



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 5895

(13) U

(51) 7 G01N33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ПРЕЕКЛАМПСІЇ ВАГІТНИХ

1

2

(21) 20041008286

(22) 13 10 2004

(24) 15 03 2005

(46) 15 03 2005, Бюл. № 3, 2005 р.

(72) Сазоненко Леся Володимирівна, Вітовський
Ярослав Мирославович, Лакатош Володимир
Павлович(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб оцінки ефективності лікування прееклампсії вагітних, що включає дослідження вмісту

поліненасичених жирних кислот (ЖК) сироватки крові, який відрізняється тим, що в сироватці крові методом газорідної хроматографії до початку лікування та в динаміці на 7-10 добу визначають сумарний вміст ліноленової ($C_{18:3}$) та ейкозотрієнової ($C_{20:3}$) ЖК, вміст арахідонової ($C_{20:4}$) ЖК, розраховують їх співвідношення за формулою $K = (C_{18:3} + C_{20:3}) / C_{20:4}$, і при збільшенні величини K в два рази та більше лікування оцінюють як ефективне.

Корисна модель, що заявляється, відноситься до медицини, зокрема до такого її розділу, як акушерство та гінекологія, і може бути використана для оцінки ефективності лікування вагітних з прееклампсією.

Прееклампсія (ПЕ) - складний нейрогуморальний патологічний процес, що проявляється порушенням функцій нервової, серцево-судинної, ендокринної систем, а також обмінних процесів, імунної відповіді та інших функцій організму вагітної, це синдром мультисистемної дисфункції [1].

Прееклампсія залишається однією з найбільш актуальних проблем у сучасному акушерстві, що пов'язано з високою частотою цієї патології (14%) та зростанням важких та атипичних її форм. Питома вага прееклампсії серед ускладнень вагітності зросла в Україні від 27,9 % в 1995 році до 40,7 % в 2003 році, а питома вага тяжких форм прееклампсії та еклампсії від 0,22% до 0,8% і не має тенденції до зниження. Висока частота гестозів, характер їх ускладнень у матері і плоду обумовлюють необхідність подальшого вивчення патогенезу і пошуків нових методів діагностики, прогнозування і підвищення ефективності лікування даного захворювання.

Нині існує понад 40 етіопатогенетичних концепцій розвитку прееклампсії. Серед безлічі теорій важко домогтися єдності підходів до лікування різних проявів ПЕ. Жодна акушерська патологія не виділяється такою поліпрагмазією під час медикаментозної терапії, як ПЕ, у той же час ефек-

тивність її незначна. У зв'язку з цим необхідна розробка таких методів визначення ефективності лікування, які б дозволяли орієнтуватися серед безлічі нових препаратів, запропонованих для лікування прееклампсії.

Основними завданнями лікування прееклампсії є швидке та стійке зникнення клінічних симптомів прееклампсії, нормалізація порушених обмінних процесів, покращення внутрішньоутробного стану плоду, пролонгація вагітності до необхідного терміну з народженням немовляти без проявів ускладнень, що спричинює ПЕ (хронічна гіпоксія, затримка розвитку, тощо).

Розробка достовірних критеріїв визначення ефективності лікування прееклампсії необхідна для контролю за лікуванням з метою своєчасної корекції дози та курсу препаратів, допоможе обґрунтувати доцільність використання тієї чи іншої схеми для лікування вагітних з прееклампсією.

Спосіб визначення ефективності лікування прееклампсії має бути специфічним - обґрунтованим з точки зору патогенезу, точним та раннім, для своєчасної корекції призначеного лікування та вироблення подальшої тактики ведення вагітної. Однак відомі з літератури аналоги не відповідають всім означеним вимогам.

