



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 60059

(13) A

(51) 7 A61B5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ БІОХІМІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ ЛЕГЕНЬ ПРИ БРОНХОЛЕГЕНЕВИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ

1

2

(21) 2003010443

(22) 17 01 2003

(24) 15 09 2003

(46) 15 09 2003, Бюл. № 9, 2003 р.

(72) Лихолат Олена Анатоліївна, Павленко Олена Борисівна

(73) УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ МЕДИКО-СОЦІАЛЬНИХ ПРОБЛЕМ ІНВАЛІДНОСТІ

(57) Спосіб біохімічної діагностики стану легень при бронхолегеневих захворюваннях, що включає одночасне визначення активності трипсину, α 1-антитрипсину, α 2-макроглобуліну, супероксид-дисмутази, концентрації тіобарбітуровокислотно-(ТБК)-позитивних продуктів, який відрізняється тим, що визначають вміст означених показників у бронхоальвеолярному лаважі

Винахід відноситься до медицини, а саме до пульмонології

Захворювання легень є одними з найбільш розповсюджених з точки зору інвалідності, смертності, витрат на лікування як в Україні, так і в усьому світі. Тому оптимізація та раціональне проведення диференційної діагностичної та терапевтичної допомоги за бронхолегеневої патології і, зокрема, перебігу хронічного обструктивного бронхіту, стає нагальною потребою у фтизіатрії та пульмонології. У зв'язку з вище наведеним розробка нових біохімічних методичних підходів до обстеження хворих дозволить підвищити якість діагностики уражень легень і ефективність застосування сучасних індивідуальних програм реабілітації за визначеної патології.

Легені є органом з великою площею біологічно активної вистилки, що продукує велику кількість біологічно активних речовин. Наразі достатньо розвинені біохімічні методику стану легень, що базуються на вивченні біохімічного статусу сироватки крові. Але недосконалість такого підходу визначається неспроможністю безпосередньо оцінити функціональний потенціал легеневої тканини, прогнозувати подальший перебіг патології, контролювати доцільність застосованих терапевтичних підходів, особливо за наявності супутніх запальних захворювань. Тому біохімічне вивчення показників бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ) є актуальним і перспективним напрямом пульмонологічних досліджень.

Легенева протеїназна активність має велике

значення в розвитку бронхолегеневих захворювань, патогенез яких у великій мірі залежить від стану біологічного антиподу останньої - антипротеазної активності. Вирішальним фактором є активація трипсину, як тригерного фактору. Внаслідок впливу факторів ендо- та екзогенного походження виникає внутрішньотканинна активація трипсину, який запускає аутокаталітичні процеси в органі, здійснює прямий аутодигестивний ефект, впливає на судинне русло, підвищує проникність капілярів легеневої тканини, що призводить до розвитку багаточисельних мікроциркуляторних порушень, сприяє активації та подальшому впливу інших легеневих протеїназ-еластази, хемотрипсину та ін., деяких біологічно активних речовин, що індукують формування важких метаболічних розладів. Основним моментом індукції аутокаталізації трипсину є порушення динамічної рівноваги в системі "трипсин-інгібітор", який характеризується дефіцитом інгібіторів трипсину. Інгібітори протеолізу, основними з яких є α 1-антитрипсин (α 1-АТ) та α 2-макроглобулін (α 2-МГ), виконують важливі фізіологічні функції, затримують передчасну активацію протеїназ, захищають тканини від протеолізу мікробними ензимами, регулюють стан звертальної системи та фібринолізу, впливають на артеріальний тиск та проникність судин.

Нативний α 2-МГ не лише сорбує на себе протеїнази, але і спроможний зв'язувати інші інгібітори протеїназ, що сприяє утворенню резервного фонду інгібіторів, котрий реалізується за умов активації протеолітичних систем [1]. Але визначення

(13) A

(11) 60059

(19) UA

наведених показників стосується оцінки ензимної активності в сироватці крові

Порушення вільно-радикальних процесів є однією з ланок патогенезу запальних захворювань бронхолегеневого апарату. Їх інтенсифікацій, що характеризується накопиченням оксидантів за одночасного зниження антиоксидантної здатності, має особливе значення для функціонування органів дихання. Порушення перекисного гомеостазу сприяє формуванню хронічного запального процесу в легенях, прогресуванню бронхіальної обструкції. Один з головних компонентів антиоксидантної ензимної системи - супероксиддисмутаза (СОД), яка знешкоджує супероксидні аніони шляхом їх дисмутації й перекис водню триплетний кисень [2].

