синдром і поліорганну патологію.

Діагностика хронічної ВЕБ-інфекції в багатьох лікувальних закладах відбувається тільки на підставі клінічних симптомів (гіпертермічний синдром, тонзиліт, поліаденіт, гепатолієнальний синдром), гематологічних змін (у вигляді збільшення числа атипових моноклеарів), визначення неспецифічних гетерофільних антитіл в реакції Пауль-Бунеля або виявлення одного із антигенів вірусу ЕБ методом імуноферментного аналізу (ІФА) [Малый В.П. Герпесвирусные инфекции (клиника, диагностика и терапия): учебное пособие /В.П. Малый. - Х.: Прапор, 2008. - 207 с.].

Недоліком цього способу є недостатня діагностика хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції, оскільки її клінічні форми проявляються ураженням різних органів і систем, що потребує додаткових методів досліджень.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу визначення можливого перебігу хронічної Епштейна-Барр інфекції, в якому за рахунок зміни досліджуваних показників, досягається визначення типу імунного реагування, яке відповідає певному виду перебігу.

Поставлена задача вирішується в способі визначення можливого перебігу хронічної Епштейна-Барр інфекції, який здійснюють шляхом оцінки клінічних проявів захворювання, згідно з корисною моделлю, в сироватці крові визначають значення прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ФНО- α , ІЛ-6, регуляторного ІЛ-2 та протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, і при низьких показниках прозапальних цитокінів і регуляторного ІЛ-2 на фоні помірно підвищених значеннях протизапальних цитокінів, визначають дисоціативний тип імунного реагування та затяжний перебіг захворювання, при низьких значеннях всіх показників діагностують гіпореактивний тип і визначають можливий затяжний перебіг захворювання.

Встановлені типи імунного реагування свідчать про неадекватну клітинно-гуморальну реактивність організму в умовах тривалої персистенції ВЕБ, що проявляється схильністю до придушення клітинно-опосередкованих та посиленням гуморальних механізмів імунної відповіді і відображається в клініко-біохімічних проявах хвороби, а також призводить до затяжного хвилеподібного перебігу.

Саме функціональний дисбаланс ланок імунітету у бік переваги продукції Тх2 типу, біологічні ефекти яких спрямовані на обмеження інтенсивності і поширеності запального процесу в різних органах, сприяють продовженню вірусної персистенції.

Спосіб, що заявляється, здійснюють таким чином.

В групу дослідження були включені пацієнти з різними імунопатологічними і імунodefіцитними захворюваннями: серозний менінгіт (n=8), хронічний тонзиліт (n=32), неспецифічна лімфаденопатія (n=48), тривалий субфебрилітет (n=54), реактивний артрит (n=16), синдром хронічної втоми (n=25). З даної категорії пацієнтів з ХВЗБ інфекцією була виділена група хворих (n=80) у яких був вивчений рівень продукції прозапальних (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α), протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) та регуляторний (ІЛ-2).

Під час огляду хворого ретельно визначають всі клінічні ознаки захворювання.

Група порівняння складалася з 20 клінічно здорових молодих людей без ознак гострої або будь хронічної патології, з яких 16 були обстежені на маркери ВЕБ середній вік 24,1 \pm 3,2 років.

Для дослідження сироваткового рівня ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-2, ІЛ-4 використовують тест-системи ООО "Протеиновый контур" (Санкт-Петербург, Росія), користуючись інструкцією виробника. В даних тест-системах використовують твердофазний імуноферментний метод із застосуванням пероксидази хрому як індикаторного ферменту.

Цитокіновий спектр при ВЕБ-інфекції залежить від збалансованості ланок імунної відповіді організму, а порушення балансу продукції цитокінів Th1/Th2 клітинами відіграє важливу роль в імунопатогенезі. Більшість дослідників сходяться на думці, що переважна участь цитокінів, що продукуються Th-2-лімфоцитами, асоціюється з вірусною персистенцією і хронізацією процесу.

Технічне виконання аналізів проводили в клініко-діагностичній лабораторії обласної клінічної інфекційної лікарні м. Харкова, медичної лабораторії "Синево".

Статистична обробка результатів дослідження проводили з використанням програми Statistika 6.0 for Windows (Stat Soft Inc, США) на персональному комп'ютері з процесором Pentium II Celeron 850 PPGA.

Матеріалом для дослідження служить сироватка крові хворих, яка була отримана в період загострення хвороби. В дослідження включені 80 пацієнтів ХВЕБ.

На підставі аналізу динаміки різноспрямованого синтезу прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ФНП- α , ІЛ-6), регуляторного ІЛ-2 та протизапальних цитокінів (ІЛ-4 і ІЛ-10) встановлені 2 типи імунного реагування для прогнозування клінічного перебігу захворювання у хворих з хронічними формами ВЕБ-інфекції, а саме дисоціативний та гіпореактивний.