Так, відомий спосіб оцінки ефективності лікування прееклампсії за допомогою показників внутрішньосудинної активації тромбоцитів [2]. Оцінюють морфологічні зміни тромбоцитів за допомогою фазово-контрастної мікроскопії за методом А. С. Щитикової. Відомо, що посилення актив-

(13) U

(11) 5895

(19) UA

ності тромбоцитів, яке спостерігається при розвитку ПЕ, призводить до стимуляції внутрішньосудинного тромбозу та веде до появи їх активованих та рефракторних форм (дискоцитів, дискоехіноцитів, сфероцитів, сфероехіноцитів). Цей спосіб базується на дослідженні вмісту в крові рефракторних форм тромбоцитів, сумарного вмісту активованих форм тромбоцитів та числа малих агрегатів на 100 тромбоцитів (у %) у вагітних та порівнянні цих змін при різних способах лікування прееклампсії. Даний спосіб визначення ефективності лікування прееклампсії не є достатньо специфічним (зміни форми та активності тромбоцитів є вторинними в розвитку ПЕ і можуть спостерігатись і при інших патологіях з порушенням гемопоезу та коагуляційних властивостей крові), а тому і не досить точним.

Найбільш близьким до способу, що заявляється - прототипом - є наступний спосіб визначення ефективності лікування ПЕ [3]. Досліджують основні клініко-лабораторні параметри та показники перекисного окислення ліпідів. Про зміни перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) судять за концентрацією малонового діальдегіду (МДА) - продукту пероксидації ненасичених жирних кислот, яку визначають за методом Котерова А.М., Конь Н.Я. (1996). Для вагітності, ускладненої прееклампсією, характерним є підвищення рівня пероксидації (МДА у вагітних з прееклампсією перевищує середній показник в 1,67 рази). Про ефективність лікування судять за зменшенням рівня пероксидації, тобто зниженням вмісту МДА. Оскільки стан ПОЛ не є специфічним механізмом розвитку прееклампсії (підвищення рівня ПОЛ спостерігається і при багатьох інших гіпоксичних станах), то цей спосіб не дає можливість точно визначити ефективність лікування саме даної патології.

Задача, що вирішується корисною моделлю, що заявляється, полягає у вдосконаленні способу оцінки ефективності лікування прееклампсії вагітних за рахунок залучення до аналізу ефективності глибини ліпідних порушень, а саме зміни співвідношення поліненасичених жирних кислот.

Технічним результатом застосування запропонованого способу оцінки ефективності лікування прееклампсії вагітних буде більш специфічна і точна оцінка лікування, що проводиться, і, відповідно, більш своєчасна його корекція, що дозволить пролонгувати вагітність у більшого відсотку вагітних з прееклампсією.

Поставлена задача досягається тим, у відомому способі оцінки ефективності лікування прееклампсії вагітних, що включає дослідження вмісту поліненасичених жирних кислот (ЖК) сироватки крові, згідно корисної моделі, в сироватці крові методом газорідинної хроматографії до початку лікування та в динаміці на 7-10 добу визначають сумарний вміст ліноленової ($C_{18:3}$) та ейкозотрієнової ($C_{20:3}$) ЖК, вміст арахідонової $C_{20:4}$ ЖК, розраховують їх співвідношення за формулою: $K = (C_{18:3} + C_{20:3}) / C_{20:4}$ і при збільшенні величини K в два рази та більше, лікування оцінюють як ефективне.

Відмінною особливістю способу, що заявляється, є залучення до аналізу ефективності глибини ліпідних порушень, а саме зміни

співвідношення поліненасичених жирних кислот: сумарного вмісту ліноленової ($C_{18:3}$) і ейкозотрієнової ($C_{20:3}$) ЖК та вмісту арахідонової $C_{20:4}$ ЖК. Від структуризації саме цих жирних кислот у фосфоліпідах клітинних мембран залежить синтез ендотелієм регуляторних медіаторів, що лежать в основі розвитку прееклампсії. Дослідження змін ліпідного обміну при даній патології є саме тим визначальним критерієм, який дозволяє об'єктивно оцінити ефективність лікування прееклампсії. За відомими літературними даними такий спосіб оцінки ефективності лікування прееклампсії вагітних невідомий.

