



(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)
A61B 10/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНАТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007138694/14, 17.10.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.10.2007

(45) Опубликовано: 20.04.2009 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2285924 С1, 20.10.2006. RU 2214502 С1,
20.10.2003. RU 2236176 С1, 20.09.2004.

СЛАВЯНСКАЯ Т.А. и др. Особенности
активности цитокинов у больных
хроническим бронхитом (ХБ). Int. J. on
Immunorehabilitation, 1999, №12, с.144.
CONNELL C.M.O. et al. I-Proteinase inhibitor,
elastase activity, and lung disease severity in
cystic fibrosis. American Review of Respiratory
Disease. - 1993, vol.148, №6, pp.1665-1670.

Адрес для переписки:
672090, г.Чита, ул. Горького, 39а, Читинская
медицинская академия, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Намоконов Евгений Владимирович (RU),
Мироманов Александр Михайлович (RU),
Герасимов Александр Александрович (RU),
Лиханов Игорь Дмитриевич (RU),
Башаров Андрей Русланович (RU),
Коновалов Петр Петрович (RU),
Луденко Валерий Николаевич (RU),
Кохан Сергей Тихонович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

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

**(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ ТЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а
именно к клинической биохимии, хирургии, и
может быть использовано для оценки течения
воспалительного процесса в
послеоперационном периоде. Способ
обеспечивает повышение точности оценки
течения воспалительного процесса за счет учета
функционирования в условиях регулирующего
воздействия антипротеазной системы. У
больных определяют содержание
провоспалительных интерлейкинов TNF α ,
IL-1 α , белков антипротеазной системы
 α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулин.

Рассчитывают интегральные показатели
провоспалительных интерлейкинов (P_1 , P_2) и

белков антипротеазной системы (P_3 , P_4) по
отношению их содержания у больного к
среднему значению у здоровых лиц. Вычисляют
прогностический коэффициент (K) путем
произведения отношений интегральных
показателей провоспалительных
интерлейкинов ($P_1 \times P_2$) к показателям белков
антипротеазной системы ($P_3 \times P_4$) и при
значении (K), равном и меньше 2,7
прогнозируют благоприятный исход
воспалительного процесса, а при значении
выше 2,7 прогнозируют усиление
воспалительного процесса с последующим
развитием гнойно-воспалительных осложнений
в послеоперационном периоде. 1 табл.

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

Доказано, что практически любая хирургическая операция оказывает неблагоприятный эффект на иммунную систему и вызывает развитие иммунодефицита, главным проявлением которого являются инфекционные послеоперационные осложнения. Поэтому определение степени иммунодефицита, а также факторов и механизмов, приводящих к развитию местных и системных воспалительных осложнений, является важным в выборе правильной лечебной тактики больного [1, 2].

Воспалительные и иммунные реакции являются результатом взаимодействия большого количества различных систем организма. Иммунные клетки секрецируют многочисленные растворимые медиаторы (цитокины), часть которых является высокоспецифическими. Вне воспалительной реакции и иммунного ответа цитокины в крови содержатся в чрезвычайно малом количестве. Усиленный синтез цитокинов начинается в ответ на проникновение в организм микроорганизмов или повреждение тканей.

В организме имеются регуляторные системы, которые инактивируют уже высвобожденные цитокины. К ним относится антипротеазная система, которая осуществляет контроль над распределением, активностью и разрушением серии цитокинов (TNF α , IL-1 α и β , IL-2, IL-6, IFN, CSF).

В связи с этим перспективным может являться создание способа оценки характера воспалительного процесса в послеоперационном периоде, основанном на воздействии антипротеиназами крови (α_1 -антитрипсин и α_2 -макроглобулин) на физиологические механизмы неспецифической модуляции и активации цитокинов. Активация α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина с переходом в «быструю» форму, взаимодействующую с цитокинами и их рецепторами, обеспечивает снижение выраженности локальных и системных эффекторных реакций, обусловленных системой провоспалительных цитокинов (IL-1 α и β , IL-2, IL-6, TNF α) [3].

