



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102934** (13) **C2**

(51) МПК (2013.01)

A61B 10/00

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21)	Номер заявки:	а 2012 04846	(56)	Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 56531 U, 10.01.201 RU 2231789 C2, 27.06.2004 Yanagihara K. et al. Intrapulmonary concentrations of inflammatory cytokines in a mouse model of chronic respiratory infection caused by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Clin Exp Immunol. 2000 Oct;122(1):67-71. PMID: 11012620 Levings MK, Schrader JW. IL-4 inhibits the production of TNF-alpha and IL-12 by STAT6-dependent and -independent mechanisms. J Immunol. 1999 May 1;162(9):5224-9. PMID: 10227996 Габор М.Л., Лемко О.І. Стан антиоксидантного захисту, процеси перекисного окислення ліпідів та цитокіновий статус у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень // Український медичний альманах. - 2010. - Том 13. - № 3. - С.40-42 Лемко О.І., Решетар Д.В. Особливості цитокінового статусу та активність запального процесу у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень // Астма та алергія. - 2012. - № 3. - С.12-16 Кочеткова Е.А., Волкова М.В., Суровенко Т.Н., Гельцер Б.И. Цитокиновый статус больных хронической обструктивной болезнью легких и его связь с функциональным состоянием костной ткани // Терапевтический архив - 2004. - №3. - Том 76.— С.23-27 Капустник В.А., Мельник О.Г. Оцінка стану імунної системи у хворих на пневмокніоз і хронічний пиловий бронхіт. Медицина сьогодні і завтра. - 2012. - № 1(54). - С.18-21
(22)	Дата подання заявки:	18.04.2012		
(24)	Дата, з якої є чинними права на винахід:	27.08.2013		
(41)	Публікація відомостей про заявку:	10.10.2012, Бюл.№ 19		
(46)	Публікація відомостей про видачу патенту:	27.08.2013, Бюл.№ 16		
(72)	Винахідник(и): Капустник Валерій Андрійович (UA), Костюк Інна Федорівна (UA), Калмиков Олексій Олексійович (UA)			
(73)	Власник(и): ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022 (UA)			
(74)	Представник: Євтушенко Тамара Григорівна			

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЗАГОСТРЕННЯ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНІВ ПРОФЕСІЙНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини, а саме до пульмонології, і може бути використаний для діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології. Згідно з винаходом, у пацієнтів з захворюванням легенів професійної етіології імуноферментним методом визначають концентрацію в сироватці крові фактора некрозу пухлин

UA 102934 C2

та інтерлейкіну-4, потім обчислюють коефіцієнт інтенсивності запалення за формулою $KI3 = \text{TNF-}\alpha / \text{IL-4}$, і, якщо значення $KI3$ перевищує 1,0, діагностують загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології.

Винахід належить до медицини, а саме до терапії, пульмонології та професійної патології, і може бути використаний для діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легень професійної етіології.

Хронічне обструктивне захворювання легень професійної етіології спричинюється тривалим впливом виробничих факторів (пилу, хімічних речовин), характеризується постійним обмеженням бронхіальної прохідності, зазвичай прогресує і асоційоване з посиленою хронічною запальною відповіддю дихальних шляхів і легень. Загострення захворювання та супутня патологія обумовлюють загальну тяжкість стану пацієнтів [Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: (Revised 2011) [Електронний ресурс] - Режим доступу: [http:// www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org).].

Хронічне обструктивне захворювання сьогодні - одна з найбільш серйозних медико-соціальних проблем в усьому світі. Її актуальність обумовлена перш за все надзвичайно високими показниками розповсюдженості, інвалідизації й смертності від цього захворювання, в основі яких, зокрема, лежить несвоєчасна діагностика загострень хвороби [Фещенко Ю.І. Хроническое обструктивное заболевание легких - актуальная медико-социальная проблема / Ю.И. Фещенко // Украинский пульмонологический журнал. - 2011. - № 2. - С. 6].

При діагностуванні хронічного обструктивного захворювання легень важливо визначити активність запалення. Захворювання професійної етіології перебігає з періодичними загостреннями, з якими пов'язано його прогресування, але ці загострення часто не проявляються класичними ознаками, які б свідчили про активність патологічного процесу. Такі загальноновизнані показники запалення, як посилення кашлю, поява гнійного компонента мокротиння чи підвищення температури тіла, ШОЕ, кількості лейкоцитів, зміни лейкоцитарної формули крові, біохімічних показників (С-реактивного білка, сіалових кислот, серомукоїду, гаптоглобіну тощо), під час загострення професійного хронічного обструктивного захворювання легень бронхіту можуть бути нерізно виражені [Кундієв Ю.І. Порівняльна характеристика стану професійної захворюваності в Україні і світі / Ю.І. Кундієв, А.М. Нагорна, Л.О. Добровольський // Український журнал з проблем медицини праці.-2009. - № 2. - С. 3-11].

