



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77502** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/53 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 13945	(72) Винахідник(и): Коваленко Світлана Вікторівна (UA), Федів Олександр Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 07.12.2012	(73) Власник(и): БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.02.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.02.2013, Бюл.№ 3	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування перебігу бронхіальної астми включає дослідження крові цитохімічним методом. При зростанні вмісту катехоламінів прогнозують неповністю контрольований перебіг астми.

UA 77502 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до пульмонології, і може бути використана для діагностики прогнозування неконтрольованого перебігу бронхіальної астми.

На сьогодні, згідно з стандартами, бронхіальна астма (БА) має контрольований та неконтрольований перебіг. При останньому відмічається зростання частоти нападів ядухи вдень та вночі, частоти використання бета-агоністів за вимогою на фоні базисної терапії БА, погіршення якості життя хворих, що призводить до прогресування важкості бронхіальної обструкції.

У патогенезі обструктивного синдрому при БА важливу роль відіграє зміна функціонального стану симпатико-адреналової системи (САС), що супроводжується зростанням рівня катехоламінів (КА) в плазмі під час нападу ядухи, зниженням активності β -рецепторів і підвищенням активності α -рецепторів, а ступінь адренергічного дисбалансу корелює з важкістю бронхообструкції. Встановлено, що еритроцити (Er) відіграють важливу роль в інактивації та транспорті вільних КА. Враховуючи загальну ємність Er і їх властивість зв'язувати за допомогою β -адренорецепторів та депонувати значну кількість (64 %) КА, можна вважати, що Er є системою депо і транспорту КА до виконавчих органів, а саме бронхів. Стан рецепторного апарату еритроцитів може відображати й адренорецепцію біомембран організму, зокрема і бронхів.

На сьогоднішній день конкретних лабораторних показників, які б широко використовувались для діагностики порушень катехоламіндепонуальної функції Er для прогнозування перебігу БА немає.

Відомим є "Спосіб оцінки важкості інфекційно-залежної бронхіальної астми" (Росія, Первеев В.І., Суровцев І.В., Первеев І.В. Кудрявцева Л.А., Белобородова Е.І. Сибірський медичний університет, 2002.05.10., RU, С2, № 2000110762/14, G01N33/53), згідно з яким в аналізі крові визначають Т-лімфоцити, В-лімфоцити, імуноглобулін А, ЦІК та еозинофіли і розраховують індекс важкості (ІВ) захворювання по формулі. Але відомий спосіб громіздкий, потребує тривалого часу здійснення, спеціальних реактивів і навченого персоналу для визначення показників імунітету, не охоплює інші варіанти, окрім інфекційно-залежної бронхіальної астми, не забезпечує прогноз перебігу захворювання, а тільки його важкість.

Інший аналог: "Спосіб прогнозування характеру перебігу хронічної обструктивної хвороби легень" (Ляховський В.І. Кайдашев І.П., Ляховський В.І., Бойко М.Г., Ляховська Н.В; Україна, № 51181, А. 200201668, 28.01.2002, А61В8/00. МПК (2006)), згідно з яким проводиться дослідження крові в динаміці з дослідженням стану систем активації вільно радикального окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту при інкубації еритроцитів. Даний спосіб потребує тривалого часу здійснення, спеціальної апаратури (термостат, спектрофотометр) та дорогих реактивів, спеціально навченого персоналу та не дозволяє прогнозувати ступінь важкості бронхообструкції і потреби у протизапальній терапії.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб прогнозування перебігу бронхіальної астми, який полягає у діагностиці перебігу захворювання.

В способі прогнозування перебігу БА поставлена задача вирішується шляхом визначення рівня катехоламінів в еритроцитах у хворих на БА під час загострення та ремісії у порівнянні із віковою нормою.

Спосіб здійснюють наступним чином.

За допомогою скарифкатора беруть із пальця краплю крові хворого і цитохімічним способом [Мардар ГЛ., Кладієнко Д.П., 1989] роблять мазок на предметному склі. Мазок швидко фіксують у підігрітому 2 % розчині біхромату калію протягом 2 годин. Швидко промивають два рази дистильованою водою і протягом 1 хвилини забарвлюють 5 % розчином азотнокислого срібла. Після чого знову промивають дистильованою водою і забарвлюють 30 сек. 5 % розчином еозину, промивають, підсушують у термостаті, заключають в касторове масло і розглядають в мікроскоп (об. 90, ок. 15 або 20).