Запропонований спосіб здійснюється таким чином. У вагітної натще з вени беруть кров, виділяють сироватку. Сироватку в кількості 0,5-1,0 мл. поміщають в пробірку з притертою пробкою ємністю 10 мл, додають 5-7 мл хлороформно-метанольної суміші (у співвідношенні 2:1) і тримають 30 хвилин у холодильнику. Для кращого розподілу фаз додають 1 мл дистильованої води. Для аналізу відбирають хлороформну нижню фазу, яка містить ліпіди. Хлороформні екстракти випаровують досуху в потоці азоту при температурі 45°C на водяній бані. Сухий осад ліпідів з'єднують з 5 мл розчину 1% сірчаної кислоти (H_2SO_4) у метанолі і вміщують в ампули, які запаяють.

Гідроліз і метилювання сухого осаду ліпідів проводять в термостаті при температурі 85°C на протязі 20 хвилин. Екстракцію метильованих ЖК проводять двічі гексан-ефірною сумішшю (співвідношення 1:1) в кількості 5 мл. Об'єднані екстракти випаровують в потоці азоту при 40°C на водяній бані, а сухий осад розчиняють в 40,0-50,0 мл чистого гексану і вводять у випарувач хроматографа в кількості 5 мл.

Потім проводять газорідинний аналіз жирнокислотного складу ліпідів на газовому хроматографі "Цвет-500" в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором при наступних умовах: для визначення спектру жирних кислот ліпідів використовують скляну колонку (розміром 2 мх0,3 см), яка заповнена фазою 5% ПЕГС на хроматоні N-AW-HMDS (зернінність 0,125-0,160 мм), температура колонки 180°C, температура випарувача 240°C, розходження азоту і водню 35 мл/хв, повітря - 200 мл/хв., швидкість діаграмної стрічки 240 мм/год, чутливість шкали 10^{-7} А, об'єм проби, що вводиться, становить 3-5 мл, тривалість аналізу - 20 хвилин. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів проводять за методом нормування площ і визначають долі кислот в процентах (%) [4]. В сироватці крові вагітних, діагноз прееклампсії яким було встановлено на основі попередніх клінічних, інструментальних, біохімічних методів, визначають вміст ліноленової ($C_{18:3}$), ейкозотрієнової ($C_{20:3}$) та арахідонової ($C_{20:4}$) ЖК, розраховують коефіцієнт K за формулою: $K = (C_{18:3} + C_{20:3}) / C_{20:4}$. Дані дослідження проводять до початку лікування та в динаміці на 7-10 добу, і при збільшенні величини K в два рази та більше, лікування оцінюють як ефективне.

Співвідношення ПНЖК, яке за концепцією даної корисної моделі визначає ефективність лікування прееклампсії вагітних, було встановлено наступним чином. На базі Пологового будинку №7

м. Києва було обстежено 52 вагітних з преєк- лампсією та визначено характерні порушення ліпідного обміну. На 7-10 добу від початку лікування були проведені контрольні дослідження: у 35 вагітних спостерігалось значне покращання показників - ці пацієнти об'єднані в I групу, в 11 було дещо менш виражене покращання - II група

та у 6 вагітних спостерігалось погіршення показ- ників ліпідного обміну та зменшення коефіцієнту K - III група вагітних. Отримані в процесі дослідження дані в більшості випадків співпадали з даними, отриманими рутинними клініко- лабораторними методами.

