



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **18989** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 33/487

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ БРОНХОЛЕГЕНЕВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

1

2

(21) u200607477

(22) 05.07.2006

(24) 15.11.2006

(46) 15.11.2006, Бюл. № 11, 2006 р.

(72) Пікас Ольга Богданівна

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

(57) Спосіб визначення ступеня тяжкості перебігу
bronхолегеневих захворювань (БЛЗ), що включає

аналіз біологічної рідини організму хворого, який
відрізняється тим, що як біологічну рідину аналі-
зують конденсат повітря, що видихається, встано-
влюючи в ньому рівень нітратів, і при їх кількості
(3062,5±109,4) пмоль/мл ступінь тяжкості перебігу
БЛЗ визначають як легкий (нетяжкий), при
(3444,9±279,2) пмоль/мл - як середній, а при кіль-
кості нітратів (3968,1±250,2) пмоль/мл - як тяжкий.

Корисна модель, що заявляється, стосується
галузі медицини, а саме - фтизіатрії й пульмонології,
та призначена для визначення ступеня тяжкості
перебігу бронхолегеневих захворювань (БЛЗ).

Хвороби органів дихання залишаються серед
найбільш розповсюджених в Україні, зумовлюють
тимчасову та стійку втрату працездатності, чим і
визначається їх важлива роль серед інших хвороб.
Провідне місце тут займають гострі пневмонії,
хронічний обструктивний бронхіт та бронхіальна
астма. Відомо, що у більшості випадків хронічний
бронхіт розвивається внаслідок дії шкідливих чин-
ників зовнішнього середовища, що призводять до
різноманітних судинних порушень, змін окислюва-
льного гомеостазу. Бронхолегеневі захворювання,
серед яких особливе місце займають гострі брон-
хіти та пневмонії, можуть стати початковою фазою
у розвитку хронічного запального процесу, який
викликає дисбаланс у роботі всіх захисних систем,
що поглиблює запальні зміни у цих осіб.

Починаючи з 1989 року, відмічається суттєве
зростання органічних захворювань органів дихан-
ня серед ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС.
Відмічається швидке прогресування патологічних
процесів. Враховуючи велику кількість осіб, які
приймали участь у ліквідації наслідків аварії на
ЧАЕС, на фоні зростання патологічних процесів
органів дихання, незважаючи на поглиблене ви-
вчення протягом останніх років проблем діагно-
стики та лікування БЛЗ, відчувається необхідність
поглибленої оцінки розвитку патологічних проце-
сів. Вирішення цієї проблеми нерозривно пов'яза-
не з удосконаленням визначення ступеня тяжкості
перебігу БЛЗ на основі розробки більш чітких кри-

теріїв тяжкості захворювання, що, в свою чергу,
дасть можливість обґрунтувати прогноз їх розвитку
та лікування.

Різні ступені тяжкості перебігу БЛЗ вимагають
різного підходу до ведення пацієнтів. Точно вста-
новлений ступінь тяжкості дозволяє скоригувати
схему лікування і підвищити його ефективність.
Однак існуючі способи визначення ступеня тяжко-
сті перебігу БЛЗ є недостатньо точними, що можна
пояснити неврахуванням певних суттєвих патоген-
етичних механізмів.

Так, відомий спосіб визначення ступеня тяж-
кості перебігу БЛЗ шляхом оцінки вмісту токсикан-
ту у венозній крові в результаті дії чинників навко-
лишнього середовища [1]. Згідно даного способу
біологічним матеріалом, що аналізується, є веноз-
на кров. Готують пробу із гепарином (25-50 оди-
ниць на 1мл венозної крові). Із проби виділяють
лімфоцити (моноклеарні клітини) у кількості
4x10⁶/мл шляхом центрифугування на градієнті
фіколлаверографін і додають до них встановлений
токсикант в концентрації, яка відповідає нормі
0,02мкг/мл (тобто шкідливо не впливає на орга-
нізм). Отриману суміш інкубують при температурі
організму людини (t=38°C). Об'єм крові і об'єм токсиканту однаковий. Потім методом імунологічного
аналізу (реакція Е-розеткоутворення, реакція іму-
нофлюоресценції, імуноцитохімічний метод) вста-
новлюють у пробі кількість лімфоцитів, які містять
диференційовані антигени, обумовлені дією токсиканту,
і при зниженні кількості відповідних кластерів
лімфоцитів у пробі під дією токсиканту не менше,
ніж у 1,5 рази порівняно із контрольною
пробою без доданого до неї токсиканту, при одно-

