



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **111552**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 05838**

(22) Дата подання заявки: **30.05.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.11.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.11.2016, Бюл.№ 21**

(72) Винахідник(и):

**Матвійчук Богдан Олегович (UA),
Федоров Володимир Юрійович (UA)**

(73) Власник(и):

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА
ГАЛИЦЬКОГО,
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010 (UA)**

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РИЗИКУ РОЗВИТКУ АБДОМІНАЛЬНОГО СЕПСИСУ І ТЯЖКОГО АБДОМІНАЛЬНОГО СЕПСИСУ У ХВОРИХ НА ГОСТРІ ЗАХВОРЮВАННЯ ОРГАНІВ ЧЕРЕВНОЇ ПОРОЖНИНИ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування ризику розвитку сепсису у хворих на гострі захворювання органів черевної порожнини включає проведення лабораторних досліджень. Визначають імунологічні показники крові та перитонеальної рідини і за допомогою автоматизованої програми розраховують ризик виникнення абдомінального сепсису і тяжкого абдомінального сепсису у кожного конкретного пацієнта.

UA 111552 U

Корисна модель стосується медицини, зокрема хірургії, та може бути використана для прогнозування розвитку сепсису та тяжкого сепсису в хворих з гострими захворюваннями органів черевної порожнини (ГЗОЧП) за допомогою біомаркерів.

Хірургічний сепсис визнано найбільш тяжким варіантом розвитку хірургічної інфекції [Meisner M. Guide for the Clinical Use of Procalcitonin (PCT). Diagnosis and Monitoring of Sepsis/ M. Meisner, J. Pugin, A. Leon.// Bremen: UNI-MED 10st edition.-2011.- Vol.3]. Одним з найпоширеніших різновидів хірургічного сепсису вважають абдомінальний сепсис, частка якого у загальній його структурі становить 30,1-39,6 % [Фомін П.Д. Абдомінальний сепсис (огляд літератури) / П.Д. Фомін, Р.І. Сидорчук // Сучасні медичні технології.-2009. - № 4]. Також абдомінальний сепсис займає перше місце в структурі причин смерті хворих у відділеннях інтенсивної терапії та хірургії. Отже, одним із пріоритетних напрямків досліджень є пошук інформативних біомаркерів, які б дозволили прогнозувати розвиток сепсису та тяжкого сепсису в хворих з гострими захворюваннями органів черевної порожнини.

Для встановлення тяжкості перебігу абдомінального сепсису широко застосовують бальні системи оцінки фізіологічного стану пацієнта [Mazuski J.E. Intra-abdominal infections / J.E. Mazuski, J.S. Solomkin // Surg Clin North Am.-2009. - Vol. 89(2). - P. 421-437.]. Серед використовуваних систем особливе місце займають APACHE I-III, SAPS, SOFA, MODS та MIP. Ці системи дозволяють більшою мірою оцінити ефективність проведеного лікування, але не є способами прогнозування абдомінального сепсису. Визначення у пацієнтів із абдомінальним сепсисом числа лейкоцитів у периферійній крові, швидкості осідання еритроцитів, вмісту ПКТ, С-реактивного протеїну (СРП) та лактату здебільшого свідчать тільки про наявність інфекційного процесу, а не ступеня його тяжкості [Simon L. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis / L. Simon, F. Gauvin, DK Amre [et al.] // Clin Infect Dis.-2004. - P. 39].