Таблиця 1

Зміни ліпідних показників сироватки крові у вагітних з преєк- лампсією до і після лікування в залежності від ефективності лікування

Назва ЖК	До лікування	Після лікування I група	Після лікування II група	Після лікування III група
C _{18:3}	-	1,9±0,3	1,1±0,2	0,25±0,03
C _{20:3}	0,9±0,4	-	-	0,5±0,05
C _{20:4}	3,9±1,4	2,8±0,6	2,4±0,7	3,45±0,2
$K=(C_{18:3}+C_{20:3})/C_{20:4}$	0,23	0,70	0,50	0,22

Як видно з наведеної таблиці, зростання значення коефіцієнта K в 2 рази і більше відповідає сприятливому перебігу вагітності у хворих з преєк- лампсією під дією лікування, що проводилось, і дозволяє прогнозувати пролонгацію вагітності до нормального чи майже нормального терміну.

Обґрунтуванням запропонованого спосо- бу оцінки ефективності лікування преєк- лампсії шляхом залучення до аналізу глибини ліпідних порушень, а саме зміни співвідношення поліненасичених жирних кислот: сумарного вмісту ліноленової (C_{18:3}) і ейкозотрієнової (C_{20:3}) ЖК та вмісту арахідонової (C_{20:4}) ЖК, можуть слугувати наступні міркування.

Результати досліджень останніх років свідчать про те, що преєк- лампсія є полісиндромним захво- рюванням, в основі якого лежить структурно- функціональна патологія ендотелію - порушення клітинними мембранами ендотелію синтезу регу- латорних медіаторів [5].

Відомо, що відображенням стану ендотелію є структуризація жирнокислотного складу мембран, важливим компонентом клітинних мембран є поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), кінцевими продуктами яких є біологічні медіатори - тромбок- сани, простагландини, лейкотрієни. Залежно від місця розташування подвійного зв'язку між атома- ми -C- жирні кислоти підрозділяють на родини ω-3, ω-6, ω-9, ω-11. Похідні ω-3 та ω-6 ПНЖК ініціюють продукцію різних за дією внутрішньоклітинних сиг- налів та регулюючих факторів [6].

Похідні ω-3 ПНЖК (ліноленова ЖК) - тромбок- сани та простагландини 3-ї серії, лейкотрієни 5-ї серії володіють антизапальною, гіпохолестеролемічною, антикоагуляційною та ан- тиагрегаційною, судинодилатативною діями.

Метаболіти ω-6 ПНЖК (ейкозотрієнова, арахідонова) - тромбоксани та простагландини 2-ї серії, лейкотрієни 4-ї серії сприяють агрегації тромбоцитів, утворенню протизапальних цитокінів, вазоконстрикції.

Отже, порушення ендотелієм синтезу регуля- торних медіаторів, що лежить в основі розвитку преєк- лампсії, залежить від структуризації жирних кислот у фосфоліпідах клітинних мембран.

Дослідження змін саме ліпідного обміну при даній патології є визначальним критерієм для оцінки ефективності лікування преєк- лампсії.

Приклад конкретного втілення

Вагітна Б., 22 років. Історія пологів №1652. По- ступила в акушерський стаціонар Пологового бу- динку №7 по направленню лікаря жіночої консуль- тації зі скаргами на появу набряків протягом тиж- ня, утруднення носового дихання, підвищення ар- теріального тиску (АТ) до 140/90. Встановлений діагноз: вагітність I, 38-39 тиж., головне передле- жання, преєк- лампсія легкого ступеня тяжкості.

Об'єктивно: загальний стан задовільний. АТ 140/90мм.рт.ст. на обох руках. Пульс 86уд/хв, ритмічний, задовільних властивостей. Набряки гомілок, стоп, кистей. З боку внутрішніх органів патології не виявлено.

Стан плода: кардіотокограма за Фішером - 7 балів, біофізичний профіль - 8 балів.

