



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56461 (13) U
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/50МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ

1

2

(21) u201010811

(22) 08.09.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл.№ 1, 2011 р.

(72) БИЧКОВА НІНА ГРИГОРІВНА, ЛИСОВЕЦЬ
ОЛЕКСАНДР ВІКТОРОВИЧ, ПЕТРИЧЕНКО ВА-
ДИМ ГЕННАДІЙОВИЧ, МУРЛАНОВА ТЕТЯНА ПЕ-
ТРІВНА, БИЧКОВ ОЛЕГ АНАТОЛІЙОВИЧ, КУЗЬ-
МІНА ІННА СТАНІСЛАВІВНА, МУРЛАНОВА
КАТЕРИНА СЕРГІЇВНА, ВОРОНОВА ОЛЕНА СЕР-
ГІЇВНА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ(57) Спосіб оцінки ступеня тяжкості перебігу брон-
хіальної астми у дітей, що включає дослідження

крові, який відрізняється тим, що в сироватці
крові визначають концентрацію циркулюючих імун-
них комплексів великого, середнього та малого
розміру на спектрофотометрі при довжині хвилі
450 нм, отримані результати виражають в умовних
одиницях за формулою:

$$ЦІК=(E1-E0) \times 1000, \text{ де}$$

ЦІК- циркулюючі імунні комплекси;

E1 - дослід, одиниць екстинкції;

E0 - контроль, одиниць екстинкції,

і при зниженні концентрації циркулюючих імунних
комплексів великого розміру та збільшенні рівня
середнього та малого розміру оцінюють ступінь
тяжкості перебігу бронхіальної астми.

Корисна модель, що заявляється, відноситься
до галузі медицини, зокрема до педіатрії, клінічної
імунології та пульмонології і призначена для оцін-
ки ступеня тяжкості перебігу бронхіальної астми у
дітей.

Проблема бронхіальної астми є однією із ак-
туальних в сучасній клінічній медицині в зв'язку з її
ростом і розповсюдженістю, тяжким перебігом у
дитячому віці, труднощами в діагностиці, складніс-
тю вибору адекватної індивідуальної терапії та
підвищенням летальності [1, 2, 3].

За даними ВООЗ розповсюдженість бронхіа-
льної астми у світі коливається в середньому від 4
до 8%, серед дитячого населення складає від 2 до
15%. Згідно даних епідеміологічного дослідження,
проведеного у Києві в рамках міжнародного про-
гнозування ISAAC 1999-2000 рр., поширеність
бронхіальної астми склала 6,1-8,1% [4, 5]. Перші
прояви захворювання за результатами даного
дослідження відмічалися у 54,1% хворих у ран-
ньому віці, а у 14,3% з них - на першому році жит-
тя. Рання ж діагностика захворювання відмічена
лише у 9,5% випадків, що свідчить про факт піз-
ньої діагностики хвороби.

В Україні цей відсоток в дитячій популяції
складає 5-10% [6]. За даними МОЗ України інвалі-
дизація дітей внаслідок хвороб органів дихання

становить 5,3% від загального рівня і зумовлена,
головним чином, бронхіальною астмою.

Порівняно з 1992 роком інвалідизація дітей
бронхіальною астмою збільшилася в 3 рази. Роз-
повсюдженість її в місті Києві на 1000 дітей скла-
дала 8,75% в 2002 році; 9,32 - в 2003 році та 9,43 -
в 2004 році. На сьогодні за даними дитячого алер-
голога м. Києва в місті нараховується 4,317 дітей,
які страждають на бронхіальну астму.

Однією із важливих причин зростання захво-
рюваності на бронхіальну астму (БА) та її недоста-
тньо ефективного лікування є порушення імунного
гомеостазу дітей, хворих на БА, формування у них
імунної недостатності, коли страждають різні лан-
ки імунної системи - клітинна, гуморальна, фаго-
цитарна, а за наявності бронхообструктивного
синдрому, що супроводжує БА, - і формування
аутоімунного процесу. У підтримці останнього зна-
чну роль відіграє мікрофлора, особливо мікробно-
вірусні асоціації, персистенція на слизових оболо-
нках дітей, хворих на БА, атипових збудників
Chlamydia pneumoniae та Mycoplasma pneumoniae,
вплив негативних екологічних чинників, які сприя-
ють зростанню екологічного навантаження на ор-
ганізм дітей, оскільки їх імунна система, перебу-
ваючи на етапі свого становлення, надзвичайно
чутлива до дії останніх [7].