Сучасні методики вивчення балансу в протеїназо-антипротеїназній системі та стану вільно-радикальних процесів базуються на реєстрації активації трипсину та його інгібіторів, рівня їх вторинних та третинних продуктів і, перш за все, ТБК-позитивних речовин, а також активності СОД у сироватці крові [3] (прототип).

Але наведені методики одночасного визначення активності трипсину та його інгібіторів, супероксиддисмутази, вмісту ТБК-позитивних продуктів не дозволяють адекватно оцінити стан порушень безпосередньо в легеневій тканині, оскільки порушення протеїназо-антипротеїназної активності сироватки крові може бути проявом наявності будь-якого запального, деструктивного процесу, розвитку пухлин чи некрозу в організмі незалежно від локалізації патологічних порушень. Інтенсифікація вільно-радикальних процесів універсальною патологічною реакцією, за якої реалізується порушення клітинних мембран з подальшим розвитком каскаду запальних або деструктивних процесів. Тому виникає необхідність удосконалення способів діагностики хронічних легеневих захворювань з урахуванням їх патогенетичних особливостей та локалізації джерела завалення.

Основу винаходу становить удосконалення способу біохімічної діагностики стану легень при бронхолегеневих захворюваннях, при якому завдяки одночасному визначенню стану протеїназо-антипротеїназної та антиоксидантної систем та вільно-радикальних процесів в бронхоальвеолярному лаважі досягається можливість оцінити функціональний потенціал легеневої тканини, визначити патогенетичну ланку безпосередньо в *locus minoris* (джерелі патологічного процесу), що забезпечує підвищення якості диференційної діагностики пульмонологічних захворювань, вірогідності отриманих результатів, завдяки чому можливе поліпшення діагностично-терапевтичної допомоги, контролю за застосуванням медичних препаратів даним контингентом хворих у медичних закладах України.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб біохімічної діагностики стану легень при бронхолегеневих захворюваннях містить одночасне визначення активності трипсину, α 1-антитрипсину, α 2-макроглобуліну, супероксиддисмутази, концентрацію тобарбітурової кислоти (ТБК)-позитивних продуктів, згідно винаходу, одночасно визначають вміст означених показників у бронхоальвеолярно-

му лаважі, що сприяє підвищенню інформативності та специфічності діагностики різних нозологічних форм ураження легень.

Таким чином, має місце причинно-наслідковий зв'язок між основними ознаками, що характеризують винахід, та технічним результатом, який досягається.

У даного методичного підходу вперше досягається можливість вивчення стану протеїназо-антипротеїназного та оксидантно-антиоксидантного балансу безпосередньо в бронхоальвеолярному лаважі, тобто порушення означених показників встановлюється в змиві з легеневої тканини, що дозволяє безпосередньо оцінити біохімічну активність легень, їх функціональний потенціал. Цим досягається підвищення специфічності методик, оскільки аналіз визначених показників у системному кровообігу (при заборі крові із периферійної вени) не дозволяє визначити кореляцію між вираженістю патологічних змін у досліджуваному органі або системі та активністю трипсину, його інгібіторів, СОД, концентрацією ТБК-позитивних продуктів у сироватці крові, оскільки підвищення протеолітичної активності простежується за розвитку більшості запальних процесів а інтенсифікація вільно-радикальних процесів є універсальним механізмом функціональних та деструктивних порушень в усіх органах і системах організму. Таким чином, за наявності сполученої патології запального або дистрофічного характеру застосування існуючих методик не дозволяє адекватно оцінити ступінь пошкодження стосовно вивчаемого органу або системи. У пропонованому способі цей недолік відсутній, оскільки безпосередньо вивчається стан біохімічного гомеостазу у легеневій тканині, і концентрацію речовин у даному випадку обумовлюють лише патологічний процес, локалізований у бронхолегеневій системі. До того ж, одночасне визначення буферних систем дозволяє оцінити функціональний потенціал тканини, прогнозувати характер подальшого перебігу патологічного процесу, впливати медикаментозними засобами безпосередньо на основний патогенетичний механізм, контролювати ефективність застосування терапевтичних заходів.

Завдяки використанню пропонованої методики можливо покращити діагностику різних стадій ураження легень, таких, як гострий та хронічний неструктивний бронхіт, хронічний обструктивний бронхіт, бронхіальна астма, пухлини легень, диференціювати перехід катарального ендобронхіту у катарально-гнійний, тому що активація протеолітичної системи та вільно-радикальних процесів є основними патогенетичними ланками визначених захворювань, що також дає змогу ранньої діагностики патологічного стану органу. До того ж, рівень інтенсифікації протеолізу та пероксидації відповідає вираженості та поширеності запалення, ступеню обструкції та деструкції в бронхолегеневій системі.

