



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 58896

(13) A

(51) 7 G01N33/00

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

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЗАПАЛЕННЯ В РЕСПІРАТОРНОМУ ТРАКТІ У ПРАЦІВНИКІВ МЕТАЛУРГІЙНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ

1

2

(21) 2002119191

(22) 19 11 2002

(24) 15 08 2003

(46) 15 08 2003, Бюл. № 8, 2003 р.

(72) Токаренко Іван Іванович, Поливода Сергій Миколайович

(73) ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, Токаренко Іван Іванович, Поливода Сергій Миколайович

(57) Спосіб діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної

промисловості шляхом дослідження біологічного матеріалу з респіраторного тракту, який відрізняється тим, що як біологічний матеріал з респіраторного тракту використовують конденсат повітря, видихуваного на поверхню охолодженої чашки Петрі, і визначають вміст нїтрит-іонів після конверсії нїтрат-іонів у нїтрит-іони за допомогою металевого кадмію та діагностують запалення в респіраторному тракті при вмісті нїтрит-іонів більшому ніж 2,48мкМоль/л

Вінахід стосується медицини, а саме лабораторної діагностики і може бути використаний для діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості

Значне збільшення кількості хронічних обструктивних захворювань легень, серед яких переважає хронічний обструктивний бронхіт, стало причиною пильної уваги лікарів різних спеціальностей. Ця медична проблема ускладнюється і соціальною проблемою росту професійної захворюваності обструктивними захворюваннями легень, зокрема хронічним пиловим бронхітом, який займає одне з перших місць за розповсюдженістю на крупних підприємствах металургійної промисловості. У зв'язку з цим, невідкладною проблемою є розробка точних способів діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості, що дозволить своєчасно провести необхідну терапію та у більшості випадків запобігти появі небезпечних ускладнень. Велика імовірність виникнення різних ускладнень пов'язана з неточною та несвоєчасною діагностикою запалення, що в підсумку призводить до росту інвалідизації та смертності серед населення. Тому дуже актуальним є пошук надійних маркерів, які дозволили б точно діагностувати запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості.

Відомий спосіб діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості, що полягає у наступному

1. Хворому проводять бронхоальвеолярний

палаж зі збором бронхоальвеолярного змиву стандартним способом

2. Досліджують відносний вміст альвеолярних макрофагів серед інших клітинних елементів у складі бронхоальвеолярного змиву

3. Діагностують запалення респіраторного тракту у працівників металургійної промисловості, при рівні альвеолярних макрофагів у складі бронхоальвеолярного змиву від 76,2% і більше

(Артюнина Г.П., Рочева И.И., Лештаева Н.Р. и др. Заболевания респираторной системы у работающих в производстве никеля, кобальта, меди // Медицина труда и промышленная экология - 1998, № 11, - С. 32-35) Суттєвими ознаками прототипу і винаходу, що збігаються є такі

1. Дослідження біологічного матеріалу з респіраторного тракту

Спосіб діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості за даними дослідження бронхоальвеолярного змиву є достатньо інформативним, дозволяючи оцінити зміни клітинної ланки місцевої неспецифічної резистентності. Разом з тим даному способу притаманний значний суб'єктивізм, через те, що процедура проведення бронхоскопії є значною мірою нефізіологічною і спричиняє стресорну дію на клітини респіраторного тракту. Таким чином, сама процедура бронхоскопії здатна привести до змін клітинного складу порожнини і слизової оболонки респіраторного тракту. Крім того, точність і відтворюваність вказаного способу

