



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66350 (13) U
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВО-
РЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

1

2

(21) u201109514

(22) 29.07.2011

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.

(72) БИЧКОВА НІНА ГРИГОРІВНА, БИЧКОВА СВІ-
ТЛАНА АНАТОЛІЙВНА, ГОЛИК ЛЕВ АНТОНОВИЧ,
ДЯЧЕНКО ВІКТОР ВІКТОРОВИЧ(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб оцінки ефективності лікування хворих

на хронічне обструктивне захворювання легень, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що до та після лікування визначають сироватковий рівень прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α , інтерлейкіну 1β та інтерлейкіну-6 і при зниженні їх вмісту після лікування до значень, які не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, зокрема до терапії, пульмонології, клінічної імунології, і призначена для оцінки ефективності лікування хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ).

На сьогоднішній час ХОЗЛ поряд з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця та цукровим діабетом складає провідну групу хронічних захворювань, на частку яких припадає понад 30 % серед всіх інших форм патології людини. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) відносить ХОЗЛ до захворювань, які мають значне соціальне значення внаслідок його широкого розповсюдження як серед розвинутих країн, так і тих, що розвиваються. Причому прогноз, складений експертами ВООЗ до 2020 року, свідчить про те, що ХОЗЛ стане не лише однією із розповсюджених форм патології людини, але і ввійде в число провідних причин смертельних випадків [1].

За даними А.Г. Чучаліна (2005) та Р.М. Хаїтова (2006) на перебіг та прогноз ХОЗЛ значною мірою чинять вплив стан імунної системи, окремих її факторів, рівень секреції гуморальних факторів запалення. Велике значення надається імунним механізмам та цитокіновій регуляції в розвитку проліферативної стадії запалення в процесі ремоделювання бронхів при захворюваннях легень різної етіології. Активовані ефекторні клітини імунної системи виділяють понад 50 факторів запалення, які призводять до бронхіальної обструкції внаслідок набряку, гіперсекреції слизу, змін реологічних властивостей мокрот, морфологічної перебудови бронхіального дерева та подальшої колонізації патогенними мікроорганізмами [2, 3].

Особливості імунологічних порушень при ХОЗЛ полягають у тому, що відбувається зниження кількості та пригнічення функціональної активності Т-лімфоцитів, дисбаланс В-ланки імунітету та гуморальних факторів природного протиінфекційного захисту [4]. За даними багатьох досліджень у 97 % хворих із хронічним бронхітом наявні порушення в імунній системі. У фазі загострення пригнічення ланцюгів імунної системи може носити транзиторний характер та зникати під впливом терапії. Стійке збереження змін показників імунної системи у фазі ремісії ХОЗЛ вказує на наявність у хворого імунодефіцитного стану [5, 6].

Сьогодні крім розроблених критеріїв базисної терапії застосовують пошуки нових терапевтичних підходів для профілактики прогресування ХОЗЛ. Оскільки нейтрофільне запалення регулюється хемотоксичними факторами, такими як ІЛ-8, іншими хемокінами та лейкотріеном B_4 , для зменшення їхньої кількості можуть бути використані різні індуктори їхнього синтезу [5]. Можлива також націленість нових методів терапії на блокування секреції ФНП- α , наявного у великій кількості в харкотинні у хворих ХОЗЛ. ІЛ-10 ефективний при блокуванні синтезу ІЛ-8 і ФНП- α як протеолітичних ферментів. Оксидантний стрес відіграє важливу роль у патогенезі ХОЗЛ. Тому розробляються більш ефективні антиоксиданти, що працюють як "нейтронні пастки". Протеази, що вивільняються при розвитку ХОЗЛ, зокрема нейтрофільна еластаза, викликають деструкцію легеневої тканини, тому нові напрямки в лікуванні ХОЗЛ можуть бути також націлені на розробку та застосування ефективних інгібіторів цих ферментів. Певний інтерес

