



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **100487** (13) **C2**
(51) МПК (2012.01)
A61B 10/00
G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2012 00631	(72) Винахідник(и): Попович Василь Іванович (UA), Островський Микола Миколайович (UA), Варунків Олександр Іванович (UA), Кошель Іванна Василівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 20.01.2012	(73) Власник(и): Попович Василь Іванович, вул. Гетьмана Мазепи, 141, м. Івано- Франківськ, 76000 (UA), Островський Микола Миколайович, вул. Чорновола, 117-а, кв. 1, м. Івано- Франківськ-5, 76005 (UA), Варунків Олександр Іванович, вул. Чорновола, 117-а, кв. 3, м. Івано- Франківськ-5, 76005 (UA), Кошель Іванна Василівна, вул. Гетьмана Мазепи, 141, м. Івано- Франківськ, 76000 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.12.2012	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 35249 A 15.03.2001 RU 2094800 C1 27.10.1997 RU 2041461 C1 09.08.1995
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.06.2012, Бюл.№ 12	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.12.2012, Бюл.№ 24	

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ АСПІРИНОВОЇ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ШЛЯХОМ ВИЗНАЧЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ МЕТАБОЛІЗМУ АРАХІДОНОВОЇ КИСЛОТИ

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини, зокрема до пульмонології, і може бути призначений для діагностики аспіринової гіперчутливості у хворих з бронхіальною астмою шляхом визначення порушень метаболізму арахідонової кислоти. Спосіб включає комплекс загальноклінічних методів обстеження хворих на бронхіальну астму та доповнюється визначенням вмісту арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається.

UA 100487 C2

Винахід належить до медицини, зокрема до пульмонології, і може бути призначений для діагностики аспіринової гіперчутливості у хворих із бронхіальною астмою шляхом визначення порушень метаболізму арахідонової кислоти.

Аспіринова бронхіальна астма - це особливий варіант бронхіальної астми, коли одним із тригерних бронхоконстрікторних факторів у хворого є нестероїдні протизапальні препарати.

Серед дорослих пацієнтів з бронхіальною астмою у 4,3-12 % в анамнезі виявляється гіперчутливість до аспірину (Peter J. Barnes, 2008). Проведення провокаційного орального тесту з аспірином виявляє гіперчутливість до останнього у 21,1 % хворих з бронхіальною астмою. Серед пацієнтів з тяжкою бронхіальною астмою гіперчутливість до аспірину виявляється у 14-24 % хворих.

Довший час в медицині існує думка, що основною причиною аспіринової бронхіальної астми вважається гіперчутливість до ацетилсаліцилової кислоти, чи до її похідних - нестероїдних протизапальних препаратів. Під дією аспірину відбувається інактивація ферменту циклооксигенази і утилізація арахідонової кислоти відбувається ліпооксигеназним шляхом. Внаслідок цього в організмі накопичуються продукти метаболізму арахідонової кислоти, біологічні ефекти яких є основними ланками патофізіологічних процесів при астмі.

Водночас, імунологічні (алергічні) механізми аспіринової гіперчутливості не доведені, а порушення утилізації арахідонової кислоти відбувається у хворих навіть при відсутності прийому нестероїдних протизапальних препаратів. Такий парадоксальний вплив аспірину пов'язують з його здатністю впливати на синтез ейкозаноїдів - продуктів метаболізму ненасичених жирних кислот, зокрема арахідонової.

Арахідонова кислота потрапляє в організм із продуктами харчування або утворюється з мембранних фосфоліпідів, як прямий продукт дії ферменту фосфоліпази A2, під дією різних клітин, що приймають участь у запаленні або внаслідок апоптозу клітин. Найбільш принциповим вважається роздвоєння метаболізму арахідонової кислоти на два альтернативних шляхи, що каталізуються різними ферментами: циклооксигеназою та 5-ліпооксигеназою.

Циклооксигеназний шлях біологічно більш логічний, оскільки він не пов'язаний із затратами енергії, і тому вважається основним. Продукти циклооксигеназного метаболізму, зокрема простагландини та тромбосани відносяться до медіаторів, що регулюють запалення.

В 1991 році було ідентифіковано два різновиду ферментів циклооксигенази: ЦОГ-1 та ЦОГ-2. ЦОГ-1 присутня в активній формі в багатьох органах та системах, включаючи респіраторну; ЦОГ-2, навпаки, в нормі практично відсутня, проте її експресія суттєво зростає на тлі запальних змін.

Ацетилсаліцилова кислота інгібує циклооксигеназу і тим самим попереджує вивільнення простагландинів та тромбосанів, як медіаторів запалення, чим і проявляється її протизапальний та анальгезуючий ефект.

Ліпооксигеназний шлях метаболізму є енергозатратним, тому біологічно він є менш доцільним, призводить до утворення лейкотриєнів, що здатні активно викликати спазм гладкої мускулатури бронхів, збільшувати проникність судинної стінки та індукувати утворення слизу. Враховуючи, що даний шлях метаболізму арахідонової кислоти активується при патологічних станах (альтерація, запалення і т.д.), то біологічні ефекти лейкотриєнів відносяться до групи патофізіологічних.