(19) UA (11) 56461 (13) U

Зміни функціонального стану імунокомпетентних клітин та дисбаланс імунних факторів захисту та агресії, в тому числі про- та протизапальних цитокінів, сприяють підвищенню рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові дітей, хворих на БА, а при зниженні фагоцитарної активності нейтрофілів - і порушенню їх елімінації із організму [8, 9, 10]. Останні, залежно від молекулярного розміру та стану фагоцитарної системи пацієнта, можуть або знаходитись в циркуляції, або фіксуватись у тканинах ендотелію судин, а при приєднанні до антитіл, складових ЦІК, - комплемента, викликати його активацію і, таким чином, сприяти запуску пошкоджуючого патологічного процесу, активність якого тісно пов'язана із накопиченням вмісту ЦІК в кровотоці та блокуванням ними CD2 - та CD3-рецепторів на Т-лімфоцитах.

Найбільшу пошкоджуючу дію виявляють патогенні ЦІК середнього розміру (середньомолекулярні з константою седиментації 11-19S) та малого (дрібномолекулярні, константа седиментації яких <11S) розміру, які утворюються при надлишку антигену та характеризуються тривалою циркуляцією і значною комплементактивуною активністю [10, 11].

Існуючі на даний час способи діагностики не можуть повною мірою оцінити ступінь тяжкості перебігу бронхіальної астми у дітей.

Найближчим аналогом (прототипом) корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки ефективності імунокорекції по зміні концентрації циркулюючих імунних комплексів різного розміру у хворих на хронічний бронхіт [12].

Даний спосіб базується на визначенні в сироватці крові хворих на хронічний бронхіт ЦІК різного розміру та оцінці фагоцитарної активності моноцитів і по зміні даних імунологічних показників на фоні застосування імунокорекції судять про ефективність проведеного лікування.

Проте даний спосіб не дозволяє використати для оцінки ступеню тяжкості перебігу БА у дітей фагоцитарну активність моноцитів, оскільки при БА у дітей моноцити як фагоцитуючі клітини мігрують на слизові оболонки бронхіального дерева та в бронхо-альвеолярний лаваж, а в крові залишається лише незначний їх відсоток, що не дозволяє отримати достовірні результати та адекватно їх інтерпретувати.

Задача, яку вирішує корисна модель, що заявляється, полягає у створенні ефективного способу оцінки ступеня тяжкості перебігу бронхіальної астми у дітей, який би дозволив чітко диференціювати ступінь тяжкості бронхіальної астми, був точним, інформативним, більш простим у виконанні, швидким у плані проведення дослідження, не потребував значних коштів на реактиви та дозволяв отримати достовірні дані, які б сприяли адекватній та достовірній оцінці ступеню тяжкості захворювання.

Технічний результат, що досягається корисною моделлю у запропонованому способі, на від-

міну від прототипу, наведеного вище, полягає у дослідженні в сироватці крові кількості ЦІК різного молекулярного розміру із визначенням вмісту найбільш патогенних ЦІК середнього та малого розміру, які відіграють значну роль в патогенезі БА. Він дозволяє чітко диференціювати ступінь тяжкості бронхіальної астми у дітей, є точним, інформативним, більш простим у виконанні, швидким у плані проведення дослідження, не потребує значних коштів на реактиви та дозволяє отримати достовірні дані, які сприяють адекватній та достовірній оцінці ступеню тяжкості захворювання, дозволяє вчасно за необхідності призначити хворому необхідний курс лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, що включає дослідження крові, згідно корисної моделі, в сироватці крові визначають концентрацію та розмір циркулюючих імунних комплексів на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм, отримані результати виражають в умовних одиницях за формулою:

$$\text{ЦІК} = (E1 - E0) \times 1000, \text{ де}$$

ЦІК - циркулюючі імунні комплекси;

E1 - дослід, одиниць екстинкції;

E0 - контроль, одиниць екстинкції

і при зниженні концентрації циркулюючих імунних комплексів великого розміру та збільшенні рівня середнього та малого розміру оцінюють ступінь тяжкості перебігу бронхіальної астми у дітей.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є використання в якості маркера ступеня тяжкості перебігу захворювання концентрації ЦІК з різною молекулярною масою, які мають патогенетичне значення в перебігу бронхіальної астми і дисбаланс яких в сторону переваги патогенних середньо- та дрібномолекулярних при дефіциті фізіологічних великомолекулярних призводить до наростання тяжкості перебігу захворювання.

