



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98596** (13) **C2**

(51) МПК (2012.01)

A61B 5/00

G01N 33/00

G01N 33/53 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2011 09446	(72) Винахідник(и): Ємець Ілля Миколайович (UA), Ткаченко Яніна Вікторівна (UA), Жовнір Володимир Аполлінарійович (UA), Федевич Олег Миколайович (UA), Часовський Кирило Сергійович (UA), Воробйова Ганна Михайлівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 27.07.2011	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР ДИТЯЧОЇ КАРДІОЛОГІЇ ТА КАРДІОХІРУРГІЇ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", вул. Мельникова, 24, м. Київ, 04050 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.05.2012	(74) Представник: Хоменко Ірина Іванівна, ресстр. №363
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.02.2012, Бюл.№ 3	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2284525 C2, 27.09.2006 RU 2371727 C2, 27.10.2009
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.05.2012, Бюл.№ 10	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ АРТЕРІАЛЬНОГО ПЕРЕКЛЮЧЕННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ АУТОЛОГІЧНОЇ ПУПОВИННОЇ КРОВІ

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини, біології та імунології, стосується способу визначення імунної відповіді у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові.

UA 98596 C2

Винахід належить до медицини, біології та імунології, а більш конкретно до способу визначення імунної відповіді у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові і може бути використаний для визначення імунної реакції організму після трансфузії донорської та аутологічної пуповинної крові. А саме, для визначення загального стану імунної системи новонародженого після згаданої операції.

Відомий спосіб оцінки профілактики післяопераційних імунодефіцитів в клініці (патент РФ № 2284525 від 07.09.2004, МПК4 G01N33/53), під час якого визначали вміст лейкоцитів (Лк), циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), фагоцитарну активність лейкоцитів (ФАЛ) і бласттрансформацію лімфоцитів (РБТЛ) з наступною дією ультразвуком на область рукоятки груднини, проводили оперативне втручання, визначали вищевказані параметри на 3-й та 7-й день після операції, в указані строки розраховували коефіцієнт патології (Кпл), коефіцієнт ранньої (К3) та пролонгованої (К7) профілактики, при значенні К3 менше 1,96 - констатують наявність раннього профілактичного, а при значенні К7 менше 1,92 - визначали наявність пролонгованої профілактичної дії. Однак даний спосіб відтворює дослідження першого та другого ступеня імунної відповіді, що не дозволяє дослідити регуляторну функцію і загальний стан імунної системи.

Відомий спосіб оцінки стану імунітету (патент РФ № 2371727, МПК (2006.01) G01N33/68, опубліковано: 27.10.2009), який включає: забір вихідного матеріалу з периферичної крові і з місця запалення організму, отримання з нього клітинної суспензії на основі середовища 199, поділ її на дві рівні частини. Внесення в одну частину клітинної суспензії стимулюючого агенту *Staphylococcus aureus* з розрахунку 1:10 в концентрації 2×10^7 м.т./мл., розміщення стимульованої і не стимульованої клітинної суспензії в лунки плоскодонного планшету для імунологічних аналізів окремо для кожного досліджуваного показника; визначення активності катіонних білків, ферментів: мієлопероксидази, аденозінтрифосфатази, кислої фосфатази, цитохромоксидази, лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, а також НСТ-тест; визначення індексу стимуляції для кожного показника. Про стан імунітету судили за значенням індексу стимуляції, який при значеннях менше одиниці вказував на недостатність протиінфекційного захисту організму.

Однак, даний спосіб не враховує дослідження регуляції імунної системи, а саме цитокинової ланки, що, в свою чергу, не дає повної картини стану імунної системи новонароджених після операції.

Цитокини - специфічні білки, за допомогою яких різноманітні клітини імунної системи можуть обмінюватися один з одним інформацією і здійснювати координацію дій прозапальних молекул, регулюють міжклітинні і міжсистемні взаємодії, визначають виживання клітин, стимуляцію або пригнічення їх росту, диференціацію, функціональну активність і апоптоз, а також забезпечують узгодженість дії імунної, ендокринної та нервової систем у нормальних умовах і у відповідь на патологічний вплив, порушення балансу цитокінпродукуючої активності відіграє значну роль у розвитку аутоімунних станів, хронізації, прогресуванні захворювань. Якщо при інфекціях, викликаних внутрішньоклітинними вірусами і мікробами, відбудеться перемикання захисного клітинного імунітету на гуморальний, то буде спостерігатися ускладнення перебігу захворювання. Рівні цитокінів в сироватці або інших біологічних рідинах відображають поточний стан роботи імунної системи, тобто синтез цитокінів клітинами організму *in vivo*. Численні факти вказують на наявність тісного взаємозв'язку між рівнем продукції цитокінів та клінічними характеристиками інфекційного процесу. На підставі цих даних постійно розширюються області інфекційної патології, у яких визначення рівня цитокінів в крові або біологічних середовищах методом твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) може дати практично цінну інформацію для діагностики або прогнозу перебігу інфекції, а також моніторингу ефекту терапії (Г. Ф. Железнікова. Цитокины, как предикторы течения и исхода инфекций/ журнал «Цитокины и воспаление», 2009, № 1). Авторами під час проведення патентно-інформаційних досліджень і підготовки заявки не виявлено способу визначення імунної відповіді у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові.