(13) A

(11) 58896

(19) UA

діагностики запалення респіраторного тракту у працівників металургійної промисловості залежить від техніки проведення бронхоскопії і досвіду лікаря. Таким чином, визначення відносно кількості альвеолярних макрофагів у складі бронхоальвеолярного змиву не дає змоги достовірно і точно діагностувати запалення респіраторного тракту, а значна доля суб'єктивних факторів, заважає достатній відтворюваності результатів дослідження.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості, шляхом дослідження зразка іншого біологічного матеріалу з респіраторного тракту, що дозволить підвищити точність, достовірність та відтворюваність результатів дослідження.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі діагностики запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості, шляхом дослідження біологічного матеріалу з респіраторного тракту, новим є те, що в якості біологічного матеріалу з респіраторного тракту використовують конденсат повітря, видихаємого на поверхню охолодженої чашки Петрі, і визначають вміст нітрит-іонів, після конверсії нітрат-іонів у нітрит-іони за допомогою металевого кадмію та діагностують запалення в респіраторному тракті при вмісті нітрит-іонів більшому ніж 2,48мкМоль/л.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом, що досягається, полягає у наступному. Для діагностики запалення у респіраторному тракті визначають вміст кінцевих метаболітів оксиду азоту нітрит- і нітрат-іонів у конденсаті видихаємого повітря. Діагностика запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості за вмістом кінцевих метаболітів оксиду азоту актуальна для даної категорії людей через те, що дозволяє швидко, а головне достовірно і точно проводити моніторинг стану респіраторного тракту. Відомо, що рівень вказаних кінцевих метаболітів оксиду азоту в організмі прямо пропорційний продукції оксиду азоту, який у великій кількості продукується клітинами неспецифічного захисту при запальних процесах. Збільшення продукції оксиду азоту у конденсаті видихаємого повітря, яке спостерігається у хворих з обструктивними захворюваннями респіраторного тракту, пов'язане з експресією індукційно-ізоформи синтази оксиду азоту і є показником розвитку запального процесу. Індукторами експресії даної ізоформи синтази оксиду азоту клітинами респіраторного тракту є бактеріальні ліпополісахариди та прозапальні цитокіни. При цьому, інтенсивність продукції оксиду азоту залежить виключно від розвитку запалення респіраторного тракту. Оксид азоту є важливим внутрішньо- і міжклітинним посередником здійснення таких життєво важливих функцій, як регуляція функціонального стану епітелію і гладенько-м'язових клітин респіраторного тракту, шляхом модуляції активності гуанілатциклази, потужна мікробіцидна активність та здатність регулювати функціонально-метаболічний стан клітин неспецифічного захисту. Неповний перелік проявів функціональної активності оксиду азоту, вказує на

доцільність визначення його рівня у конденсаті видихаємого повітря для діагностики запалення респіраторного тракту. Відомо, що конденсат видихаємого повітря, крім розчинених летючих сполук, містить також білкові молекули (адренкортикотропний гормон, кортизол та ін.), які можуть зменшити відновлювальну здатність гранул металічного кадмію. Тому процедура проведення депротейнізації конденсату видихаємого повітря є важливим етапом при визначенні рівня кінцевих метаболітів оксиду азоту в організмі. Так само важливим етапом є конверсія нітрат-іонів у нітрит-іони. Визначення лише рівня нітрит-іонів не дає змоги точно і достовірно оцінити продукцію оксиду азоту в організмі людини, через те, що значна частина нітрит-іонів окислюється далі до нітрат-іонів. У зв'язку з цим необхідно проводити конверсію нітрат-іонів до нітрит-іонів за допомогою гранул металевого кадмію. Таким чином, дослідження рівня продукції оксиду азоту за вмістом кінцевих метаболітів його у конденсаті видихаємого повітря, з обов'язковим проведенням додаткових етапів лабораторного дослідження депротейнізації досліджуваного зразка та конверсії нітрат-іонів до нітрит-іонів у ньому, дозволить значно підвищити точність, достовірність та відтворюваність способу діагностики запалення респіраторного тракту.

Для визначення показника норми, нами було обстежено 40 практично здорових осіб. Серед обстежених були представлені різні вікові групи (згідно рекомендацій ВОЗ), середній вік склав $34,7 \pm 42,3$ роки, жінок було 14 (35%), чоловіків 26 (65%). Після обчислення результатів обстеження групи здорових осіб, вміст нітрит-іонів в конденсаті видихаємого повітря склав 2,47-10,01мкМ. Крім того, було обстежено 78 працівників металургійного підприємства, хворих на хронічний пиловий бронхіт та встановлено, що у хворих з цією патологією рівень нітрит-іонів знаходився в межах 2,48-5,37мкМ.

Спосіб здійснюється таким чином:

1 Отримують зразок конденсату видихаємого повітря, шляхом видихання на поверхню охолодженої чашки Петрі впродовж 5 хвилин з середньою частотою (16 - 18 за хвилину). При цьому вдихання і видихання повітря здійснюється через рот.

2 Проводять депротейнізацію конденсату видихаємого повітря, для чого змішують 50мкл отриманого конденсату видихаємого повітря з розчинами сульфату цинку (кінцева концентрація - 0,4%) та гідроксиду натрію (кінцева концентрація - 27,5мМ).

3 Реакційну суміш ретельно перемішують.

4 Центрифугують 20 хвилин при 3000об/хв.

5 Відбирають депротейнізовану надосадову рідину для подальшого аналізу.

6 До 0,25г гранул металевого кадмію додають 0,5мл сірчаної кислоти.

7 Гранули ретельно суспендують.

8 Центрифугують 1 хвилину при 1500об/хв.

9 Надосадову рідину відбирають.

10 До осаду гранул кадмію додають дистильовану воду і відмивають гранули шляхом центрифугування протягом 1 хвилини при 1500 об/хв.