Известен способ диагностики развития осложнений и определения показаний и противопоказаний к хирургическим вмешательствам при сочетанной травме нижних конечностей и черепа [4]. 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 осуществляется 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 определяли концентрацию липидного антиоксиданта альфа-токоферола (ТФ) и внеклеточного белка церулоплазмина (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 церулоплазмина 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 не достаточно объективным критерием оценки генерализации хирургической инфекции. Кроме того, данный способ не отражает основное патогенетическое звено гнойно-воспалительных осложнений, а именно цитокинозависимые иммунодефициты. Это затрудняет объективизацию стадии воспалительного процесса и, как следствие, выбор адекватной тактики лечения.

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 [5]. 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. Во-вторых, изменения параметров коэффициента в достаточно узком диапазоне цифр снижает точность и воспроизводимость результатов.

Прототипом для данного изобретения служит способ прогнозирования течения раневого процесса [6], в основе которого лежит определение в сыворотке крови больных уровня провоспалительных (TNFa, IL-1 α) и антивоспалительных цитокинов IL-4, IL-10. Рассчитывают интегральные показатели провоспалительных интерлейкинов (P_1, P_2) и антивоспалительных интерлейкинов (P_3, P_4) по отношению их содержания у больного к среднему значению здоровых лиц, вычисляют прогностический индекс воспаления (ПИВ) по отношению интегральных показателей провоспалительных интерлейкинов ($P_1 \times P_2$) к показателям антивоспалительных интерлейкинов ($P_3 \times P_4$) 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. Кроме того, не учитываются особенности функционирования цитокинов в условиях регулирующего воздействия ряда систем, в частности антепротеазной системы, которая осуществляет контроль над распределением, активностью и разрушением серии цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IFN, CSF).

Для повышения точности оценки характера течения воспалительного процесса в сыворотке крови у больных на вторые сутки послеоперационного периода определяют содержание провоспалительных интерлейкинов IL-1 α , TNFa, содержание

транспортных белков антипротеазной системы крови α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулин и затем рассчитывают следующие показатели: 1) относительное содержание провоспалительного интерлейкина TNF α , P_1 по формуле $P_1 = \frac{TNF\alpha}{TNFn}$,

2) относительное содержание провоспалительного интерлейкина IL-1 α , P_2 по формуле $P_2 = \frac{IL-1\alpha i}{IL-1\alpha n}$,

3) относительное содержание α_1 -антитрипсина P_3 по формуле $P_3 = \frac{\alpha_1 - \text{антитрипсин} i}{\alpha_1 - \text{антитрипсин} n}$,

4) относительное содержание α_2 -макроглобулина P_4 по формуле $P_4 = \frac{\alpha_2 - \text{макроглобулин} i}{\alpha_2 - \text{макроглобулин} n}$,

где i - содержание белков антипротеазной системы, интерлейкинов у больных; n - среднее значение белков антипротеазной системы, интерлейкинов у здоровых лиц.

После чего производят расчет интегрального коэффициента (К) путем отношения произведений показателей относительного содержания провоспалительных интерлейкинов ($P_1 \times P_2$) к произведению относительного содержания α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина ($P_3 \times P_4$) по формуле $K = \frac{P_1 * P_2}{P_3 * P_4}$.

Способ выполняют следующим образом.

На 2-е сутки послеоперационного периода у больного берут из локтевой вены 10 мл крови в пробирку.

Определяют концентрацию интерлейкинов (TNF α , IL-1 α) методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью двойных антител и рассчитывают интегральные показатели провоспалительных интерлейкинов TNF α , IL-1 α по формуле $P_1 = \frac{TNF\alpha}{TNFn}$, $P_2 = \frac{IL-1\alpha i}{IL-1\alpha n}$, определяют белки антепротеазной системы крови α_1 -антитрипсин и α_2 -макроглобулин и рассчитывают интегральные показатели по формуле $P_3 = \frac{\alpha_1 - \text{антитрипсин} i}{\alpha_1 - \text{антитрипсин} n}$, $P_4 = \frac{\alpha_2 - \text{макроглобулин} i}{\alpha_2 - \text{макроглобулин} n}$.

В качестве контроля использовали средние показатели регионального содержания провоспалительных интерлейкинов и белков антепротеазной системы здоровых людей (7):

TNF α =25±3 пкг/мл; IL-1 α =36±5 пкг/мл;

α_1 -антитрипсин = 2384±22 мкг/мл; α_2 -макроглобулин = 1742±15 мкг/мл.

