



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **71009** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61B 1/00
A61B 5/08 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 00810	(72) Винахідник(и): Герасимчук Марта Романівна (UA), Заяць Любомир Мирославович (UA)
(22) Дата подання заявки: 26.01.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.06.2012	(73) Власник(и): Герасимчук Марта Романівна, вул. Галицька, 167, кв. 110, м. Івано- Франківськ, 76008 (UA), Заяць Любомир Мирославович, вул. Зоря, 26, м. Івано-Франківськ, 76006 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.06.2012, Бюл.№ 12	

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ГОСТРОГО ЛЕГЕНЕВОГО УШКОДЖЕННЯ ПРИ РОЗЛИТОМУ ПЕРИТОНІТІ У ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики гострого легеневого ушкодження при розлитому перитоніті у щурів, який проводиться шляхом визначення коефіцієнта легеневої регуляції за лейкоцитами на основі різниці білих кров'яних тілець у венозній і артеріальній крові: $KPL = (B-A)/B \times 100 \%$, де KPL - легеневий коефіцієнт регуляції за лейкоцитами (%), B - кількість лейкоцитів у венозній крові, A - кількість лейкоцитів в артеріальній крові, причому KJIP складає в інтактних (здорових) тварин $0,73 \pm 0,26 \%$, характеризується позитивною динамікою та ефективністю протягом всього терміну дослідження.

UA 71009 U

Заявляється корисна модель, яка належить до медицини, а саме до діагностики гострого ушкодження легень при критичних станах організму, зокрема розлитому перитоніті, оцінки рівня ендогенної інтоксикації (EI) та ступеня легеневого ушкодження.

Стандартами діагностики гострого легеневого ушкодження є рентгенологічне дослідження та визначення показників газового складу крові [11, 13].

Стандартами діагностики синдрому ендогенної інтоксикації, яка розвивається, яка супроводжує практично всі запальні захворювання черевної порожнини, зокрема розлитий перитоніт є загальноприйняті цитологічні й біохімічні методи: лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), визначення середньомолекулярних пептидів (МСМ), ТБК-активних продуктів, окисної модифікації білків (ОМБ) та ряду інших [1, 7, 8].

Діагностична цінність зміни кількості лейкоцитів відома давно і використовується в повсякденній лікарській практиці. Проте, в літературі відсутня інформація, щодо діагностичної цінності лейкоцитарної різниці в артеріальній та венозній крові при критичних станах організму, зокрема - гострому розлитому перитоніті (ГРП). Також немає інформації про застосування розрахункового методу з визначенням коефіцієнта легеневої регуляції за лейкоцитами (КРЛ) на основі різниці білих кров'яних тілець у венозній і артеріальній крові та використання визначення цього біомаркера для оцінки ефективності та прогнозу несприятливого перебігу й наслідку лікування.

Найближчим за суттю (прототипом) до корисної моделі, яка заявляється, є робота "Взаємозв'язок клінічних показників та порушень фібринолітичної функції легень у дітей, хворих гострими захворюваннями органів дихання // Мат. II з'їзду педіатрів України "Актуальні проблеми педіатрії на сучасному етапі", 7-10 грудня 2004, м. Київ. - С. 111.; Пат. 59074 А Україна, МКИ А61В10/00. Спосіб прогнозування розвитку ускладнень гострої пневмонії у дітей / Фьоклін В. О., Шарікадзе О. В. - № 2003010040; Заявл. 02.01.2003, Опубл. 15.08.2003. - Бюл. № 8. - 1с; "Параметри ендогенної інтоксикації при перитоніті" /О. Б. Матвійчук, І. І. Матішинець, А. П. Мелень. [та ін.] // Український Журнал Хірургії.-2010. - № 2. - С. 143-145.; Кондратенко П. Г. Хирургическая инфекция. Практическое руководство / Кондратенко П. Г., Соболев В. В. - Донецк, 2007. - 512 с. [4, 5, 9, 10].