(13) **U**

(11) **18989**

(19) **UA**

часному виявленні токсиканту у пробі крові в концентрації, яка перевищує норму і пов'язана зі зміною імунного статусу під дією чинників навколишнього середовища, то кажуть про погіршений стан здоров'я, а тяжкість перебігу БЛЗ оцінюють як легкий (нетяжкий). Якщо вказаний показник зменшується у 2,5 рази, то кажуть про важкий перебіг БЛЗ.

Хоча характерними для даного способу є простота і надійність досліджень, однак він є травматичним і ґрунтується тільки на вивченні імунотопетентних клітин, оскільки вважається, що вони є чутливими до зміни умов навколишнього середовища, зокрема до дії хімічних токсикантів. Пригнічення цього механізму різними чинниками (соціальними, біологічними, екологічними) призводить до зміни внутрішнього середовища організму (імунodefіцитного стану). Як видно, даний спосіб не враховує такі патогенетичні чинники БЛЗ, як метаболічні перетворення оксиду азоту (II) NO, які є дуже важливими для дихальної системи, оскільки під впливом іонізуючої радіації змінюються процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), які впливають на рівень метаболітів NO і призводять до дисбалансу ефектів цих метаболітів, в результаті чого порушується стан судин, бронхів та реологічні властивості крові, що приводить до виникнення бронхолегеневих захворювань. Крім того, за даним способом визначають тільки два ступені тяжкості перебігу БЛЗ - легкий (нетяжкий) та тяжкий, а середнього ступеня не виділяють.

Найближчим аналогом (прототипом) способу визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ, що заявляється, є спосіб, що базується на оцінці резистентності організму шляхом визначення показника резистентності, виходячи з вмісту в сироватці крові імуноглобулінів класів А, М та G і абсолютної кількості В-лімфоцитів [2]. Показник резистентності (ПР) організм визначають за формулою:

$$ПР = \frac{M + G + A}{B} \times 100$$

де:

М - вміст імуноглобулінів класу М (г/л)

G - вміст імуноглобулінів класу G (г/л)

A - вміст імуноглобулінів класу А (г/л)

B - абсолютна кількість В-лімфоцитів (кл/мкл)

ПР менший за 5,78, але більший за 4,25 характеризує знижену резистентність організму і асоціюється з легким (нетяжким) перебігом БЛЗ. ПР менший за 4,25, але більший за 3,04 характеризує знижену резистентність організму і асоціюється з середнім ступенем тяжкості перебігу БЛЗ. ПР менший за 3,04 характеризує значно знижену резистентність організму і асоціюється з тяжким перебігом БЛЗ.

Однак даний контингент хворих може мати ураження хворобами, що передаються через кров (інфекційний гепатит, венеричні хвороби, СНІД), даний спосіб є травматичним і недостатньо точним, оскільки формула для визначення ПР враховує лише сумарний вміст імуноглобулінів класів А, М та G, але не враховує їх корелятивне взаємне потенціювання, яке обумовлює ефективність їх впливу як на нейтралізацію бактеріальних токсинів, так і їх бактерицидність, а також не враховує інші метаболічні перетворення в організмі, які по-

в'язані з оксидом азоту (II) NO - важливим медіатором функціонування системи органів дихання. До того ж цей спосіб не враховує тих глибоких змін процесів ПОЛ в бронхолегеневій системі, які лежать в основі патології, оскільки надмірна ліпопероксидація порушує взаємодію (яка не врахована у даному способі) також у системі NO, а це дискоординує вплив його метаболітів на організм людини і сприяє переходу адаптації у розвиток хвороби.

Таким чином, спосіб-прототип не дає можливість повноцінно оцінити стан метаболічних порушень і, відповідно, точно визначити ступінь тяжкості перебігу БЛЗ.

