



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38581 (13) A

(51) 7 A61B5/145, A61N5/06

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

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПЛЕВРИТУ ТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ТА РАКОВОЇ ЕТІОЛОГІЇ

(21) 2000074546

(22) 28.07.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Нгуєн Ван Хань

(73) Нгуєн Ван Хань

(57) Спосіб диференційної діагностики плевритів туберкульозної і ракової етіології шляхом дослідження плазми крові, який відрізняється тим, що плазму венозної крові розводять стабілізатором "глюгіцир" у співвідношенні 1:4, центрифугують і створену таким чином надосадкову рідину піддають лазерній кореляційній спектроскопії, вивчають спектральні характеристики монохроматичного когерентного випромінювання при проходженні його

крізь дисперсну систему, визначають функції розподілу за розмірами присутніх у плазмі часток, які віддзеркалюють субфракційний її склад, і за одержаними гістограмами, які графічно відображають вміст у світлорозсіюванні інгредієнтів плазми крові в діапазоні гідродинамічних радіусів від 5 нм до 1×10^4 нм, та площинною роздруківкою зон дисперсії варіантів спектрів плазми в межах довірчих інтервалів 2σ , обмежених еліпсоїдними кривими, а також за ступенем розходження або накладання еліпсів, що обмежують зони дисперсії, які характеризують відмінність або схожість субфракційного складу плазми порівняльних груп, судять про туберкульозну або ракову етіологію плевриту.

Винахід відноситься до галузі медицини, а саме до пульмонології, і може бути застосований при діагностиці етіології плевритів.

Відоме застосування лазерної кореляційної спектроскопії (як засіб ідентифікації груп ризику при окремих захворюваннях у зонах економічних аномалій [1].

Але для диференційної діагностики плевриту туберкульозної та ракової етіології застосування ЛКС невідоме.

Найбільш близьким до рішення є спосіб визначення антигенів мікобактерій у крові хворих туберкульозом шляхом дослідження сироватки крові в реакції агрегат-аглютинації зі специфічними антитілами [2].

Однак, відомий спосіб недостатньо точний (50%), оскільки вільні антигени в крові визначаються рідко, тому що вони зв'язані в імунні комплекси.

В основу винаходу поставлено задачу вдосконалення способів діагностики туберкульозної і ракової етіології плевритів шляхом використання біофізичного методу дослідження - лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС), який оснований на реєстрації спектрів лазерного випромінювання при проходженні променю через досліджувану рідину (плазму крові), що дозволить з високим ступенем вірогідності на ранніх стадіях захворювання верифікувати туберкульозний плеврит і плеврит ракової етіології (карциноматозний плеврит), що за-

безпечує своєчасний початок комплексного лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з винаходом, плазму венозної крові хворого розчиняють стабілізатором "глюгіцир" у співвідношенні 1:4, центрифугують і створену внаслідок цього надосадкову рідину піддають лазерній кореляційній спектроскопії, вивчають спектральні характеристики монохроматичного когерентного випромінювання при проходженні його через дисперсну нативну систему з наступним визначенням функції розподілу за розмірами присутніх у плазмі часток, які віддзеркалюють субфракційний її склад, і за одержаними гістограмами, котрі графічно відбивають вміст у світлорозсіюванні інгредієнтів плазми у діапазоні гідродинамічних радіусів від 5 до 1×10^4 нм, і площинною роздруківки зон дисперсії варіантів спектрів плазми крові у межах довірчих інтервалів 2σ , які обмежені еліпсоїдними кривими, а також за ступінню розходження або накладання еліпсів, що обмежують зони дисперсії, які характеризують відмінність або схожість субфракційного складу плазми порівняльних груп, судять про туберкульозну та ракову етіологію плевриту.

Спосіб здійснюється наступним чином.

На базі обласного протитуберкульозного диспансеру обстежено 100 хворих з ексудативним плевритом у віці від 18 до 55 років. Групи склали 50 хворих з плевритом туберкульозної етіології і 50 хворих з карциноматозним плевритом. У якості

(19) UA (11) 38581 (13) A

контролю використовували плазму 20 донорів стації переливання крові, серед яких група здорових чоловіків (15) і жінок (7) у віці від 18 до 55 років.