В роботі Шарікадзе О. В. висвітлене прогнозування розвитку ускладнень гострої пневмонії у дітей за рахунок оцінки стану гемостатичної та фібринолітичної функції легень здійснювалася за легенеvim коефіцієнтом регуляції відповідних біохімічних показників у венозній та артеріальній крові, і був розрахований за формулою: $KP = (B-A)/B \times 100 \%$, де КР - легенеvim коефіцієнт регуляції (%), В - кількість (активність) досліджуваної речовини у венозній крові, А - кількість (активність) досліджуваної речовини в артеріальній крові). В наступних роботах висвітлено визначення ступеня інтоксикаційного синдрому за допомогою лейкоцитарного індексу інтоксикації (за Кальф-Каліфом, 1941 р.) згідно з формулою: $ЛІІ = \frac{Mi+Ю+Пл+П+С}{Е+Б+Л+М}$, де: ЛІІ - лейкоцитарний індекс інтоксикації, ум. од., Мi - мієлоцити, Ю - юні, Пл - плазматичні клітини, П - паличкоядерні, С - сегментоядерні, Е - еозинофіли, Б - базофіли, Л - лімфоцити, М - моноцити. Тобто, в джерелах не йдеться про значення КР та ЛІІ для діагностики розвитку легеневого ушкодження та рівня інтоксикаційного синдрому, а також для прогнозування несприятливого перебігу й результатів лікування, що є суттєвими недоліками відносно способу, що заявляється.

Спосіб, що заявляється, застосовується з метою поліпшення діагностики синдрому гострого ушкодження легень при різних критичних станах, зокрема перитоніті, та з метою оцінки ефективності й прогнозування несприятливого перебігу й результатів лікування.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлено задачу проведення ранньої діагностики розвитку легеневого ушкодження, який є простим у виконанні та малозатратним з економічної точки зору.

Суть корисної моделі полягає у розрахунковому методі оцінки легеневої регуляції за лейкоцитами, визначення кількості останніх, що включились в запальний процес у легенеvій тканині, потенціюючи її ушкодження на фоні прогресування розвитку інтоксикаційного синдрому при ГРП.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі діагностики гострого легеневого ушкодження при розлитому перитоніті проводиться шляхом забору артеріальної та венозної крові у експериментальній тварини з лівого й правого шлуночків серця відповідно, або з хвостової вени і черевної аорти та підрахунку кількості лейкоцитів за стандартною методикою Н. М. Ніколаєва в лічильній камері Гояєва.

Розрахунок лейкоцитів проводять, враховуючи розведення крові, число підрахованих квадратів і об'єм одного великого квадрата ($1/250$ мкл, так як сторона квадрата $1/5$ мм, висота $1/10$ мм) (Меньшиков і співавт., 1987).

$x = a \times 250 \times 20$, т. як $x = a \times 50$, де

x - число лейкоцитів в 1 мкл; a - число лейкоцитів в 100 великих квадратах.

Надалі визначають, запропонований нами, коефіцієнт легеневої регуляції за лейкоцитами, згідно з корисною моделлю, використовують формулу:

5 $KPL = (B - A) / B \times 100 \%$, де

KPL - легеневий коефіцієнт регуляції за лейкоцитами (%), B - кількість лейкоцитів у венозній крові, A - кількість лейкоцитів в артеріальній крові).

10 Між сукупністю істотних ознак запропонованого способу та очікуваним технічним результатом виявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: використання розрахункового способу діагностики ушкодження легень при перитоніті має значну прогностичну цінність і може сприяти вчасній терапевтичній і профілактичній активності, що в свою чергу покращить лікування пацієнтів з невідкладними станами, підвищуючи рівень виживання, і відповідно зменшить їхню летальність, яка на даний час є досить високою [2, 3, 6].

Відомості, що підтверджують можливість використання запропонованого способу.