Корисна модель, що заявляється, вирішує завдання підвищення ефективності способу визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ шляхом визначення та оцінки одного з найбільш важливих патогенетичних факторів виникнення неспецифічних та специфічних БЛЗ - рівня метаболітів NO у конденсаті повітря, що видихається (КПВ).

Технічний результат - простота у виконанні, атравматичність та точність визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ і, відповідно, своєчасна корекція лікування цих захворювань.

Поставлене завдання вирішується тим, що у відомому способі визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ, який включає аналіз біологічної рідини організму хворого, згідно корисної моделі, в якості біологічної рідини аналізують конденсат повітря, що видихається, встановлюючи в ньому рівень нітратів, і при їх кількості $(3062,5 \pm 109,4)$ пмоль/мл ступінь тяжкості перебігу БЛЗ визначають як легкий (нетяжкий), при $(3444,9 \pm 279,2)$ пмоль/мл - як середній, а при кількості нітратів $(3968,1 \pm 250,2)$ пмоль/мл - як тяжкий.

Головною відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання для визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ такого показника, як рівень одного з метаболітів NO, а саме нітратів, в конденсаті повітря, що видихається, зміна якого (підвищення чи зниження) є важливим патогенетичним чинником розвитку як неспецифічних, так і специфічних запальних процесів органів дихання. Внаслідок цього порушується метаболічна і дренажна функція бронхів, порушується резистентність до мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності та руйнування, ендотоксинів і пилових часток, які містяться у повітрі, що видихається, а це призводить до порушення механізмів неспецифічної реактивності. Це дозволяє підвищити точність визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ і, відповідно, своєчасність і ефективність застосування адекватного лікування цих захворювань. За наявними літературними даними такий спосіб визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ невідомий.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином.

Дослідження метаболітів NO у КПВ проводять вранці натщесерце. Перед дослідженням пацієнту пропонують прополоскати ротову порожнину 100мл фурациліну (1:5000). КПВ збирають за допомогою спеціальної скляної трубки-конденсатора, попередньо знежиреної у хромовій суміші і добре промитої дистильованою водою. Після закінчення дослідження трубку промивають розчином хлоро-

форму. КПВ і слугує тим досліджуваним матеріалом, на якому проводять визначення рівня нітратів. Для визначення кількості нітратів (NO_3^-) використовують бруцин, що дозволяє підвищити чутливість методу в 100 разів. Екстинкцію проби визначають на спектрофотометрі при довжині хвилі 405нм. Кількість (NO_3^-) визначають за калібрувальною кривою, побудованою для стандартних розчинів нітрату натрію (NaNO_3). Оксид азоту добре дифундує крізь клітинні оболонки в біологічних системах, а при участі кисню і води розпадається на NO_2 і NO_3 . Оскільки NO має дуже короткий період напіврозпаду (5-30 секунд), то рівень оксиду азоту можна оцінювати за вмістом одного з його стабільних метаболітів - нітратів, які можуть змінюватись в залежності від наявності патологічного процесу та відображати його активність.

Ступінь тяжкості перебігу БЛЗ визначають за кількістю метаболітів NO нітратів, оскільки підвищена кількість цих метаболітів є результатом короточасних або помірно інтенсивних стресів, які виникають при дії несприятливих чинників оточуючого середовища, що пов'язується із мобілізацією організму при адекватній стрес-реакції. При цьому створюється фізіологічний активний резерв, який при необхідності може використовуватись у майбутньому. Підвищена кількість нітратів - це чинник, який відіграє важливу роль у патогенезі неспецифічних та специфічних запальних захворювань, зокрема зростання нітратів є наслідком активації процесів ПОЛ в результаті стресів чи запальних процесів. При цьому достатньо обмежитись визначенням рівня нітратів в КПВ, оскільки він адекватно відображає вказані зміни в організмі.

Отже, визначення ступеня тяжкості перебігу БЛЗ проводять, виходячи з кількості метаболітів NO - нітратів - в конденсаті повітря, що видихається.

ся. При кількості нітратів у КПВ ($3062,5 \pm 109,4$) $\mu\text{моль/мл}$ визначають нетяжкий (легкий) перебіг БЛЗ. При кількості нітратів у КПВ ($3444,9 \pm 272,9$) $\mu\text{моль/мл}$ визначають БЛЗ із середнім ступенем тяжкості перебігу. При кількості нітратів у КПВ ($3968,1 \pm 250,2$) $\mu\text{моль/мл}$ визначають БЛЗ із тяжким перебігом.

