



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **17498** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 33/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС****ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ДЕКОМПЕНСАЦІЇ ХРОНІЧНОГО ЛЕГЕНЕВОГО СЕРЦЯ ПРИ ФІБРОЗНО-КАВЕРНОЗНОМУ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ**

1

2

(21) u200605696

(22) 24.05.2006

(24) 15.09.2006

(46) 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.

(72) Петренко Василь Іванович, Пікас Ольга Богданівна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ.О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб оцінки ступеня декомпенсації хронічного легеневого серця при фіброзно-кавернозному

туберкульозі легень, що включає аналіз плазми крові хворого, який **відрізняється** тим, що в плазмі крові аналізують нітрати, що є метаболітами NO, і при кількості нітратів $1454,9 \pm 94,1$ пмоль/мл діагностують I ступінь, при кількості $1275,4 \pm 85,3$ пмоль/мл - II ступінь, а при кількості $1126,9 \pm 63,1$ пмоль/мл - III ступінь декомпенсації хронічного легеневого серця.

Корисна модель, що заявляється, стосується галузі медицини, а саме - фтизіатрії й пульмонології, та призначена для визначення ступеня декомпенсації хронічного легеневого серця при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень.

Сьогодні туберкульоз як соціально небезпечна хвороба знову став проблемою людства. Відбувся переломний момент в епідеміологічній ситуації з туберкульозом, почалося його поширення, і зараз ця недуга є найпоширенішою інфекцією в Україні. Зростають хронічні форми туберкульозу та ускладнюється його перебіг, знову спостерігаються колиси забуті швидкоплинні форми туберкульозу - так звані сухоти, від яких гинуть молоді люди, діти та підлітки. Недостатня ефективність лікування хворих на туберкульоз, що спостерігається останніми роками, призводить до накопичення пацієнтів із практично незворотною формою фіброзно-кавернозного туберкульозу, підвищення тиску у легеневій артерії і виникнення такого частого ускладнення при даній формі туберкульозу, як хронічне легеневе серце (ХЛС). У лікуванні туберкульозу легень вирішальне значення має антимікобактеріальна терапія, оскільки її режими, їх інтенсивність і адекватність визначають ефективність, переносимість, строки лікування та наслідки. Підвищення ефективності лікування хворих на туберкульоз легень, на наш погляд, можна досягти шляхом удосконалення антимікобактеріальної та патогенетичної терапії на основі розкриття нових механізмів і поглибленого розуміння відомих закономірностей перебігу туберкульозу, що дозволить

розробити нові методи діагностики, лікування і профілактики розвитку ускладнень при хронічних формах туберкульозу, зокрема при фіброзно-кавернозному.

В організмі людини спостерігається широкий спектр біорегуляторної дії оксиду азоту (II) NO - від регуляції кров'яного тиску до антимікробного захисту та внутрішньоклітинної сигнальної трансдукції. NO є одним із важливих медіаторів серцево-судинної системи, роль якого в фізіологічних процесах пов'язана із вазодилатацією, пригніченням агрегації та адгезії тромбоцитів. Тобто, NO - це речовина, яка покращує мікроциркуляцію крові в результаті розслаблення гладеньких м'язів судин та покращення реологічних властивостей крові. Саме внаслідок зниженої здатності клітин судинного ендотелію секретувати NO в адекватній кількості для забезпечення гомеостазу порушується регуляція артеріального тиску [1].

Пригнічення ендотелій-залежного розслаблення судин у значній мірі пов'язане з абсолютним чи відносним дефіцитом ендотеліального NO, в результаті чого знижується його концентрація в крові [2], що веде до дисфункції ендотелію як малих, так і великих судин і, в кінцевому результаті, до виникнення хронічного легеневого серця. Тому тільки оцінка ступеня декомпенсації ХЛС може забезпечити адекватне ведення таких хворих, що позначається на ефективності їх лікування. Проте існуючі способи оцінки ступеня декомпенсації ХЛС є надто громіздкими та дорогими у використанні і не враховують основне захворювання пацієнта.

