



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 3920

(13) U

(51) 7 A61B5/145

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ НА ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ А І В

1

2

(21) 2004042450

(22) 01.04.2004

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

(72) Карімов Іскандер Загітович

(73) КРИМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ ІМ. С.І.ГЕОРГІЄВСЬКОГО(57) Спосіб оцінки інтоксикації у хворих на гострий
вірусний гепатит А і В, який полягає у виявленні

клінічних ознак, біохімічному дослідженні крові, який **відрізняється** тим, що додатково визначають показник рівня окислювальної модифікації білків і при його значенні $83,16 \pm 25,71$ нмоль/мл діагностують норму, а при підвищенні значення показника до величини, більшої за 100 нмоль/мл, діагностують ендегенну метаболічну інтоксикацію.

Корисна модель відноситься до області медицини і може застосовуватися при гострих інфекційних хворобах для виявлення ступеня ендегенної метаболічної інтоксикації у хворих на гострий вірусний гепатит А і В жовтяничної форми.

Як прототип обрано спосіб оцінки інтоксикації у хворих на вірусний гепатит А і В (Соринсон С. Н. Вирусные гепатиты - СПб.: ТЕЗА, 1998. - 325с.), який заключається в тому, що у хворих на гострі вірусні гепатити А і В визначають ступінь інтоксикації на підставі клінічних ознак з урахуванням деяких показників, які відображають ензимний, пігментний і білковий обміни.

Причинами, які перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату, є: мала інформативність на ранніх стадіях хвороби, залежність показників від віку хворого і супутньої патології, а також визначення метаболічних порушень носить елемент умовності, оскільки чітко не виявляє залежності рівня окислювально модифікованих білків від генезу, стадії захворювання та загальноклінічних і біохімічних критеріїв інтоксикації.

Ознаками, які співпадають із істотними ознаками корисної моделі, є: виявлення клінічних ознак і біохімічне дослідження крові.

Технічним результатом запропонованої корисної моделі є підвищення точності оцінки ступеня тяжкості ендегенної метаболічної інтоксикації у хворих на гострий вірусний гепатит А і В жовтяничної форми.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу-прототипу шляхом додаткового визначення в сироватці крові рівня окислю-

вальної модифікації білків, що дозволить більш точно прогнозувати перебіг, наслідок захворювання, а також ефективність проводимої терапії.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі оцінки інтоксикації у хворих на гострий вірусний гепатит А і В, який заключається у виявленні клінічних ознак, біохімічного дослідження крові, згідно корисної моделі, додатково визначають показник рівня окислювальної модифікації білків і при його значенні $83,16 \pm 25,71$ нмоль/мл діагностують норму, а при підвищенні показника більше 100 нмоль/мл діагностують ендегенну метаболічну інтоксикацію.

Між сукупністю суттєвих ознак запропонованої корисної моделі та очікуваним технічним результатом проявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: додаткове визначення показника рівня окислювальної модифікації білків у різні періоди захворювання є маркером ступеня ендегенної метаболічної інтоксикації, оскільки підвищена продукція вільних радикалів може призводити до необоротних пошкоджень багатьох клітинних структур, включаючи мембрану, цитоскелет і навіть ДНК, а руйнівна дія активних форм кисню супроводжує багато інфекційних хвороб, агресія вільних радикалів по відношенню до білків призводить до змін їх фізико-хімічних властивостей; пошкодження карбогідратів, що індуковані перекисами, перевертають активність глікопротеїнів, що, в свою чергу, призводить до серйозних патологічних явищ; причому у стані окислювального стресу в першу чергу пошкоджуються не ліпіди, а білки плазматичних мембран, що призводить до

(13) U

(11) 3920

(19) UA

їх деполімеризації і лізису клітини, накопичення в тканинах і біологічних рідинах патологічних продуктів, які утворюються в організмі в результаті окислювальної модифікації білків є суттєвою ланкою інтоксикаційного синдрому, тобто визначення рівня продуктів окислювальної модифікації білків дозволяє своєчасно діагностувати ступінь інтоксикації і зробити висновок про те, як протікає захворювання, запропонувати можливість ускладнень, а також виконати корекцію тактики лікування.

Запропонований спосіб оцінки ступеня інтоксикації у хворих на гострий вірусний гепатит А і В заключається в наступному.

Забір крові у хворих здійснюють при надходженні в стаціонар, в розпалі хвороби і в період ранньої реконвалесценції - при виписці із стаціонару. Визначають інтенсивність окислювальної модифікації білків у сироватці крові на підставі реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків білків з 2,4-динітрофенілгідразиним.

