



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55244 (13) A

(51) 7 G01N33/48, G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ АУТОІМУННОЇ КРИЗИ

1

2

(21) 2002086566

(22) 07 08 2002

(24) 17 03 2003

(46) 17 03 2003, Бюл. № 3, 2003 р.

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА  
АКАДЕМІЯ

(57) Спосіб прогнозування розвитку аутоімунної кризи, що включає відбір та аналіз діагностичних показників з остаточною прогнозуванням перебігу, який відрізняється тим, що додатково визначають фактори Хагемана та Крістмаса як маркери пошкодження ендотеліальних клітин, концентрацію проконвертину, як діагностичні показники - антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла та великі лімфоцити з гранулами в периферійній крові, а при аналізі розраховують прогностичний

індекс І, якщо останній сягає понад 1,0 ум од, прогнозують розвиток аутоімунної кризи, за умови, що прогностичний індекс розраховують за формулою

$$I = \frac{0,7 \cdot \text{АНЦА}}{(0,35 \cdot \text{ВГЛ}) + (0,7 \cdot \text{АНЦА})} + \left[ \left( \frac{\text{КФп}}{\text{КФк}} \right) + \left( \frac{\text{ФХп}}{\text{ФХк}} \right) + \left( \frac{\text{ПКп}}{\text{ПКк}} \right) \right],$$

де

АНЦА - антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла,

ВГЛ - великі лімфоцити, що містять гранули,

ХФ - фактор Хагемана,

КФ - фактор Крістмаса,

ПК - проконвертин,

п - значення показника у пацієнта,

к - контрольне значення

Винахід відноситься до медицини, а саме, до досліджень або аналізу матеріалів особливими способами, переважно біологічних, здебільшого периферичної крові, та може бути використаним в клініці внутрішніх хвороб, наприклад в ревматології чи терапевтичній практиці для оцінки запальних процесів ревматичних захворювань.

Відомий спосіб прогнозування розвитку аутоімунної кризи, що містить відбір та аналіз діагностичних показників з остаточною прогнозуванням перебігу, у відповідності з яким, відбір діагностичних показників виконують під час комплексної терапії глюкокортикоїдними та цитостатичними препаратами, аналізують щонайменше 10 показників, які підтверджують розвиток аутоімунної кризи при ревматичних захворюваннях з аутоімунним та імунотоксичним механізмом розвитку [1,2,3].

До причини, що стримують досягнення очікуваного технічного результату, належать низька інформативність діагностичних критеріїв, внаслідок ігнорування специфічних показників відповідної реакції організму при появі запального процесу, та замала швидкість визначення патологічного стану, що стримує можливість прогнозування розвитку аутоімунної кризи при ревматичних захворюваннях з аутоімунним та імунотоксичним механізмом, а також застосування своєчасних

лікувально-тактичних заходів.

Іншим способом прогнозування аутоімунної кризи з аналогічного приводу також властива низька інформативність визначення патологічного стану, що дозволяє їх використати лише для оцінки тяжкості процесу [4,5].

В основу способу прогнозування розвитку аутоімунної кризи поставлено задачу шляхом використання специфічних показників ранньої відповідної реакції ендотеліальних клітин і показників клітинних імунологічних реакцій підвищити інформативність та швидкість визначення патологічного стану при використанні.

Означений вище технічний результат досягається тим, що у відомому способі прогнозування розвитку аутоімунної кризи, що містить відбір та аналіз діагностичних показників з остаточною прогнозуванням перебігу, згідно з винаходом, додатково визначають фактори Хагемана та Крістмаса, як маркери пошкодження ендотеліальних клітин, концентрацію проконвертину, як діагностичні показники - антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла та великі лімфоцити з гранулами в периферійній крові, а при аналізі розраховують прогностичний індекс І, якщо останній сягає понад 1,0 ум од, прогнозують розвиток аутоімунної кризи, за умови, що прогностичний індекс розраховують за формулою

(13) A

(11) 55244

(19) UA

$$Pi = \frac{0,7 \times \text{АНЦА}}{(0,35 \times \text{ВГЛ}) + (0,7 \times \text{АНЦА})} + \left[ \left( \frac{\text{КФп}}{\text{КФк}} \right) + \left( \frac{\text{ФХп}}{\text{ФХк}} \right) + \left( \frac{\text{ПКп}}{\text{ПКк}} \right) \right]$$

де АНЦА - антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла,

ВГЛ - великі лімфоцити, що містять гранули,

ХФ - фактор Хагемана,

КФ - фактор Крістмаса,

ПК - проконвертин,

п - значення показника у пацієнта,

к - контрольне значення

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності суттєвих ознак з означеним вище технічним результатом полягає в наступному