(13) **U**
(11) **17498**
(19) **UA**

Так, відомий спосіб оцінки ступеня декомпенсації ХЛС, що базується на визначенні ейкозаноїдів, а саме - стабільного метаболіту простагліну (ПГІ₂) -6-кето-ГПФ_{1α} [3]. Визначення стабільного метаболіту простагліну (ПГІ₂) -6-кето- ГПФ_{1α} проводиться суворо за інструкціями за допомогою наборів фірми „Amersham” (Англія) і DRG Inter (США). Згідно даного способу досліджуваним біологічним матеріалом є кров (плазма), де визначають кількість 6-кето- ГПФ_{1α} і визначали ступені недостатності кровообігу (НК): НК без застійних явищ (НК₀₋₁ стадія), НК з застійними явищами (НК_{2А} і НК_{2Б} стадії). У здорових осіб кількість 6-кето- ГПФ_{1α} дорівнювала (18,3±1,5)пг/мл. У хворих із НК₀₋₁ стадією кількість 6-кето- ГПФ_{1α} дорівнювала (30,7±5,9)пг/мл, а із НК_{2А} і НК_{2Б} стадіями кількість 6-кето- ГПФ_{1α} дорівнювала (71,0±11,6)пг/мл.

Однак даний спосіб є громіздким і дорогим у застосуванні. Крім того, згідно даного способу досліджується залежність змін метаболізму арахідонової кислоти 6-кето- ГПФ_{1α} від стадії НК та визначаються тільки дві стадії НК.

Найближчим аналогом (прототипом) способу оцінки ступеня декомпенсації ХЛС при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень, що заявляється, є спосіб, що базується на дослідженні кількості тромбоксану ТхВ₂ системи ейкозаноїдів [4]. Згідно даного способу досліджуваним біологічним матеріалом є плазма крові. Кров беруть із літкової вени у скляні пробірки, одразу вміщують в штатив із льодом, з метою зупинення процесів біосинтезу метаболітів й переходу ейкозаноїдів з одної серії до іншої. Оскільки процес згортання крові супроводжується утворенням простагландинів, перед дослідженням для стабілізації крові у кожному пробірці вносять індометацин, Na₂ ЕДТА, („трилон-Б”), в залежності від потреб методики. З метою поділу плазми і формених елементів кров центрифугують впродовж 15 хвилин при 2500об/хв. Це робиться для видалення тромбоцитів, які при контакті з тромбоном продовжують синтезувати простагландини. Після центрифугування плазму відбирають у відповідних кількостях, запаюють в ампули та зберігають в низькотемпературному рефрижераторі при t=-20°C до використання (максимально - 3 місяці). Визначення тромбоксанів проводиться суворо за інструкціями за допомогою наборів фірми «Amersham» (Англія). Визначення радіоактивності кінцевих зразків, в залежності від ізотопу, проводять на автоматичному гамма-лічильнику „Гамма” (Угорщина) або на рідинній сцинтиляційній системі „Марк-3” фірми „Тракор-Європа” (Голландія). Аналіз зразків, мічених тритієм, проводили, використовуючи вітчизняну сцинтиляційну рідину „ЖС-8” та „ЛСС-103”.

У хворих із ХЛС I ступеня декомпенсації тромбоксан коливається в межах (11,0-16,2)пг/мл, із ХЛС II ступеня декомпенсації - (16,9-18,2)пг/мл, а із ХЛС III ступеня - (18,6-21,8)пг/мл.

Незважаючи на те, що цей спосіб є дуже громіздким у виконанні, що ускладнює його впровадження. До того ж, цей спосіб дорогий у застосуванні та не враховує глибоких патогенетичних чинників, пов'язаних із порушенням оксиду азоту (II), що й знижує захисні властивості організму,

сприяє прогресуванню патологічного процесу у легенях та приєднанню ускладнень. Даний спосіб не враховує біорегуляторну функцію системи NO, яка є патогенетичним чинником порушення вазодилатації, що веде до вазоконстрикції, що, відповідно, не може не позначитись на його точності.

Корисна модель, що заявляється, вирішує завдання підвищення ефективності оцінки ступеня декомпенсації ХЛС при фіброзно-кавернозній формі туберкульозу легень та, відповідно, забезпечення проведення адекватного лікування за рахунок використання в якості показника, що аналізується, метаболітів NO у плазмі крові, який, не дивлячись на більшу доступність, адекватно відображає стан легеневих судин.

Технічний результат від впровадження корисної моделі буде полягати у зменшенні громіздкості та здешевленні оцінки ступеня декомпенсації хронічного легеневого серця при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень і, відповідно, застосування адекватного лікування.