Так, у хворих з дисоціативним типом імунного реагування спостерігалася низька продукція прозапальних цитокінів та регуляторного ІЛ-2, тоді як рівні протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10 достовірно підвищувалися відповідно з активністю процесу. Рівень ІЛ-4 перевищував у 5,7 рази показники контрольної групи, а ІЛ-10 у 6 разів перевищував середні значення групи контролю ($p < 0,05$).

Тоді як серед пацієнтів з ХВЕБ з виявленим гіпореактивним типом імунного реагування синтез прозапальних та протизапальних цитокінів характеризувався низькими концентраціями (рівні ІЛ-1 β коливалися від 25,32 до 72,19 пг/мл; ФНП- α - від 32,5 до 67,2 пг/мл; ІЛ-6 - від 16,1 до 27,3 пг/мл; ІЛ-2 - від 35,12 до 81,1 пг/мл; ІЛ-4 - від 25,3 до 96,45 пг/мл ІЛ-10 - від 36,34 до 99,1 пг/мл), показники перебували практично в межах значень контрольної групи і не відзначалися статистичною достовірністю ($p > 0,05$).

Аналізуючи вплив встановлених типів імунного реагування на клінічний перебіг ХВЕБ, при вивченні показників середньої тривалості основних клінічних симптомів у хворих з різними типами імунного реагування отримані результати, які наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Тривалість основних клінічних симптомів
в залежності від типу імунного реагування у хворих ХВЕБ (n=80)

Клінічні симптоми	Тривалість симптомів при різних типах імунного реагування (M \pm m) днів	
	Гіпореактивний тип (1-а група) n=33	Дисоціативний тип (2-а група) n=47
Загальна слабкість	5,6 \pm 1,2	10,1 \pm 1,3*
Артралгія, міалгія	4,6 \pm 0,9	8,9 \pm 1,0*
Периферична лімфаденопатія	4,8 \pm 1,1	9,7 \pm 1,2*
Субфібрилітет	5,9 \pm 1,8	10,4 \pm 1,4*
Гепатолієнальний синдром	18,8 \pm 2,2	26,5 \pm 2,0*

* - $p < 0,05$ між показниками 1-ої і 2-ої груп.

Як видно з представлених даних у хворих з ХВЕБ з встановленим гіпореактивним типом імунного реагування (1-а група) показники основних клінічних симптомів відрізнялися меншою тривалістю порівняно з аналогічними показниками у хворих з дисоціативним типом (2-а група) на тлі проведеної противірусної терапії.

Клінічний приклад 1. Дисоціативний тип імунного реагування ХВЕБ (незначне збільшення прозапальних ІЛ-1, ФНП, ІЛ-6 і регуляторного ІЛ-2 і значне збільшення протизапальних ІЛ-4 і ІЛ-10)

Хвора С., 39 років, перебувала на стаціонарному лікуванні в Обласній клінічній інфекційній лікарні м. Харкова з 21.03.13 по 1.04.13 з діагнозом: вірусний енцефаліт ВЕБ-етіології.

При надходженні пред'являла скарги на помірну загальну слабкість, запаморочення, пульсуючі головні болі в потиличній області, періодична нудота.

З анамнезу захворювання відомо, що 14.02.13 вночі під час сну розвинувся епілептичний напад з короткочасною втратою свідомості, судомими скороченнями м'язів кінцівок, прикушення язика. СМП доставлена в ЦРЛ м. Кременчука. Напередодні захворювання за 2 дні відзначалося підвищення температури тіла до 37,6° С і перевтома. За 2 тижні мали місце біль в горлі, збільшення лімфатичних вузлів, виражена астения.

Епідемічний анамнез: контакт з інфекційними хворими заперечує.

З приводу вищеописаних скарг перебувала на стаціонарному лікуванні в Кременчуцької ЦРЛ та нейрохірургічному відділенні 5 ЦКБ м. Харкова, де був запідозрений діагноз підгострого

вірусного (можливо ВЕБ-етіології) енцефаліту з лікворо-венозною дістензією, генералізованими нічними епілептичними нападами зі схильністю до серійності. Даний діагноз вимагає диференціальної діагностики з пухлинним процесом лівої потиличної частини.

Об'єктивно при надходженні стан відносно задовільний, шкірні покриви бліді, висипу немає.

5 Слизова ротової порожнини рожева, нальотів немає. Відзначається пальпаторне збільшення підщелепних, шийних і пахових лімфатичних вузлів. У легких при аускультатії везикулярне дихання, хрипів немає. Тони серця приглушені, ритмічні, пульс 78 уд/хв, задовільних якостей і наповнення, АТ 140/80 мм рт. ст. При пальпації живіт м'який, безболісний, печінка біля краю реберної дуги, селезінка не пальпується.