После чего производят расчет прогностического коэффициента (К) - отношения количества полученных популяций провоспалительных интерлейкинов IL-1 α , TNF α к белкам антепротеазной системы α_1 -антитрипсину и α_2 -макроглобулину по формуле

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

Параметры прогностического коэффициента трактуют следующим образом. Если коэффициент равен или меньше 2,7, прогнозируют благоприятный исход воспалительного процесса. Если коэффициент больше 2,7, прогнозируют усиление

воспалительного процесса с последующим развитием гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде.

Способ прогнозирования течения раневого процесса иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Больной К., 34 лет, оперирован по поводу закрытого перелома правого бедра, проведен интрамедуллярный остеосинтез металлическим штифтом. На вторые сутки послеоперационного периода у больного определяют содержание интерлейкинов и транспортные белки антипротеазной системы α_1 -антитрипсина,

α_2 -макроглобулина в сыворотке крови.

Интерлейкины: TNF α (пкг/мл) 100, IL-1 α (пкг/мл) 164, α_1 -антитрипсин 4872 мкг/мл, α_2 -макроглобулин 3660 мкг/мл.

Рассчитываем интегральные показатели отношения содержания

проводоспалительных интерлейкинов и белков антипротеазной системы в исследуемой пробе к тем же показателям в контроле у здоровых людей:

$$P_1 = \frac{TNF\alpha}{TNFn} = \frac{100}{25} = 4,0 \quad P_2 = \frac{IL-1\alpha}{IL-1\alpha n} = \frac{164}{36} = 4,0,$$

$$P_3 = \frac{\alpha_1\text{-антитрипсин - i}}{\alpha_1\text{-антитрипсин - п}} = \frac{4872}{2384} = 2,04,$$

$$P_4 = \frac{\alpha_2\text{-макроглобулин - i}}{\alpha_2\text{-макроглобулин - п}} = \frac{3660}{1742} = 2,10,$$

$$K = \frac{P_1 * P_2}{P_3 * P_4} = \frac{4,0 * 4,0}{2,04 * 2,10} = 3,62.$$

Было предположено неблагоприятное течение послеоперационного периода: в последующем на 3-й сутки после операции вокруг швов появился отек, гиперемия, при пальпации в средней трети правого бедра - плотный болезненный инфильтрат размером 12,5×6,0 см с флюктуацией в центре, из послеоперационной раны по -дренажам - серозно-гнойное отделяемое. Были сняты швы, посев раневого отделяемого дал рост стафилококка в ассоциации с синегнойной палочкой.

Обсемененность раны микроорганизмами на 1 г ткани составила 10^8 .

В последующем в течение 8-ми дней местное лечение гнойной раны проводили

промыванием раны гипертоническим раствором хлорида натрия, диоксидином, использовались повязки с мазью «Левомеколь».

На 9 сутки проведено повторное исследование интерлейкинов. Интерлейкины: IL-1 α (пкг/мл) 59, TNF α (пкг/мл) 59, α_1 -антитрипсин 3347 мкг/мл, α_2

макроглобулин 1929 мкг/мл

$$K = \frac{2,36 \times 1,63}{1,40 \times 1,10} = 2,49.$$

К этим срокам рана размером 9,0×3,0 см, выполнена мелкозернистой, ярко-красного цвета грануляционной тканью, отмечается краевая эпителиализация.

Наложены ранние вторичные швы. Заживление полное.

Пример 2. Больная М., 19 лет, поступила в клинику с диагнозом: открытый оскольчатый перелом (II В тип) левой бедренной кости в средней трети со смещением отломков. При осмотре - рана 7,0×2,5 см в средней трети левого бедра, по

наружно-боковой поверхности, в рану выстоят концы костных отломков бедренной кости. Через 1,5 часа с момента поступления произведена первичная хирургическая обработка раны, на рану наложены первичные швы, перелом фиксирован аппаратом Илизарова. На вторые сутки произведено исследование концентрации интерлейкинов.

Интерлейкины: TNF α (пкг/мл) 56; IL-1 α (пкг/мл) 64, α_1 -антитрипсин 3447 мкг/мл, α_2 -макроглобулин 1929 мкг/мл

$$P_1=56/25=2,24; P_2=64/36=1,77; P_3=3447/2384=1,44;$$

$$P_4=1929/1742=1,10. K=2,57.$$

Прогнозировано благоприятное течение раневого процесса, без осложнений.