Поставлене завдання вирішується тим, що у відомому способі оцінки ступеня декомпенсації хронічного легеневого серця при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень, який включає аналіз плазми крові хворого, згідно корисної моделі, в плазмі крові аналізують рівень нітратів, метаболітами NO, і при їх кількості (1454,9±94,1)пмоль/мл діагностують I ступінь, при кількості (1275,4±85,3)пмоль/мл діагностують II ступінь, а при кількості у (1126,9±63,1)пмоль/мл діагностують III ступінь декомпенсації ХЛС.

Головною відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання для визначення ступеня декомпенсації ХЛС такого патогенетичного чинника, як метаболіти NO, а саме нітрати, які утворюються в результаті біотрансформації. Їх основна функція - вазодилаторна, тому при зниженні кількості нітратів виникає спазм судин. Це дозволяє значно зменшити громіздкість та здешевити оцінку ступеня декомпенсації ХЛС при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень. За відомими літературними даними такий спосіб оцінки ступеня декомпенсації ХЛС при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень невідомий.

Спосіб, що заявляється, здійснюють наступним чином: для визначення кількості рівня нітратів (NO₃) у плазмі крові використовують колориметричну реакцію за допомогою реактиву Гріса за методом Гріна.

Реактив Гріса готують, змішуючи рівні частини 0,1% водного розчину нафтилентилендіамін гідрохлориду з 1% розчином сульфаніламіну в 5% розчині ортофосфорної кислоти, безпосередньо перед визначенням. При визначенні кількості нітратів (NO₃) використовують бруцин, що дозволяє підвищити чутливість методу в 100 разів. До 1мл проби додають 1мл суміші реактиву Гріса із бруцином і за допомогою спектрофотометру визначають оптичну густину проби при довжині хвилі 405нм проти контрольної проби, що не містить біологічної рідини. Паралельно визначають оптичну густину стандартних розчинів (NaNO₃). На основі отриманих даних будують калібрувальну криву. Кількість NO₃ визначають за калібрувальною кривою, побудованою для стандартних розчинів

NaNO₃ в діапазоні 5-50мкМ.

Визначення NO₃ проводять у аліквотах безбілкових проб, які готують наступним чином. Плазму крові депротейнізують, додаючи до 2,0мл проби 2,0мл 1N хлорної кислоти HClO₄. Вміст пробірки перемішують протягом 30 секунд, ставлять на добу в холодильник і на наступний день центрифугують впродовж 15 хвилин при 2000об/хв. У контрольні проби замість 1,0мл безбілкової надосадової фракції проб додають 1,0мл дистильованої води.

Визначення ступеня декомпенсації ХЛС проводять за кількістю нітратів у плазмі. Зниження кількості NO і, відповідно, його метаболітів нітратів - це чинник, який відіграє важливу роль у патогенезі специфічного запального процесу - туберкульозу, оскільки NO - це речовина, яка покращує як мікро-циркуляцію крові в результаті розслаблення гладеньких м'язів судин, так і реологічні властивості крові. При дефіциті NO цей захисний механізм відсутній і тому створюються умови для вазоконстрикції, розвитку тромбозів та ішемії, що визначає виникнення ішемічної хвороби серця і хронічної легеневої недостатності. При кількості нітратів у плазмі (1454,9±94,1)пмоль/мл визначають I ступінь, при їх кількості (1275,4±85,3)пмоль/мл - II ступінь, а при кількості нітратів у плазмі (1126,9±63,1)пмоль/мл - III ступінь декомпенсації ХЛС.

I ступінь декомпенсації ХЛС клінічно характеризується незначним збільшенням печінки, болями у правому підребер'ї при фізичному навантаженні.

II ступінь декомпенсації ХЛС клінічно характе-

ризується постійним збільшенням печінки, постійним болем в області печінки, пастозністю нижніх кінцівок під вечір (не завжди), олигурією та ніктурією.

III ступінь декомпенсації ХЛС клінічно характеризується значно збільшеною печінкою, набряками на нижніх кінцівках, асцитом, протеїнурією.