15 Наявність суттєвих ознак у корисній моделі, що заявляється, полягає у визначенні коефіцієнта легеневої регуляції за лейкоцитами на основі різниці білих кров'яних тілець у венозній і артеріальній крові: $KPL = (B - A) / B \times 100 \%$, де KPL - легеневий коефіцієнт регуляції за лейкоцитами (%), B - кількість лейкоцитів у венозній крові, A - кількість лейкоцитів в артеріальній крові, причому KLP складає в інтактних (здорових) тварин $0,73 \pm 0,26 \%$, характеризується

20 позитивною динамікою та ефективністю протягом всього терміну дослідження. Застосування способу, що заявляється, базується на дослідженні динаміки KLP у 110 статевозрілих самців білих щурів, масою 180-230 г, які перебували в умовах віварію кафедри патофізіології ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет". При виборі піддослідних тварин виходили з того, що білі щури є найбільш вигідним об'єктом для групового експерименту з використанням їх великої кількості. Протягом всього експерименту тварини утримувалися на повноцінному харчуванні, без обмежень у питній воді. Експериментальних щурів розділено на 3 групи: перша - інтактна - 10 тварин, друга - контрольна - 40 тварин, яким вводили фізіологічний розчин в еквівалентній дозі щодо калової суспензії у 3-ій групі та третя - дослідна - 60 тварин, яким моделювали розлитий перитоніт шляхом введення в черевну порожнину 10 % калової суспензії. Тривалість дослідження - 48 год., розподілена на 4 етапи, які відповідали стадіям розвитку перитоніту: 1-12 год. - реактивна, 12-24 год. - токсична та 24-48 - термінальна. У всіх трьох групах тварин застосовувався запропонований спосіб.

35 Утримання та маніпуляції з тваринами проводились у відповідності до вимог Додатку 4 до "Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин", затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р. "Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин" та положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики" (Київ, 2001 р.).

40 Середнім значенням норми рівня KPL за лейкоцитами крові вважали показник групи інтактних тварин - $0,73 \pm 0,27 \%$, який у своїх подальших дослідженнях ми їх розцінювали як норму. Щодо другої групи, то за результатами проведеного дослідження KPL майже вдвічі перевищував значення здорових тварин на 1 год. експерименту, проте достовірно не відрізнявся на всіх наступних етапах дослідження (фіг. 1). Аналогічно до KLP , нами було визначено LPI , який у перших двох групах був практично на одному рівні ($0,19 \pm 0,01$ ум. од.).

45 З фіг. 1 видно, що уже на I етапі (1 год.) дослідження у дослідній групі тварин рівень KPL зростав у 7,72 разу порівняно з контролем та у 15,67 разу щодо інтактних, на 12 год. - у 14,07 разу відповідно до тварин першої групи, оскільки до 2-го етапу експерименту показники 1-ої та 2-ої груп практично не відрізнялись, на III етапі (24 год.) - 39,9 разу, а на 48-му год. - 49,82 разу ($p < 0,05$). Динаміка показника KPL зростає паралельно до стадій розвитку перитоніту, співпадаючи з часовими рамками кожного вибраного етапу.

50 З фіг. 2 видно, що уже на першому етапі дослідження на 1-шу год. у дослідній групі тварин рівень KPL зростав у 1,9 разу ($p < 0,05$) порівняно з контролем та у 2,23 разу щодо інтактних, а на 48-му год. - 13,28 разу відповідно до тварин першої групи, оскільки до 4-го етапу експерименту показники 1-ої та 2-ої груп практично не відрізнялись.

55 Таким чином, рівень експресії KPL виявився значно вищим, ніж показника LPI . Окрім того, динаміка KPL у тварин з ГРП чітко залежить від стадії розлитого перитоніту. Варто зауважити, що лейкоцитарний дефіцит в артеріальній крові, при запальному процесі, на фоні інтоксикаційного синдрому, супроводжується достовірним потенціюванням затримки білих кров'яних тілець в легеневій тканині. Така активність лейкоцитів в аерогематичному компоненті

сприяє посиленій продукції медіаторів запалення останніми, що в свою чергу веде до значного руйнівного ефекту і швидкого розвитку СГУЛ [12, 13].

Оцінка ефективності діагностичної цінності також була підтверджена гістологічним дослідженням мікро- та ультраструктурних змін легеневої тканини у всіх дослідних групах тварин. У перших двох патологічних змін не виявлено, на відміну від таких у щурів з ГРП протягом всієї тривалості експерименту.