За допомогою мікрометра і лічильника лейкоцитів підраховують вміст КА в одному пересічному еритроциті і визначають % зміни порівняно із віковою нормою, що пропонується.

Ми вважаємо за доцільне проведення простого інформативного тесту визначення вмісту Ка в Er для прогнозування перебігу бронхіальної астми. Спільними ознаками з найближчим аналогом є дослідження крові у хворих на БА, проте запропонований спосіб усуває недоліки уже відомих способів: тест визначення порушень катехоламіндепонуальної функції Er у хворих на БА за допомогою кількісних критеріїв, а саме вмісту в них катехоламінів в умовних одиницях простий та інформативний, час здійснення дослідження набагато скорочений, потребує недорогих реактивів та обладнання (мікроскоп), не потребує спеціально навченого персоналу, охоплює всі варіанти бронхіальної астми і дозволяє не тільки оцінити важкість перебігу, але й прогноз астми. Запропонований спосіб доступний, простий у виконанні, не потребує значних

матеріальних та технічних витрат, дозволяє судити про важкість перебігу захворювання та адекватність лікування.

Результати використання запропонованого способу наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Критерії	Запропонований спосіб	Відомий прототип
1. Прогнозування перебігу захворювання в балах	3-4	1-2
2. Зменшення часу виконання тесту	60 %	90 %
3. Вартість тестів	25 %	75 %
4. Доступність тесту	90 %	75 %
5. Покращання ефективності лікування	90 % хворих	65 %
6. Вартість обладнання	30 %	60 %

5

Визначення термінів, що використовуються при описі корисної моделі: БА - бронхіальна астма; Ка – катехоламіни; Ер – еритроцити; у.о. - умовні одиниці; ОФВ₁ - об'єм форсованого видиху за 1 сек.

10 Обстежено 62 хворих зрілого віку на персистуючу БА середнього ступеня важкості перебігу, ОФВ₁>50 % від належних, без супутніх захворювань. Діагноз був вставлений за загальноприйнятими критеріями згідно з наказом МОЗ України № 128.

15 Обстеження пацієнтів проводили під час загострення захворювання та в міжприступний період. Обстежено також 30 практично здорових осіб відповідного віку (контрольна група), у яких не спостерігалось гострих та хронічних захворювань, алергологічний анамнез не обтяжливий.

Кров для дослідження брали зранку натще з ліктьової вени. Як стабілізатор крові використовували гепарин.

20 Цитохімічним методом визначали і морфометричним методом підраховували вміст катехоламінів в одному пересічному еритроциті в умовних одиницях (у.о.). Проводили дослідження функції зовнішнього дихання (ФЗД) за допомогою комп'ютерного спірографа фірми "Егер" з аналізом кривої "потік-об'єм" до та після проведеного лікування.

Результати: При вивченні депо КА в Ер було встановлено, що у практично здорових осіб (ПЗО) відповідного віку вміст КА в Ер в середньому становить 2,75 у.о. в одному пересічному Ер.

25 При мікроскопічному дослідженні в Ер контрольної групи, КА виявляються у вигляді різного розміру темних включень від дрібної зернистості до крупних скупчень (гранули, везикули) майже у 90 % клітин, близько 10 % з них є вільними від КА. У 84 % еритроцитів виявляються глибки у вигляді дрібної і середньої зернистості.

30 У хворих на БА під час загострення захворювання в період нападів ядухи спостерігали суттєве вірогідне зростання рівня КА в Ер - $17,38 \pm 0,11$ у.о., у порівнянні із ПЗО $2,75 \pm 0,45$ у.о., ($p < 0,05$). Виявлене нами різке зростання рівня депонованих КА в Ер у хворих на БА під час нападу ядухи пояснюється різкою активацією САС, обумовлену різкою гіпоксією. Адреналін, як відомо, являє собою "аварійний" гормон, дія якого проявляється лише в умовах стресу, в даному випадку - нападу ядухи.

35 Через декілька годин після купування нападу ядухи у всіх досліджуваних хворих спостерігали різке зменшення рівня КА в Ер - до $0,7 \pm 0,44$ у.о. ($p < 0,05$), пов'язане, насамперед, із швидкою інактивацією КА, перш за все адреналіну, в судинному руслі та виведенням їх з організму після купування нападу ядухи (таблиця 2).