Діагноз "туберкульозний плеврит" і "плеврит ракової етіології" верифіціювали на основі даних клінічного, рентгенологічного, бактеріологічного досліджень, а також цитологічного і гістологічного дослідження пунктату або біоптату, одержаного шляхом пункційної або відкритої біопсії плеври, легені.

Матеріалом для ЛКС служила плазма венозної крові. Кров, яка одержана шляхом пункції вени ліктьового згину, розводили стабілізатором "глюцір" у співвідношенні 1:4, після чого центрифугували 15 хвилин при 3000 об/хвил. Створену після центрифугування надосадкову рідину відбирали дозатором у об'ємі 0,5 мл і поміщали у пробірку Епендорфа. Одержаний таким чином матеріал готовий до дослідження методом ЛКС.

Усі виміри проводилися за допомогою лазерного кореляційного спектрометра, розробленого у відділі молекулярної та радіаційної біофізики Санкт-Петербурзького інституту ядерної фізики ім. Б.П. Костянтинова РАН під керівництвом професора А.О. Носкіна і виготовленого НПО "Прогрес" АН України.

Для статистичної обробки одержаних гістограм використовується програма, яка входить в комплект пристрою, і яка дозволяє для кожної групи накопичених ЛК-спектрів плазми крові виводити усереднену гістограму ЛК-спектрів плазми крові, котра характеризує цю групу на основі статистичної обробки варіантів, які в неї входять (фіг. 1), де А-здорові донори; Б-хворі туберкульозним плевритом; В-хворі карциноматозним плевритом; R-гідродинамічний радіус часток % - вклад у світлорозсіювання часток даного розміру. На горизонтальній осі - розмір часток (в нм).

Групи формуються дослідником із об'єднаних загальними ознаками спектрів плазми. Крім того, програма "Многомерный классификатор" дозволяє порівнювати спектри із сформованих вищевказаним способом груп на основі методу розпізнавання образу у багатомірному просторі. При цьому результат виводиться у вигляді площинної роздруківки зон дисперсії варіантів спектрів плазми крові у межах довірчих інтервалів 2σ , обмежених еліпсоїдними колами (фіг. 2) - результати класифікаційного аналізу співставлення гістограм плазми крові хворих туберкульозним (х) і карциноматозним (+) плевритом.

Ступінь розходження або накладання еліпсів, які обмежують зони дисперсії, характеризують відмінність або схожість (відповідно) субфракційного складу плазми порівняльних груп. Точну характеристику схожості різниць між співставленими групами дають результати класифікаційного аналізу.

Характер розподілу часток за розмірами у представлених гістограмах (фіг. 1) різко різняться, а саме: гістограми донорів і хворих туберкульозним плевритом бімодальні, з чітким розділом піків у зоні 30 нм і 100 нм; гістограма хворих карциноматозним плевритом має мономодальну структуру з єдиним піком в зоні 100 нм. При цьому, різниця гістограм плазми крові хворих туберкульозним та карциноматозним плевритом виявляється у всіх

фракціях. Вклад у світлорозсіювання часток з найменшим гідродинамічним радіусом (2-11 нм) у хворих з туберкульозним плевритом майже удвічі більший, ніж у хворих з карциноматозним плевритом. При туберкульозному плевриті вклад у світлорозсіювання низькомолекулярної фракції вище, ніж у здорових донорів, при карциноматозному плевриті - нижче. Вклад у світлорозсіювання часток з гідродинамічним радіусом 37-95 нм у хворих з карциноматозним плевритом в 1,6 разів більше, ніж у хворих з туберкульозним плевритом.

При співставленні гістограм хворих з гістограмами донорів у субфракційному складі плазми відмічається збільшення вкладу часток з радіусом більше 265 нм, а підвищення вкладу високомолекулярних часток свідчить про накопичення у плазмі крупних імунних комплексів, що має місце при аутоімунізації організму [3]. Зменшення ж у плазмі хворих карциноматозним плевритом часток низькомолекулярної субфракції (2-11 нм) може свідчити про наявне при онкопроцесах гіпоальбуміємії. Констатоване у хворих карциноматозним плевритом збільшення вкладу у світлорозсіювання часток середньомолекулярної фракції 37-95 нм пояснюється тим, що у вказані діапазони розмірів попадають РНК-, ДНК-комплекси [4], які попадають у плазму крові в зв'язку з розрушенням кліткових ядер. Це може мати місце при некрозі, який супроводжує пухлинний зріст.