В основу пропонованого винаходу поставлена задача створення такого способу визначення імунної відповіді у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові, який би дозволяв отримати інформацію про стан імунної системи новонароджених після операції шляхом дослідження регуляторноцитокинової ланки імунної системи.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом визначення імунної відповіді у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові, який включає забір венозної крові у новонародженого до операції, виконання загального аналізу крові, під час якого визначають кількість лейкоцитів, еритроцитів,

гемоглобіну, гематокриту, тромбоцитів, швидкість зсідання еритроцитів та підраховують лейкоцитарну формулу, визначають сироваткові рівні фактору некрозу пухлин- α ФНО- α (A), Інтерлейкіну-1 β ІЛ-1 β (B), Інтерлейкіну-6 ІЛ-6(C), Інтерлейкіну-8 ІЛ-8(D), Інтерлейкіну-10 ІЛ-10(E), а на першу, третю, сьому добу після операції виконують забір венозної крові у новонародженого і проводять загальний аналіз крові, досліджують сироваткові рівні ФНО- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, проводять кореляційний аналіз між рівнями інтерлейкінів, визначають відхилення кожного з зазначених показників від норми $K1=A\backslash A_n$, $K2=B\backslash B_n$, $K3=C\backslash C_n$, $K4=D\backslash D_n$, $K5=E\backslash E_n$, $K6=A\backslash E$, де n - відповідний показник норми у здорових новонароджених, підраховують цитокиновий індекс запалення: $(A+B+C+D)\backslash E$, проводять порівняння одержаних показників з контрольними показниками і визначають імунну відповідь у новонароджених, яким проводили операцію артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові.

Саме 1, 3, 7 доба після операції, як визначено експериментально (див. таблицю 2, клінічні приклади), є найбільш інформативною для оцінки етапів імунного відгуку у новонародженого в ранній післяопераційний період. Так як перша та третя доба після проведеної операції характеризується початком запального процесу, який є адекватною реакцією на операційне втручання та пошкодження цілісності тканини, а на сьому добу після операції, як правило, відбувається поступове згасання запалення. Тому саме сьома доба може бути основною для вирішення продовження антибіотикотерапії, якщо цитокиновий індекс запалення значно вище норми або її припинення в разі нормальних показників цитокинового індексу запалення.

Спосіб ґрунтується на оцінці імунної відповіді організму новонароджених з транспозицією магістральних судин під час хірургічної корекції з застосуванням аутологічної пуповинної крові шляхом дослідження сироваткових рівнів цитокінів та визначення розробленого авторами цитокинового індексу запалення, в динаміці до операції та на 1, 3, 7 добу після неї. Будь-яка операція супроводжується місцевою і системною імунною відповіддю на хірургічну травму і може привести до посилювання природного імунітету придбаного від матері. На результат хірургічного лікування впливає як передопераційний, так і післяопераційний імунний фон. При цьому в післяопераційному періоді слід розрізняти нормальну, адекватну оперативному втручання імунну відповідь і розвиток інтенсивних і тривалих імунopatологічних реакцій.

Перший тиждень після операції є важливий для новонародженого, оскільки, запальний процес є адекватною захисною реакцією імунної системи на оперативне втручання, але тривале зберігання запального процесу може свідчити про ускладнення післяопераційного періоду. Визначення цитокинового індексу є важливим для розуміння загального стану імунної системи новонароджених після операції.

Спосіб пояснюється наступними операціями.

1. Проводили забір венозної крові у пацієнта до операції, та на 1, 3, 7 добу після неї на загальний аналіз крові в пробірку з антикоагулянтом ЕДТА, та в суху пробірку 3 мл крові на імуноферментний аналіз.

2. Загальний аналіз крові проводили на гематологічному аналізаторі «ABX Pentra 60», формулу крові підраховували за загальноприйнятою методикою.

3. Пробірку з 3 мл крові центрифугували 10 хвилин при 3 тис. об./хв. Відбирали сироватку крові.

4. Рівні ФНО- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, та ІЛ-10 визначали імуноферментним методом ELISA (фірми Bioscience, Австрія).

5. На 1, 3, 7 добу після операції проводили забір венозної крові у пацієнта на загальний аналіз крові в пробірку з антикоагулянтом ЕДТА, та в суху пробірку 3 мл крові на імуноферментний аналіз.

6. Проводили кореляційний аналіз між рівнями цитокінів: фактору некрозу пухлин- α ФНО- α (A), Інтерлейкіну-1 β ІЛ-1 β (B), Інтерлейкіну-6 ІЛ-6(C), Інтерлейкіну-8 ІЛ-8(D), Інтерлейкіну-10 ІЛ-10(E), визначали відхилення кожного з зазначених показників від норми $K1=A\backslash A_n$, $K2=B\backslash B_n$, $K3=C\backslash C_n$, $K4=D\backslash D_n$, $K5=E\backslash E_n$, $K6=A\backslash E$, де n - відповідний показник норми у здорових новонароджених, підраховували цитокиновий індекс запалення: $(A+B+C+D)\backslash E$, та при відхиленні K зазначених показників від норми судили про наявність імунної недостатності, або гіперфункції імунної системи.