В разі БЛЗ із нетяжким (легким) перебігом очікують сприятливий результат лікування та обмежуються стандартною схемою лікування. При БЛЗ із середнім ступенем тяжкості перебігу до стандартної схеми лікування додають заходи, спрямовані на зменшення активації ПОЛ (покращення харчування, здоровий спосіб життя - обмеження перевантажень, заняття спортом та виключення паління цигарок). В разі БЛЗ тяжкого перебігу до схеми лікування включають заходи, спрямовані на підвищення резистентності організму (посилення імунітету шляхом призначення імуномодуляторів, адаптогенів та вітамінних препаратів).

Конкретні цифри, які характеризують ту чи іншу ступінь тяжкості перебігу БЛЗ, були встановлені на основі порівняльної оцінки метаболічних перетворень NO у трьох групах ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС без захворювань органів дихання і в контрольній групі. Першу групу склали 46 осіб, котрі мали інвалідність, пов'язану з ліквідацією наслідків аварії на ЧАЕС, другу групу - 31 особа, котрі брали участь у ліквідації наслідків аварії більше 10 днів, і третю групу - 40 осіб, котрі брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС менше 10 днів або проживали на території з підвищеним радіаційним фоном. Контрольну групу складали 103 здорові особи, які не палили і не брали участі у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС та проживали у м. Києві. Результати визначення показників метаболітів NO у КПВ наведені у таблиці.

Таблиця

Рівень нітратів в конденсаті повітря, що видихається,
у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС без захворювань органів дихання

Метаболіти NO ($\mu\text{моль/мл}$)	Ліквідатори наслідків аварії на ЧАЕС без захворювань органів дихання			Контроль n=103
	I група (інвалідність пов'язана із аварією на ЧАЕС) n=46	II група (більше 10 днів) n=31	III група (менше 10 днів) n=40	
Нітрати (NO_3^-)	39686,1 \pm 250,2	3444,9 \pm 272,9	3062,5 \pm 109,4	2548,5 \pm 531,6

Як видно із таблиці, під дією такого несприятливого чинника оточуючого середовища, як радіація, відбувається зростання вмісту нітратів у КПВ, яке залежить від ступеня ураження. Найбільш виражені зміни в кількісному складі метаболітів NO у КПВ спостерігаються у осіб першої групи, причому найбільш показовим є зростання вмісту нітратів. Це можна пояснити тією обставиною, що зростання рівня нітратів є наслідком посилення інтенсивності процесів ПОЛ і може стати важливим пошкоджуючим фактором зміни тону судин.

Перевагами запропонованого технічного рішення в порівнянні з прототипом є те, що воно

не є травматичним, не передбачає великих матеріальних затрат, сама методика визначення метаболітів NO не потребує стерильності і можна одночасно обстежити велику кількість людей. Це досить точний метод, який дає можливість адекватно оцінити ступінь тяжкості перебігу БЛЗ.

Приклад 1

Згідно індивідуальної карти обстежуваного №10 від 18.03.02р. пацієнт В. звернувся в Республіканський спеціалізований диспансер радіаційного захисту населення зі скаргами на погіршення самопочуття та симптоми, які характеризувались нежиттю, слабкістю, загальною втомленістю, каш-

лем із виділенням харкотиння. Об'єктивно відмічались блідість шкіри, температура тіла 37,5°C, частота дихання 24 за 1 хвилину, пульс 88 ударів за 1 хвилину. При перкусії відмічалось притуплення в місці проекції S1, S2 правої легені, а при аускультатції - вологі хрипи у місці цієї ж проекції. Аналіз крові: лейкоцити $19 \times 10^9/\text{л}$, ШОЕ=10мм/год, нейтрофільний зсув вліво.

При дослідженні у КПВ метаболітів NO було визначено 3060,4пмоль/мл нітратів. Це відповідало БЛЗ із неважким (легким) ступенем його перебігу. Рентгенологічне: тінь в S1, S2 правої легені. Встановлений діагноз підтверджено: гостра пневмонія S1, S2 правої легені, нетяжкого (легкого) перебігу.