Згідно визначеному ступеню декомпенсації рекомендують проводити відповідні лікувальні заходи: призначають серцеві глікозиди (корглікони 0,05% по 1,0мл чи строфантин 0,05 по 0,5-1,0мл) з метою поліпшення загального стану хворого (зменшення розмірів печінки та набряків). Рекомендують зменшити навантаження на серце, призначаючи діуретики (верошпірон 100-400мг на початкових стадіях), тріамтерен 50-150мг/добу, діакарб 0,5-0,75г протягом трьох днів, фуросемід 20-40мг (на пізніх стадіях), периферичні вазодилататори - нітросорбід 100-120мг/добу, молсидомін 5мг 3-4 рази/добу, корватон 5мг 3-4 рази/добу - які усувають спазм легеневої артерії.

Конкретні цифри, які визначають ступінь декомпенсації ХЛС, були встановлені на основі порівняльного аналізу рівнів метаболітів NO нітратів у хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз, розділених на три групи за способом-прототипом (з рівнем тромбосану в межах (11,0-16,2)пг/мл - I ступінь декомпенсації ХЛС, (16,9-18,2)пг/мл - II ступінь декомпенсації ХЛС і (18,6-21,8)пг/мл - III ступінь декомпенсації ХЛС), та у контрольній групі, яку складали здорові особи.

Результати визначення рівня метаболітів NO наведені у таблиці 1:

Таблиця 1

Показники метаболітів NO у плазмі крові

Метаболіти (пмоль/мл)	Хворі на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень із хронічним легене-вим серцем, n=56			Контроль, n=103
	I ступінь декомпенсації, n=18	II ступінь декомпенсації, n=22	III ступінь декомпенсації, n=16	
Нітрати (NO ₃ ⁻)	1454,9±94,1	1275,4±85,3	1126,9±63,1	6380,0±530,6

Як видно із таблиці, при всіх трьох ступенях декомпенсації ХЛС відбувається зменшення кількості метаболітів NO у плазмі крові. Найбільш виражені зміни відмічаються при III ступені декомпенсації ХЛС, де встановлено значне зниження нітратів у плазмі. Це можна пояснити тією обставиною, що у хворих на туберкульоз легень відбувається депресія NO в результаті дії мікобактерій, що сприяє мікроциркуляторним порушенням у легенях і, водночас, постає одним із факторів, які ведуть до трансформації функціональних патологічних змін в організмі. Тому можна вважати, що значне зниження кількості метаболітів NO належить до патогенетичних маркерів прогресування туберкульозу. Чим важчий перебіг туберкульозного процесу, тим суттєвішим є зниження рівня метаболітів NO (нітратів). Нітрати самі по собі не є активними сполуками, але в ході метаболізму вони перетворюються в NO, який викликає розширення кровоносних судин. Оскільки при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень, ускладненому ХЛС, рівень нітратів значно знижується, це приз-

водить до порушення мікроциркуляції в судинах в результаті їх вазоконстрикції. Отже, зниження рівня метаболітів NO призводить до мікроциркуляторних порушень у легенях, що підтверджує роль NO у патогенезі туберкульозу, його прогресуванні та хронізації процесу.

Статистична обробка отриманих даних показала, що при зменшенні кількості нітратів у плазмі крові до (1454,9±94,1)пмоль/мл можна з достовірністю діагностувати I ступінь декомпенсації ХЛС. При зменшенні кількості нітратів у плазмі крові до (1275,4±85,3)пмоль/мл можна діагностувати II ступінь декомпенсації ХЛС. При зменшенні кількості нітратів у плазмі крові до (1126,9±63,1)пмоль/мл можна діагностувати III ступінь декомпенсації ХЛС.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє діагностувати три ступені декомпенсації ХЛС при фіброзно-кавернозній формі туберкульозу легень на основі оцінки рівня метаболітів NO, а саме - кількості нітратів у плазмі, оскільки NO, який утворюється в результаті біотрансформації нітратів, впливає на мікроциркуляцію крові за рахунок роз-

слаблення гладеньких м'язів судин та покращення реологічних властивостей крові. Оскільки при адекватній кількості NO відмічається вазодилататорна його функція, в результаті чого при фізіологічних процесах регулюється судинний тонус та пригнічується агрегація і адгезія тромбоцитів, то при порушенні синтезу NO, а саме - при його дефіциті, створюються умови для вазоконстрикції, розвитку тромбозів і ішемії. Таким чином, визначення кількості нітратів у плазмі крові є важливою частиною оцінки ступеня ХЛС при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень та призначення адекватного лікування цим хворим.