Для цього 0,1мл сироватки приливають в пробірку, потім до неї додають 1,0мл 20% ТХУ для осадження білків і обережно струшують пробірку. До денатурованих білків приливають 1,0мл 0,1М розчину 2,4-динітрофенілгідразину, розчиненого в 2М розчині HCl, перемішують скляною паличкою, інкубують при кімнатній температурі 60хвил, а далі центрифугують при 3000об/хвил протягом 15-20хвил. Потім обережно зливають надосадову рідину і до осаду приливають 1,0мл суміші етанол-етилацетат, помішують скляною паличкою, центрифугують при 3000об/хвил 10хвил. Далі надосадову рідину зливають, а процедуру по відмиванні етанол-етилацетатом повторюють тричі. Після останнього зливу надосадової рідини підсушують проби при кімнатній температурі протягом 2-4 годин. Потім до підсушеного осаду приливають 2,5мл 8М розчину сечовини. Проби інкубують в киплячій водянній бані протягом 5хвил. до повного розчинення осаду. Оптичну щільність дифенілгідразонів, що утворилися, в пробах реєструють на спектрофотометрі при довжині хвилі λ - 370nm проти контролю. Рівень карбонільних груп при довжині хвилі 370nm розраховують, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції, дорівнює $21000M^{-1}$ для динітрофенілгідразин-похідних, і розведення сироватки в ході аналізу, за формулою:

$$X = \frac{\Sigma 370 \times 10^4 \times 2,5}{21} \text{ нмоль/мл}$$

де X - показник рівня окислювальної модифікації білків.

Результати виражають в наномолях на 1мл сироватки крові. При виміру X оптичної щільності в дослідній пробі використовують контрольну пробу того же індивідуума.

При апробуванні методу у 68 хворих на гострий вірусний гепатит А і В у віці 16-45 років $X = 83,16 \pm 25,71$ нмоль/мл відповідав нормі, а при $X > 100$ нмоль/мл відмічалась клінічно виражена інтоксикація. Етіологічна ідентифікація гострого вірусного гепатиту проводилась серологічним методом - ІФА, РОПГА. Контролем служили практично здорові люди того ж віку - 25 осіб.

Хворих на гострий вірусний гепатит А і В жовтяничної форми включали в дослідження рандомізовано по мірі надходження в стаціонар, у яких клінічне і лабораторне відмічався легкий і середньотяжкий перебіг. Першу групу - 29 осіб становили хворі, у яких відмічався легкий перебіг захворювання, із них гострий вірусний гепатит А-15, гострий вірусний гепатит В-14 осіб. Другу групу - 39 осіб становили хворі із середньотяжким перебігом, де хворих на гострий вірусний гепатит А було 16 осіб, гострий вірусний гепатит В-23. Ступінь інтоксикації і тяжкість захворювання оцінювали за загальноприйнятими критеріями на підставі скарг, клінічних симптомів та деяких біохімічних показників печінкових проб і додатково запропонованого способу оцінки рівня окислювальної модифікації білків.

У таблиці 1 представлено порівняльний аналіз рівня окислювальної модифікації білків у сироватці крові хворих і здорових, де ОМБ - окислювальна модифікація білків; ВВГА - гострий вірусний гепатит А; ГВГВ - гострий вірусний гепатит В; I - гострий період при надходженні; II - розпал захворювання; III - рання реконвалесценція; * - достовірність відмінностей між хворими і здоровими на рівні $p < 0,05$; ** - достовірність відмінностей між хворими і здоровими на рівні $p < 0,01$; *** - достовірність відмінностей між хворими і здоровими на рівні $p < 0,001$.

Відмічається істотне підвищення показника X при довжині хвилі 370nm - в середньому в 1,2 рази при гострому вірусному гепатиті А і в 1,6 рази при гострому вірусному гепатиті В легкого ступеня тяжкості порівняно з нормою, і в 1,6 рази - при гострому вірусному гепатиті А та в 2,7 рази - при гострому вірусному гепатиті В середнього ступеня тяжкості порівняно з контролем.

Більш виражене підвищення показника X спостерігається при гострому вірусному гепатиті В, що проявляється тільки при середнього ступеня тяжкості захворювання.

Одержані результати свідчать про значне підвищення інтенсивності окислювальної модифікації білків при гострому вірусному гепатиті жовтяничної форми в гострому періоді захворювання, що більш виражено при гострому вірусному гепатиті В, ніж при гострому вірусному гепатиті А, що чітко проявляється у хворих із середньотяжким перебігом.

Запропонований спосіб оцінки ступеня інтоксикації хворих на гострий вірусний гепатит А і гострий вірусний гепатит В ілюструється наступними клінічними прикладами.

Приклад 1. Хвора П., 21 рік, госпіталізована в інфекційне відділення на чотирнадцятий день хвороби. Захворювання починалось поступово, госпіталізована зі скаргами на субфебрильну температуру, зниження апетиту, нудоту, загальну слабкість, тяжкість, дискомфорт в області правого підбер'я, епігастрію, темну сечу, іктеричність склер очей. В епіданамнезі - контакт із хворим на гострий вірусний гепатит А. Діагноз - гострий вірусний гепатит А, жовтянична форма середнього ступеня тяжкості був виставлений на підставі епідеміологічних, клінічних і лабораторних даних. Запропонований спосіб оцінки інтоксикації був апробований у хворої, коли в сироватці крові визна-

чався рівень окислювальної модифікації білків. При цьому було виявлено: в першу добу перебування в стаціонарі $X=135,71$ нмоль/мл, в розпал захворювання $X=114,29$ нмоль/мл і при виписці із стаціонару - реконвалесценцію $X=79,76$ нмоль/мл. Хвора виписана на 28 день із видужанням, коли стан хворої був задовільний, а показники, що відображають холестатичний синдром - білірубін і цитолітичний синдром - аланінамінотрансфераза, були $25,7$ мкмоль/л і $0,55$ мккат/л відповідно. Одержані результати оцінки ступеня інтоксикації дозволили внести корекцію в проводиму дезінтоксикаційну терапію.