Приклади:

Таблиця 1

Сироваткові рівні цитокінів у пацієнтів з перелитою пуповинною кров'ю та донорською, здорових новонароджених (пг/мл)

Новонароджений Г.(п.к.)	До операції	1 доба	3 доба	7 доба
ФНП-α (пг/мл)	8,5	100,3	11,6	11,5
ІЛ-1β (пг/мл)	4,1	3,64	3,61	4,72
ІЛ-6 (пг/мл)	1,1	1,4	1,5	1,68
ІЛ-8 (пг/мл)	20,35	29,66	23,64	27,98
ІЛ-10 (пг/мл)	22,2	51,7	24,5	9,41
Новонароджений М.(п.к.)				
ФНП-α (пг/мл)	5,1	115	34,6	6,6
ІЛ-1β (пг/мл)	3,65	3,03	3,11	2,59
ІЛ-6 (пг/мл)	0,45	0,59	2,2	1,3
ІЛ-8 (пг/мл)	10,5	27,9	21,6	27,2
ІЛ-10 (пг/мл)	4,6	63,2	3,79	12,76
Новонароджений Д.(п.к.)				
ФНП-α (пг/мл)	5,9	79	10,8	15,9
ІЛ-1β (пг/мл)	4,34	4,1	3,5	4,0
ІЛ-6 (пг/мл)	1,1	27,9	2,2	1,57
ІЛ-8 (пг/мл)	31,7	69,6	38,4	21,6
ІЛ-10 (пг/мл)	38	67,3	4,7	9,4
Новонароджений К.(д.к.)				
ФНП-α (пг/мл)	6,3	4,89	10,1	10,2
ІЛ-1β (пг/мл)	1,95	1,82	2,03	1,9
ІЛ-6 (пг/мл)	5,39	7,3	7,49	7,11
ІЛ-8 (пг/мл)	303	329	344	195
ІЛ-10 (пг/мл)	3,46	3,36	4,44	2,88
Новонароджений З.(д.к.)				
ФНП-α (пг/мл)	7,8	7,0	7,3	7,2
ІЛ-1β (пг/мл)	2,46	2,34	5,8	2,09
ІЛ-6 (пг/мл)	0,8	11,6	19,2	29,5
ІЛ-8 (пг/мл)	12,57	25	2070	47,09
ІЛ-10 (пг/мл)	1,91	19,48	38,73	8,67
Новонароджений О.(д.к.)				
ФНП-α (пг/мл)	6,5	4,5	7,4	8,0
ІЛ-1β (пг/мл)	2,46	2,67	2,2	3,65
ІЛ-6 (пг/мл)	0,24	10,7	7,3	11,18
ІЛ-8 (пг/мл)	29,41	42	30,1	276
ІЛ-10 (пг/мл)	2,07	4,03	5,73	2,96
Здорові новонароджені				
ФНП-α (пг/мл)	7,13			
ІЛ-1β (пг/мл)	2,84			
ІЛ-6 (пг/мл)	4,1			
ІЛ-8 (пг/мл)	12,7			
ІЛ-10 (пг/мл)	7,1			

Із формули: $(A+B+C+D)/E=K$; Здорові новонароджені:

$(7,13+2,84+4,1+12,7)/7,1=3,77$; $K=3,77$;

5 Новонароджений Г.(пк): до операції $(8,5+4,1+1,1+20,35)/22,2=1,53$, $K=1,53$;

на 1 добу $(100,3+3,64+1,4+29,66)/51,7=2,61$, $K=2,61$;

на 3 добу $(11,6+3,61+1,5+23,64)/24,5=1,64$, $K=1,64$;

на 7 добу $(11,5+4,72+1,68+27,68)/9,41=4,87$, $K=4,87$;

Новонароджений М.(пк): до операції $(5,1+3,65+0,45+10,5)/4,6=4,28$, $K=4,28$;

10 на 1 добу $(115+3,03+0,59+27,1)/63,2=2,31$, $K=2,31$;

