



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007147068/15, 17.12.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.12.2007

(45) Опубликовано: 20.03.2009 Бюл. № 8

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2285924 C2, 20.10.2006. RU 2285925
C2, 20.10.2006. RU 2193778 C1, 27.11.2002. RU
2293325 C1, 10.02.2007. ШОРТАНБАЕВ А.А.
Послеоперационные гнойно-воспалительные
осложнения, иммунологические параметры и
HLA-система. Здоровоохр. Казахстана. 1992,
№10, с.19-20.

Адрес для переписки:

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

(72) Автор(ы):

Мироманов Александр Михайлович (RU),
Намоконов Евгений Владимирович (RU),
Герасимов Александр Александрович (RU),
Хышиктуев Баир Сергеевич (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 ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а
именно к хирургии, и касается способа
прогнозирования гнойно-воспалительных
осложнений в послеоперационном периоде.
Способ заключается в изучении показателей
относительного содержания провоспалительных
(IL-1 β , TNF α), противовоспалительного (IL-4)
цитокинов, белка антипротеазной
системы (α_2 -макроглобулина), диеновых

конъюгатов (ДК) и уровня антиоксидантной
активности (АОА) в сыворотке крови больных в
послеоперационном периоде и расчете
коэффициента К по формуле. На основании
значения К прогнозируют течение
послеоперационного периода. Использование
способа позволяет прогнозировать развитие
гнойно-воспалительных осложнений на
доклинической стадии и вносить необходимую
коррекцию в план лечения. 1 табл.

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической биохимии и хирургии, может быть использовано для прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде.

Проблема прогнозирования в медицине является одной из самых актуальных.

5 Объективизация состояния больных позволяет прогнозировать исход заболевания, сроки общей госпитализации, оценивать эффективность проводимой терапии [1, 2].

Доказано, что практически любая хирургическая операция оказывает неблагоприятный эффект на иммунную систему и вызывает развитие иммунодефицита, главным проявлением которого являются инфекционные послеоперационные осложнения. Поэтому
10 определение степени иммунодефицита, а также факторов и механизмов, приводящих к развитию местных и системных воспалительных осложнений, является важным в выборе правильной лечебной тактики больного [3, 4].

Воспалительные и иммунные реакции являются результатом взаимодействия большого количества различных систем организма [5].

15 В связи с этим перспективным может являться создание способа оценки характера воспалительного процесса в послеоперационном периоде, основанного на взаимодействии цитокинов, системы «ПОЛ-антиоксиданты» и антипротеазной системы крови.

Известен способ диагностики развития осложнений и определения показаний и противопоказаний к хирургическим вмешательствам при сочетанной травме нижних
20 конечностей и черепа [11]. О тяжести состояния и возможной генерализации инфекции судят по повышению содержания начальных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижению антиокислительной активности (АОС) в сыворотке крови больных. Способ осуществляется путем определения в сыворотке крови в динамике (1, 3, 7, 14
25 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 церулоплазмينا (ЦП), обладающего антиоксидантным эффектом. Для оценки дисбаланса в системе «ПОЛ-АОС» использовали интегральный показатель (К), который в норме равен 1,12, при
30 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
35 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 не достаточно
40 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.

45 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 [6]. Высчитывают индекс,
50 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
 5 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 [7], в основе которого лежит определение в сыворотке крови больных уровня провоспалительных ($TNF\alpha$, $IL-1\alpha$) и противовоспалительных цитокинов $IL-4$, $IL-10$.
 Рассчитывают интегрированные показатели провоспалительных интерлейкинов (P_1 , P_2) и противовоспалительных интерлейкинов (P_3 , P_4) по отношению их содержания у больного к среднему значению здоровых лиц, вычисляют прогностический индекс воспаления (ПИВ) по
 15 отношению интегральных показателей провоспалительных интерлейкинов ($P_1 \cdot P_2$) к показателям противовоспалительных интерлейкинов ($P_3 \cdot P_4$) 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
 20 вышеуказанном индексе проводится в рамках одной системы, что снижает достоверность прогноза. Поэтому изучение данных параметров без учета особенностей функционирования цитокинов в условиях регулирующего воздействия ряда систем, в частности антипротеазной и системы «ПОЛ-антиоксиданты», которые играют важную роль,
 25 как на местном, так и на системном уровнях, является не точным.

