



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 423 694** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009107401/15, 02.03.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.03.2009

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 02.03.2009

(43) Дата публикации заявки: 10.09.2010 Бюл. № 25

(45) Опубликовано: 10.07.2011 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Сувалян А.Г. и др. Хирургическая тактика при сочетанной травме черепа и нижних конечностей. Вестник травматологии и ортопедии им Н.Н.Приорова, 1999, №3, с.11-16. RU 2285925 C2, 20.10.2006. Мироманов А.М. и др. Прогнозирование течения воспалительного процесса в послеоперационном периоде при открытых переломах конечностей. Дальневосточный (см. прод.)

Адрес для переписки:

672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, Читинская медакадемия, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Мироманов Александр Михайлович (RU),
Намоконов Евгений Владимирович (RU),
Мироманова Наталья Анатольевна (RU),
Кохан Сергей Тимофеевич (RU),
Давыдов Сергей Олегович (RU),
Лазуткин Михаил Николаевич (RU),
Гревцов Сергей Александрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Читинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (RU)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

(57) Реферат:

Изобретение относится к клинической биохимии и хирургии и касается способа прогнозирования развития воспалительного процесса путем определения в сыворотке крови содержания малонового диальдегида, отличающегося тем, что дополнительно у больных определяют концентрацию аденозинмонофосфата, аденозинтрифосфата и глутатионпероксидазы, рассчитывают их относительные величины по отношению к

средним значениям у здоровых лиц и вычисляют интегрированный коэффициент К по формуле
$$K = \frac{P_1 \cdot P_3}{P_2 \cdot P_4}$$
, где P₁, P₂, P₃ и P₄

имеют указанные в формуле значения, и при значении коэффициента, равном 3,0 и выше, прогнозируют развитие гнойно-воспалительных осложнений. Предложенный способ позволяет более точно прогнозировать течение раннего послеоперационного периода. 1 табл.

(56) (продолжение):

медицинский журнал, 2008, №3, с.37-39. Намоконов Е.В. и др. Диагностическая значимость прогностического индекса воспаления у пострадавших с острыми переломами длинных трубчатых костей, 2008, №6, с.37-38. PARE H.C. et al "Major secondary surgery in blunt trauma patients and

perioperative cytokine liberation: determination of the clinical relevance of biochemical markers" J. Trauma., 2001 Jun, 50(6), 989-1000.

R U 2 4 2 2 3 6 9 4 C 2

R U 2 4 2 2 3 6 9 4 C 2

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической биохимии и хирургии, может быть использовано для прогнозирования развития воспалительного процесса в раннем послеоперационном периоде.

Актуальность проблемы гнойно-воспалительных заболеваний и послеоперационных осложнений в хирургии определяется значительной частотой возникновения и высокой летальностью при данной патологии [1, 2].

Доказано, что разбалансировка в системе «ПОЛ-антиоксиданты» является одним из биохимических звеньев патологического процесса при гнойно-воспалительных заболеваниях и осложнениях. Свободные радикалы вследствие присутствия на их внешнем электронном уровне неспаренного электрона обладают деструктивной активностью и становятся существенным фактором воспалительного процесса. Деструктивное действие свободных радикалов опосредуется через интенсификацию ПОЛ, вследствие чего в тканях образуются высокотоксичные продукты метаболизма: альдегиды, кетоны, поперечносшитые соединения [3].

В физиологических условиях продукты липопероксидации инактивируются системой антирадикальной защиты. Одним из механизмов, препятствующих накоплению вторичных радикалов, являются ферментативные реакции с участием глутатионзависимых ферментов. В состав последних в качестве обязательного компонента входят микроэлементы, среди которых селен играет ведущую роль. При недостаточности указанной системы воспалительно-деструктивный процесс прогрессирует [4].

Установлено, что в условиях гнойно-воспалительного процесса, в результате чрезмерной интенсификации свободнорадикального окисления происходит разрушение митохондрий, исчезновение их в клетках, лизис других мембранных структур (лизосом), активация аутолиза за счет внутриклеточной и межклеточной атаки высвободившимися лизосомальными и митохондриальными ферментами (ферментный взрыв). Дефицит энергии ведет к ряду сложных и взаимосвязанных патологических последствий на клеточном, тканевом и более высоких уровнях: нарушение или исчезновение функций регуляции, снижение иммунологической реактивности организма, активности митоза, гибели клеток [5].