40 У міжприступний період спостерігали два типи рівнів КА в еритроцитах: I тип реакції - повернення рівня КА до вікової норми $-2,68 \pm 0,11$ у.о., спостерігалось у 35 (54 %) пацієнтів поряд із відновленням бронхіальної прохідності - зворотної бронхіальною обструкцією (приріст ОФВ₁ 15-20 % від належних величин в гострому тесті із бронхолітиком або 150-200 мл).

45 II тип реакції спостерігали у 29 хворих. Він проявлявся збільшенням кількості включень КА в одному Ер на фоні загального зниження кількості клітин, забарвлених на КА - $4,7 \pm 0,02$ у.о., ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Рівень катехоламінів в еритроцитах у хворих на бронхіальну астму в різні періоди захворювання

Показник	Вікова норма n=30	Під час загострення n=64	Після нападу ядухи n=64	В період ремісії n=64	
				I тип реакції n=35	II тип реакції n=29
Рівень катехоламінів в еритроцитах (у.о.)	2,75±0,45	17,38±0,11*	0,7±0,44*	2,68±0,11	4,7±0,02*
Приріст ОФВ1 (%)	>80		<10	15,6±2,4*	10±3,2*

Примітка: - *p > 0,05 у порівнянні із нормою та належними величинами

Також у хворих відмічали неповністю зворотну бронхіальну обструкцію (приріст ОФВ1 в межах 10-15 %), що свідчить про неповне відновлення бронхіальної прохідності та неповну клініко-лабораторну ремісію у даної групи хворих.

Виявлена варіабельність рівня КА в Ер, на нашу думку, пов'язана, в першу чергу, із впливом САС, яка стимулює викид КА внаслідок гіпоксії, як стресового фактора, та, по-друге, із зміною густини β-рецепторів на мембранах Ер та, опосередковано, міоцитів гладеньких м'язів бронхів, пов'язаних із гіперкатехоламінемією крові. Відомо, що зменшення кількості та чутливості β-рецепторів спостерігається при постійно та навіть короткочасно підвищеній концентрації КА в плазмі, одним із факторів підтримання якої є СПК. Тобто, навіть крайній ступінь активації САС може супроводжуватись пригніченням β-адренергічної активності. Наприклад, при розвитку астматичного статусу спостерігається десенситизація β-рецепторів на мембранах клітин, та парадоксальна реакція на β-агоністи у хворих.

Отже, при виявленому нами II типу реакції збереження підвищеного рівня КА в Ер на фоні частини "спустошених", тобто без включень, клітин свідчить про збереження порушеної β-адренергічної регуляції на мембранах Ер-десенситизацію β-рецепторів. Хворі із II типом реакції, тобто збереженим підвищеним вмістом КА в Ер, потребують подальшої протизапальної, бронхолітичної терапії та терапії, спрямованої на покращання морфофункціональних властивостей мембран клітин та відновлення β-адренорецепторного апарату міоцитів бронхів інгаляційною глюкокортикостероїдною терапією.

Використання способу пояснюються наступними прикладами:

Клінічні приклади.

Приклад 1. Хворий М, 45 років, був прийнятий у пульмонологічне відділення обласної клінічної лікарні з скаргами на задишку при незначному фізичному навантаженні, що посилилась протягом останніх двох тижнів, напади ядухи до 4-6 разів на добу в т.ч. вночі до 2-3 разів на тлі прийому базисної терапії бронхіальної астми Серетидом, що не купуються інгаляційно короткодійними бета-агоністами та потребують доведеного введення еуфіліну та дексаметазону, малопродуктивний кашель, слабкість. Хворіє бронхіальною астмою протягом 12 років. Останнє загострення пов'язує із переохолодженням та перенесеною вірусною інфекцією. Дані додаткових методів дослідження: Ер - $3,6 \cdot 10^{12}/л$, Нв - 120 г/л, лейкоцити - $9,4 \cdot 10^9/л$, ШЗЕ - 18 мм/год. Аналіз харкотиння – лейкоцити - 10-15 в п/зору, епітеліоцити - 5-8 в п/зору. Ro-ОГК: легеневі поля прозорі, бронхіальний малюнок посилений, підвищеної пневматизації. Комп'ютерна спірографія: до проведення фармакологічної проби з сальбутамолом незначне зниження ЖЄЛ, ОФВ, - 63 % від належних величин, помірна генералізована обструкція на рівні дрібних бронхів. Після інгаляції двох доз сальбутамолу зберігається помірна генералізована обструкція, тип реакції на бронхолітик свідчить про перевагу бронхоспазму в генезі обструкції. Приріст ОФВ і після сальбутамолу становив 9 %.