Для повышения точности прогноза гнойно-воспалительного процесса в сыворотке крови у больных на вторые сутки послеоперационного периода определяют содержание цитокинов ($IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-4$), диеновых конъюгатов (ДК), антиоксидантную активность (АОА), белка антипротеазной системы крови - α_2 -макроглобулина. Затем рассчитывают
 30 следующие показатели: 1) относительное содержание провоспалительного интерлейкина $IL-1\beta$ - P_1 по формуле $P_1 = \frac{IL-1\beta_i}{IL-1\beta_n}$, 2) относительное содержание противовоспалительного

интерлейкина $IL-4$ - P_2 по формуле $P_2 = \frac{IL-4_i}{IL-4_n}$, 3) относительное содержание

провоспалительного цитокина $TNF\alpha$ - P_3 по формуле $P_3 = \frac{TNF\alpha_i}{TNF\alpha_n}$, 4) относительное

содержание α_2 -макроглобулина - P_4 по формуле $P_4 = \frac{\alpha_2\text{-макроглобулин}_i}{\alpha_2\text{-макроглобулин}_n}$, 5)

относительное содержание диеновых конъюгатов - P_5 по формуле $P_5 = \frac{ДК_i}{ДК_n}$, 6)

относительную антиоксидантную активность - P_6 по формуле $P_6 = \frac{АОА_i}{АОА_n}$,

где i - содержание цитокинов, белка антипротеазной системы, продуктов ПОЛ, ферментов АОС у больных;

n - среднее значение цитокинов, белка антипротеазной системы, продуктов ПОЛ, ферментов АОС у здоровых лиц.

После чего производят расчет интегрированного коэффициента (K) путем отношения произведений показателей относительного содержания провоспалительных цитокинов и диеновых конъюгатов ($P_1 \cdot P_3 \cdot P_5$) к произведению относительного содержания

противовоспалительного интерлейкина, α_2 -макроглобулина и антиоксидантной активности ($P_2 \cdot P_4 \cdot P_6$), по формуле:

$$K = \frac{P_1 \cdot P_3 \cdot P_5}{P_2 \cdot P_4 \cdot P_6}$$

Способ выполняют следующим образом.

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

Определяют концентрацию цитокинов (IL-1 β , TNF α , IL-4) методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью двойных антител [8] и рассчитывают интегрированные показатели провоспалительных цитокинов - IL-1 β , TNF α и противовоспалительного интерлейкина - IL-4 по формуле:

$$P_1 = \frac{IL-1\beta_i}{IL-1\beta_n} \quad P_2 = \frac{IL-4_i}{IL-4_n}$$

$P_3 = \frac{TNF\alpha_i}{TNF\alpha_n}$, исследуют белок антипротеазной системы крови α_2 -макроглобулин и

рассчитывают интегрированный показатель по формуле:

$$P_4 = \frac{\alpha_2\text{-макроглобулин}_i}{\alpha_2\text{-макроглобулин}_n}$$

определяют уровень начальных интермедиатов липопероксидации при длине волны 232 нм [10], общую антиоксидантную активность исследуют по методу М.Ш.Промыслова [9] и рассчитывают показатели отношения диеновых конъюгатов (ДК), антиоксидантной активности (АОА) по формуле:

$$P_5 = \frac{ДК_i}{ДК_n} \quad P_6 = \frac{АОА_i}{АОА_n}$$

Для расчета показателей используют средние значения регионального содержания про- и противовоспалительных цитокинов, белков антипротеазной системы, диеновых конъюгатов и антиоксидантной активности здоровых людей: IL-1 β =37 пкг/мл; IL-4=32 пкг/мл; TNF α =34 пкг/мл; α_2 -макроглобулин=1742 мкг/мл; ДК=0,096 ΔD /мг липидов; АОА=30,23%.