Проблема ускладнюється особливістю клінічного перебігу хронічного обструктивного захворювання легень, при якому утруднена можливість розглядати динаміку процесу в двох протилежних фазах - загострення і ремісії. Нерідко і після масивного курсу лікування в госпітальних умовах у пацієнтів наявні деякі ознаками загострення і цей стан передбачає відповідні рекомендації стосовно подальшого амбулаторного лікування тощо [Косарев В.В. Пылевые заболевания легких в практике врача-терапевта и профпатолога / В.В. Косарев, С.А. Бабанов // Consilium Medicum.-2008. - Т. 10, № 10. - С. 122-129].

Існує таке неоднозначне поняття, як загроза загострення, коли у пацієнтів немає явних клінічних проявів загострення, однак деякі окремі ознаки хронічного обструктивного захворювання легень на певний період посилюються. При цьому відповідні профілактичні заходи (раціональне працевлаштування, амбулаторне лікування) можуть попередити виникнення загострення і зниження працездатності [Измеров Н.Ф. Оценка профессионального риска в медицине труда: принципы, методы и критерии / Н.Ф. Измеров, Э.И. Денисов // Вестник РАМН.-2004. - № 2. - С. 17-20].

Нарешті, саме при професійній етіології хронічного обструктивного захворювання легень можливий (хоча й достатньо рідко) розвиток неінфекційного загострення, якому клінічно виразна запальна реакція не притаманна.

Загалом, питання діагностики загострень хронічної респіраторної патології розроблене недостатньо, в той час як запропоновано численні методи лікування загострень [Емельянов А.В. Диагностика и лечение обострений хронической обструктивной болезни легких / А.В. Емельянов // Русский медицинский журнал. - 2005. - Т. 13, № 4 - С. 183-189].

Відомий спосіб діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легень шляхом забору та дослідження проби біологічного матеріалу з легень хворого та наступного аналізування отриманих даних, при цьому як пробу біологічного матеріалу беруть пробу мокротиння, в якій досліджують якісний і кількісний склад коротко ланцюгових жирних кислот фракції С2-С6, і, якщо відносний вміст пропіонової кислоти перевищує 18,9 % в сумарному вмісті С2-С6 коротколанцюгових жирних кислот фракції С2-С6, то діагностують загострення хронічного обструктивного захворювання легень [Пат. № 50804, UA, МПК G01N 33/52A. / Донецький національний медичний університет ім. М. Горького (UA). - 3. № u200913214; Заявл. 18.12.2009; Опубл. 25.06.2010. - Дорофеев А.Е. (UA), Рассохина О.О. (UA) Спосіб діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легень]. Перевагою способу є доступність для практичного застосування, відсутність необхідності у спеціальному обладнанні. Недоліком є

недостатня інформативність методу, можливість його застосування лише у випадку, коли пацієнт продукує мокроту.

Також запропоновано спосіб діагностики активності запального процесу при хронічному бронхіті, який полягає у тому, що у пацієнта в динаміці визначають вміст холестерину і фосфоліпідів у мембрані еритроцитів: два і більше разів з інтервалом в 2 і більше днів, результати визначення фіксують у медичній документації. Для оцінки стану пацієнта використовують величину співвідношення холестерин/фосфоліпіди. При зменшенні цієї величини відносно виявленого в період ремісії захворювання значення на 0,3 і більше діагностують загострення хронічного бронхіту [Пат. № 2206096, RU, МПК G01N33/92. - 3. №2001126490/14; Заявл. 28.09.2001; Опубл. 10.06.2003. - Ефимова Е.Г., Овчинников А.Ю., Сакова С.А. (RU) Способ диагностики активности воспалительного процесса при хроническом бронхите]. Позитивним здобутком даного способу є вірогідна фіксація індивідуального референтного рівня маркера запалення у конкретного пацієнта. Негативними аспектами є необхідність відносно тривалого повторного інвазивного забору біологічного матеріалу (крові з вени) у пацієнтів, а також потенційно недостатня інформативність через те, що досліджувані метаболіти не є безпосереднім наслідком запальної реакції.

Перспективним щодо вивчення виразності системного запалення вважають дослідження імунітету.