- на 3 добу $(34,6+3,11+2,2+21,6)/3,79=16,2$, $K=16,2$;
 на 7 добу $(6,6+2,59+1,3+27,2)/12,76=2,95$, $K=2,95$;
 Новонароджений Д.(пк): до операції $(5,9+4,34+1,1+31,7)/38=1,13$, $K=1,13$;
 на 1 добу $(79+4,1+27,9+69,6)/67,3=11,6$, $K=11,6$;
 на 3 добу $(10,8+3,5+2,2+38,4)/4,7=4,58$, $K=4,58$;
 на 7 добу $(15,9+4,0+1,57+21,6)/9,4=4,58$, $K=4,58$;
 Новонароджений К.(дк): до операції $(6,3+1,95+5,39+303)/3,46=91,5$, $K=91,5$;
 на 1 добу $(4,89+1,82+7,3+329)/3,36=102$, $K=102$;
 на 3 добу $(10,1+2,03+7,49+344)/4,44=81,8$, $K=81,8$;
 на 7 добу $(10,2+1,9+7,11+195)/2,88=74,3$, $K=74,3$;
 Новонароджений З.(дк): до операції $(7,8+2,46+0,8+12,57)/1,9=12,37$, $K=12,37$;
 на 1 добу $(7,0+2,34+11,6+25)/19,48=2,35$, $K=2,35$;
 на 3 добу $(7,3+5,8+19,2+2070)/38,73=54,2$, $K=54,2$;
 на 7 добу $(7,2+2,09+29,5+47,09)/8,67=9,9$, $K=9,9$;
 Новонароджений О.(дк): до операції $(6,5+2,46+0,24+29,41)/2,07=18,6$, $K=18,6$;
 на 1 добу $(4,5+2,67+10,7+42)/4,03=14,8$, $K=14,8$;
 на 3 добу $(7,4+2,2+7,3+30,1)/5,73=8,2$, $K=8,2$;
 на 7 добу $(8,0+3,65+11,18+276)/72,96=100,9$, $K=100,9$.

Таблиця 2

Цитокіновий індекс запалення (К) у новонароджених в динаміці до операції та на 1, 3, 7 добу після операції.

	До операції цитокіновий індекс запалення (К)	На 1 добу після операції цитокіновий індекс запалення (К)	На 3 добу після операції цитокіновий індекс запалення (К)	На 7 добу після операції цитокіновий індекс запалення (К)
Здорові новонароджені (20п)	3,77			
Новонароджені з перелитою пуповинною кров'ю	Новонароджений Г=1,53 Новонароджений М=4,28 Новонароджений Д=1,13	2,61 2,31 2,68	1,64 16,2 11,6	4,87 2,95 4,58
Новонароджені з перелитою донорською кров'ю	Новонароджений К=91,5 Новонароджений З=12,37 Новонароджений О=18,6	102 2,35 14,8	81,8 54,2 8,2	74,3 9,9 100,9

У здорових новонароджених цитокіновий індекс $K=3,77$.

З даних таблиці № 1 видно, що низький рівень протизапальних цитокінів в крові і зниження лінії їх тренда нижче оптимального рівня є показником недостатності імунної відповіді на стрес, а також маркером порушення репаративних процесів у новонародженого-пацієнта. Подібні прояви свідчать про затяжний перебіг (хронізації) запального процесу. Зниження концентрації протизапального ІЛ-10 на фоні різкого підвищення прозапальних цитокінів ІЛ-8, ІЛ-6, ФНО- α , свідчить про виражений дисбаланс системи цитокінів в 2 групі новонароджених-пацієнтів, яким під час операції переливали донорську кров, і є несприятливою прогностичною ознакою в післяопераційний період.

З даних таблиці № 2 видно, що значно підвищений К у пацієнтів з перелитою донорською кров'ю більше 3,77 (показник здорових новонароджених) свідчив про виражений запальний процес, який на 7 добу після операції однозначно перевищував норму і чітко корелював з клінічним станом новонародженого, що свідчив про хронізацію запального процесу, а отже, продовження лікування. Значення цитокінового індексу запалення до 3,77 вказує на

сприятливий перебіг післяопераційної реабілітації новонародженого. Експериментально показано, що дані дослідження сироваткових рівнів імунітокінів в динаміці до операції та на 1,3,7 добу визначили імунну відповідь у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові та визначили подальшу дію лікарів в реабілітації новонародженого.

Даний спосіб визначення імунної відповіді у новонароджених дозволяє зробити чіткі висновки про тяжкість перебігу запального процесу та переходу його на системний рівень не тільки після операції на серці з використанням аутологічної пуповинної крові чи донорської, а і при різних патологічних станах організму.

Виявлення у хворих з вродженими вадами серця дисбалансу системи цитокінів у бік збільшення прозапальних цитокінів ($K > 3,77$) є підставою для застосування під час операції аутологічної пуповинної крові (у новонароджених-пацієнтів з перелитою пуповинною кров'ю K знаходився в межах норми), яка не викликає порушень зі сторони імунної системи новонародженого.

Клінічні приклади:

1. Новонароджений З.(д.к.): історія хвороби № 882, госпіталізований 19.05.2010 р. у віці 26 днів з діагнозом транспозиція магістральних судин, апікальний дефект міжшлуночкової перетинки, відкрита артеріальна протока, відкрите овальне вікно, стан після балонної атріосептостомії. При вступі в стаціонар загальний стан задовільний, новонароджений перебував на самостійному диханні. Показники загального аналізу крові (ЗАК) на момент вступу: кількість лейкоцитів(лейк.) - 10,4 тис./мкл, еритроцитів(ер.) - 3,8 млн/мкл, гемоглобіну (Hb) - 130 г/л, гематокрит (Ht) - 37, тромбоцити(тр.) - 354 тис/мкл, ШОЕ - 2 мм/год., лейкоцитарна формула крові: еозинофіли(е.) - 4, паличкоядерні нейтрофіли (п/я) - 5, сегментоядерні нейтрофіли (с/я) - 26, лімфоцити(л) - 62, моноцити(м) - 3; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 7,8 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,46 пг/мл, ІЛ-6 - 0,8 пг/мл, ІЛ-8 - 12,57 пг/мл, ІЛ-10 - 1,91 пг/мл, $K(\text{цитокіновий індекс})=12,37$.