Дана методика малоінвазивна, зручна у використанні, характеризується малим ризиком у розвитку ускладнень, тому рекомендується для використання у практиці лікувально-профілактичних установ в Україні.

Спосіб діагностики бронхолегеневих захворю-

вань полягає у наступному. В легені хворого за допомогою бронхоскопа Olympus вводять 20 мл фізіологічного розчину, підігрітого до 37°C. Проводять аспірацію легеневого змиву. У отриманому бронхоальвеолярному лаважі одночасно визначають активність трипсину, $\alpha 1$ -антитрипсину ($\alpha 1$ -АТ) і $\alpha 2$ -макроглобуліну ($\alpha 2$ -МГ), використовуючи в якості субстрату бензоіл-аргінин-параїтітроанілін, супероксиддисмутази, концентрацію ТБК-позитивних продуктів за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Порушення протеїназного балансу діагностують у випадку активації трипсину, зниження інгібіторної активності. Дисбаланс перекисного-антиоксидантного гомеостазу визначають при підвищенні концентрації ТБК-позитивних продуктів на тлі зниження активності СОД.

Приклад практичного використання. Хворий К., історія хвороби №9922, знаходився на стаціонарному лікуванні в 6-й міській лікарні з діагнозом "Хронічний обструктивний бронхіт, II ст, фаза загострення, дихальна недостатність ДН II". При надходженні хворий пред'являв скарги на слабкість, кашель, виділення слизово-гнійної мокротини, підвищення температури тіла до 38,5°C, віддишку при фізичному навантаженні, пилливість. Об'єктивно при аускультатії сухі, розсіяні хрипи по всій поверхні легень, тони серця ритмічні, частота серцевих скорочень 75 на хвилину, пульс 120/70, шкіряні покрови та видимі слизові чисті, живіт м'який, печінка у краї реберної дуги. Із анамнезу вважає себе хворим з 1995 року, коли вперше з'явилась віддишка, кашель з виділенням слизової мокротини, підвищення температури тіла. Останнє загострення пов'язане з переохолодженням. Неодноразово лікувався амбулаторно та стаціонарно. Спирографія вказує на значні порушення зовнішнього дихання по обструктивному типу катарально-гнійний бронхіт, запалення III ст активності. Поряд з загальноприйнятими обстеженнями проведена бронхоскопія. На дослідження взятий бронхоальвеолярний лаваж, де визначались показники активності трипсину, $\alpha 1$ -АТ і $\alpha 2$ -МГ, СОД, вміст малонового діальдегіду. Проведене стаціонарне лікування включало антибіотикотерапію, холінолітики, відхаркуючі препарати. Після

лікування позитивна клінічна динаміка, зникнення кашлю, віддишки, виділення мокротини, нормалізація температури тіла. Аускультативно в легенях везикулярне дихання, патологічного феномену не виявлено, відновлення вентиляційних показників функції зовнішнього дихання.

Показники	Трипсин нМ/(с л)	$\alpha 1$ -АТ мкМ/(с л)	$\alpha 2$ -МГ мкМ/(с л)	СОД ум од	МДА мкМ/л
до лікування	6,48	0,66	0,039	3,45	7,27
після лікування	2,90	1,78	0,027	6,12	4,20

Висновок при діагнозі "ХОБ, катарально-гнійний бронхіт" відмічене значне посилення протеолітичної активності на тлі зниження інгібіторного потенціалу (відношення "трипсин/ $\alpha 1$ -АТ" дорівнювало 9,81), інтенсифікація вільно-радикальних процесів та послаблення антиоксидантного захисту.

Після лікування спостерігалось зниження протеїнасної та вільно-радикальної активності при одночасному посиленні активності антиоксидантних ферментів та антипротеїназної ланки (відношення "трипсин/ $\alpha 1$ -АТ" становило 1,63), що співпадало з нормалізацією функції легень. Таким чином, дослідження комплексу запропонованих показників в бронхоальвеолярному лаважі дозволяє об'єктивізувати діагностику порушень легеневої тканини та контролювати ефективність застосованих терапевтичних заходів.

Список літератури, що була прийнята до уваги при розробці матеріалів даної заявки:

1 P J Barnes Managing Chronic Obstructive Pulmonary Disease London, Science press, 2000 - 80 p

2 Repine J E, Bast A, Lankhorst I Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease // Am J Respir Crit Care Med - 1997 V 156 P 341-357

3 Методы исследований и профпатологии / Под ред. О Г Архиповой - М Медицина, 1988 С 38-64 (прототип)