Так, існує спосіб визначення ризику розвитку запального процесу бронхолегеневої системи, що включає визначення функціонального стану нейтрофілів у периферичній крові, при цьому визначають показники фагоцитарної активності нейтрофілів з культурою *St. aureus* та інтенсивність продукції активних форм кисню за допомогою НСТ-тесту з нітросинім-тетразолієвим, визначають інтегральний коефіцієнт функціонального стану нейтрофілів за співвідношенням інтенсивності продукції активних форм кисню до показника фагоцитарної активності нейтрофілів і за величиною інтегрального коефіцієнта функціонального стану нейтрофілів судять про ступінь ризику розвитку запального процесу в легенях, причому при величині інтегрального коефіцієнта функціонального стану 15-20 та більше - визначають низький ризик розвитку запального процесу в легенях, при величині інтегрального коефіцієнта функціонального стану 14,9-10 - підвищення ризику розвитку запального процесу в легенях, при величині інтегрального коефіцієнта функціонального стану 9,9 та менше - високий ризик розвитку запального процесу в легенях [Пат. № 40879, UA, МПК G01N 33/48. - 3. №и200814108; Заявл. 08.12.2008; Опубл. 27.04.2009. - Чернишова О.М., Пилипенко Н.О., Ніколенко Є.Я., Чернова С.Д., Ткач С.І., Брикалін В.П., Нагорная О.П. (UA) Способ визначення ризику розвитку запального процесу бронхолегеневої системи]. Перевагою способу є безпосередня оцінка функціонального стану клітин-ефекторів імунної відповіді.

Недоліком є недостатня стандартизація методу, що призводить до потенційно широких варіацій результатів, а щодо застосування при професійній (пиловій, токсико-хімічній) патології - загалом безпосередньою функцією нейтрофілів є антибактеріальний захист, тобто метод зорієнтований на інфекційний характер загострення хвороби і може не бути ефективним у випадку неінфекційного варіанта загострення.

Крім того, запропоновано спосіб діагностики ступеня тяжкості запального процесу при захворюваннях бронхолегеневої системи, що включає визначення числа моноцитів у крові хворого, при цьому в периферичній крові визначають кількість паличкоядерних нейтрофілів, еозинофілів, обчислюють коефіцієнт резервних можливостей фагоцитарної системи - фагоцитарний коефіцієнт, після цього за його величиною діагностують ступінь тяжкості запального процесу при захворюваннях бронхолегеневої системи, а саме: при ФК, рівному 2,0-0,75, - легкий ступінь тяжкості запалення, при ФК, рівному 0,74-0,5, - середній ступінь тяжкості, при ФК, рівному 0,49 і нижче, - важкий ступінь запалення [Пат. № 57171, UA, МПК G01N 33/00.- 3. № U201009744; Заявл. 05.08.2010; Опубл. 10.02.2011. - Чернишова О.М., Ткач С.І., Коробчанський В.О., Мельник О.Г., Чернова С.Д., Дрокіна О.М., Будяньська Е.М. (UA) Способ диагностики ступеня тяжести запального процесу при захворюваннях бронхолегеневої системи]. Позитивним у цьому способі є безпосередня оцінка функціонального стану клітин-ефекторів імунної відповіді. Недоліком є недостатня стандартизація методу, що призводить до потенційно широких варіацій результатів.

Відомий спосіб уточнюючої діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легень шляхом дослідження крові. Показники крові оцінюють за цитолойєграмою гранулоцитозв'язуючих лімфоцитів з обчисленням індексу розеткоутворення (IPY) як співвідношення між ЛСГ-1 (лімфоцит +1 гранулоцит) до кількості вільнолежачих лімфоцитів, ЛСГ-2 (лімфоцит +2 гранулоцита) до кількості вільнолежачих лейкоцитів. При IPY ЛСГ-1 більше 0,8, зменшенні IPY ЛСГ-2 менше 0,11 у пацієнтів діагностують загострення

хронічного обструктивного захворювання легенів [Пат. № 2428696, RU, МПК G01N33/53, G01N33/48. - 3. №2009136764/15; Заявл. 05.10.2009; Опубл. 10.09.2011. - Павленко В.И. (RU) Способ уточняющей диагностики обострения хронической обструктивной болезни легких]. Позитивним у цьому способі є безпосередня оцінка функціонального стану клітин-ефекторів імунної відповіді.

Даний спосіб діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легенів є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю і результатом, який може бути досягнутим, тому його вибрано за прототип.

Недоліком способу-прототипу є недостатня стандартизація методу, що призводить до потенційно широких варіацій результатів.