Дана субфракція, крім того, відповідає за розмірами глікопротеїдам, до котрих відноситься багато інших онко-маркерів [5].

Дані класифікаційного аналізу ЛК-спектрів плазми крові хворих туберкульозним і карциноматозним плевритом, представлені на фіг. 2, свідчать про суттєві різниці у субфракційному складі плазми крові, котрі дозволяють по ЛКС-гістограмам відрізнити хворих туберкульозним плевритом від хворих карциноматозним плевритом. Зони дисперсії гістограм на графіку площинної роздруківки мають відносно невелику площину взаємоперекриття (фіг. 2), обумовлену тим, що 10% гістограм хворих туберкульозним плевритом та 26% гістограм хворих карциноматозним плевритом виявили схожість зі співставленою групою. Різниця гістограм відмічені у 68-72% спостережень.

В порівнянні з прототипом, спосіб за рахунок застосування лазерної кореляційної спектроскопії плазми дає можливість з високим ступенем вірогідності виявляти висловлені зсуви субфракційного складу, які дозволяють чітко, у ранні строки диференціювати туберкульозні та карциноматозні плеврити, що забезпечує своєчасний початок комплексного лікування.

Джерела інформації.

1. Лазерная корреляционная спектроскопия сыворотки крови - новый подход к идентификации групп риска по отдельным заболеваниям и интоксикациям в зонах экологических аномалий / Н.В. Клопов, А.Д. Лебедев, В.А. Носкин, Л.А. Носкин // Радиобиология. - 1992. - Т. 32. - № 2. - С. 247-255.
2. Исследование реакции агрегатагглютинации для определения туберкулезных антигенов / Романов Р.Ю., Горина Л.Г. // Тез. докладов съезда фтизиатров Закавказья. - Ереван, 1990. - С. 178-179.

3. Классификация результатов исследования плазмы крови с помощью лазерной корреляционной спектроскопии на основе семиотики предклинических и клинических состояний / Терновой К.С., Крыжановский Г.Н., Мусийчук Ю.И. и др. // Укр. биохим. журн. - 1998. - Т. 70. - № 2. - С. 53-65.

4. Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине / Под ред. Бажора Ю.И., Кресюн В.И., Запорожан В.Н. - К.: Здоров'я, 1996. - 207 с.

5. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф. Биохимические показатели в клинике внутренних болезней: Справочник. - М.: МЕДпресс, 1999. - 232 с.