Доказано, что практически любая хирургическая операция оказывает неблагоприятный эффект на системы организма и является мощным фактором активации окислительных процессов, главным проявлением которого являются инфекционные послеоперационные осложнения. Поэтому определение факторов и механизмов, приводящих к развитию местных и системных воспалительных осложнений, является важным в выборе правильной лечебной тактики больного [6, 7].

В связи с этим перспективным может являться создание способа оценки гипоксического состояния организма в послеоперационном периоде, основанном на взаимодействии адениловой системы и системы «ПОЛ-антиоксиданты» в сыворотке крови для прогнозирования развития воспалительного процесса.

Известен способ прогнозирования течения гнойно-воспалительных послеоперационных осложнений в клинике абдоминальной хирургии путем определения показателей иммунной системы больных непосредственно перед началом операции и на вторые сутки послеоперационного периода посредством постановки реакции розеткообразования лимфоцитов больного после инкубации с аутоплазмой и без нее [8]. Высчитывают индекс, равный отношению количества инкубированных клеток к количеству активных Т-лимфоцитов. При значении показателя больше 1,1 прогнозируют благоприятное течение послеоперационного периода, а при

значении 1,0 и меньше - возникновение гнойно-воспалительных осложнений.

Однако метод определения розеткообразующих клеток с применением аутоплазмы не является достаточно специфичным, поскольку, во-первых, аутоплазма пациента обязательно несет в себе множество факторов, не только ускоряющих, но и тормозящих образование розеток. Эти факторы могут быть как сывороточного, так и лейкоцитарного происхождения, что может отразиться на суточной динамике коэффициента соответственно суточным и циркадным ритмам, вводя в заблуждение врача.

Известен способ прогнозирования течения раневого процесса [9], в основе которого лежит определение в сыворотке крови больных уровня провоспалительных (TNF α , IL-1 α) и противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10. Рассчитывают интегрированные показатели провоспалительных интерлейкинов (P₁, P₂) и противовоспалительных интерлейкинов (P₃, P₄) по отношению их содержания у больного к среднему значению здоровых лиц, вычисляют прогностический индекс воспаления (ПИВ) по отношению интегральных показателей провоспалительных интерлейкинов (P₁×P₂) к показателям противовоспалительных интерлейкинов (P₃×P₄) и при значении ПИВ, равном 1,4 и выше, прогнозируют развитие гнойно-воспалительных осложнений, а при значении, меньшем 1,4, прогнозируют благоприятное течение раневого процесса.

К недостаткам способа можно отнести то, что в данном методе рассматриваются лишь активаторы и ингибиторы воспалительного процесса, т.е. прогнозирование в вышеуказанном индексе проводится в рамках одной системы, что снижает достоверность прогноза. Поэтому изучение данных параметров без учета особенностей функционирования цитокинов в условиях окислительного стресса является не совсем корректным.

Прототипом для данного изобретения служит способ диагностики развития осложнений и определения показаний и противопоказаний к хирургическим вмешательствам при сочетанной травме нижних конечностей и черепа [10]. О тяжести состояния и возможной генерализации инфекции судят по повышению содержания начальных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижения антиокислительной активности (АОС) в сыворотке крови больных. Способ осуществляют путем определения в сыворотке крови в динамике (1, 3, 7, 14 день) содержания первичных (диеновые конъюгаты - ДК) и промежуточных (малоновый диальдегид - МДА) продуктов ПОЛ. Для оценки состояния АОС определяют концентрацию липидного антиоксиданта альфа-токоферола (ТФ) и внеклеточного белка церулоплазмينا (ЦП), обладающего антиоксидантным эффектом. Для оценки дисбаланса в системе «ПОЛ-АОС» использовали интегральный показатель (К), который в норме равен 1,12, при усилении процессов ПОЛ интегральный показатель возрастает выше 1,12, что указывает на развитие инфекционных осложнений.

Однако этот способ имеет ряд недостатков: во-первых, исследование только показателей системы «ПОЛ-антиоксиданты» является недостаточно информативным, поскольку дисбаланс в этой системе может регистрироваться при различных патологических состояниях, так как перекисное окисление липидов является неспецифическим процессом; во-вторых, оценка многокомпонентной антиоксидантной защиты по изучению содержания только альфа-токоферола и церулоплазмينا является не совсем объективной, поскольку антиоксидантная защита обеспечивается большим количеством соединений как ферментативной, так и неферментативной природы.