Відомий спосіб визначення тяжкості стану пацієнта при сепсисі та прогнозування його розвитку з використанням шкали SOFA. За цим способом необхідно визначати наступні показники: індекс PaO_2/FiO_2 , кількість тромбоцитів, білірубін, артеріальний тиск, оцінка за шкалою коми Глазго, креатинін [Фомін П.Д. Абдомінальний сепсис (огляд літератури) / П.Д. Фомін, Р.І. Сидорчук// Сучасні медичні технології.-2009. - № 4]. Його недоліком є те, що не враховано імунологічні показники крові та перитонеальної рідини, що дало б змогу не лише точної верифікації інфекційного процесу, але і вірогідного індивідуального прогнозування ризиків розвитку абдомінального сепсису та його тяжкості у кожному конкретному випадку.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб прогнозування ризику розвитку абдомінального сепсису і тяжкого абдомінального сепсису шляхом проведення імунологічних досліджень.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі прогнозування ризику розвитку сепсису у хворих на гострі захворювання органів черевної порожнини, що включає проведення лабораторних досліджень, згідно з корисною моделлю, визначають імунологічні показники крові та перитонеальної рідини і за допомогою автоматизованої програми розраховують ризик виникнення абдомінального сепсису і тяжкого абдомінального сепсису у кожного конкретного пацієнта.

Поставлена задача вирішується також тим, що для прогнозування абдомінального сепсису визначають комплекс показників: прокальцитонін, гемопексин, miR 146a, суму показників синдрому системної запальної відповіді, лейкоцитарний індекс інтоксикації, спонтанний оксидантний вибух нейтрофілів, стимульований E.coli оксидантний вибух нейтрофілів; для прогнозування тяжкого абдомінального сепсису використовують комплекс таких показників: прокальцитонін, miR 146a, miR 155, сума показників синдрому системної запальної відповіді, стимульований оксидантний вибух моноцитів, CD4+25+127 регуляторні лімфоцити, лімфоцити у відносних значеннях периферійної крові.

У запропонованому способі використовують комплекс імунологічних показників, оскільки основною ланкою в розвитку сепсису та тяжкого сепсису є дисбаланс в імунній системі. Це дозволяє з великою вірогідністю прогнозувати сепсис уже на ранніх етапах його розвитку: після госпіталізації пацієнта та після контролю джерела інфекції. Адже згідно з повідомленнями міжнародної кампанії "Пережити сепсис", для прогнозування розвитку абдомінального сепсису необхідно використовувати лише мультибіомаркерні системи, оскільки вони мають високу специфічність та чутливість [Dellinger R.P. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock/ R.P. Dellinger [et al.] // Intensive Care Med.-2012.- Vol. 39(2).-P. 165-228].

Для прогнозування абдомінального сепсису визначають такий комплекс показників: прокальцитонін, гемопексин, miR 146a, суму показників синдрому системної запальної відповіді

(ССЗВ), лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), спонтанний оксидантний вибух нейтрофілів (ОВН с), стимульований E.coli оксидантний вибух нейтрофілів (ОВН E.coli). Для прогнозування тяжкого абдомінального сепсису використовують комплекс наступних показників: прокальцитонін, miR 146a, miR 155, сума показників синдрому системної запальної відповіді, стимульований E.coli оксидантний вибух моноцитів (ОВМ E.coli), CD4+25+127 регуляторні лімфоцити, лімфоцити у відносних значеннях периферійної крові.

Спосіб здійснюють таким чином. При госпіталізації пацієнта з гострим захворюванням органів черевної порожнини проводять необхідні клінічні, лабораторні та інструментальні обстеження, забір венозної крові перед операційним втручанням та перитонеальної рідини під час операційного втручання.

Визначають імунологічні показники крові та перитонеальної рідини. За допомогою автоматизованої програми розраховують ризик виникнення абдомінального сепсису і тяжкого абдомінального сепсису у кожного конкретного пацієнта.