21.05.2010 проведена операція артеріального переключення із закриттям дефекту міжшлуночкової перетинки. Під час штучного кровообігу та в ранньому післяопераційному періоді були застосовані компоненти донорської крові (свіжозаморожена плазма та еритроцитарна маса).

ЗАК на 1 добу після операції: к-сть.лейк. - 15,2 тис./мкл, ер. - 3,9 млн/мкл, Hb - 135 г/л, Ht - 36, тромб. - 169 тис/мкл, ШОЕ - 3 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 1, п/я - 22, с/я - 54, л. - 19, м. - 4; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 7,0 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,34 пг/мл, ІЛ-6 - 11,6 пг/мл, ІЛ-8 - 25 пг/мл, ІЛ-10 - 19,48 пг/мл, $K(\text{цитокіновий індекс})=2,35$.

На 3 добу після операції ЗАК: лейк. - 2,3 тис./мкл, ер. - 3,17 млн/мкл, Hb - 101 г/л, Ht - 29,7, тромб. - 122 тис/мкл, ШОЕ - 20 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 0, п/я - 8, с/я - 24, л. - 58, м. - 10; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 7,3 пг/мл, ІЛ-1 β - 5,8 пг/мл, ІЛ-6 - 19,2 пг/мл, ІЛ-8 - 2070 пг/мл, ІЛ-10 - 38,73 пг/мл, $K(\text{цитокіновий індекс})=54,2$ - цитокіновий індекс надто високий в порівнянні з нормальними показниками здорових новонароджених, де $K=3,77$.

На 7 добу після операції ЗАК: лейк. - 15,1 тис./мкл, ер. - 3,6 млн/мкл, Hb - 113 г/л, Ht - 32, тромб. - 139 тис/мкл, ШОЕ - 15 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 9, п/я - 18, с/я - 37, л. - 20, м. - 7; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 7,2 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,09 пг/мл, ІЛ-6 - 29,5 пг/мл, ІЛ-8 - 47,09 пг/мл, ІЛ-10 - 8,67 пг/мл, $K(\text{цитокіновий індекс})=9,9$.

Проведена антибіотикотерапія 21 день. Післяопераційні ускладнення: на 1, 3, 7, добу після операції спостерігалось підвищення температури тіла до 37,5 °C, на 9 добу - 38,0, на 10 добу - 37,8, на 11, 12 добу - 37,7, на 15 добу після операції переведено з відділення реанімації в палату кардіологічного відділення. Виписано 11.06.2011. Кількість ліжко-днів - 23. Висновок: підвищений цитокіновий індекс на 7 добу після операції чітко корелює з клінічним станом пацієнта і свідчить про затяжний запальний процес, який потребував продовження антибіотикотерапії.

2. Новонароджений О.(д.к.): історія хвороби № 1141, госпіталізований 24.06.2010 у віці 6 діб з діагнозом транспозиція магістральних судин, відкрита артеріальна протока, відкрите овальне вікно. При вступі в стаціонар загальний стан задовільний, новонароджений перебував на самостійному диханні. Проведена балонна атріосептостомія. Показники загального аналізу крові (ЗАК) на момент вступу: кількість лейк. - 12,4 тис./мкл, ер. - 3,6 млн/мкл, Hb - 128 г/л, Ht - 37, тромб. - 230 тис/мкл, ШОЕ - 1 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 6, п/я - 5, с/я - 46, л. - 41, м. - 2, показники сироваткових рівнів ФНП- α - 6,5 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,46 пг/мл, ІЛ-6 - 0,24 пг/мл, ІЛ-8 - 29,41 пг/мл, ІЛ-10 - 2,07 пг/мл, $K(\text{цитокіновий індекс})=18,6$. Проведена операція артеріального переключення 29.06.2010, з використанням під час штучного кровообігу донорської крові.

На 1 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 14,5 тис./мкл, ер. - 3,8 млн/мкл, Hb - 134 г/л, Ht - 38, тромб. - 249 тис/мкл, ШОЕ - 3 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 1, п/я - 7, с/я - 47, л. - 41, м. - 4; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 4,5 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,67 пг/мл, ІЛ-6 - 10,7 пг/мл, ІЛ-8 - 42 пг/мл, ІЛ-10 - 4,03 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=14,8.

5 На 3 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 9,1 тис./мкл, ер. - 4,1 млн/мкл, Hb - 142 г/л, Ht - 42, тромб. - 383 тис/мкл, ШОЕ - 4 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 5, п/я - 6, с/я - 26, л. - 61, м. - 2; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 7,4 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,2 пг/мл, ІЛ-6 - 7,3 пг/мл, ІЛ-8 - 30,1 пг/мл, ІЛ-10 - 5,73 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=8,2.