В связи с этим повышение или снижение этого параметра является недостаточно объективным критерием оценки генерализации хирургической инфекции. Кроме того, данный способ не отражает одно из основных патогенетических звеньев гнойно-воспалительных осложнений, а именно состояние адениловой системы и энергетический заряд. Это затрудняет объективизацию стадии воспалительного процесса и, как следствие, выбор адекватной тактики лечения.

Для повышения точности прогноза развития воспаления в условиях гипоксии и ее влияния на течение воспалительной реакции, в сыворотке крови у больных на вторые сутки послеоперационного периода определяют содержание макроэргов (АТФ, АМФ), индикатор липидной пероксидации (МДА) и показатель антиоксидантной активности - глутатионпероксидазу (ГП). Затем рассчитывают следующие показатели: 1) относительное содержание макроэрга АМФ - P_1 по формуле

$$P_1 = \frac{AM\Phi_i}{AM\Phi_n},$$

$$P_2 = \frac{AT\Phi_i}{AT\Phi_n},$$

$$P_3 = \frac{MDA_i}{MDA_n},$$

$$P_4 = \frac{GP_i}{GP_n},$$

где i - содержание показателей адениловой системы, системы «ПОЛ-антиоксиданты»;

n - среднее значение макроэргов, показателей системы «ПОЛ-антиоксиданты» у здоровых лиц.

После чего производят расчет интегрированного коэффициента (K) путем отношения произведений показателей относительного содержания АМФ, и малонового диальдегида ($P_1 \times P_3$) к произведению относительного содержания АТФ и глутатионпероксидазы ($P_2 \times P_4$), по формуле: $K = \frac{P_1 \cdot P_3}{P_2 \cdot P_4}$, и при коэффициенте

меньше 3,0 прогнозируют благоприятное течение раневого процесса в послеоперационном периоде, а если коэффициент равен или больше 3,0, прогнозируют развитие воспалительных инфекционных осложнений.

Способ выполняют следующим образом.

На 2-е сутки послеоперационного периода у больного берут из локтевой вены 10 мл крови в пробирку. Определяют концентрацию макроэргов (АТФ, АМФ) ферментными методами с использованием наборов фирмы «Boehringer Mannheim GmbH» (Германия). Концентрацию АТФ устанавливали по методу Bucher (1974), содержание АМФ по методике D.Jaworski (1974). Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре СФ-46, при длине волны - 340 нм [11] и рассчитывали интегрированные показатели макроэргов (АМФ, АТФ) по формуле:

$$P_1 = \frac{AM\Phi_i}{AM\Phi_n}, \quad P_2 = \frac{AT\Phi_i}{AT\Phi_n}.$$

Исследовали индикатор липидной пероксидации крови: МДА - по методике Ю.А.Владимирова [12], оптическую плотность полученных результатов измеряли на фотоэлектрическом колориметре при длине волны 535 нм и рассчитывали интегрированный показатель по формуле: $P_3 = \frac{MDA_i}{MDA_n}$. Показатель

антиоксидантной активности - глутатионпероксидазу (ГП) определяли по стандартной методике [13] и рассчитывали интегрированный показатель по формуле:

$$K = \frac{P_1 \cdot P_3}{P_2 \cdot P_4}$$

Для расчета показателей используют средние значения регионального содержания АМФ, АТФ, МДА и глутатионпероксидазы здоровых людей: АМФ=17,2 ммоль/л; АТФ=659 ммоль/л; МДА=1,24 ммоль/л; ГП=1,58 ЕД/мл; После чего производят расчет прогностического коэффициента (К) - отношения количества АМФ и МДА к АТФ и глутатионпероксидазе по формуле:

$$K = \frac{P_1 \cdot P_3}{P_2 \cdot P_4}$$

Параметры прогностического коэффициента трактуют следующим образом. Если коэффициент меньше 3,0, прогнозируют благоприятное течение раневого процесса в послеоперационном периоде. Если коэффициент равен или больше 3,0, прогнозируют развитие воспалительных инфекционных осложнений.

Способ прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Больная С., 34 года, оперирована по поводу закрытого перелома верхней трети левого бедра, проведен экстрamedулярный остеосинтез металлической пластиной. На вторые сутки послеоперационного периода у больного определяют содержание макроэргов, МДА и глутатионпероксидазы в сыворотке крови.