Приклад 2. Хвора С., 17 років, госпіталізована в інфекційне відділення на 8-й день хвороби. Захворювання починалось поступово, переджелтушний період тривав один тиждень, супроводжувався астеновегетативним і грипоподібним синдромами, з 7-8 дня - тупий біль в епігастрію, животі, іктеричність шкіри, склер очей, потемніння сечі, світлий кал. На підставі клініко-епідеміологічних і лабораторних даних було виставлено діагноз: гострий вірусний гепатит А, жовтянична форма, легкого ступеня тяжкості. Захворювання протікало без ускладнень, хвора отримувала патогенетичну терапію. Рівень окислювальної модифікації білків у сироватці крові визначався в динаміці, при цьому показник X становив : $110,56$ нмоль/мл, $96,72$ нмоль/мл, $75,85$ нмоль/мл відповідно. Хвора виписана на 12 день перебування в стаціонарі із видужанням, коли показники білірубіну були в межах норми - $12,6$ мкмоль/л, аланінамінотрансфераза - $1,1$ мккат/л. Одержані результати оцінки ступеня інтоксикації дозволили внести корекцію в проводиму патогенетичну терапію і скоротити об'єм інфузійної терапії.

Приклад 3. Хворий М., 27 років, госпіталізований в інфекційне відділення на 5-й день хвороби. Захворювання починалось підгостро, з першого дня відмічались: підвищення температури до $38,7$ °С, загальна слабкість, зниження апетита, нудота, біль в епігастрію. З 3-4 дня відмічався однократно рідке випорожнення, потім потемніння сечі та ахолія кала. Звернувся до лікаря на 4-й день хвороби, на 5-й день - госпіталізований в інфекційний стаціонар. На підставі перебігу захворювання, клініч-

них, епідеміологічних і лабораторних даних виставлено клінічний діагноз - гострий вірусний гепатит В (HBsAg+), жовтянична форма, легкого ступеня тяжкості. Рівень X - окислювальної модифікації білків у сироватці крові в динаміці захворювання становив : $152,25$ нмоль/мл, $119,38$ нмоль/мл і $95,22$ нмоль/мл. Хворий отримував патогенетичне лікування і виписаний на 19-й день перебування в стаціонарі із клінічним видужанням, але при цьому повної нормалізації біохімічних показників не відбулося. Визначення ступеня тяжкості та інтоксикації у хворого за допомогою додатково запропонованого методу дозволило внести корекцію в проводиму дезінтоксикаційну терапію, хоча у хворого відмічалось тільки клінічне видужання.

Приклад 4. Хвора К., 33 роки, перебувала на стаціонарному лікуванні в інфекційному відділенні з діагнозом гострий вірусний гепатит В (HBsAg+), жовтянична форма, середнього ступеня тяжкості. Перед жовтяничний період тривав один тиждень і проявлявся у вигляді гарячкового, диспепсичного та астеновегетативного синдромів. Хвора звернулась до лікаря на 6-й день хвороби, коли потемніла сеча, з'явилась іктеричність шкіри і склер очей, після чого на 8-й день хвороби була госпіталізована. Рівень окислювальної модифікації білків у сироватці крові в динаміці захворювання становив: $252,36$ нмоль/мл, $226,75$ нмоль/мл, $105,84$ нмоль/мл. Одержані додаткові результати, що відображають ступінь інтоксикації, сприяли внесенню змін в тактику лікування з метою підсилення дезінтоксикаційної терапії. Після проведеного лікування хвора виписана на 34-й день перебування в стаціонарі, коли відмічалось покращення стану, а біохімічні показники, що відображають холестатичний і цитолітичний синдром, становили: загальний білірубін - $23,8$ мкмоль/л, аланінамінотрансфераза - $1,9$ мккат/л.

Запропонований спосіб оцінки інтоксикації у хворих на гострий вірусний гепатит А і В дозволяє швидко та об'єктивно оцінювати стан хворого, прогнозувати перебіг і наслідок захворювання, а також підвищити ефективність проводимої інтенсивної терапії. Спосіб може бути застосован для проведення в клінічній лабораторній практиці.

Таблиця 1

Групи Періоди	Легкий ступінь тяжкості		Середній ступінь тяжкості		Контроль
	ГВГА n=15	ГВГВ n=14	ГВГА n=16	ГВГВ n=23	Здорові n=25
I	103,58±16, 52 *	141,61±20, 85 **	141,54±30,1 86 **	221,58±39, 22 ***	83,16±25,71
II	97,78±17,9 4	125,38±17, 75 **	122,95±20,6 4 *	231,19±35, 32 ***	
III	71,92±24,7 5	90,82±21,9 4	82,49±22,71	98,25±24,3 7	