10 На 7 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 8,6 тис./мкл, ер. - 3,2 млн/мкл, Hb - 100 г/л, Ht - 30, тромб. - 255 тис/мкл, ШОЕ - 7 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 0, п/я - 14, с/я - 51, л. - 17, м. - 18, показники сироваткових рівнів ФНП- α - 8,0 пг/мл, ІЛ-1 β - 3,65 пг/мл, ІЛ-6 - 11,18 пг/мл, ІЛ-8 - 276 пг/мл, ІЛ-10 - 2,96 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=100,9. Антибіотикотерапія проводилась 10 днів. На 2 добу після операції спостерігалось підвищення температури тіла 37,8 °С. На 7 добу після операції переведений з реанімації в кардіологічне відділення. Виписаний 08.07.2010.

15 Кількість ліжко-днів - 14. Висновок: новонароджений на 7 добу мав високий цитокіновий індекс запалення, який корелював з тяжкістю клінічних показників і потребував більш довготривалої антибіотикотерапії.

3. Новонароджений К.(д.к.): історія хвороби № 1834 госпіталізований 08.10.2010 у віці 2 доби з діагнозом транспозиція магістральних судин, відкрита артеріальна протока, відкрите овальне вікно. При вступі в стаціонар загальний стан тяжкий. Показники загального аналізу крові на момент вступу: к-сть. лейк. - 12,3 тис./мкл, ер. - 4,5 млн/мкл, Hb - 145 г/л, Ht - 43 %, тромб. - 298 тис/мкл, ШОЕ - 15 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 3 %, п/я - 14 %, с/я - 56 %, л. - 12 %, м. - 13 %, метамц. - 2 %; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 6,3 пг/мл, ІЛ-1 β - 1,95 пг/мл, ІЛ-6 - 5,39 пг/мл, ІЛ-8 - 303 пг/мл, ІЛ-10 - 3,46 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=91,5.

25 На 1 добу після операції ЗАК: к-сть. лейк. - 15,1 тис./мкл, ер. - 3,9 млн/мкл, Hb - 126 г/л, Ht - 37, тромб. - 195 тис/мкл, ШОЕ - 9 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 2 %, п/я - 21 %, с/я - 50 %, л. - 10 %, м. - 15 %, метамц. - 2 %; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 4,89 пг/мл, ІЛ-1 β - 1,82 пг/мл, ІЛ-6 - 7,3 пг/мл, ІЛ-8 - 329 пг/мл, ІЛ-10 - 3,36 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=102.

30 На 3 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 10,1 тис./мкл, ер. - 3,6 млн/мкл, Hb - 107 г/л, Ht - 31, тромб. - 95 тис/мкл, ШОЕ - 5 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 3 %, п/я - 14 %, с/я - 37 %, л. - 34 %, м. - 10 %, міелоц. - 2 % показники сироваткових рівнів ФНП- α - 10,1 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,03 пг/мл, ІЛ-6 - 7,49 пг/мл, ІЛ-8 - 344 пг/мл, ІЛ-10 - 4,44 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=81,8.

35 На 7 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 7,7 тис./мкл, ер. - 3,79 млн/мкл, Hb - 110 г/л, Ht - 32, тромб. - 159 тис/мкл, ШОЕ - 7 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 5 %, п/я - 14 %, с/я - 45 %, л. - 24 %, м. - 11 %, міелоц. - 1 %, показники сироваткових рівнів ФНП- α - 10,2 пг/мл, ІЛ-1 β - 1,9 пг/мл, ІЛ-6 - 7,4 пг/мл, ІЛ-8 - 195 пг/мл, ІЛ-10 - 2,88 пг/мл К(цитокіновий індекс)=74,3. Післяопераційні ускладнення: на 4, 7, 9, 10 добу після операції підвищення температури тіла до 38,8 °С, на 4-8 добу в обох плевральних порожнинах спостерігалось накопичення вільної рідини по 4 мм.

40 Дата виписки - 05.11.2010. Кількість ліжко-днів - 28. Висновок: по даним цитокінового індексу на 1, 3, 7 добу після операції, та клінічним показникам, новонароджений мав післяопераційні ускладнення і затяжний запальний процес. Високий цитокіновий індекс запалення корелював з тяжкістю стану новонародженого на 7 добу після операції і потребував довготривалої антибіотикотерапії.

45 4. Новонароджений Г. (п.к.): історія хвороби № 1745, госпіталізований 03.11.2009 у віці 1 доба з діагнозом транспозиція магістральних судин, дефект міжшлуночкової перетинки, відкрита артеріальна протока, відкрите овальне вікно. Загальний стан при вступі стабільний. Показники загального аналізу крові (ЗАК) на момент вступу: к-сть. лейк. - 18,3 тис./мкл, ер. - 3,7 млн/мкл, Hb - 132 г/л, Ht - 38, тромб. - 259 тис/мкл, ШОЕ - 1 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 1, п/я - 22, с/я - 45, л. - 31, м. - 1; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 8,5 пг/мл, ІЛ-1 β - 4,1 пг/мл, ІЛ-6 - 1,1 пг/мл, ІЛ-8 - 20,35 пг/мл, ІЛ-10 - 22,2 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=1,53. Проведена операція артеріального переключення 05.11.2010, з використанням під час штучного кровообігу аутологічної пуповинної крові.