На фіг. 3 представлено результати дослідження IV етапу експерименту. Структура легеневої тканини змінювалась за рахунок розвитку дистелектазів, ателектазів та вогнищевої емфіземи. Судини великого калібру були розширеними і повнокровними. Також мали місце периваскулярний набряк та дрібні діapedезні крововиливи.

Міжальвеолярні перетинки були потовщеними за рахунок фібринозного ексудату, лімфогістіоцитарних інфільтратів, макрофагів та вогнищевих лейкоцитарних інфільтратів. Судини мікроциркуляторного русла аерогематичного бар'єру (ЛГБ) розширювались і створювали дифузні діapedезні крововиливи (фіг. 3). Просвіти альвеол різко звужувались, проте були вільними від ексудату. В епітеліюцитах спостерігались явища білкової дистрофії із розвитком некрозів.

Субмікроскопічно через 48 год. при експериментальному перитоніті в кровоносних капілярах частини АГБ, у просвітах альвеол спостерігаються нейтрофілоцити і тромбоцити. В перших наявні ділянки просвітлення і гомогенізації їх цитоплазми, практично не визначаються первинні та вторинні гранули, які за нормальних умов широко представлені і містять значну кількість медіаторів запалення. Окрім того, компоненти стінки альвеол нечіткі, на ендотеліюцитах виявляються локальні ушкодження цитоплазматичних ділянок.

В цей термін досліду в складі респіраторного відділу легень цитоплазматичні ділянки респіраторних альвеолоцитів характеризуються нерівномірністю за товщиною, підвищеною електронною щільністю із значними вип'ячуваннями в просвіт, органел не виявляється (фіг. 4).

Отже, враховуючи, кількісну різницю між показниками КРЛ та ЛІІ перших двох груп та дослідної, чітко визначається суттєво вища чутливість першого показника щодо другого. Варто зазначити, що ЛІІ здебільшого свідчить про рівень розвитку ЕІ. В свою чергу, КРЛ є інтегративним показником, який поєднує в собі інформацію як про зростання інтоксикаційного фактора, так і про ураження легень, за рахунок бурхливої активності білих кров'яних тілець. Окрім того, аналізуючи результати структурного аналізу компонентів АГБ, нами встановлений розвиток СГУЛ, і невід'ємна роль в його патогенезі належить лейкоцитам, зокрема нейтрофілам та їхнім медіаторам запалення.

Запропонований спосіб дозволяє підвищити ефективність швидкої діагностики легеневого ушкодження на фоні гострого розлитого перитоніту.

Джерела інформації:

1. Безруков Л.О. Стан окисної модифікації білків в умовах нейтрофільної активації у новонароджених із гострим ушкодженням легенів / Л.О. Безруков, Ю.Б. Яценко, Г.О. Буряк // Одеський медичний журнал.-2009. - № 1 (111). - С. 48-50.
2. Власов П.В. Синдромы острой респираторной недостаточности легких в рентгенологическом изображении (Отек легких и дистресс-синдром) / П.В. Власов, А.А. Барышников, Ж.В. Шейх, Я.Х. Евлоева // Медицинская визуализация.-2006. - № 1. - С. 50-61.
3. Гельфанд Б.Р. Биохимические маркеры системной воспалительной реакции: роль прокальцитонина в диагностике сепсиса / Б.Р. Гельфанд, С.З. Бурневич, Е.Б. Гельфанд // Инфекции в хирургии.-2007. - № 1. - С. 18-22.
4. Кондратенко П.Г. Хирургическая инфекция. Практическое руководство / Кондратенко П.Г., Соболев В.В. - Донецк, 2007. - 512 с.
5. Параметри ендогенної інтоксикації при перитоніті / О.Б. Матвійчук, І.І. Матішинець, А.П. Мелень. [та ін.]// Український Журнал Хірургії.-2010. - № 2. - С. 143-145.
6. Мухачева С.Ю. Искусственная вентиляция легких при острой дыхательной недостаточности с помощью современных респираторов у больных с острой хирургической патологией / С.Ю. Мухачева, А.С. Сипачев, О.С. Вялкова, И.М. Моисеева // Pacific Medical Journal.-2004. - No. 2. - p. 52-53.
7. Соловей Ю.М. Показники рівня ендотоксикозу, неспецифічної резистентності та лейкограми при гострому експериментальному перитоніті / Ю.М. Соловей, В.П. Польовий, Р.І. Сидорчук, М.Л. Проскурняк // Загальна патологія та патологічна фізіологія.-2010. - № 3, Т. 5. - С. 329-332.
8. Функциональные свойства и окислительная модификация белков нейтрофилов и плазмы крови при внебольничной пневмонии / Е.А. Степовая, Г.В. Петина, Т.В. Жаворонок [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика.-2010. - № 3. - С. 18-21.