Для створення пропонованого способу науковим дослідженням охоплено 107 пацієнтів з ГЗОЧП, оперованих в хірургічних відділеннях № 2 Львівської обласної клінічної лікарні та хірургічних відділеннях № 1 і № 3 комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги міста Львова. Загальноклінічними (аналіз скарг та анамнезу захворювання, об'єктивне обстеження), лабораторними (загальний аналіз крові та сечі, біохімічний аналіз крові), інструментальними (відеолапароскопія) та променевими (УЗД, рентгенографія живота, КТ) методами було діагностовано 42 випадки ГЗОЧП, що ускладнені абдомінальним сепсисом, та 65 - ГЗОЧП без абдомінального сепсису. Матеріалом для імунологічних та молекулярно-генетичних досліджень слугувала венозна кров та перитонеальна рідина пацієнтів. Кров забирали з периферійної вени в першу добу госпіталізації до операції перед застосуванням антибіотикотерапії при гострому деструктивному апендициті та гострому деструктивному холециститі, а при гострому деструктивному панкреатиті - одразу після першого епізоду гарячки, також перед застосуванням антибіотикотерапії. Перитонеальну рідину - під час операції, одразу після лапаротомії, та за допомогою одноразового стерильного аспілятора - при лапароскопії. Фагоцитарну здатність та оксидантний вибух гранулоцитів і моноцитів у периферійній крові визначали цитофлюорометричним методом на проточному цитометрі FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) з використанням відповідних реактивів "Фаго-тест" та "Бустер-тест" (Becton Dickinson, USA). Кількість регуляторних Т-лімфоцитів оцінювали цитофлюорометричним методом за допомогою проточного цитометра FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) та моноклональних антитіл - CD3/CD4/CD 25/CD127 (Becton Dickinson, USA). Визначення рівня прокальцитоніну, гемопексину та IL-5 в сироватці крові та перитонеальній рідині здійснювали імуноферментним методом з використанням імуноферментного аналізатора (Sunrise, Austria). Визначення експресії miRNA 146a та miRNA 150 в сироватці та перитонеальній рідині проводили методом полімерно-ланцюгової реакції на апараті "7500 Fastreal-time PCR" реактивами "TagMan miRNA assays" (Applied biosystems, USA). Для побудови прогностичної моделі вірогідності розвитку абдомінального сепсису і тяжкого абдомінального сепсису застосовано метод логістичної регресії. Розрахунки проведено в програмі "SPSS 19".

У процесі клінічних спостережень та опрацювання отриманого матеріалу було виокремлено 33 чинники, які могли б впливати на появу абдомінального сепсису та тяжкого абдомінального сепсису. Використавши метод логістичної регресії з поступовим включенням достовірних ознак, було виокремлено 7 факторів, які при поєднаній дії мають вірогідний вплив на розвиток абдомінального сепсису. Значення коефіцієнтів регресії даних факторів наведено в Табл. 1.

Таблиця 1

Результати коефіцієнтів регресії щодо виникнення абдомінального сепсису за методом логістичної регресії

№ з/п	Фактори	Умове позначення	Коефіцієнти регресії (β_i)
1.	Прокальцитонін (сироватка), нг/мл	A	1,963
2.	Гемопексин (перитонеальна рідина), г/л	B	0,070
3.	miR146a (перитонеальна рідина), U/6	C	-0,302
4.	Сума показників ССЗВ	D	1,929
5.	ЛІІ, ум.од.	E	0,697
6.	ОВН с (абс), Г/л	F	1,131

Продовження таблиці 1

№ з/п	Фактори	Умовне позначення	Коефіцієнти регресії (β_i)
7.	ОВН E.coli (%)	G	-0,308
	Константа		-14,515

Достовірність обчислених коефіцієнтів перевірено за допомогою методу Вальда, а усієї моделі - за допомогою хи-квадрату, значення якого 81,406 вказує на те, що модель є достовірною з вірогідністю помилки менше 0,1 % ($p < 0,001$).

Підставивши у формулу результати, отримані за методом логістичної регресії, нами було отримано значення Z для визначення вірогідності розвитку абдомінального сепсису (1):

$$Z = 1,963 * A + 0,070 * B - 0,302 * C + 1,929 * D + 0,697 * E + 1,131 * F - 0,308 * G - 14,515,$$

де A - прокальцитонін в сироватці крові;

B - гемопексин в перитонеальній рідині;

C - miR146a в перитонеальній рідині;

D - сума показників синдрому системної запальної відповіді;

E - лейкоцитарний індекс інтоксикації;

F - ОВН спонтанний (г/л);

G - ОВН стимульований E.coli (%).