После чего производят расчет прогностического коэффициента (К) - отношение количества полученных популяций провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF α и диеновых конъюгатов к противовоспалительному интерлейкину IL-4, α_2 -макроглобулину и антиоксидантной активности (АОА) по формуле:

$$K = \frac{P_1 \cdot P_3 \cdot P_5}{P_2 \cdot P_4 \cdot P_6}$$

Параметры прогностического коэффициента трактуют следующим образом. Если коэффициент равен или меньше 2,5, прогнозируют благоприятное течение раневого процесса в послеоперационном периоде. Если коэффициент больше 2,5, прогнозируют развитие инфекционных осложнений.

Способ прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Больной Д., 28 лет, оперирован по поводу закрытого перелома левой голени, проведен экстрamedулярный остеосинтез металлической пластиной. На вторые сутки послеоперационного периода у больного определяют содержание цитокинов, α_2 -макроглобулина, ДК и АОА в сыворотке крови.

Цитокины: IL-1 β =114 пкг/мл, IL-4=193 пкг/мл, TNF α =128 пкг/мл. α_2 -макроглобулин=3917 мкг/мл. Система «ПОЛ-антиоксиданты»: ДК=0,172 ΔD /мг липидов, АОА=16,7%.

Рассчитываем интегрированные показатели отношения содержания цитокинов, белка антипротеазной системы, ДК и АОА в исследуемой пробе к тем же показателям в контроле у здоровых людей:

$$P_1 = \frac{IL-1\beta_1}{IL-1\beta_n} = \frac{114}{37} = 3,08 ; P_2 = \frac{IL-4_i}{IL-4_n} = \frac{193}{32} = 6,03 ; P_3 = \frac{TNF\alpha_i}{TNF\alpha_n} = \frac{128}{34} = 3,76 ;$$

$$P_4 = \frac{\alpha_2\text{-макроглобулин}_i}{\alpha_2\text{-макроглобулин}_n} = \frac{3917}{1742} = 2,25 ; P_5 = \frac{ДК_i}{ДК_n} = \frac{0,172}{0,096} = 1,79 ;$$

$$P_6 = \frac{АОА_i}{АОА_n} = \frac{16,7}{30,2} = 0,55 ; K = \frac{P_1 \cdot P_3 \cdot P_5}{P_2 \cdot P_4 \cdot P_6} = \frac{3,08 \times 3,76 \times 1,79}{6,03 \times 2,25 \times 0,55} = 2,78$$

Было предположено неблагоприятное течение послеоперационного периода: в последующем, на 3-и сутки после операции вокруг швов появился отек, гиперемия, при пальпации в средней трети левой голени - плотный болезненный инфильтрат размером 6,5.5,0 см, из послеоперационной раны по дренажам - серозно-гноенное отделяемое. Были сняты швы, посев раневого отделяемого дал рост стафилококка. 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, диоксицином, использовались повязки с мазью «Левомеколь»,

На 9 сутки проведено повторное исследование.

Цитокины: IL-1 β =57 пкг/мл, IL-4=89 пкг/мл, TNF α =61 пкг/мл. α_2 -макроглобулин=1870 мкг/мл. Система «ПОЛ-антиоксиданты»: ДК=0,128 Δ D/мг липидов, АОА=20,6%.

$$K = \frac{1,54 \times 1,79 \times 1,33}{2,78 \times 1,07 \times 0,68} = 1,81$$

К этим срокам рана размером 7,0.2,0 см, выполнена мелкозернистой, ярко-красного цвета грануляционной тканью, отмечается краевая эпителизация.

Наложены ранние вторичные швы. Заживление полное.

Пример 2. Больной Л., 36 лет, оперирован по поводу закрытого перелома левого плеча, левой голени, последовательно выполнен экстремедуллярный остеосинтез металлическими пластинами. На вторые сутки произведено исследование концентрации цитокинов, α_2 -макроглобулина, ДК и АОА.

Цитокины: IL-1 β =61 пкг/мл, IL-4=103 пкг/мл, TNF α =84 пкг/мл. α_2 -макроглобулин=2508 мкг/мл. Система «ПОЛ-антиоксиданты»: ДК=0,129 Δ D/мг липидов, АОА=20,1%.