(19) UA (11) 66350 (13) U

представляють матриксні металопротеїнази, що вивільняються з макрофагів і нейтрофілів. Отже, розроблюються селективні інгібітори матриксних металопротеїназ. Ще один можливий підхід - лікування ендogenous антипротеазами, такими, як α_1 -антитрипсин і секреторний інгібітор лейкопротеази. Можливо, ще більш ефективним буде збільшення власної ендogenous продукції антипротеаз. Гіперсекреція слизу - характерна риса ХОЗЛ - не піддається специфічному лікуванню. Імовірно, тахікінінові антагоністи можуть бути використані для контролю гіперсекреції слизу з моменту вивільнення нейропептидів із чутливих нервових закінчень дихальних шляхів, що активуються при палінні. Інші підходи включають інгібіцію ефекторного вивільнення нейропептидів з використанням опіоїдів або відкриття калієвих каналів, а також регуляцію експресії генів, відповідальних за продукцію слизу, активізованих хронічним палінням [3].

Існуючі на даний час способи оцінки ефективності лікування хворих на ХОЗЛ не можуть повною мірою оцінити результат проведеного лікування.

Так, відомий спосіб лікування хронічного обструктивного захворювання легень [7], що включає оцінку комплексу імунологічних показників, і в залежності від типу імунної відповіді призначають різні поєднання антигомотоксичних препаратів: при гіперреактивній реакції імунної системи або переважно супресорній імунній недостатності з високим імунорегуляторним індексом - Лімфоміозот по 10 крапель тричі на добу сублінгвально та Мукозу композитум по 2,2 мл внутрішньом'язово тричі на тиждень, при тотальному клітинному імунodefіциті або переважно хелперній імунній недостатності з низьким імунорегуляторним індексом - Траумель С та Ехінацею композитум С по 2,2 мл внутрішньом'язово по чергово через день, Бронхаліс-Хель по 1 таблетці тричі на добу сублінгвально та Лімфоміозот по 10 крапель тричі на добу сублінгвально впродовж 2-х тижнів.

Проте даний спосіб лише забезпечує можливість призначення додаткових препаратів - антигомотоксичної терапії додатково до базових засобів для лікування хворих на ХОЗЛ, але не дозволяє адекватно оцінити його ефективність.

Найбільш близьким до способу, за заявляється, є спосіб, вибраний як прототип, що включає застосування лікарських препаратів, при якому оцінюють комплекс імунологічних показників і в залежності від типу імунної відповіді призначають різну дозу Фенспіриду: при реакції імунної системи з окремими імунологічними порушеннями доза становить 160 мг на добу, а при гіпоергічній, в залежності від вираженості процесу, - 160-240 мг двічі на добу перед їжею впродовж 3-х тижнів [8].

Проте даний спосіб дозволяє детально оцінити та визначити типи імунної відповіді у хворих на ХОЗЛ і призначити специфічну терапію, проте не дозволяє оцінити ефективність призначеного лікування.

В зв'язку з вищенаведеним видно, що вирішення проблеми адекватної оцінки ефективності лікування хворих на ХОЗЛ, є надзвичайно актуальним.

Задача, яку вирішує корисна модель, що заяв-

ляється, полягає у створенні способу оцінки ефективності лікування хворих на ХОЗЛ, який би був точним, інформативним та дозволив отримати найбільш достовірні дані, які б сприяли адекватній оцінці результатів проведеного лікування.

Технічний результат, що досягається від вирішення задачі, на відміну від прототипу полягає у підвищенні точності оцінки ефективності лікування за рахунок дослідження в сироватці крові концентрації прозапальних цитокінів - ФНП- α ІЛ-1 β та ІЛ-6 - та можливості призначення в подальшому адекватної терапії хворим на ХОЗЛ.

За доступними літературними даними такий спосіб оцінки ефективності лікування хворих на ХОЗЛ не відомий.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові, згідно з корисною моделлю, до та після лікування визначають сироватковий рівень прозапальних цитокінів - фактора некрозу пухлин- α , інтерлейкіну 1 β та інтерлейкіну-6 і при зниженні їх вмісту після лікування до значень, які не відрізняються від норми, оцінюють лікування як ефективне.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином.

Для проведення дослідження у хворого беруть кров (венозну) до та після лікування в кількості 5 мл. Кров центрифугують при 1500 об/хв. протягом 10 хв. і після цього знімають сироватку крові. В досліджуваній сироватці крові до та після лікування визначають вміст ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 за допомогою сертифікованих в Україні наборів реагентів для імуноферментного аналізу Pro Con TOB "Протеиновый контур" (Росія).