Призначення адекватного лікування привело до одужання даного хворого.

Приклад 2

Згідно індивідуальної карти обстежуваного №20 від 25.04.02р. пацієнт Л. звернувся в Республіканський спеціалізований диспансер радіаційного захисту населення зі скаргами на погіршення самопочуття та симптоми, які характеризували гостру пневмонію середнього ступеня тяжкості і проявлялись: загальною слабкістю, розбитістю тіла, головним болем, задишкою при фізичному навантаженні, зниженням апетиту. Об'єктивно: температура тіла 38,5°C, блідість шкіри, частота дихання - 28 за 1 хвилину, пульс - 95 ударів за 1 хвилину. При перкусії - притуплення в місці проекції верхньої частки правої легені. Аналіз крові: лейкоцити= $20,1 \times 10^9/\text{л}$, ШОЕ=14мм/год, нейтрофільний зсув вліво.

При дослідженні у КПВ метаболітів NO було визначено 3400,2пмоль/мл нітратів. Був поставлений діагноз: гостра пневмонія верхньої частки правої легені, середнього ступеня тяжкості. Рентгенологічне: гомогенне, слабкої інтенсивності тінь у верхній частині правої легені, що підтвердило діагноз гострої пневмонії верхньої частки правої легені, середнього ступеня тяжкості.

Хворому рекомендували профілактичні заходи, спрямовані на укріплення резистентності організму та пригнічення активації процесів ПОЛ. Призначення адекватного лікування привело до одужання хворого.

Приклад 3

Згідно індивідуальної карти обстежуваного

№25 від 5.05.02р. пацієнт П. звернувся в Республіканський спеціалізований диспансер радіаційного захисту населення зі скаргами на погіршення самопочуття, симптоми, які характеризували гостру пневмонію із тяжким перебігом, що проявлялись наступним: загальна слабкість, розбитість, головний біль, м'язові болі, задишка при ходьбі, зниження апетиту. Об'єктивно: температура тіла 39,8°C, частота дихання - 40 за 1 хвилину, пульс - 105 за 1 хвилину. Аналіз крові: лейкоцити - $28,4 \times 10^9/\text{л}$, ШОЕ=18мм/год, нейтрофільний зсув вліво. При дослідженні у КПВ метаболітів NO було визначено 3924,1пмоль/мл нітратів. Був поставлений діагноз: гостра пневмонія верхньої і середньої часток правої легені, тяжкий перебіг. Рентгенологічне: гомогенна, слабкої інтенсивності тінь у верхній частці та в середній частці правої легені, що підтвердило діагноз гострої пневмонії верхньої і середньої частки правої легені, тяжкий перебіг. До стандартної схеми лікування було включено засоби, спрямовані на підвищення резистентності організму - імуномодулятори, адаптогени та вітамінний комплекс. Призначене адекватне лікування привело до одужання хворого.

За період з 2000 року по 2006 рік у міждиспансерному протитуберкульозному диспансері №1 м. Києва та у Республіканському спеціалізованому диспансері радіаційного захисту населення запропонованим способом було обстежено 158 осіб з БЛЗ. Серед них нетяжкий (легкий) перебіг БЛЗ було встановлено у 54 осіб, перебіг середньої тяжкості - у 48 осіб, а тяжкий перебіг БЛЗ - у 56 осіб. Цю ж групу (158 осіб) було обстежено за способом-прототипом. Нетяжкий перебіг БЛЗ було встановлено у 35 осіб, перебіг середньої тяжкості у 55 осіб, а тяжкий перебіг у 70 осіб. Рентгенологічне обстеження показало більшу достовірність оцінки ступеня тяжкості за запропонованим способом.

Література

1. Патент України №2180116 С1 по класу G01N 33/53 від 27.02.2002 на „Способ оценки влияния экологической обстановки на состояние иммунного статуса населения”. Зайцева Н.В., Довгих О.В., Лыхина Т.С., Дубовина Э.В., Войлокова Н.Н., Суханова Т.А., Бюл. 6/2002.

2. Mancini G. et al. Спосіб оцінки резистентності організму // *Immunochemistry* / 1965. - М. 2, Р 235/254.