Макроэрги: АМФ=29,3 ммоль/л, АТФ=586 ммоль/л. Система «ПОЛ-антиоксиданты»: МДА=1,82 ммоль/л, ГП=1,4 ЕД/мл.

Рассчитываем интегрированные показатели отношения содержания АМФ, АТФ, МДА и глутатионпероксидазы в исследуемой пробе к тем же показателям в контроле у здоровых людей:

$$P_1 = \frac{AMF_1}{AMF_n} = \frac{29,3}{17,2} = 1,7; P_2 = \frac{ATF_1}{ATF_n} = \frac{586}{659} = 0,89; P_3 = \frac{MDA_1}{MDA_n} = \frac{1,82}{1,24} = 1,47;$$

$$P_4 = \frac{GP_1}{GP_n} = \frac{1,4}{1,58} = 0,89; K = \frac{P_1 \cdot P_3}{P_2 \cdot P_4} = \frac{1,7 \times 1,47}{0,89 \times 0,89} = 3,16$$

Было предположено неблагоприятное течение послеоперационного периода: в последующем, на 3-и сутки после операции вокруг швов появился отек, гиперемия, при пальпации в верхней трети левого бедра - плотный болезненный инфильтрат размером 8,5×7,0 см, из послеоперационной раны по дренажам - серозно-гнойное отделяемое. Произведено снятие швов, посев раневого отделяемого дал рост стафилококка в ассоциации с кишечной палочкой. Обсемененность раны микроорганизмами на 1 г ткани составила 10⁸.

В последующем в течение 10-ти дней местное лечение гнойной раны проводили промыванием раны гипертоническим раствором хлорида натрия, диоксицином, использовали повязки с мазью «Левомеколь»,

Вторичные швы на рану наложены на 12 сутки. Заживление полное.

Пример 2. Больной Д., 36 лет, оперирован по поводу открытого (III В типа по Каплану) перелома правой голени, выполнена первичная хирургическая обработка, фиксация стержневым аппаратом. На вторые сутки произведено исследование концентрации макроэргов, МДА и ГП.

Макроэрги: АМФ=23,5 ммоль/л; АТФ=594 ммоль/л; система «ПОЛ-антиоксиданты»: МДА=1,76 ммоль/л; ГП=1,42 ЕД/мл.

$$P_1=23,5/17,2=1,47; P_2=594/659=0,9; P_3=1,76/1,24=1,42; P_4=1,42/1,58=0,9; K=2,1/0,81=2,6.$$

Прогнозировано благоприятное течение раневого процесса, без осложнений. Послеоперационная терапия проводилась по общепринятым методам. Послеоперационный период протекал без особенностей, заживление раны первичным натяжением на 7 сутки. Больной в удовлетворительном состоянии выписан на 11 сутки после операции.

Предложенный способ прогнозирования гипоксического состояния при воспалении апробирован у 48 пациентов (см. таблицу). У всех пациентов после проведенного оперативного вмешательства микробная обсемененность не превышала 10^4 микробных тел на 1 г ткани.

Установлено, что у 23 пациентов коэффициент регистрировался на цифрах $3,01 \pm 0,03$. В данной группе у 21 пациента зафиксировано развитие гнойно-воспалительных осложнений, в 2 случаях отмечено благоприятное течение послеоперационного периода (заживление раны первичным натяжением). У 25 больных коэффициент составил $2,52 \pm 0,02$. На фоне проведенной традиционной терапии у 22 пациентов гнойных осложнений не отмечено, в 3 эпизодах зарегистрировано развитие инфекционных осложнений.

Таким образом, чувствительность предлагаемого способа прогнозирования составляет - $21/23 \times 100 = 91,3\%$, точность - $21+22/48 \times 100 = 89,6\%$, специфичность - $22/25 \times 100 = 88\%$.

Следовательно, исследование комплекса показателей адениловой системы и системы «ПОЛ-антиоксиданты» позволяет прогнозировать критический для развития воспаления уровень гипоксии в послеоперационном периоде, тем самым предвидеть возможность развития гнойно-воспалительных осложнений на стадии доклинических проявлений и вносить необходимую коррекцию в план лечения.

Источники информации

1. Хирургическое лечение больных с хроническим гнойным поражением костей и крупных суставов конечностей / Г.А.Оноприенко, О.Ш.Буачидзе, А.В.Еремин, К.И.Савицкая и др. // Хирургия. - 2005. - №8. - С.29-35.