Стандартний протокол аналізу.

1. В лунки планшета А1-Д1 вносять по 100 мкл стандартів ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-6 із відомою концентрацією, в лунку Е1 вносять 100 мкл буфера (нульовий стандарт), в решту лунок вносять по 100 мкл сироваток для тестування.

2. Інкубують 1 годину при $t +37^\circ\text{C}$ при безперервному струшуванні.

3. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою.

4. В кожну лунку вносять по 100 мкл розчину вторинних антитіл.

5. Інкубують 1 годину при $t +37^\circ\text{C}$ при безперервному струшуванні.

6. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою.

7. В кожну лунку планшета вносять по 100 мкл розчину кон'югату стрептавідину з пероксидазою хрину. Інкубують 30 хвилин при $t +37^\circ\text{C}$ при безперервному струшуванні.

8. Видаляють рідину із лунок, промивають лунки тричі біфосфатним буфером та двічі дистильованою водою. Осушують планшет.

9. В усі лунки вносять розчин субстрату із фарбником. Інкубують 20 хв. при кімнатній температурі в місці, захищеному від прямих сонячних променів.

10. Зупиняють реакцію внесенням в кожну лунку по 50 мкл розчину сірчаної кислоти.

11. Виконують облік реакції за допомогою автоматичного фотометру при довжині хвилі 450 нм. Конкретні приклади виконання.

Приклад 1. Хворий К., 47 р. Перебував на стаціонарному лікуванні з діагнозом: ХОЗЛ II стадії. Хворіє на ХОЗЛ протягом 12 років. Стаж паління - 22 роки, щоденно до 20 цигарок на добу. У пацієнта наявні постійний кашель з виділенням мокроту слизового характеру, а під час загострень - гнійного, задишка при фізичному навантаженні. Об'єктивне обстеження - над легеньми - коробковий перкуторний тон, аускультативно - жорстке дихання, розсіяні сухі свистячі хрипи над легеньми. Дослідження показників функції зовнішнього дихання виявило порушення за обструктивним типом: ФЖЕЛ - 74,3 % від належної величини, ОФВ1 - 66,8 % від належної величини, ПОШ видиху - 65,7 % від належної величини, ОФВ1/ФЖЕЛ - 66,1 %, проба із сальбутамолом негативна, приріст ОФВ1 склав - 3,2 %. При рентгенологічному обстеженні у даного пацієнта було виявлено явища дифузного пневмосклерозу та емфіземи легень. Отримував лікування бронходилататорами короткої дії - беродуал Н по 2 вдихи 2 рази на добу та пролонгованим - Спінріва 18 мкг в 1 вдиху 1 раз на добу. В імунограмі рівень ФНП- α в сироватці крові до лікування - 121 пг/мл, після лікування - 48 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 115 пг/мл, після - 40 пг/мл, сироваткова концентрація ІЛ-6 до лікування - 85 пг/мл, після лікування - 12 пг/мл.

Приклад 2. Хворий А., 46 р. Перебував на стаціонарному лікуванні з діагнозом: ХОЗЛ легень II стадії. Хворіє на ХОЗЛ протягом 9 років. Стаж паління - 19 років, щоденно до 10 цигарок на добу. У пацієнта наявні постійний кашель з виділенням мокроту слизового характеру, а під час загострень - гнійного, задишка при фізичному навантаженні та загостреннях. Об'єктивне обстеження - над легеньми - перкуторно - легеневиий тон з коробковим

відтінком, аускультативно - жорстке дихання, розсіяні сухі свистячі хрипи над легеньми. Дослідження показників функції зовнішнього дихання виявило порушення за обструктивним типом: ФЖЕЛ - 69,2 % від належної величини, ОФВ1 - 59,8 % від належної величини, ПОШ видиху - 61,4 % від належної величини, ОФВ1/ФЖЕЛ - 68,2 %, проба із сальбутамолом негативна, приріст ОФВ1 склав - 1,7 %. При рентгенологічному обстеженні у даного пацієнта було виявлено явища дифузного пневмосклерозу та емфіземи легень, без вогнищевих змін. Отримував бронходилататори: Спінріва по 1 дозі 1 раз на день та сальбутамол по 2 вдихи на вимогу не більше 3 разів на добу. В імунограмі рівень ФНП- α в сироватці крові до лікування - 115 пг/мл, після лікування - 40 пг/мл, рівень ІЛ-1 β до лікування - 110 пг/мл, після - 45 пг/мл, сироваткова концентрація ІЛ-6 до лікування - 75 пг/мл, після лікування - 15 пг/мл.