У зв'язку з вищевикладеним, в основу винаходу поставлено задачу підвищення інформативності діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології шляхом визначення цитокинового балансу.

Задачу, яку поставлено в основу винаходу, вирішують тим, що у відомому способі діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легенів, що включає дослідження крові, згідно з винаходом, у пацієнтів з захворюванням легенів професійної етіології імуноферментним методом визначають маркери запалення — концентрацію в сироватці крові фактора некрозу пухлин (TNF- α) та інтерлейкіну-4 (IL-4); потім обчислюють коефіцієнт інтенсивності запалення (KІЗ) за формулою $KІЗ = TNF-\alpha / IL-4$, де KІЗ - коефіцієнт інтенсивності запалення (в умовних одиницях); TNF- α - концентрація фактора некрозу пухлин в сироватці крові у пг/мл; IL-4 - концентрація інтерлейкіну-4 в сироватці крові у пг/мл, і, якщо значення KІЗ перевищує 1,0 умовних одиниць, діагностують загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології.

Технічний ефект винаходу, а саме - підвищення інформативності діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології, забезпечується шляхом врахування у діагностичному процесі концентрації як прозапальної, так і протизапальної ланок цитокинового балансу. Це дозволяє з більшою вірогідністю діагностувати загострення та прогнозувати перебіг хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології і відкриває перспективи вторинної профілактики цієї патології.

Спосіб виконують наступним чином.

У хворого на хронічне обструктивне захворювання легенів професійної етіології вранці натще відбирають 5 мл крові з кубітальної вени самопливом у пластикові пробірки із додаванням 3,8 % розчину цитрату натрію. Зразки центрифугують, відділяють плазму і можуть зберігати у холодильнику при температурі -20 °С не більше 3 місяців. Перед проведенням імуноферментного аналізу плазму розморожують до кімнатної температури й дбайливо перемішують. При проведенні аналізу користуються інструкцією виробника стрипів для імуноферментного аналізу.

Шляхом введення відповідних величин у формулу $KІЗ = TNF-\alpha / IL-4$ обчислюють коефіцієнт інтенсивності запалення (в умовних одиницях).

Якщо значення KІЗ перевищує 1,0 умовних одиниць, діагностують загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології.

Ефективність способу ілюструє наступний приклад.

Приклад. Хворий Ж., 43 роки, електрозварник, стаж роботи складає 18 років. Надійшов до профпатологічного стаціонару зі скаргами на кашель з виділенням в'язкого мокротиння до 10 мл, задишку із виразним експіраторним компонентом при незначному фізичному навантаженні. В анамнезі - хронічне обструктивне захворювання легенів професійної етіології II стадії. Умови праці пов'язані із впливом високих концентрацій зварювального аерозолі. Об'єктивно - "теплий" акроціаноз, емфізематозна деформація грудної клітки, численні дрібнопухирчасті хрипи. Обстежений за стандартом. Спірографічно виявлено порушення вентиляційної функції легенів зі значним обструктивним компонентом. Рентгенографічно - невеликий пневмофіброз.

Пацієнта було обстежено за способом, який заявляється. В сироватці крові рівень фактора некрозу пухлин- α склав 45 пг/мл, інтерлейкіну-4 – 29 пг/мл. KІЗ – 1,6 умовних одиниць, це дозволило діагностувати загострення хронічного обструктивного захворювання легенів.

За даними клінічного аналізу крові - лейкоцитоз, зрушення лейкоцитарної формули ліворуч, підвищення швидкості осідання еритроцитів.

Встановлено фазу загострення захворювання.

Протягом наступних 21 дня проведено стандартне лікування, що включало антибіотикотерапію, відхаркувальні засоби тощо. Після курсу терапії був обстежений за стандартом, який не виявив ознак загострення.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб діагностики загострення хронічного обструктивного захворювання легенів, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що у пацієнтів з захворюванням легенів професійної етіології імуноферментним методом визначають маркери запалення - концентрацію в сироватці крові фактора некрозу пухлин $TNF-\alpha$ та інтерлейкіну-4 IL-4; потім обчислюють коефіцієнт інтенсивності запалення KІЗ за формулою $KІЗ = TNF-\alpha / IL-4$, де KІЗ - коефіцієнт інтенсивності запалення (в умовних одиницях); $TNF-\alpha$ - концентрація фактора некрозу пухлин в сироватці крові у пг/мл; IL-4 - концентрація інтерлейкіну-4 в сироватці крові у пг/мл, і, якщо значення KІЗ перевищує 1,0 умовних одиниць, діагностують загострення хронічного обструктивного захворювання легенів професійної етіології.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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