Таким чином, можна стверджувати, що значення miR 146a в перитонеальній рідині та ОВН E.coli є превентивними чинниками щодо появи абдомінального сепсису. Тоді як інші 5 ознак - прокальцитонін, гемопексин, сума показників ССЗВ, ЛИ, ОВН с, ОВН E.coli - є провокуючими чинниками.

Відповідно до значення Z, розрахованого за формулою, визначають індивідуальний ризик розвитку абдомінального сепсису у кожного конкретного пацієнта.

Для кращого розуміння опрацьованого алгоритму можна навести наступний клінічний приклад. Пацієнт Б., стаціонарна карта хворого № 5836, мав такі результати імунологічних обстежень: прокальцитонін (сироватка) - 0,043 нг/мл, гемопексин (перитонеальна рідина) - 2,57 г/л, miR 146a (перитонеальна рідина) - 1,62 (U/6), сума показників ССЗВ - 2, ЛІІ-4,13 ум.од., ОВН с абс.-10,86 Г/л, ОВН E.coli - 10,80 %.

Підставивши вищенаведені значення у формулу (1), можемо отримати значення Z:

$$Z = 1,963 * 0,053 + 0,070 * 2,57 - 0,302 * 2,19 + 1,929 * 2 + 0,697 * 2,95 + 1,131 * 8,32 - 0,308 * 0,00 - 14,515$$

Маючи значення Z, розраховують індивідуальний ризик (IP) виникнення абдомінального сепсису у даного пацієнта:

$$IP = \frac{1}{1 + e^{-0,43}} * 100\% = 70,35\%.$$

Отже, ризик розвитку абдомінального сепсису у пацієнта з ГЗОЧП становить 70,4 %.

Відтак, оскільки отриманий результат IP більший, ніж 50 %, можемо стверджувати, що у даного пацієнта розвинеться абдомінальний сепсис.

Як показало подальше спостереження, у даного пацієнта дійсно розвинувся абдомінальний сепсис на фоні ГЗОЧП.

Як інший клінічний приклад, пацієнт Д., карта стаціонарного хворого № 12362, результати імунологічних обстежень: прокальцитонін (сироватка) - 0,048 нг/мл, гемопексин (перитонеальна рідина) - 2,57 г/л, miR 146a (перитонеальна рідина) - 2,19 (U/6), сума показників ССЗВ - 0, ЛІІ-3,78 ум.од., ОВН с абс.-10,30 Г/л, ОВН E.coli -3,43 %.

Отримане значення Z становить - 1,67, а IP-15,8 %. абдомінальний сепсис не розвинувся.

У подальшому нами була проведена ретроспективна перевірка отриманої моделі на основі даних нашого дослідження. Результати засвідчують, що точність регресійного рівняння щодо прогнозування розвитку абдомінального сепсису на фоні ГЗОЧП становить 90,6 %.

Аналогічно, за допомогою методу логістичної регресії, нами було виокремлено також 7 факторів, які при поєднаній дії мають вірогідний вплив на розвиток тяжкого сепсису. Значення коефіцієнтів регресії для даних факторів наведено в Табл. 2.

Таблиця 2

Результати коефіцієнтів регресії щодо виникнення тяжкого сепсису за методом логістичної регресії

№ з/п	Фактори	Умовне позначення	Коефіцієнти регресії (β_i)
1.	Прокальцитонін (сироватка), нг/мл	A	12,129
2.	miR 146a (перитонеальна рідина), U/6	B	-1,347
3.	miR 155 (сироватка), U/6	C	30,922
4.	Сума показників ССЗВ	D	1,036
5.	ОВМ E.coli (%)	E	20,333
6.	CD4+25+127 (%)	F	88,830
7.	Лімфоцити (%)	G	-0,116
	Константа		-113,050

Підставивши у формулу результати, отримані за методом логістичної регресії, нами було отримано значення Z для визначення вірогідності розвитку тяжкого сепсису (2):

$$Z = 12,129 * A - 1,3470 * B + 30,922 * C + 1,036 * D + 20,333 * E + 88,830 * F - 0,116 * G - 113,050 ,$$

де A - прокальцитонін в сироватці крові, нг/мл;

B - miR 146a в перитонеальній рідині, U/6;

C - miR 155 сироватці крові, U/6;

D - сума показників ССЗВ;

E - ОВМ стимульований E.coli (%);

F - CD4+25+127(%);

G - лімфоцити (%).