Послеоперационная терапия проводилась по общепринятым методам.

Послеоперационный период протекал гладко, рана зажила первичным натяжением.

Больная в удовлетворительном состоянии выписана на 12 сутки после операции.

Предложенный способ оценки течения раневого процесса был проведен у 52-х больных (см. таблицу). По сравнению с прототипом увеличивается точность и чувствительность прогноза на 50-55%.

Значение прогностического коэффициента (К) у больных в послеоперационном периоде на 2-е сутки в различных клинических группах (M±m).							
Группы	N	TNF α пкг/мкл	IL-1 α пкг/мкл	α_1 -антитрипсин мкг/мл	α_2 -макроглобулин, мкг/мл	K	Исход
Группа I	n=26	105±10*	124±8*	5500±42*	3980±31*	2,70±0,30	Неблагоприятный
Группа II	n=26	53±2**/**	64±3**/**	3442±24**/**	1928±22**/**	2,40±0,28	Благоприятный
Группа III	n=25	25±3	36±5	2384±22	1742±15	1,0±0,10	Норма

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

I - группа больных с гнойно-воспалительными осложнениями;
II - группа больных без гнойно-воспалительных осложнений;
III - группа здоровых лиц;

Таким образом, динамическое исследование состояния цитокинового провоспалительного статуса и антипротеазной системы позволяет определить у пациента характер воспалительного процесса в целом (в сторону его усиления или ослабления). Выбранная в связи с этим лечебная тактика будет направлена на коррекцию как местных (со стороны оперативного вмешательства), так и общих проявлений воспалительного процесса.

Источники информации

1. Островский В.К. Лейкоцитарные индексы в диагностике гнойных и воспалительных заболеваний и в определении тяжести гнойной интоксикации / В.К.Островский, Р.Р.Алимов, А.В.Машенко // Вестник хирургии им И.И.Грекова. - 2003. - Т.162, №6. - С.102-104.
2. Послеоперационная динамика уровня цитокинов в крови в зависимости от использованных вариантов общей анестезии / И.З.Катиашвили и др. // Цитокины и воспаление. - 2005. - Т.4, №4. - С.27-34.
3. Минаев С.В. Значение цитокинов в патогенезе острой хирургической патологии брюшной полости / С.В.Минаев // Цитокины и воспаление. - 2004. - Т.3, №2. - С.41-46.
4. Сувалян А.Г. Хирургическая тактика при сочетанной травме черепа и нижних конечностей / А.Г.Сувалян, П.П.Голиков, Б.В.Давыдов, К.И.Рахими // Вестник травматологии, ортопедии им. Н.Н.Приорова. - 1999. - №3. - С.11-16.
5. 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.
6. Патент №2285924 РФ, МПК G01N 33/55. Способ прогнозирования течения раневого процесса / Е.В.Намоконов, А.А.Герасимов, Б.С.Хышкитуев, С.О.Давыдов; заявитель и патентообладатель Е.В.Намоконов. - №2004109767; заявл. 30.03.2004;

опубл. 20.10.2006, Бюл. №29.

7. К вопросу прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений в травматологии. Клинико-иммунологические аспекты / Е.В.Намоконов и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2006. - №4. - С.198-201.

Формула изобретения

Способ оценки течения воспалительного процесса в послеоперационном периоде путем определения содержания в сыворотке крови провоспалительных интерлейкинов, отличающийся тем, что у больных определяют содержание провоспалительных интерлейкинов TNF α , IL-1 α , белков антитриптина, α_1 -антитриптина, α_2 -макроглобулина, рассчитывают интегральные показатели провоспалительных интерлейкинов (P_1 , P_2), и белков антитриптина (P_3 , P_4) по отношению их содержания у больного к среднему значению у здоровых лиц, вычисляют прогностический коэффициент (К) путем произведения отношений интегральных показателей провоспалительных интерлейкинов ($P_1 \times P_2$), к показателям белков антитриптина ($P_3 \times P_4$) и при значении (К), равном или меньше 2,7, прогнозируют благоприятный исход воспалительного процесса, а при значении, выше 2,7 прогнозируют усиление воспалительного процесса, с последующим развитием гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде.

25

30

35

40

45

50