$P_1=61/37=1,65$; $P_2=103/32=3,22$; $P_3=84/34=2,47$; $P_4=2508/1742=1,44$; $P_5=0,129/0,096=1,34$; $P_6=20,1/30,2=0,67$. $K=1,76$.

Прогнозировано благоприятное течение раневого процесса, без осложнений.

Послеоперационная терапия проводилась по общепринятым методам. Послеоперационный период протекал гладко, рана зажила первичным натяжением. Больной в удовлетворительном состоянии выписан на 10 сутки после операции.

Предложенный способ прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений проведен у 60-ти пациентов (см. таблицу). При бактериологическом и цитологическом анализе развитие осложнений выявлено в 29 случаях, заживление первичным натяжением (без развития осложнений) наблюдалось у 30 пациентов, то есть правильное прогнозирование было зарегистрировано в 59 случаях. Таким образом, точность предлагаемого способа прогнозирования составляет - $59/60 \cdot 100=98,3\%$.

Следовательно, исследование некоторых показателей цитокинового статуса, антипротеазной системы и системы «ПОЛ-антиоксиданты» позволяет прогнозировать гнойно-воспалительные осложнения на доклинических проявлениях и вносить необходимую коррекцию в план лечения.

Источники информации

1. Светухин А.В. Системы объективной оценки тяжести состояния больных. Часть I // А.В.Светухин, А.А.Звягин, С.Ю.Слепнев. - Хирургия. - 2002. - №9. - С.51-57.

2. Симбирцев А.С. Цитокины - новая система регуляции защитных сил организма / А.С.Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2002. - №.1, Т.1. - С.9-15.

3. 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.

4. 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.

5. Кузник Б.И. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма / Б.И.Кузник, Н.Н.Цыбиков, Ю.А.Витковский // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2005. - №2. - С.3-16.

6. 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.

7. Патент №2285924 РФ, 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.

8. Влияние тималина на иммунитет и содержание противовоспалительных цитокинов при переломах длинных трубчатых костей, осложненных остеомиелитом / В.Х.Хавинсон, Ю.А.Витковский, Б.И.Кузник и др. // Иммунология. - 2001. - №1. - С.22-25.

9. Промыслов М.Ш. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови / М.Ш.Промыслов, М.Л.Демчук // Вопросы медицинской химии. - 1990. - №4. - С.90-92.

10. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах / И.А.Волчегорский, А.Г.Налимов, Б.Г.Яровинский, Р.И.Лифшиц // Вопросы медицинской химии. - 1989. - №1. - С.127-131.

11. 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.

Таблица

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

Группы	N	IL-1β пг/мл	IL-4 пг/мл	TNFα пг/мл	α ₂ -Mг мг/мл	ДК ΔD/мг липидов	АОА %	К	Исход
I	n=30	108±7*	183±10*	124±8*	3980±116*	0,168±0,01*	18,9±1,1*	2,55±0,05*	Неблагоприятный
II	n=30	84±4***	115±7***	93±4***	2481±78***	0,13±0,01***	20,8±1,3***	2,40±0,04***	Благоприятный
III	n=30	37±3	32±2	34±3	1742±15	0,096±0,01	30,2±2,2	1,0±0,06	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

Формула изобретения

Способ прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде путем определения в сыворотке крови содержания провоспалительного TNFα, противовоспалительного IL-4, отличающийся тем, что дополнительно у больных определяют концентрацию провоспалительного IL-1β, α₂-макроглобулина, диеновых конъюгатов и антиоксидантную активность, рассчитывают их относительные величины по отношению к средним значениям у здоровых лиц и вычисляют интегрированный коэффициент К по формуле

$$K = \frac{P_1 \cdot P_2 \cdot P_3}{P_4 \cdot P_5 \cdot P_6}$$

где P₁ - величина относительного содержания IL-1β;

P₂ - величина относительного содержания IL-4;

P₃ - величина относительного содержания TNFα;

P_4 - величина относительного содержания α_2 -макроглобулина;

P_5 - величина относительного содержания диеновых конъюгатов;

P_6 - величина относительной антиоксидантной активности,

и при значении коэффициента, равном 2,5 и выше, прогнозируют развитие гнойно-

5 воспалительных осложнений.

10

15

20

25

30

35

40

45

50