Відтак, превентивними чинниками щодо розвитку тяжкого сепсису є miR 146a (перитонеальна рідина) та лімфоцити, всі інші ознаки - провокуючі.

Клінічний приклад. Пацієнт М., карта стаціонарного хворого № 19631, результати імунологічних обстежень: прокальцитонін у сироватці крові - 4,649 нг/мл, гемодексин у перитонеальній рідині - 2,19 г/л, miR 146a у перитонеальній рідині (U/6) - 0,28, miR 155 у сироватці крові (U/6) - 0,28, сума показників ССЗВ - 2, CD4+25+127-0,01 %, ОВМ E.coli - 2,53 %, лімфоцити - 14,0 %.

Значення Z дорівнює 2,28, а IP тяжкого сепсису становить 90,7 %. Також була проведена ретроспективна перевірка отриманої моделі на основі даних нашого дослідження. Отримані результати засвідчують, що точність регресійного рівняння щодо прогнозування тяжкого сепсису становить 98,8 %.

Як результат проведених обрахунків, з метою втілення їх у щоденній клінічній практиці та визначення індивідуального ризику виникнення патології, нами було розпрацьовано електронну програму, яка дає змогу автоматично розрахувати ризик появи абдомінального сепсису чи тяжкого сепсису на фоні ГЗОЧП у конкретного пацієнта та зберегти цю інформацію для подальшого аналізу та порівняння. Автоматизована програма для розрахунку індивідуального ризику виникнення абдомінального сепсису та тяжкого сепсису - це файл "Microsoft Excel", що входить до пакета "Microsoft Office". На основі введення інформації про визначені чинники ризику патології програма одразу розраховує індивідуальний ризик та графічно демонструє, у якій зоні ризику перебуває дана особа. Вносять показники сироватки і перитонеальної рідини. На основі отриманих первинних даних програма автоматично розраховує індивідуальні ризики розвитку абдомінального сепсису чи тяжкого сепсису та графічно і відсотково представить результати шляхом побудови стовпчикових графіків.

Запропонований спосіб прогнозування створений із застосуванням системи розрахунку індивідуального ризику виникнення абдомінального сепсису та тяжкого сепсису і поєднує в собі алгоритм послідовних дій - від госпіталізації пацієнта з ГЗОЧП до прийняття рішення щодо подальшої лікувальної тактики захворювання.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб прогнозування ризику розвитку сепсису у хворих на гострі захворювання органів черевної порожнини, що включає проведення лабораторних досліджень, який **відрізняється**

тим, що визначають імунологічні показники крові та перитонеальної рідини і за допомогою автоматизованої програми розраховують ризик виникнення абдомінального сепсису і тяжкого абдомінального сепсису у кожного конкретного пацієнта.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що для прогнозування абдомінального сепсису визначають комплекс показників: прокальцитонін, гемопексин, miR 146a, суму показників синдрому системної запальної відповіді, лейкоцитарний індекс інтоксикації, спонтанний оксидантний вибух нейтрофілів, стимульований E.coli оксидантний вибух нейтрофілів; для прогнозування тяжкого абдомінального сепсису використовують комплекс таких показників: прокальцитонін, miR 146a, miR 155, сума показників синдрому системної запальної відповіді, стимульований оксидантний вибух моноцитів, CD4+25+127 регуляторні лімфоцити, лімфоцити у відносних значеннях периферійної крові.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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

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