9. Фьоклін В.О. Взаємозв'язок клінічних показників та порушень фібринолітичної функції легень у дітей, хворих гострими захворюваннями органів дихання / В.О. Фьоклін, О.В. Шарікадзе // Мат. II з'їзду педіатрів України "Актуальні проблеми педіатрії на сучасному етапі", 7-10 грудня, 2004, К.: - С. 111.

5 10. Пат. 59074 А Україна, МКИ А61В 10/00. Спосіб прогнозування розвитку ускладнень гострої пневмонії у дітей / Фьоклін В.О., Шарікадзе О.В. - № 2003010040; Заявл. 02.01.2003, Опубл. 15.08.2003. - Бюл. № 8. - 1с;

11. Чучалин А.Г. Синдром острого повреждения легких / А.Г. Чучалин // Пульмонология.- 2007. - № 1. - С. 5-11.

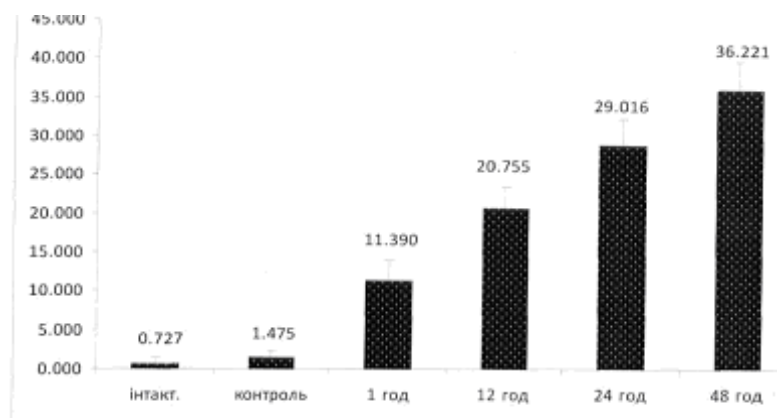
10 12. James G. Wagner Pulmonary Leukostasis And The Inhibition Of Airway Neutrophil Recruitment Are Early Events In The Endotoxemic Rat / James G. Wagner, Jack R. Harkema, Robert A. Roth // SHOCK.-2002. - Vol. 17. - №. 2, P. 151-158.

15 13. Alterations of the composition and metabolism of pulmonary surfactant phospholipids induced by experimental peritonitis in rats / Simeon Lazarov, Emil Yanev, Albena Momchilova [et al.] // Chemico-Biological Interactions.-2007. - № 169. - P. 73-79.

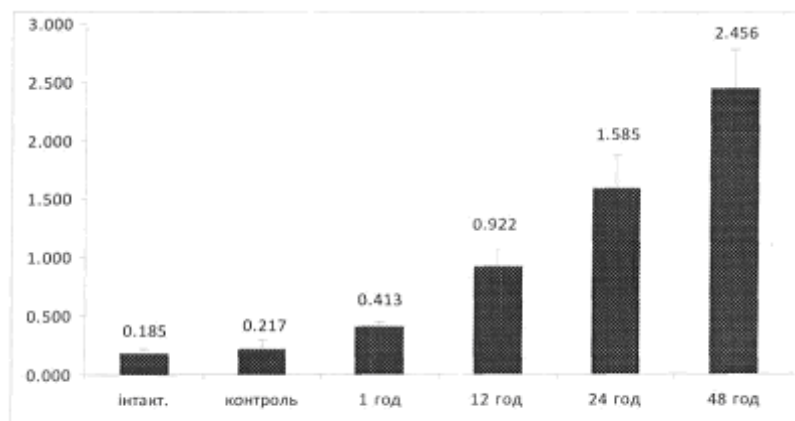
ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб діагностики гострого легеневого ушкодження при розлитому перитоніті у щурів, який проводиться шляхом визначення коефіцієнта легеневої регуляції за лейкоцитами, який **відрізняється** тим, що на основі різниці білих кров'яних тілець у венозній і артеріальній крові: $KPL = (B-A)/B \times 100 \%$, де КРЛ - легеневий коефіцієнт регуляції за лейкоцитами (%), В - кількість лейкоцитів у венозній крові, А - кількість лейкоцитів в артеріальній крові), причому КЛІР складає в інтактних (здорових) тварин $0,73 \pm 0,26 \%$, характеризується позитивною динамікою та ефективністю протягом всього терміну дослідження.