Проведені дослідження після етапу лікування показали достовірне зниження рівня прозапальних цитокінів в сироватці крові хворих, які отримували терапію за протоколом лікування відповідно до Наказу №128 [1].

По запропонованому способу було обстежено 125 хворих на ХОЗЛ, і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом-прототипом (табл. 1). Контрольну групу склали 30 здорових осіб, співставляваних за віком та статтю. Діагноз та стадію ХОЗЛ встановлювали відповідно до Наказу №128 від 19.02.2007р [1]. Імунологічне обстеження проводилося двічі: до лікування та через 1 місяць постійної терапії.

Статистична обробка отриманих результатів виконана на персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних програм Microsoft XP "Excel". Зміна рівня прозапальних цитокінів в динаміці лікування наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Вміст інтерлейкінів у сироватці крові хворих на ХОЗЛ в динаміці лікування ($M \pm m$)

Показник	До лікування (n=125)	Після лікування (n=125)	Контрольна група (n=30)
ФНП- α , пг/мл	102,15 \pm 4,73*	44,78 \pm 2,31**	42,31 \pm 2,12
ІЛ-1 β , пг/мл	101,25 \pm 4,09*	40,18 \pm 2,14**	39,42 \pm 1,97
ІЛ-6, пг/мл	78,21 \pm 3,85*	11,16 \pm 0,33**	10,31 \pm 0,52

Примітки: * - достовірність різниці показників порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$)

** - достовірність різниці показників до та після лікування ($p < 0,01$)

Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє чітко оцінити зменшення запального процесу, підтверджує покращення клінічного стану хворих, є високоінформативним завдяки використанню сертифікованих в Україні та доступних за ціною наборів реагентів виробництва НПО "Протейновий контур" (РФ-СПб), дозволяє чітко оцінити клініко-імунологічну ефективність лікування пацієнтів.

Джерела інформації:

1. Наказ №128 МОЗ України від 19.03.2007р. Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Ппульмонологія". Київ - 2007. 146 с.

гія". Київ - 2007. 146 с.

2. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. М.: Медицина, 2005. 345 с.

3. Хаитов Р.М. Иммунология локального и системного воспаления // Аллергология и иммунология. - 2006. - № 5. - С. 6-7.

4. Фархутдинов У.Р., Фархутдинов Ш.У. Эффективность иммунокорригирующей терапии у больных хронической обструктивной болезнью легких/ У.Р. Фархутдинов, Ш.У. Фархутдинов// Пульмонология. - 2008. - №5. - С. 66-70.

5. Мотавкин П.А., Гельцер Б.И. Клиническая и экспериментальная патофизиология легких. М.:

Медицина, 1998. 316 с.

6. Е.П. Калинина. Оценка иммуотропного действия антиоксидантного препарата "мексидол" при лечении больных хронической обструктивной болезнью легких // Иммунология. - 2002. - №5. - С. 42-46.

7. Патент № 25200, МПК(2006) А61К 39/00, G01N 33/53. Спосіб лікування хронічного обструктивного захворювання легень / Дудка П.Ф., Ільницький Р.І., Добрянський Д.В., Бичкова Н.Г.; заявник та патентовласник Національний медичний уні-

верситет ім. О.О.Богомольця, № u200704040; заявл. 12.04.2007; опубл. 25.07.2007, Бюл. №11, 2007. - 10 с.

8. Патент № 22739, МПК(2006) А61К 39/00. Спосіб лікування хронічного обструктивного захворювання легень / Дудка П.Ф., Ільницький Р.І., Добрянський Д.В., Бичкова Н.Г.; заявник та патентовласник - Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, № u200613484; заявл. 19.12.2006; опубл. 25.04.2007, Бюл. №5, 2007. - 6 с.