Встановлено, що відповідною реакцією організму на розвиток аутоімунної кризи у хворих на ревматичні захворювання з аутоімунним та імунотоксичним механізмом розвитку є зміни показників клітинного і гуморального імунітету, який виникає пізніше ніж розгортаються ускладнення. З цього приводу, дослідження маркерів активації і пошкодження клітин ендотелію, який ґрунтується, з одного боку, на фізіологічно закріпленій спроможності лейкоцитів швидко реагувати на будь-які зміни гомеостазу в організмі, а з другого, на випередженні змін активності факторів згортання крові та їх біологічно активних речовин при запальних процесах у хворих на ревматичні процеси з аутоімунним та імунотоксичним механізмом розвитку.

Як інформативні маркери дослідження у 164 хворого шляхом проточної флюорометрії (з застосуванням фіксованих спиртом нейтрофілів) відбирали антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла. У лейкоцитах периферійної крові, з фарбуванням по Папенгейму - великі лімфоцити, що містять гранули, фактори Хагемана та Крістмаса, як маркери пошкодження ендотеліальних клітин і проконвертин біохімічними засобами. Дослідження проводили як при потрапленні хворого до стаціонару, так і протягом всього терміну лікування. Аналіз отриманих даних дозволив дійти висновку про наявність тісного взаємозв'язку між станом клітинного імунітету та реологічними властивостями крові, що дозволило обчислити прогностичний індекс. Вибір критеріальних значень показника здійснено математичним шляхом, на підставі розрахунків термодинамічної оцінки фазних станів біосистеми за результатами біохімічних досліджень, з подальшою інтерпретацією результатів на 1000 випадків. При встановленні критеріїв виходили з фактичних даних досліджуваних показників антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл великих лімфоцитів з гранулами, факторів Хагемана та Крістмаса та проконвертину.

Результати проведених досліджень дозволили встановити математичну залежність прогностичного індексу від середніх значень показників антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл, великих лімфоцитів з гранулами, факторів Хагемана, Крістмаса та проконвертину.

Критичним значенням прогностичного індексу є 1,0 ум од, яка відповідає наявності розвитку ускладнень в перебіг ревматичного захворювання, наприклад, аутоімунної кризи.

Тож, сукупність відокремлюючих ознак винаходу, що заявляється, є суттєвою бо має причин-

но-наслідковий зв'язок з очікуваним технічним результатом, а саме, з підвищенням інформативності оцінки та підвищенням швидкості визначення патологічного стану.

Додаткові властивості запропонованого рішення задачі полягають в технологічності виконання, мінімізації обсягу досліджуваного матеріалу, обмеженні використання додаткового обладнання та доступності відтворення.

Відомості, що підтверджують можливість здійснення способу прогнозування розвитку аутоімунної кризи з отриманням технічного результату полягають в наступному.

Для здійснення способу прогнозування розвитку аутоімунної кризи необхідні фотометр (проточна фотометрія), світовий мікроскоп, набір реактивів.

Антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла визначають шляхом проточної флюорометрії з застосуванням нейтрофілів, що фіксуються спиртом, у лейкоцитах периферійної крові - великі лімфоцити, що містять гранули при фарбуванні за Папенгеймом, фактори Хагемана та Крістмаса, як маркери пошкодження ендотеліальних клітин, і проконвертин. Термін визначення антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл обмежують 20 хвилинами, великих лімфоцитів з гранулами - 15 хвилинами, фактори Хагемана та Крістмаса та проконвертин - 30 хвилинами.

Спосіб прогнозування розвитку аутоімунної кризи здійснюється у наступній послідовності.

Спочатку виготовляють цитологічні мазки з периферійної крові шляхом проколу 3-го пальця лівої руки. Мазки фіксують 30 сек етанол-формаліновим агентом. Надалі проводять цитохімічні реакції на мазках крові для виявлення великих лімфоцитів з гранулами та фарбують їх шляхом Папенгейма. Одночасно, шляхом проточної флюорометрії, з застосуванням фіксованих спиртом нейтрофілів, визначають антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла. Фактори Хагемана та Крістмаса, як маркери пошкодження ендотеліальних клітин, і проконвертин визначають традиційними біохімічними засобами. Після визначення показників розраховують прогностичний індекс.

$$Pi = \frac{0,7 \times \text{АНЦА}}{(0,35 \times \text{ВГЛ}) + (0,7 \times \text{АНЦА})} + \left[ \left( \frac{\text{КФп}}{\text{КФк}} \right) + \left( \frac{\text{ФХп}}{\text{ФХк}} \right) + \left( \frac{\text{ПКп}}{\text{ПКк}} \right) \right]$$

де АНЦА - антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла,

ВГЛ - великі лімфоцити, що містять гранули,

ХФ - фактор Хагемана,

КФ - фактор Крістмаса,

ПК - проконвертин,

п - значення показника у пацієнта,

к - контрольне значення.