2. Ерюхин, И.А. Хирургические инфекции: практическое руководство / И.А.Ерюхин, Б.Р.Гельфанд, С.А.Шляпников. - М.: Литтера, 2006. - 736 с.

3. Лечение тяжелых послеоперационных гнойно-воспалительных и септических осложнений с использованием антиоксидантных препаратов / В.И.Чиссов, Р.И.Якубовская, Е.Р.Немцова, Н.А.Осипова и др. // Хирургия. - 2008. - №11. - С.14-19.

4. Коррекция иммунных нарушений у больных хроническим бронхитом неоселеном / Е.П.Калинина, Н.С.Журавская, Г.И.Цывкина, Н.В.Козьявина // Клиническая медицина. - 2003. - №3. - С.43-46.

5. Намоконов Е.В. Патофизиологические аспекты хирургической инфекции и оптимизация подходов к ее лечению: автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.00.16 / Е.В.Намоконов. - Чита, 2003. - 34 с.

6. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях / В.К.Островский, А.В.Мащенко, Д.В.Янголенко, С. В.Макаров // Клиническая лабораторная диагностика. - 2006. - №6. - С.50-53.

7. Послеоперационная динамика уровня цитокинов в крови в зависимости от использованных вариантов общей анестезии / И.З.Катиашвили, Н.Е.Буров, И.В.Срибный и др. // Цитокины и воспаление. - 2005. - Т.4, №4. - С.27-34.

8. Патент SU 1629847 A1 RU, G01N 33/53. Способ прогнозирования течения послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений / Ж.Ш.Жумадилов;

Семипалатинский медицинский институт. - №4438383/14; Заявлено 08.06.1988; Опубл. 23.02.91. Бюл. №7.

9. Патент РФ №2285924, МПК G01N 33/55. Способ прогнозирования течения раневого процесса / Е.В.Намоконов, А.А.Герасимов, Б.С.Хышиктуев, С.О.Давыдов; заявитель и патентообладатель Е.В.Намоконов. - №2004109767; заявл. 30.03.2004; опубл. 20.10.2006, Бюл. №29.

10. Хирургическая тактика при сочетанной травме черепа и нижних конечностей / А.Г.Суваляк, П.П.Голиков, Б.В.Давыдов, К.И.Рахими // Вестник травматологии, ортопедии им. Н.Н.Приорова. - 1999. - №3. - С.11-16.

11. Намоконов Е.В. Влияние гипоксии на иммунологические показатели у больных с хирургической инфекцией / Е.В.Намоконов, А.А.Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2002. - №7. - С.19-20.

12. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А.Владимиров. - М., 1972. - 252 с.

13. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. реком. - СПб.: ИКФ Фолиант, 2000. - 104 с.

Таблица 1

Значения интегрированного коэффициента (К) у пациентов в послеоперационном периоде на 2-е сутки в различных клинических группах (M±n)

Группы	N	АМФ ммоль/л	АТФ ммоль/л	МДА ммоль/л	ГП ЕД/мл	К	Исход
I	n=23	28,9±0,7*/**	589±10*	1,77±0,05*	1,41±0,02*/**	3,0±0,04*/**	Неблагоприятный
II	n=25	26,3±0,6*/**	600±8,5*	1,68±0,06*	1,47±0,01*/**	2,44±0,03*/**	Благоприятный
III	n=30	17,2±0,5	659±5,7	1,24±0,07	1,58±0,03	1,0±0,02	Норма

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с контролем; ** - различия достоверны между I-ой и II-ой группами

I - группа больных с гнойно-воспалительными осложнениями;

II - группа больных без гнойно-воспалительных осложнений;

III - группа здоровых лиц

Формула изобретения

Способ прогнозирования развития воспалительного процесса путем определения в сыворотке крови содержания малонового диальдегида, отличающийся тем, что дополнительно у больных определяют концентрацию аденозинмонофосфата, аденозинтрифосфата и глутатионпероксидазы, рассчитывают их относительные величины по отношению к средним значениям у здоровых лиц и вычисляют интегрированный коэффициент К по формуле

$$K = \frac{P_1 \cdot P_3}{P_2 \cdot P_4}$$

где P_1 - величина относительного содержания АМФ;

P_2 - величина относительного содержания АТФ;

P_3 - величина относительного содержания малонового диальдегида;

P_4 - величина относительного содержания глутатионпероксидазы, и при значении коэффициента, равном 3,0 и выше, прогнозируют развитие гнойно-воспалительных осложнений.