25



Фіг. 1



Фіг. 2

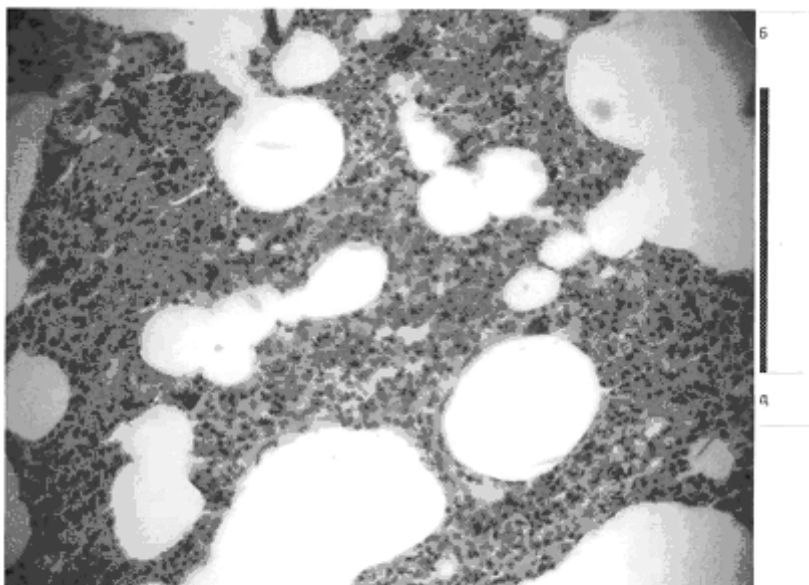


Fig. 3 .

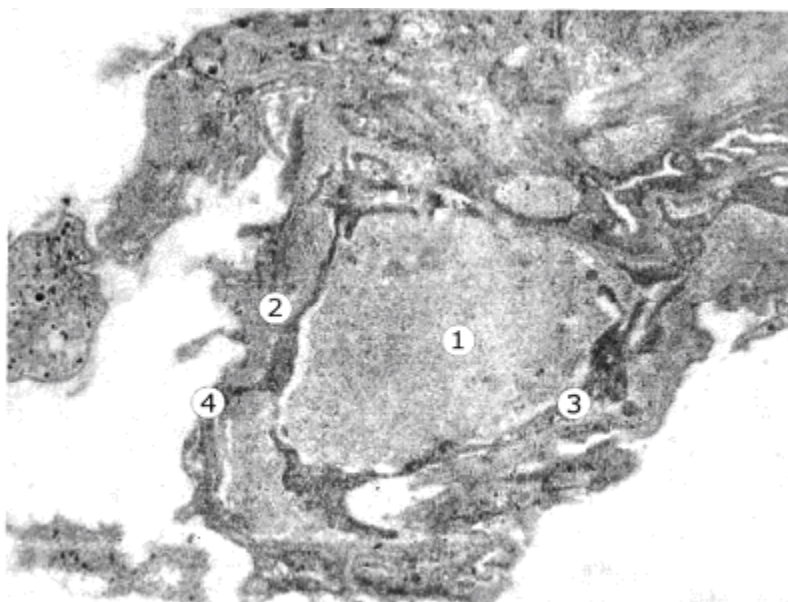


Fig. 4

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

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