



УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВО

(19) UA (11) 12365 (13) A

(51)6 A 61 B 10/00; G 01 N 33/48, 33/49

ОПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3769-XII від 23 XII 1993 рПублікується  
в редакції заявника

(54) СПОСІБ РАНЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ЖОВЧОКАМ'ЯНОЇ ХВОРОБИ У ДІТЕЙ

1

(21) 94076264

(22) 18.07.94

(24) 02.12.96

(46) 28.02.97. Бюл. № 1

(47) 02.12.96

(56) Рябчук Ф.Н. Активность процессов ацетилирования и показатели липидного спектра крови у детей с сочетанной гастродуодено-билиарной патологией. – Педиатрия, 1990, № 7, с. 19-23 (прототип).

(72) Єлєєва Заліна Володимирівна

(73) Єлєєва Заліна Володимирівна (UA)

(57) 1. Способ ранней диагностики желчно-каменной болезни у детей путем исследова-

2

ния сыворотки крови, отличающийся тем, что измеряют интенсивность метаболитического свечения при хемилюминесценции, при величине интенсивности в пределах 13000–24000 имп./с диагностируют доклинический период желчнокаменной болезни, а при интенсивности свечения менее 13000 имп./с – клинический период заболевания.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что измерение интенсивности метаболитического свечения при хемилюминесценции проводят с учетом фоновых и максимальных показателей за время индуцированной хемилюминесценции.

Изобретение относится к медицине, в частности к педиатрии и гастроэнтерологии, и может быть использовано при скрининг-диагностике холелитиаза.

Известен эхографический способ ранней диагностики холелитиаза у детей [1, 2], в соответствии с которым эхографические исследования проводят с помощью ультразвукового диагностического аппарата, работающего в режиме реального времени. Детей обследуют натощак. За возрастные нормативы принимают данные ультразвуковых исследований желчного пузыря у здоровых детей. На эхограммах камни желчного пузыря имеют вид плотных и, следовательно, сильно отражающих звук, структур. Важной характеристикой является дорсальная тень, расположенная за камнем. В желчном

пузыре могут находиться мелкие камни в виде песчинок, дающие точечные эхо-структуры повышенной акустической плотности, но без акустической тени – так называемый "осадок" или "сладж". Значительно чаще при ультразвуковом исследовании в полости желчного пузыря определяются "хлопья" желчи (гетерогенное застойное содержимое), которые обычно рассматриваются как холестаз с тенденцией к литогенезу.

К недостаткам способа следует отнести невысокую информативность, так как появление в желчном пузыре вышеуказанных феноменов отмечается как при билиарной, так и при гастродуоденальной патологии.

Известен также способ диагностики желчнокаменной болезни [3], который может быть использован и при обследовании

(19) UA (11) 12365 (13) A

детей, заключающийся в биохимическом анализе желчи, полученной при дуоденальном зондировании. Согласно этому способу, определяют абсолютные значения концентраций липидов и рассчитывают их соотношения – литогенные индексы, характеризующие состояние коллоидного равновесия.

Недостатками этого способа являются следующие: трудоемкость как лабораторного определения биохимических компонентов желчи с использованием большого количества реактивов, так и математического подхода к вычислению ряда литогенных индексов с применением уравнений регрессии, компьютерных таблиц, три- и ректангулярных систем координат. Кроме того, проведение зондирования у детей связано с неприятными эмоциями и, вследствие этого, нередко со спазмом сфинктерного аппарата желчного пузыря и невозможностью получения пузырной или печеночной порций дуоденальной желчи.

В качестве прототипа может быть выбран способ диагностики желчно-каменной болезни у детей путем исследования сыворотки крови [4], в соответствии с которым определяют ее оптическую плотность, ацетилирующую способность, содержание холестерина и уровень в-липопротеидов в нем. При этом оптическая плотность сыворотки крови имеет отклонения от нормы лишь в клиническом периоде желчнокаменной болезни, в то время как тест ацетилирования помогает обнаружить функциональные сдвиги еще в доклиническом периоде заболевания. Содержание холестерина в сыворотке крови и уровень в-липопротеидов в ней в доклиническом периоде желчнокаменной болезни имеют лишь тенденцию к повышению по сравнению с таковыми у здоровых детей. И только у детей в клиническом периоде заболевания эти показатели имеют уровень более высокий, чем у здоровых детей.