10 У неврологічному статусі: у свідомості, орієнтована в часі і просторі, менингеальні знаки негативні, рефлексії рук низькі, м'язова сила рук задовільна в обох кінцівках d=s, рухи очних яблук симетричні, в повному обсязі, зіниці d=s, координація не порушена. Перкусія черепної коробки безболісна.

15 Клінічний аналіз сечі (від 22.03): кількість - 140 мл, каламутність - помірна, колір - світло жовтий, реакція - слабо кисла, питома вага - 1012, білок - сліди, цукор - немає, епітелій міхура - місцями, лейкоцити - 2-3 в п/зр., еритроцити - вилужені зрідка, циліндри (гіалінові, зернисті) - 2-3 в п/зр., епітелій нирок - подекуди, солі - переважно оксалати зрідка, слиз - помірна кількість.

Клінічний аналіз крові (22.03): гемоглобін - 124 г / л, Цв. показник - 0,9, ШЗЕ - 5 мм/год., лейкоцити - $4,2 \times 10^9$ / л, ЕОЗ. - 4 %, пал. - 1 %, сегм. - 47 %, лімф. - 42 %, мон. - 6 %.

20 РМП від 22.03 - негативна.

Біохімічний аналіз крові (від 29.03): сулемова ін. - 1,94, тимол. - 3,5, АлАТ - 0,16 ммоль/л х год., білірубін загальний - 18 ммоль/л, прямий - 4 ммоль / л, непрямий - 14 ммоль/л.

ІФА (23.03.13): на герпес 1, 2 Ig M - негативних.

ІФА (23.03.13): на ЦМВ Ig M - негативний.

25 ІФА (23.03.13): анти-ВЕБ NA Ig M, Ig G позитивний.; анти-ВЕБ VCA Ig M, G позитивний.

ПЛР (23.03.13): ДНК ВЕБ, ДНК HHV-6 тип (кров, слина) - виявлена.

Таблиця 2

Рівні цитокінів:

Досліджувані показники	Показники хворого П.	Середньостатистичні значення ($M \pm m$) у контрольній групі (n=20)
ІЛ-1 β , пкг/мл	55,4 пкг/мл	29,49 \pm 3,1
ФНП- α , пкг/мл	52,3 пкг/мл	28,83 \pm 2,7
ІЛ-6, пкг/мл	19,7 пкг/мл	11,85 \pm 1,1
ІЛ-2, пкг/мл	48,7 пкг/мл	25,26 \pm 1,3
ІЛ-4, пкг/мл	122,4 пкг/мл	20,73 \pm 1,5
ІЛ-10, пкг/мл	132,2 пкг/мл	18,36 \pm 1,2

Консультації:

30 Окуліст (25.03.13): обидва ока спокійні, рухи не обмежені, безболісні. Зрачкові реакції на світло, конвергенція в нормі. Оптичні середовища прозорі. Очне дно невелике розширення вен сітківки. Вогнищевих змін немає. Поля зору в нормі. Очні щілини в нормі.

Невропатолог (29.03.13): об'єктивно свідомість не порушено, патологічних змін не виявлено, сухожильні рефлексії d=s. З урахуванням клініки, анамнезу захворювання, даних досліджень хвора можливо переносить арахне-енцефаліт.

35 ЕКГ (від 28.03.13): синусова аритмія. Блокада передньої гілки лівої ніжки пучка Гіса. Дифузні зміни міокарда лівого шлуночка.

Проведена терапія: зовиракс 500 мг в / в на фіз. розчині. 3 рази на добу. Протягом 6 днів, Вальтрекс 1000 мг 2 рази на добу протягом 5 днів, Нейрорубіну по 1т 1 раз на день, кавінтон в/венно на фіз. розчині, луцетам 800 мг 3 рази на добу, рибавірин 200 мг 3 рази на добу, діакارب 1 табл. вранці через день, фінлепсин 1 табл. 3 рази на добу, MgSO₄ 25 % 5 мл в/венно, баралгін 5,0 мл в/м при головному болю.

40 За час перебування в стаціонарі відзначена незначна позитивна динаміка. До моменту виписки стан хворої відносно задовільний, зберігаються скарги на періодичні головні болі розлитого характеру в локалізацію в тім'яній і лобовій областях, а також періодичне підвищення артеріального тиску.

45 Виписується під спостереження невропатолога за місцем проживання з рекомендаціями: спостереження в динаміці (повтор МРТ головного мозку через 20 днів), дотримання режимних

заходів, прийом Луцетаму® 1 табл. 3 рази на добу, Нейрорубіну 1 табл. 1 раз на добу. Обмеження фізичних і психічних навантажень.

Клінічний приклад 2. Гіпореактивний тип імунного реагування ХВЕБ (незначне підвищення досліджуваних показників, затяжний перебіг).