За відомими літературними даними такий спосіб оцінки ступеня тяжкості перебігу бронхіальної астми у дітей не відомий.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Для проведення дослідження у хворого беруть кров (венозну або капілярну) в кількості 2 мл. Кров центрифугують при 1500 об/хв. протягом 10 хвилин і після цього - знімають сироватку крові. Досліджувану сироватку розливають в 1, 2, 3 та 4 пробірки, як зображено на схемі. Для дослідження готують боратний буфер з pH=8,4; для чого до 55 мл 1,24% розчину борної кислоти додають 45 мл 1,9% розчину бури і доводять об'єм до 1 л. На основі боратного буфера готують 2,5%, 3,75% та 7,0% розчини поліетиленгліколю (ПЕГ)-6000.

За допомогою 2,5% розчину ПЕГ визначають концентрацію велико-молекулярних ЦІК, 3,75% - середньомолекулярних, 7,0% - дрібномолекулярних. Після приготування розчинів їх послідовно додають до сироватки крові в кількості, як зображено на схемі.

Схема постановки:

I пробірка	II пробірка	III пробірка	IV пробірка
Контроль	Дослідні		
0,1 мл сироватки + 2,9 мл боратного буфера	0,1 мл сироватки + 0,2 мл боратного буфера + 2,7 мл ПЕГ 2,5% розчину	0,1 мл сироватки + 0,2 мл боратного буфера + 2,7 мл ПЕГ 3,75% розчину	0,1 мл сироватки + 0,2 мл боратного буфера + 2,7 мл ПЕГ 7,0% розчину

Після внесення до пробірок всіх інгредієнтів вміст перемішати. Проби інкубують 1 годину при кімнатній температурі, після чого проводять визначення концентрації ЦІК на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм у кюветі 1×1 см³ за оптичною густиною відповідних зразків. Отриманий на спектрофотометрі результат відповідає концентрації ЦІК в одиницях екстинкції, а після його множення на тисячу - отримували кількість ЦІК в умовних одиницях в 100 мл сироватки крові за формулою: ЦІК=(E1-E0)×1000, де E1 - дослід, E0 - контроль.

Конкретні приклади виконання.

Приклад 1. Хвора С., 5 років. Медична картка № 3359. Перебувала на стаціонарному лікуванні. Діагноз - бронхіальна астма, легкий перебіг, період ремісії. Хворіє на бронхіальну астму із 3-х років.

В імунограмі на даний час рівень циркулюючих імунних комплексів становив: великого розміру - 46,31 ум. од., середнього розміру - 30,48 ум. од., малого розміру - 9,53 ум. од.

Приклад 2. Хворий Р., 4 р 9міс. Медична картка № 4751. Діагноз - бронхіальна астма, перебіг

середньої важкості, період ремісії. Хворіє на бронхіальну астму із 2-х років.

В імунограмі на даний час концентрація ЦІК становить: великого розміру - 32,75 ум. од., середнього розміру - 45,63 ум. од., малого розміру - 19,58 ум. од.

Приклад 3. Хворий Г., 8 років. Медична картка № 4848. Перебував на стаціонарному лікуванні. Діагноз - бронхіальна астма, важкий перебіг. Період ремісії. Хворіє на бронхіальну астму з одного року. В імунограмі на даний час концентрація ЦІК становить: великого розміру - 24,91 ум. од., середнього розміру - 59,74 ум. од., малого розміру - 27,81 ум. од.

Статистична обробка отриманих результатів виконана на персональному комп'ютері з використанням пакету програм Microsoft XP "Excel".

По запропонованому способу було обстежено 168 хворих на бронхіальну астму дітей. Отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом-прототипом (табл.). Контрольну групу склали 30 здорових осіб, співставлюваних за віком та статтю.