Циклооксигеназний та ліпооксигеназний шляхи конкурують між собою за субстрат, проте, за умов блокади циклооксигеназного шляху ацетилсаліциловою кислотою, активується ліпооксигеназний шлях, що й призводитиме до відповідних патохімічних та патофізіологічних механізмів бронхообструкції при аспіриновій бронхіальній астмі.

Дисфункція первинного продукту - арахідонової кислоти здатна призвести до цілої низки патологічних процесів та реакцій, котрі, власне, і визначатимуть патогенез недуги на молекулярному рівні.

У зв'язку з цим зрозумілою є цікавість до проблеми порушення метаболізму арахідонової кислоти при аспіриновій гіперчутливості у хворих з бронхіальною астмою, оскільки виявлення закономірностей пошкодження шляхів метаболізму на молекулярному рівні міжклітинної взаємодії та проникнення в сутність таких біохімічних порушень, безсумнівно, дасть змогу створити цілісну картину захворювання.

Відомо ряд способів діагностики бронхіальної астми, проте найбільш близькими до корисної моделі, що заявляється, є наступні: Деклараційний патент на винахід № 35249 A61B1/00, A61B10/00, G01N33/53 затв. 15.03.2001 р., Бюл. № 2 та Деклараційний патент на винахід № 55201 A61B10/00, G01N33/53 затв. 17.03.2003 р., Бюл. № 3.

Зокрема, наявний спосіб діагностики алергічного риніту, поєднаного з бронхіальною астмою [Деклараційний патент на винахід № 35249 A61B1/00, A61B10/00, G01N33/53 затв. 15.03.2001

р., Бюл. № 2], який передбачає підвищення точності діагностики алергічного риніту, поєднаного з бронхіальною астмою, шляхом дослідження в назальному змиві кількості та функціональної активності еозинофілів. Проте, згаданий вище спосіб [Деклараційний патент на винахід № 35249 А61В1/00, А61В10/00, G01N33/53 затв. 15.03.2001 р., Бюл. № 2] з метою удосконалення

5 діагностики алергічного риніту при бронхіальній астмі включає лише збір алергологічного анамнезу, дослідження клінічних симптомів алергічного риніту, проведення риноскопії та дослідження в назальному змиві кількості та функціональної активності еозинофілів і не передбачає можливості оцінки аспіринової гіперчутливості у хворих з бронхіальною астмою шляхом визначення кількості арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів

10 конденсату повітря, що видихається. Наступний відомий спосіб діагностики бронхіальної астми [Деклараційний патент на винахід № 55201 А61В10/00, G01N33/53 затв. 17.03.2003 р., Бюл. № 3] передбачає поряд із загальноклінічними методиками обстеження пацієнта додаткове визначення функціонального стану базофільних гранулоцитів крові шляхом визначення відсотку дегранулюючих клітин. Проте, даний спосіб не враховує наявність у хворого аспіринової

15 бронхіальної астми та можливість визначення рівнів арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається, залишаючи без уваги "пусковий механізм" каскаду патологічних реакцій, в основі яких лежить порушення метаболізму арахідонової кислоти.

Описаний спосіб [Деклараційний патент на винахід № 55201 А61В10/00, G01N33/53 затв. 17.03.2003 р., Бюл. № 3], як і попередній [Деклараційний патент на винахід № 35249 А61В1/00, А61В10/00, G01N33/53 затв. 15.03.2001 р., Бюл. № 2], не задовольняють ні потреби практичної охорони здоров'я, ні хворих, оскільки не передбачають оцінки впливу порушення метаболізму арахідонової кислоти на активацію каскаду запальних реакцій у хворих з аспіриновою бронхіальною астмою, які відіграють вирішальну роль у патогенетичному ланцюгу даної недуги.

25 Задачею винаходу є можливість виявлення у хворих на бронхіальну астму аспіринової гіперчутливості і порушень метаболізму арахідонової кислоти та зменшення на цій основі перспективи ризику розвитку загрозливих для життя ускладнень такого поєднання патології.

В основу винаходу - спосіб діагностики аспіринової гіперчутливості у хворих на бронхіальну астму шляхом визначення функціонального стану метаболізму арахідонової кислоти -

30 поставлено задачу створення нового більш вдосконаленого способу ранньої й випереджувальної діагностики аспіринової гіперчутливості при бронхіальній астмі шляхом визначення рівнів арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається.

Поставлена задача у запропонованому винаході вирішується тим, що комплекс загальноклінічних методів обстеження хворих на бронхіальну астму (фізикальне обстеження, алергологічний анамнез, спірографія, тест на оборотність, загальний та біохімічний аналіз крові, аналіз сечі, рентгенографія ОГК), згідно винаходу доповнюється визначенням вмісту арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається.