5 Хворий Д. 47 років, звернувся амбулаторно на консультацію до інфекціоніста в Обласну клінічну інфекційну лікарню м. Харкова (ОКІБ) за направленням дільничного терапевта 18.01.16 зі скаргами на тривалий субфібрилітет з постійним підвищенням температури до 37,5-37,8° С ближче до вечора, наявність больового синдрому в великих суглобах, зниження працездатності, виражену сухість у роті, відчуття печіння на бічних поверхнях язика.

10 З анамнезу захворювання відомо, що перераховані вище скарги зберігаються протягом останнього року. Приймав симптоматично нестероїдні протизапальні препарати, метаболічні засоби, вітаміни, однак вираженого терапевтичного ефекту не відзначалося.

Епідеміологічний анамнез: контакт з інфекційними хворими заперечує.

15 В анамнезі життя: періодичні ГРВІ, туберкульоз, венеричні захворювання, вірусні гепатити - заперечує. Алергологічний анамнез не обтяжений.

20 Об'єктивно при огляді загальний стан задовільний, свідомість ясна, орієнтований в часі, просторі, особистості. Шкірні покриви звичайного пофарбування, елементів висипу немає. Слизова ротоглотки помірно гіперемована, вільна від нальотів. Пальпуються збільшені підщелепні, шийні лімфатичні вузли, діаметром до від 0,7-1 см, безболісні при пальпації. При аускультатії легень вислуховується везикулярне дихання, хрипів немає, тони серця приглушені, ритмічні. Пульс 72 уд/хв, АТ 121/80 мм рт. ст. Язик вологий, обкладений білуватим нальотом біля кореня. При пальпації живіт м'який, безболісний. Печінка і селезінка не збільшені пальпаторно. Симптом Пастернацького негативний з обох сторін. Фізіологічні відправлення в межах норми.

25 Додаткові дослідження:

Аналіз крові клінічний від 19.01.16: еритроцити 3,95·10¹²/л, Нв - 158, ЦП-0,9; тромб. - 198 109/л, лейкоцити - 3,41·10⁹/л, еоз.- 2,5 %, пал. - 1 %, сегм. - 44,5 %, лімф. - 41,8 %, мон. - 10,2 %, ШЗЕ - 8 мм/год.

ІФА від 03.02.14.: анти-ВЕБ NA Ig M, Ig G позит.; анти-ВЕБ VCA Ig M, G позит.

30 ПЛР від 03.02.14.: ДНК ВЕБ (кров, слина) - виявлена.

Таблиця 3

Рівні цитокінів:

Досліджувані показники	Показники хворого Ф.	Середньостатистичні значення (M±m) у контрольній групі (n=20)
ІЛ-1β, пкг/мл	60,1 пкг/мл	29,49±3,1
ФНО-α, пкг/мл	38,4 пкг/мл	28,83±2,7
ІЛ-6, пкг/мл	19,1 пкг/мл	11,85±1,1
ІЛ-2, пкг/мл	45,5 пкг/мл	25,26±1,3
ІЛ-4, пкг/мл	47,2 пкг/мл	20,73±1,5
ІЛ-10, пкг/мл	29,9 пкг/мл	18,36±1,2

Лікування: валацикловір 1000 мг 3 рази/доб., 14 днів; потім валацикловір 500 мг 3 рази/добу, 10 днів; валацикловір 500 мг 1 раз/доб. - 20 днів; лоратадин 1 табл. 1 раз/доб.; полоскання горла розчином "Тантум Верде", поліоксидоній 2 мл в / м через день № 10.

35 Після проведеного комплексного лікування у пацієнта відзначалося значне клінічне поліпшення з нормалізацією даних в клінічному аналізі крові, негативних результатів ПЛР на наявність ДНК ВЕБ.

рекомендовано:

40 повторне дослідження клінічного аналізу крові через 3, 6, 12 міс., ІФА, ПЛР.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє шляхом визначення імунної відповіді, визначити затяжний хвилеподібний перебіг хронічної вірусної Епштейна-Барр інфекції.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

45

Спосіб визначення можливого перебігу хронічної Епштейна-Барр інфекції, який здійснюють шляхом оцінки клінічних проявів захворювання, який **відрізняється** тим, що в сироватці крові визначають значення прозапальних цитокінів ІЛ-1β, ФНО-α, ІЛ-6, регуляторного ІЛ-2 та

- протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10, і при низьких показниках прозапальних цитокінів і регуляторного ІЛ-2 на фоні помірно підвищених значеннях противозапальних цитокінів, визначають дисоціативний тип імунного реагування та затяжний перебіг захворювання, при низьких значеннях всіх показників діагностують гіпореактивний тип і визначають можливий
- 5 затяжний перебіг захворювання.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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