Лабораторні дані підтвердили діагноз преєк- лампсії: характерні зміни біохімії (зниження рівня загального білку, підвищення вмісту печінкових ферментів - АСТ, АЛТ), підвищення коагуляційних властивостей крові, поява гіалінових циліндрів в сечі. Лабораторні дані: Загальний аналіз крові: НЬ 120г/л; L 8,5x10⁹/л; Нt 0,45; тромбоцити 170г/л; ШОЕ 20мм/год. Коагулограма: етаноловий тест 2+; нафтоловий тест 3+; протромбіновий індекс 92%; АВР 49"; фібриноген 6г/л, фібрин 22мг. Біохімія крові: загальний білок 56г/л; загальний білірубін 20,0мкмоль/л; прямий білірубін 0; АЛТ 0,49ммоль/л; АСТ 0,72ммоль/л; сечовина 4,4ммоль/л, азот сечовини 1,59ммоль/л. Загаль- ний аналіз сечі: білок 0,192г/л; щільність 1020; епітелій - помірна кількість, лейкоцити 5-6 в полі зору; еритроцити 0-0-1; циліндри - гіалінові 10-15; солі - оксалати помірно.

При дослідженні жирнокислотного спектру ліпідів отримані наступні дані: лінолева кислота 0,01%; ейкозатрієнова кислота 0,9%; арахідонова кислота 3,9%; Розрахунок коефіцієнту дав значен- ня K=0,23.

Призначено лікування відповідно встановле- ному діагнозу.

На 7 добу від початку лікування отримали на- ступні клініко-лабораторні дані: покращання за-

гального самопочуття, втрата ваги на 700г, стійка стабілізація артеріального тиску в межах 120-115/75-70мм рт.ст. на обох руках, зникнення периферичних набряків. Відмічені зникнення білка в сечі, нормалізація біохімічних показників та коагуляційних властивостей крові. Покращився внутрішньоутробний стан плоду кардіотокограма за Фішером - 8-9 балів, біофізичний профіль - 8-10 балів. Дослідження жирнокислотного спектру ліпідів крові показало: лінолева кислота 1,85%, ейкозатрієнова кислота 0,03%, арахідонова кислота 2,8%, коефіцієнту мав значення 0,7, тобто збільшився в 3 рази. Можна зробити висновок, що лікування, призначене даній вагітній, є ефективним, відповідає характеру та тяжкості патології.

Таким чином, запропонований спосіб оцінки ефективності лікування прееклампсії вагітних, специфічний з огляду на патогенез патології, дозволяє точно оцінити ефективність призначеного лікування з метою своєчасної його корекції, що дозволить пролонгувати вагітність у більшого відсотку вагітних з пре-еклампсією і може бути рекомендованим для впровадження в практичну медицину.

Додаткові переваги цього метода: чутливість газорідної хроматографії 10^{-7} А, висока

інформативність, що дозволяє визначити ступінь порушень ліпідного обміну. Газохроматографічний метод зручний у використанні. За допомогою цього методу можна контролювати стан ліпідного обміну в динаміці, прогнозувати подальший перебіг захворювання, оцінювати правильність призначення ліків та ефективність лікування.

Література

1. Айламазян Є. К. Неотложная помощь при экстремальных состояниях в акушерской практике - Н. Новгород, 1995, 281 с.
2. Дислипидемия и ишемическая болезнь сердца / Под ред. Е. И. Чазова, А. И. Климова - М. Медицина - 1980 - 203 с.
3. Иванова О. Л. W-3 ПНЖК в комплексной терапии гестоза // Автореферат - М. 1998.
4. Сазоненко Л. В., Вітовський Я. М., Брюзгіна Т. С., Вретік Г. М. Дослідження змін жирнокислотного спектру ліпідів сироватки крові у вагітних з пре-еклампсією // Медична хімія - 2003 - № 3 - С. 113-115.
5. Афонина Г. Б., Куюн Л. А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ - Киев 2000 - 287 с.
6. Липко О. П. Сучасні уявлення про етіопатогенез пізнього гестозу // Педіатрія, акушерство та гінекологія - 1997 - № 3 - С. 92-94.