Таблиця

Концентрація ЦІК у дітей, хворих на бронхіальну астму, в залежності від стадії захворювання (M±m, n=168)

Досліджувані параметри	Підгрупи хворих на бронхіальну астму			Контрольна група (n=30)
	I Бронхіальна астма, легкий перебіг (n=52)	II Бронхіальна астма, перебіг середньої важкості (n=69)	III Бронхіальна астма, важкий перебіг (n=47)	
ЦІК великого розміру, ум. од.	* ** *** 36,27±0,91	* ×27,18±0,74	* 20,59±0,72	51,70±3,17
ЦІК середнього розміру, ум. од.	* ** *** 39,72±1,35	* ×54,39±1,12	* 69,41±1,39	34,54±2,02
ЦІК малого розміру, ум. од.	* ** *** 13,75±0,46	* ×25,01±0,62	* 31,18±1,03	10,94±1,13

Примітки: * P<0,05 - достовірність різниці показників відносно даних у здорових осіб;

** - достовірність різниці показників хворих на БА I підгрупи відносно даних у хворих на БА II підгрупи;

*** - достовірність різниці показників хворих на БА I підгрупи відносно даних у хворих на БА III підгрупи;

× - достовірність різниці показників хворих на БА II підгрупи відносно даних у хворих на БА III підгрупи;

n - кількість обстежених хворих.

Отримані результати дослідження концентрації ЦІК різного молекулярного розміру співпали зі стадією хвороби, коли зростання тяжкості захворювання супроводжувалося підвищенням рівня патогенних ЦІК.

Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє чітко диференціювати ступінь тяжкості бронхіальної астми у дітей, є точним, інформативним, більш простим у виконанні, швидким у

плані проведення дослідження, не потребує значних коштів на реактиви та дозволяє отримати достовірні дані, які сприяють адекватній та достовірній оцінці ступеню тяжкості захворювання, дозволяє вчасно за необхідності призначити хворому необхідний курс лікування.

Джерела інформації:

1. Ласиця О. І. Бронхіальна астма у дітей: проблеми і перспективи діагностики та лікування / О.І.

Ласиця, О.М. Охотникова // Нова медицина. - 2003. - №1. - С.44-49.

2. Сукачёва А.И. Клинические симптомы и некоторые патогенетические механизмы прогрессирования бронхиальной астмы у детей / А.И. Сукачёва, Н.П. Алексеева // Врачеб. практика. - 2000. - №1. - С.53-59.

3. Филипушенко И.А. "Болезнь цивилизации" - астма - и её основные факторы риска / И.А. Филипушенко // Аллергология и иммунология. - 2005. - Т.6. - №3. - С.49-54.

4. Ласиця О.И. Распространённость аллергических заболеваний в городе Киеве по унифицированной методике ISAAC / О.И. Ласиця, А.З. Акопян // Український медичний часопис - 1999. - №3. - С.21-24.

5. Иванова О.Н. Распространённость бронхиальной астмы и аллергии (по данным опросника "ISAAC-PHASE II") / О.Н. Иванова // Аллергология и иммунология. - 2005. - Т.6. - №3. - С.339.

6. Акопян А.З. Распространённость аллергических заболеваний у детей / А.З. Акопян // Укр. Пульмонолог. Журнал. - 2000. - №1. - С.65-69.

7. Прохорова М.П. Диагностика и лечение бронхиальной астмы у детей, ассоциированной с Chlamydia pneumonia / М.П. Прохорова, Н.Г. Быч-

кова, Я.В. Соколова // Астма. - 2001. - Т.2. - №1. - С.120-121.

8. Артемьева О.В. Состояние иммунной интерфероновой системы у больных бронхиальной астмой / О.В. Артемьева, А.И. Когновицкая, Т.М. Юрина // Клиническая медицина. - 2001. - Т.79. - №10. - С.21-23.

9. Балаболкин И.И. Интерлейкины 1 и 2 в патогенезе бронхиальной астмы / И.И. Балаболкин, Л.С. Намазова, Л.В. Ковальчук // Иммунология. - 1994. - №1. - С.33-36.

10. Бичкова Н.Г. Особливості системного імунітету у дітей, хворих на бронхіальну астму при персистенції Chlamydia pneumonia / Н.Г. Бичкова, В.Г. Петриченко, О.В. Лисовець // Імунологія та алергологія. - 2008. - №2. - С.36-40.

11. Фролов В.М. Исследование циркулирующих иммунных комплексов: диагностическое и прогностическое значение / В.М. Фролов, В.Е. Рычнев // Лабораторное дело. - 1986. - №3. - С.159-161.

12. Фролов В.М. Циркулирующие иммунные комплексы и фагоцитарная активность моноцитов у больных хроническим бронхитом при проведении дифференцированной иммунокоррекции / В.М. Фролов // Украинский пульмонологический журнал. - 2003. - №3. - С.28-30.