Завдяки поширенню інформативності критеріїв оцінки перебігу ревматичного захворювання шляхом порівняння значення шуканого прогностичного індексу з його критичним значенням (1,0 ум од) прогнозують наявність аутоімунної кризи, при цьому тривалість визначення патологічного стану, у відповідності з винаходом, скорочується майже у 25 разів.

Приклад 1. Хвора С 19 років, госпіталізована в міський ревматологічний центр з клінічними

ознаками системного червоного вовчак. При проведенні досліджень розрахований прогностичний індекс сягав 1,0 ум од. Після його порівняння з критичним значенням встановили сприятливий прогноз перебігу захворювання.

Після повноцінної консервативної терапії клінічний стан хворої значно покращився, загальноклінічні та біохімічні аналізи нормалізувались. Прогностичний індекс наприкінці лікування дорівнював 0,75 ум од. Хвору виписано зі стаціонару через 3 тижні у задовільному стані. Термін визначення патологічного стану тривав 1 годину.

Приклад 2. Хвора Ф. 42 роки госпіталізована до центру з діагнозом системний червоний вовчак, активний III ступені. Після досліджень прогностичний індекс становив 1,8 ум од. Складений сумнівний прогноз клінічного перебігу захворювання, з можливим подальшим розвитком ускладнень у вигляді аутоімунної кризи. Своєчасне проведення інтенсивної протизапальної терапії - синхронізує лікування (плазмафорезом, глюкокортикоїдами, цитостатиками тощо) запобігло розвиток ускладнень. Після проведення терапевтичного курсу, прогностичний індекс набув значення 0,9 ум од. - хвору виписано зі стаціонару за 3,0 тижні в задовільному стані.

Приклад 3. Хворий М. 39 років госпіталізований до центру з діагнозом вузликовий поліартерит. До призначення терапії прогностичний індекс сягав 2,4 ум од., що відбивало важкий перебіг захворювання з розвитком аутоімунної кризи. Здійснення повноцінної інтенсивної терапії дозволило усунути поглиблення розвинутої кризи. Продовження активного впливу на запальний процес сприяло подальшому зниженню прогностичного індексу до 1,2 ум од., що свідчило про сприятливе, поступове завершення цього процесу. Опісля 3,5 тижнів, при значенні прогностичного індексу 1,0 ум од., хворого виписано у задовільному стані для подальшого амбулаторного лікування.

Тож, після клінічного випробування винаходу, заявником встановлено, що заявлений спосіб може бути використаний в клініці внутрішніх хвороб та ревматології. Для заявленого об'єкту у тому вигляді, як він охарактеризований у незалежному пункті формули, підтверджена можливість здійснення за допомогою вказаних в заявці чи відомих до дати пріоритету засобів. Спосіб, що впливає на заявлене рішення задачі допоможе прискорити прогнозування аутоімунної кризи більш ніж у 25 разів по відношенню до прототипу, з можливістю здійснення на ранніх етапах проявів запалення та розробки системи своєчасних адекватних терапевтичних заходів.

Таким чином, розроблений спосіб прогнозування розвитку аутоімунної кризи відповідає умовам «новизна», «винахідницький рівень» та «промислова придатність» і може бути кваліфікований винаходом України.

Джерела інформації

1. Алекберова З.С., Кошелева Н.М., Белицкая С.Г. Мониторинг активности системной красной волчанки при беременности // Тер. арх. -1994. - №10. -С.46-51.

2. Баранов А.А. Клинико-иммунные аспекты патологии сосудов при системных васкулитах и некоторых ревматических заболеваниях. Дис. д-ра мед. наук. 14.01.12. Ярославский мед. ин-т. - Ярославль, 1998. - с.354.

3. Насонов Е.Л., Баранов А.А. Патогенетическое обоснование лечения системных васкулитов // Клин. мед. -1999. - №7. -С.15-18.

4. Мазурин А.В. Роль фактора Хагемана в коагуляции // Тер. арх. -1996. -№3. -С.46-49.

5. Макарушин А.А. Состояние функций кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов у больных с системной красной волчанкой и системными васкулитами. Дис. канд. мед. наук. 14.01.12. / Ярославский мед. ин-т. - Ярославль, 1996. - с.156.