55 ЗАК на 1 добу після операції: к-сть.лейк. - 13,7 тис./мкл, ер. - 3,4 млн/мкл, Hb - 123 г/л, Ht - 34, тромб. - 174 тис/мкл, ШОЕ - 2 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 0, п/я - 26, с/я - 48, л. - 19, м. - 6; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 100,3 пг/мл, ІЛ-1 β - 3,64 пг/мл, ІЛ-6 - 1,4 пг/мл, ІЛ-8 - 29,66 пг/мл, ІЛ-10 - 51,7 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=2,61.

На 3 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 10,1 тис./мкл, ер. - 2,8 млн/мкл, Hb - 102 г/л, Ht - 28, тромб. - 146 тис/мкл, ШОЕ - 4 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 1, п/я - 15, с/я - 52,

л. - 29, м. - 3; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 11,6 пг/мл, ІЛ-1 β - 3,61 пг/мл, ІЛ-6 - 1,5 пг/мл, ІЛ-8 - 23,64 пг/мл, ІЛ-10 - 24,5 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=1,64.

На 7 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 18,3 тис./мкл, ер. - 4,3 млн/мкл, Hb - 149 г/л, Ht - 42, тромб. - 418 тис/мкл, ШОЕ - 2 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 6, п/я - 4, с/я - 36, л. - 34, м. - 17; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 11,5 пг/мл, ІЛ-1 β - 4,72 пг/мл, ІЛ-6 - 1,68 пг/мл, ІЛ-8 - 27,98 пг/мл, ІЛ-10 - 9,41 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=4,87.

Післяопераційних ускладнень не спостерігалось. На сьому добу після операції переведений з відділення реанімації в палату кардіологічного відділення. Дата виписки 24.11.2009. Кількість ліжко-днів - 19. Висновок: Не високий цитокіновий індекс запалення на 7 добу після операції цілком корелює із клінічним станом новонародженого, не потребує довготривалої антибіотикотерапії і може свідчити про позитивний вплив аутологічної пуповинної крові на організм, не порушуючи балансу імунної системи новонародженого.

5. Новонароджений М.(п.к.): історія хвороби № 37, госпіталізований 13.01.2010 у віці 1 доба з клінічним діагнозом транспозиція магістральних судин, відкрита артеріальна протока, відкрите овальне вікно. Загальний стан при вступі стабільний. Показники загального аналізу крові (ЗАК) на момент вступу: к-сть. лейк. - 15,1 тис./мкл, ер. - 3,9 млн/мкл, Hb - 142 г/л, Ht - 42, тромб. - 220 тис/мкл, ШОЕ - 1 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 3, п/я - 11, с/я - 66, л. - 16, м. - 3, метамц. - 1; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 5,1 пг/мл, ІЛ-1 - 3,65 пг/мл, ІЛ-6 - 0,45 пг/мл, ІЛ-8 - 10,5 пг/мл, ІЛ-10 - 4,6 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=4,28. Проведена операція артеріального переключення 13.01.2010, з використанням під час штучного кровообігу аутологічної пуповинної крові. На 1 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 22,3 тис./мкл, ер. - 3,3 млн/мкл, Hb - 122 г/л, Ht - 36, тромб. - 131 тис/мкл, ШОЕ - 3 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 1, п/я - 9, с/я - 61, л. - 20, м. - 9; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 115 пг/мл, ІЛ-1 β - 3,03 пг/мл, ІЛ-6 - 0,59 пг/мл, ІЛ-8 - 27,9 пг/мл, ІЛ-10 - 63,2 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=2,31.

На 3 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 16,9 тис./мкл, ер. - 3,1 млн/мкл, Hb - 112 г/л, Ht - 33, тромб. - 148 тис/мкл, ШОЕ - 3 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 0, п/я - 7, с/я - 69, л. - 20, м. - 4; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 34,6 пг/мл, ІЛ-1 β - 3,11 пг/мл, ІЛ-6 - 2,2 пг/мл, ІЛ-8 - 21,6 пг/мл, ІЛ-10 - 3,79 пг/мл, К(цитокіновий індекс) - 16,2.

На 7 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 15,7 тис./мкл, ер. - 3,2 млн/мкл, Hb - 116 г/л, Ht - 33 %, тромб. - 377 тис/мкл, ШОЕ - 20 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 4, п/я - 4, с/я - 33, л. - 44, м. - 13, міелоц. - 2; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 6,6 пг/мл, ІЛ-1 β - 2,59 пг/мл, ІЛ-6 - 1,3 пг/мл, ІЛ-8 - 27,2 пг/мл, ІЛ-10 - 12,76 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=2,95.

Післяопераційних ускладнень не спостерігалось. На 6 добу після операції новонароджений із реанімації переведений в палату. Виписаний 23.01.2010. Кількість ліжко-днів - 10. Висновок: новонароджений знаходився на лікуванні 10 діб в стабільному стані виписаний додому, післяопераційних ускладнень не мав, цитокіновий індекс запалення на 7 добу знаходився в межах норми, що не потребував подальшого лікування.