Внаслідок недостатньої функції цілої низки ферментів, в нашому випадку ЦОГ-1, у хворих з аспіриновою гіперчутливістю, порушується ланцюг нормальних біохімічних процесів, зокрема, метаболізм ненасичених жирних кислот, в першу чергу - арахідонової кислоти. Тобто зниження функції даного ферменту блокує перебіг певних біохімічних реакцій, а будь-який блок характеризується тим, що всі продукти до рівня блокування не беруть участь в метаболізмі, що, в свою чергу, призводить до їх накопичення. Для метаболізму накопичених продуктів макроорганізм шукає обхідні шляхи, що часто закінчується утворенням токсичних сполук. Таким

45 чином розгортається патогенез хвороби на молекулярному рівні, що і є вирішальним в формуванні біохімічного та клінічного фенотипу захворювання.

Шукаючи обхідні шляхи для метаболізму арахідонової кислоти організм активує ЦОГ-2 чи ліпооксигеназний шлях. Як наслідок, синтезуються прозапальні простагландини та лейкотрієни,

50 котрі беруть участь в розвитку запальної реакції та бронхоконстрикції.

Результати проведеного нами аналізу показали достовірне збільшення концентрації арахідонової кислоти при даній недугі. Вміст арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається, хворих на бронхіальну астму з аспіриновою гіперчутливістю становив $(5,03 \pm 0,6)$ нг/мл порівняно з $(1,5 \pm 0,3)$ нг/мл в групі здорових

55 добровольців. Отримані значення величин вмісту арахідонової кислоти в конденсаті повітря, котре видихається, є чіткою ознакою порушення її метаболізму та накопичення при бронхіальній астмі, що й свідчитиме про наявність аспіринової гіперчутливості.

Отож, внаслідок такого комплексного підходу створено новий спосіб діагностики аспіринової гіперчутливості у хворих на бронхіальну астму, що дозволить використовувати

60 випереджувальну лікувальну тактику з метою профілактики загрозливих для життя ускладнень,

значно скоротить фармакоекономічні витрати та термін госпіталізації, покращить ефективність та дієвість лікування пацієнтів, а значить і якість їх життя.

Запропонований спосіб здійснювали таким чином. Вміст арахідонової кислоти досліджували в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається, який отримували під час дихання пацієнтів через спеціальний мундштук, оснащений клапаном. Під час видихання повітря потрапляє в конденсатор з льодом. За 10-15 хвилин дихання накопичувалося близько 3-4 мл конденсату, котрий центрифугували 20 хвилин на швидкості 1000 об/хв., збили надосадкову рідину і заморозували при температурі нижче -20° С. Рівень арахідонової кислоти оцінювали методом імуноферментного аналізу на аналізаторі "StatFax 303 Plus" (США) за допомогою реагентів "Uscn sen Life ife Science cience Inc. Wuhan" (США).

Приклад 1. Хвора С. 39 р., діагноз: Бронхіальна астма, ступінь III, середньої тяжкості, персистуючий перебіг, середньо-тяжке загострення, глюкокортикоїдна залежність. Перибронхіальний пневмосклероз, ЛН-II. Алергічна риносинусопатія. Двобічний поліпозноалергічний риносинусит.

При поступленні пацієнт скаржиться на задишку експіраторного характеру при помірному фізичному навантаженні, затруднене дихання, малопродуктивний кашель, ринорея з слизовим виділенням, свербіж у носі, закладення носу. Самопочуття погіршилось після прийому нестероїдних протизапальних препаратів. Аускультативно над легеньми дихання везикулярне ослаблене, множинні сухі свистячі та жужачі хрипи на всьому протязі легень, видих подовжений. Частота дихання 19 на хвилину.

Спірографічно – ОФВ₁-47,6 %, ФЖЄЛ-91,2 %, легенева недостатність III ст. за обструктивним типом. Через 15 хвилин після прийому двох інгаляцій сальбутамолу по 100 мкг, проведено спірографічне дослідження на оборотність. Проба позитивна, оборотність склала 23,4 %.

Рентгенологічно визначається передбронхіальний пневмосклероз, корені легень структурні, поширені.

В крові – ШОЕ - 18 мм/год., лейкоцитоз - $10,8 \times 10^9$ г/л, паличкоядерні - 2, сегментоядерні - 66, лімфоцити - 20, моноцити - 5, еозинофіли - 7, вміст продуктів метаболізму оксиду концентрація арахідонової кислоти 5,13 нг/мл.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб діагностики аспіринової гіперчутливості у хворих на бронхіальну астму шляхом визначення функціонального стану метаболізму арахідонової кислоти, який включає загальноклінічні методи обстеження хворих, який **відрізняється** тим, що додатково визначають кількість арахідонової кислоти в жирнокислотному спектрі ліпідів конденсату повітря, що видихається, та при її показнику ($5,03 \pm 0,6$) нг/мл, діагностують аспіринову гіперчутливість.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601