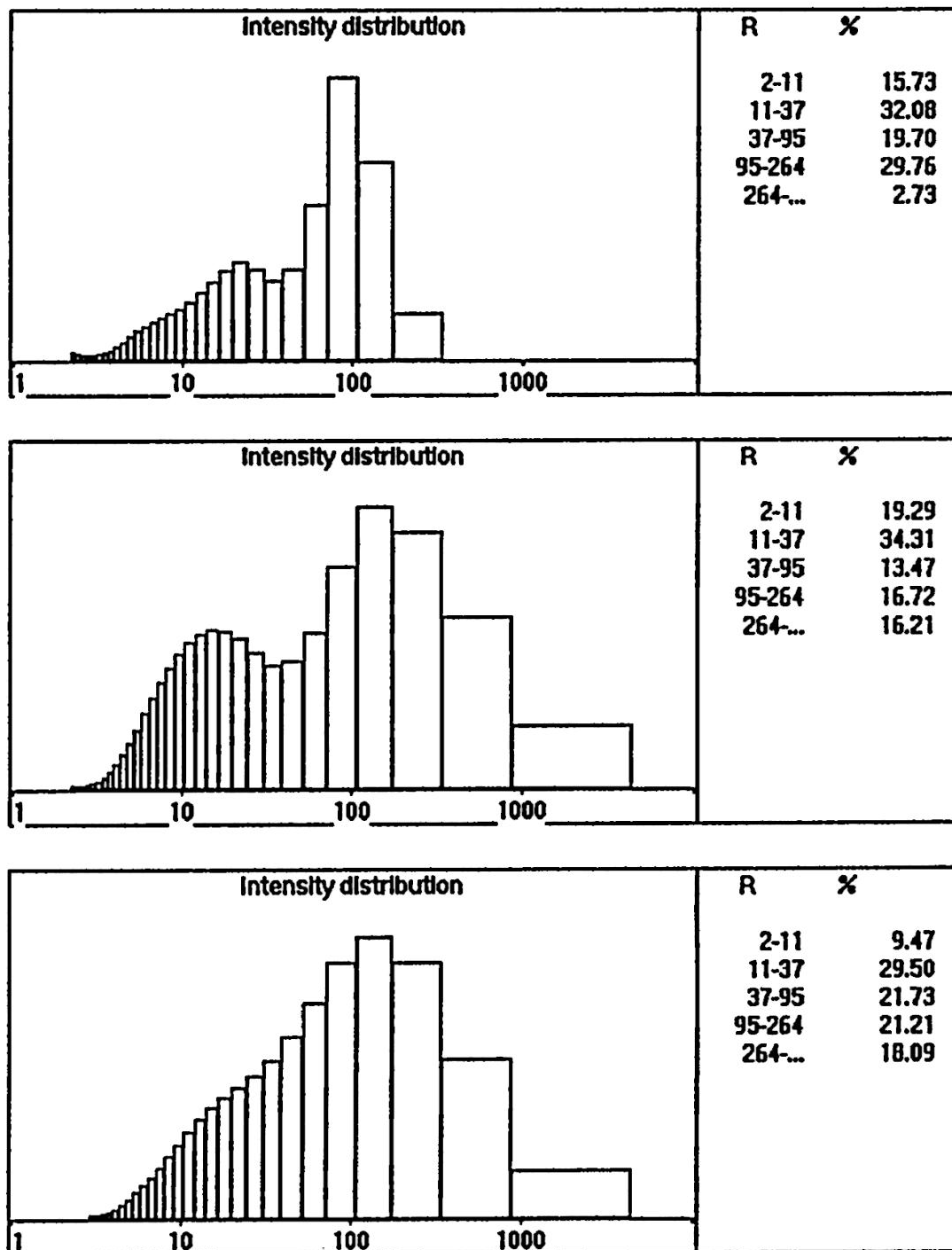
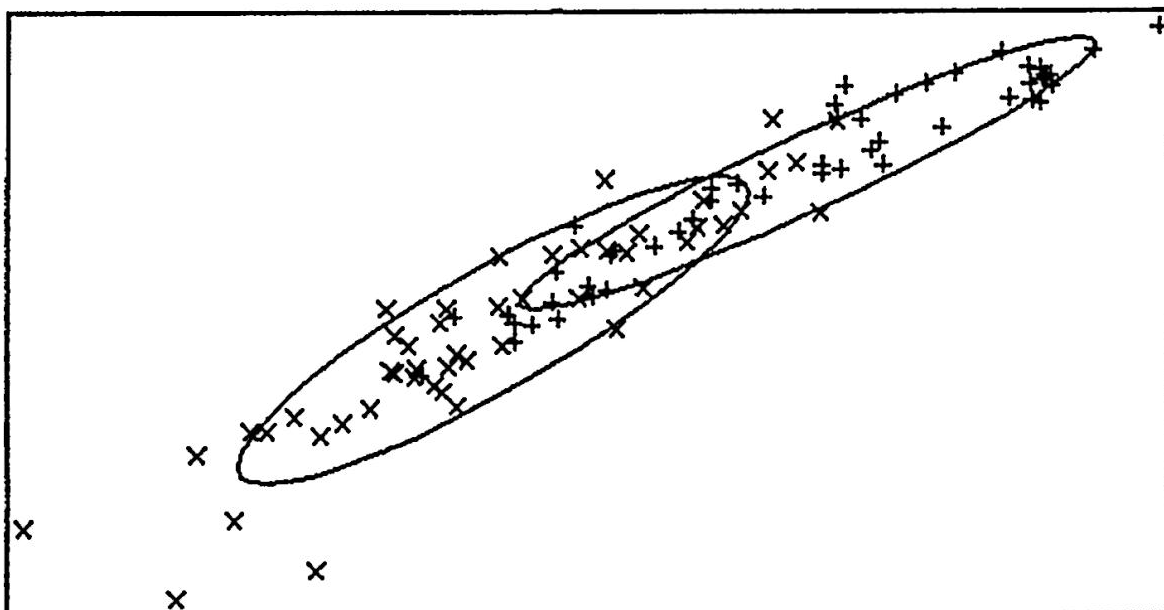


Fig. 1



Фіг. 2

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
 Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
 (044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
 Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
 (044) 268-25-22