6. Новонароджений Д.(п.к.): історія хвороби № 878, госпіталізований 19.05.2010 в день народження з діагнозом транспозиція магістральних судин, відкрита артеріальна протока, відкрите овальне вікно. Загальний стан при вступі стабільний. Показники загального аналізу крові (ЗАК) на момент вступу: к-сть.лейк. - 39,2 тис./мкл, ер. - 5,07 млн/мкл, Hb - 194 г/л, Ht - 57, тромб. - 306 тис/мкл, ШОЕ - 1 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 2 %, п/я - 21 %, с/я - 43 %, л. - 26 %, м. - 7 %; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 5,9 пг/мл, ІЛ-1 β - 4,34 пг/мл, ІЛ-6 - 1,1 пг/мл, ІЛ-8 - 31,7 пг/мл, ІЛ-10 - 38 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=1,13.

Проведена операція артеріального переключення 19.05.2010, з використанням під час штучного кровообігу аутологічної пуповинної крові.

На 1 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 10,8 тис./мкл, ер. - 2,87 млн/мкл, Hb - 108 г/л, ІЛ-3 - 2 %, тромб. - 104 тис/мкл, ШОЕ - 2 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 0 %, п/я - 17 %, с/я - 63 %, л. - 10 %, м. - 10 %; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 79 пг/мл, ІЛ-1 β - 4,1 пг/мл, ІЛ-6 - 27,9 пг/мл, ІЛ-8 - 69,6 пг/мл, ІЛ-10 - 67,3 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=2,68.

На 3 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 8,5 тис./мкл, ер. - 2,3 млн/мкл, Hb - 92 г/л, Ht - 24, тромб. - 109 тис/мкл, ШОЕ - 13 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 1 %, п/я - 20 %, с/я - 59 %, л. - 13 %, м. - 6 %, мтмц. - 1 %; показники сироваткових рівнів ФНП- α - 10,8 пг/мл, ІЛ-1 β - 3,5 пг/мл, ІЛ-6 - 2,2 пг/мл, ІЛ-8 - 38,4 пг/мл, ІЛ-10 - 4,7 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=11,6.

На 7 добу після операції ЗАК: к-сть.лейк. - 8,2 тис./мкл, ер. - 2,46 млн/мкл, Hb - 91 г/л, Ht - 26,8, тромб. - 206 тис/мкл, ШОЕ - 4 мм/год., лейкоцитарна формула крові: е. - 2 %, п/я - 20 %, с/я - 36 %, л. - 21 %, м. - 19 %, показники сироваткових рівнів ФНП- α - 15,9 пг/мл, ІЛ-1 β - 4,0 пг/мл, ІЛ-6 - 1,57 пг/мл, ІЛ-8 - 21,6 пг/мл, ІЛ-10 - 9,4 пг/мл, К(цитокіновий індекс)=4,58. Цитокіновий індекс на 7 добу після операції знаходився практично в межах норми що свідчило про позитивний вплив аутологічної пуповинної крові на організм.

Цитокиновий індекс повністю корелював із клінічними показниками новонародженого і відображав загальний стан імунної системи новонародженого після перенесеної операції. Післяопераційна антибіотикотерапія проводилась 6 діб. Післяопераційних ускладнень не спостерігалось. На 6 добу після операції переведений до палати кардіохірургічного відділення.

5 Дата виписки 04.06.2010. Кількість ліжка - днів 16.

Висновок: за результатами цитокинового індексу запалення на 7 добу після операції ($K=4,58$) новонароджений не потребував продовження антибіотикотерапії. За допомогою визначення саме цитокинового індексу запалення, в динаміці до операції та на 1, 3, 7 добу після неї, який корелює з клінічним станом пацієнта, було визначено імунну відповідь у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної та донорської крові.

10

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

15

Спосіб визначення імунної відповіді у новонароджених після операції артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові, який включає забір венозної крові у новонародженого до операції, виконання загального аналізу крові, під час якого визначають кількість лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту, тромбоцитів, швидкість зсідання еритроцитів та підраховують лейкоцитарну формулу, визначають сироваткові рівні фактору некрозу пухлин- α ФНО- α (A), Інтерлейкіну-1 β ІЛ-1 β (B), Інтерлейкіну-6 ІЛ-6 (C), Інтерлейкіну-8 ІЛ-8 (D), Інтерлейкіну-10 ІЛ-10 (E), а на першу, третю, сьому добу після операції виконують забір венозної крові у новонародженого і проводять загальний аналіз крові, досліджують сироваткові рівні ФНО- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, проводять кореляційний аналіз між рівнями інтерлейкінів, визначають відхилення кожного з зазначених показників від норми $K1=A\backslash A_n$, $K2=B\backslash B_n$, $K3=C\backslash C_n$, $K4=D\backslash D_n$, $K5=E\backslash E_n$, $K6=A\backslash E$, де n - відповідний показник норми у здорових новонароджених, підраховують цитокиновий індекс запалення: $(A+B+C+D)\backslash E$; проводять порівняння одержаних показників з контрольними показниками і визначають імунну відповідь у новонароджених, яким проводили операцію артеріального переключення з використанням аутологічної пуповинної крові.

20

25

30

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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