Перевагами запропонованого технічного рішення у порівнянні з прототипом є те, що воно не передбачає значних матеріальних затрат, можливо одночасно обстежувати велику кількість людей. Це досить точний метод, який дає можливість об'єктивно оцінювати ступінь декомпенсації ХЛС.

Приклад 1.

Згідно індивідуальної карти обстежуваного №15 від 18.01.05р. пацієнт Б. поступив на стаціонарне лікування у протитуберкульозний диспансер №1 м. Києва зі скаргами, характерними для фіброзно-кавернозного туберкульозу легень. Окрім цього, у хворого відмічалось незначне збільшення печінки, болі у правому підребер'ї при фізичному навантаженні. Із анамнезу відомо, що хворіє на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень протягом 4 років, лікувався неакуратно. При дослідженні метаболітів NO у плазмі кількість нітратів становила 1459,2пмоль/мл. Це засвідчило I ступінь декомпенсації ХЛС. Пацієнту було призначено адекватне лікування, спрямоване на ліквідацію клінічних симптомів (зменшення розмірів печінки та зменшення болі в області печінки).

Приклад 2.

Згідно індивідуальної карти обстежуваного №20 від 09.02.05р. пацієнт В. поступив на стаціонарне лікування у протитуберкульозний диспансер №1 м. Києва зі скаргами, характерними для фіброзно-кавернозного туберкульозу легень. Окрім цього, у хворого відмічались постійно збільшена печінка, постійні болі в області печінки, пастозність нижніх кінцівок під вечір (не завжди), олігурія та ніктурія. Із анамнезу відомо, що хворіє на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень протягом 7 років, лікувався неакуратно. При дослідженні метаболітів NO у плазмі кількість нітратів становила 1310,2пмоль/мл. Це засвідчило II ступінь декомпенсації ХЛС. Пацієнту було призначено адекватне лікування, спрямоване на ліквідацію клінічних

симптомів (зменшення розмірів печінки та зменшення болі в області печінки, зменшення пастозності нижніх кінцівок під вечір).

Приклад 3.

Згідно індивідуальної карти обстежуваного №25 від 16.03.05р. пацієнт С. поступив на стаціонарне лікування у протитуберкульозний диспансер №1 м. Києва зі скаргами, характерними для фіброзно-кавернозного туберкульозу легень. Окрім цього, у хворого відмічались значно збільшена печінка, набряки нижніх кінцівок, асцит, протеїнурія. Із анамнезу відомо, що хворіє на фіброзно-кавернозний туберкульоз легень біля 8 років, лікування часто порушував. При дослідженні метаболітів NO у плазмі кількість нітратів становила 1150,4пмоль/мл. Це засвідчило III ступінь декомпенсації ХЛС. Пацієнту було призначено адекватне лікування, спрямоване на ліквідацію клінічних симптомів, причому стан здоров'я вимагав постійного лікування даного хворого.

За період з 2001 року по 2006 рік у міському протитуберкульозному диспансері №1 м. Києва запропонованим способом було обстежено 84 особи. Серед них I ступінь декомпенсації ХЛС було встановлено у 23 осіб, II ступінь декомпенсації ХЛС - у 30 осіб, а III ступінь декомпенсації ХЛС - у 31 особи. Цю ж групу було обстежено також за способом-прототипом. Результати обстежень в основному співпали. При цьому запропонований спосіб визначення ступеня декомпенсації ХЛС є більш простим у виконанні, доступним, економічним та придатним для обстеження великої кількості людей.

Література:

1. Журавлева І.А., Мелетьев І.А., «Роль окиси азота в кардиологии и гастроэнтерологии» //Клиническая медицина.- 1997.- Т.75, №4.- С.18-21.
2. Borgonio A., Witte K., Stahrenberg R., Lemmer B. Influence of circadian time, ageing and hypertension on the urinary excretion of nitric oxide metabolites in rats //Mech. Ageing Dev.- 1999.- Vol.111.- P.23-37.
3. Лещенко С.І. „Система ейкозаноїдів у хворих із хронічним легеневою серцем” //Український пульмонологічний журнал.- 2003.- №2.- С.245.
4. Петренко В.І. «Система ейкозаноїдів і принципи фармакологічної корекції її порушень у хворих на туберкульоз легень (клініко-експериментальне дослідження) //Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук.- 1997.- С.43-44, 79.