11 Процедуру відмивання гранул кадмію проводять тричі дистильованою водою і один раз

0,2М гліцин-гідроксид натрію буферним розчином (рН-9,7)

12 Після останнього відмивання, надосадову рідину повністю відбирають

13 Конвертують нітрат-іони у нітрит-іони, для чого до гранул кадмію додають депротеїнізовану надосадову рідину досліджуваної проби

14 Додають 80мкл 0,6М гліцин-гідроксид натрію буферного розчину (рН-9,7)

15 Інкують реакційну суміш 20 хвилин при кімнатній температурі (22°C)

16 Центрифугують реакційну суміш 1 хвилину при 1500об/хв

17 До надосадової рідини об'ємом 200 мкл, додають реактив Gness у співвідношенні 2:1

18 Інкують суміш 15 хвилин при кімнатній температурі (22°C)

19 Реєструють оптичну щільність інкубаційної суміші при 540нм, за допомогою фотоелектроколориметричного рідера

20 Визначають вміст нітрит-іону по калібровочній кривій стандартним способом

21 Діагностують запалення в респіраторному тракті у працівників металургійної промисловості при рівні нітрит-іонів більшому ніж 2,48мкМ

Приклад Хворий Б 45 років, працівник крупного металургійного підприємства, надійшов у профпатологічне відділення Запорізької обласної клінічної лікарні зі скаргами на кашель з гнійним харкотинням, слабкість, спитність, головний біль, утруднене дихання, задухи у спокої та при найменшому фізичному навантаженні, сухий кашель, збільшення температури до 38,8°C. Вказані ознаки порушення функції дихання з'явилися вперше. За три дні до надходження в клініку, після перенесеної гострої респіраторної вірусної інфекції, з'явилися вищезазначені скарги, виникнення яких хворий пов'язує із значним переохолодженням. Анамнез життя - без особливостей, спадкової патології в родині не виявлено. З 1982 року і до теперішнього часу працює різчиком металу, де піддається впливу шкідливих професійних факторів (пил, випромінювання, загазованість). Пацієнт палить впродовж 10 років, інші шкідливі звички заперечує, алергологічний анамнез не обтяжений. Об'єктивно спостерігаються наступні зміни. Задуха в спокої. Шкіра та видимі слизові оболонки бліді, акроціаноз, на обличчі дифузний ціаноз. При пальпації верхівний поштовх відзначається на 2-2,5см вліво від середньоключичної лінії з лівого боку в 5 міжребір'ї, поширений, збільшений по висоті, посилений. Перкуторно - над всією поверхнею легень легеневий звук з тимпаничним та коробковим відтінком, аускультативно - дихання жорстке, велика кількість

розсіяних сухих та вологих хрипів, більше у нижніх відділах. Частота дихання 26 за 1 хвилину, виражений експіраторний характер задухи. Артеріальний тиск у момент надходження 155/95мм рт.ст., пульс 87 ударів за хвилину, задовільних властивостей. На електрокардіограмі - ознаки гіпертрофії міокарду правого шлуночка, порушення процесів реполяризації в правих грудних відведеннях, неповна блокада правої ніжки пучка Гіса. При ехокардіографічному дослідженні спостерігається збільшення порожнини правого шлуночка, потовщення передньої стінки правого шлуночка та міжшлуночкової перетинки, парадоксальний рух міжшлуночкової перетинки у систолу, помірне зниження скоротливих властивостей лівого шлуночка. При рентгенологічному дослідженні легень збільшеної повтряності з посиленням судинним малюнком, корені деформовані. Враховуючи скарги хворого, клінічну картину захворювання, дані об'єктивного дослідження, виникла необхідність додаткових лабораторних досліджень з метою оцінки інтенсивності запального процесу. Для цього хворому було проведено бронхоальвеолярний лаваж зі збором бронхоальвеолярного змиву стандартним способом. Дослідження клітинного складу бронхоальвеолярного змиву дозволило встановити відносний вміст альвеолярних макрофагів, який становив 70,5%, що не дозволило однозначно діагностувати запалення респіраторного тракту. Але враховуючи дані анамнезу та клінічної картини захворювання, ймовірність високої інтенсивності запального процесу була досить великою, тому для оцінки інтенсивності запального процесу був застосований пропонуємий спосіб. Після обчислення отриманих результатів вміст нітрит-іонів склав 8,34мкМ, що свідчило про наявність і високу інтенсивність запального процесу у респіраторному тракті. Це дозволило точно встановити діагноз та призначити курс патогенетичне обумовленої терапії. Через три тижні комплексного лікування з включенням засобів, які спроможні були зменшити інтенсивність запального процесу, поряд з поліпшенням клінічної картини захворювання та позитивною динамікою клініко-лабораторних даних, рівень нітрит-іонів в конденсаті видихаємого повітря склав 4,27мкМ, що свідчило про зменшення інтенсивності запального процесу у хворого, до середньої за інтенсивністю. Таким чином, використання способу, що пропонується, дозволяє точно оцінити інтенсивність запального процесу при бронхолегневих захворюваннях, а у конкретному випадку, дозволило вчасно призначити необхідну терапію і відвернути появу ускладнень.