При госпіталізації під час нападу ядухи рівень КА в Ер становив 16,3 у.о. Після проведеного лікування, що включало інгаляційні бронхолітики, теофіліни, системні ГКС (згідно з наказом МОЗ України № 128) рівень КА в Ер знизився до 2,89 у.о. (норма 2,75±0,45 у.о.), хворий не потребував додаткового застосування короткодійних бета-агоністів на фоні базисної терапії БА Серетидом, нападів ядухи вночі не спостерігалось, денні напади 1-2 рази на тиждень купувались інгаляційно сальбутамолом, ОФВ1 після інгаляції 2-х доз сальбутамолу зріс на 17,3 %. Все вище вказане, свідчить, що захворювання відповідає картині повністю контрольованої астми і при цьому рівень К А в Ер теж відповідає нормі. Хворий отримує адекватну протизапальну терапію БА, яка не потребує корекції на даний момент.

- Приклад 2. Хвора П., 51 рік, була прийнята у пульмонологічне відділення обласної клінічної лікарні з скаргами на задишку при незначному фізичному навантаженні, напади ядухи до 4-5 разів вдень та вночі до 2-3 разів на тлі прийому базисної терапії бронхіальної астми Серетидом, що не купуються інгаляційно короткодійними бета-агоністами та потребують доведеного введення еуфіліну та дексаметазон, малопродуктивний кашель, слабкість. Хворіє бронхіальною астмою протягом 15 років. Останнє загострення пов'язує із переохолодженням. Дані додаткових методів дослідження: Ер - $3,8 \cdot 10^{12}/л$, Нв - 125 г/л, лейкоцити - $8,2 \cdot 10^9/л$, ШЗЕ - 8 мм/год. Аналіз харкотиння - лейкоцити - 20-30 в п/зору, епітеліоцити - 5-8 в п/зору. Ro-ОГК: легеневі поля прозорі, бронхіальний малюнок підвищеної пневматизації, посилений в прикорневих зонах. Комп'ютерна спірографія: до проведення фармакологічної проби з сальбутамолом незначне зниження ЖЄЛ, ОФВ₁ - 65 % від належних величин, помірна генералізована обструкція на рівні дрібних бронхів. Після інгаляції двох доз сальбутамолу зберігається помірна генералізована обструкція, тип реакції на бронхолітик свідчить про перевагу бронхоспазму в генезі обструкції. Приріст ОФВ₁ після сальбутамолу становив 10 %.
- При госпіталізації в стаціонар під час нападу ядухи рівень КА в Ер становив 18,2 у.о. Після проведеного лікування, що включало інгаляційні бронхолітики, теофіліни, системні ГКС (згідно з наказом МОЗ України № 128) рівень КА в Ер знизився до 8,45 у.о. (норма $2,75 \pm 0,45$ у.о.), стан хворої дещо покращився, проте продовжували турбувати ранкові напади ядухи, що не купувались короткодійними бета-агоністами на фоні базисної терапії БА серетидом, нічні напади до 1-2 разів на тиждень, загальна слабкість, задишка при фізичному навантаженні, ОФВ₁ після інгаляції 2-х доз сальбутамолу зріс на 12,4 %. Все вище вказане, свідчить, що захворювання відповідає картині неповністю контрольованої астми і при цьому рівень КА в Ер теж зберігається підвищеним і не відповідає нормі. Хвора потребує продовження активної протизапальної терапії та корекції базисної терапії БА в бік зростання доз інгаляційних ГКС.
- З прикладів та таблиць можна побачити, що застосування запропонованого способу прогнозування перебігу БА дозволяє покращити прогноз та оптимізувати лікування БА за рахунок виявлення порушень Ер депонувати та транспортувати КА до виконавчих органів, а саме бронхів, посилюючи таким чином явища бронхіальної обструкції і важкість БА. При встановленні виявлених порушень проводиться корекція протизапальної терапії БА, що сприяє покращенню клінічного стану хворих, скороченню термінів перебування в стаціонарі, покращенню якості життя хворих та толерантності до фізичного навантаження, зменшенню розвитку ускладнень.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб прогнозування перебігу бронхіальної астми шляхом дослідження крові, який **відрізняється** тим, що в еритроцитах крові хворих на бронхіальну астму в міжприступний період цитохімічним методом визначають і морфометрично підраховують кількість катехоламінів в одному пересічному еритроциті порівняно з віковою нормою, і при зростанні вмісту катехоламінів прогнозують неповністю контрольований перебіг астми.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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