К недостаткам прототипа следует отнести то, что этот способ также непригоден в качестве скрининг-теста, несмотря на неоспоримые достоинства – точность, информативность, специфичность. Данный способ многоступенчат, так как связан с необходимостью определения целого комплекса показателей сыворотки крови. Кроме того, он требует сложного лабораторного оборудования, дорогостоящих реактивов и больших временных затрат.

Известно также, что при некоторых патологических состояниях может изменяться способность сыворотки крови разлагать пероксид водорода радикальным путем. Эти различия легко зарегистрировать, измеряя

интенсивность свечения сыворотки крови методом люминолзависимой хемилюминесценции в присутствии пероксида водорода [5].

Указанная способность сыворотки крови может являться диагностическим тестом при некоторых заболеваниях, сопровождающихся изменением содержания активных свободных радикалов в тканях. Одним из таких заболеваний является холелитиаз.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования способа ранней диагностики желчнокаменной болезни у детей, в котором использованием хемилюминесцентного анализа сыворотки крови обеспечивается возможность определения желчнокаменной болезни в доклиническом периоде по одному параметру – интенсивности метаболического свечения, за счет чего ускоряется и упрощается процесс диагностики при обеспечении высокой точности.

Поставленная задача решается тем, что в способе ранней диагностики желчнокаменной болезни у детей путем исследования сыворотки крови, согласно изобретению, измеряют интенсивность метаболического свечения при хемилюминесценции, при этом по величине интенсивности в пределах 13000–24000 имп./с диагностируют доклинический период желчнокаменной болезни, а по интенсивности менее 13000 имп./с – клинический период заболевания.

Целесообразно для повышения точности измерения интенсивности метаболического свечения учитывать все время индуцированной хемилюминесценции с учетом фоновых показателей, что составляет 90 с, что позволяет учитывать не только общую хемилюминесценцию, но и собственно хемилюминесценцию (без "фона").

При холелитиазе продуцируется потенциально литогенная желчь, которая при концентрации и избирательной резорбции в желчном пузыре, становится еще более литогенной, что проявляется нарушением ее коллоидной стабильности. Коллоидная дестабилизация, в свою очередь, имеет связь с дисметаболическими процессами на уровне всего организма. При этом следует иметь в виду, что обменные нарушения в начальной фазе сопровождаются активацией свободно-радикального окисления (за счет преобладания действия неспецифических раздражителей и отсутствия выраженных морфологических изменений), а в дальнейшем уровень свободнорадикального окисления снижается, что характеризует ослабление биоэнергетических процессов в тенденции к их полной декомпенсации. Содержание активных свободных радикалов в тканях (в том числе и в

сыворотке крови) может быть зарегистрировано методом хемилюминесценции как сверхслабое метаболическое свечение. Проведенные клинические исследования позволили установить достоверное соответствие между величиной показателя интенсивности свечения сыворотки крови и степенью нарушения первичных физико-химических процессов в организме, связанных с литогенностью желчи.

Величина интенсивности метаболического свечения в пределах 13000–24000 имп./с свидетельствует о доклиническом периоде холелитиаза, а менее 13000 – о его клиническом периоде.

Заявленный способ осуществляется следующим образом.

Из локтевой вены детей брали 2 мл крови и центрифугировали при 3000 оборотах в течение 20 мин. Полученную сыворотку в количестве 0,2 мл помещали в кювету ФЭУ-39А, предварительно смешав с 0,01 мл люминола, 0,05 мл 3% пероксида водорода и 4 мл дистиллированной воды. Таким образом, люминол выступает в качестве активатора процесса окисления (активаторы, как известно, имеют повышенную способность к хемилюминесценции за счет более высокого квантового выхода). Пероксид водорода – инициатор хемилюминесценции, обладающий способностью к образованию пероксирадикала, скорость взаимодействия которого с кислородом выше, чем у других соединений. Условия исследования: транспортировать сыворотку крови в светонепроницаемом контейнере с теплоизоляцией, тщательное мытье лабораторной посуды, хранение в холодильнике при 8–12°C не более 2 сут. Максимальный срок хранения сыворотки до исследования вне холодильника (при комнатной температуре) 3 ч. Результат измерения получают в виде цифровых показателей, расположенных в пяти строках. В каждой из строк – по 3 показателя, то есть интенсивность свечения измеряется каждые 6 с (измерять ее чаще не позволяют технические характеристики прибора). Первая и пятая строки содержат фоновые показатели.

$S_1$  и  $S_5$  – светосуммы фоновых показателей

$S_{cp} = \frac{S_1 + S_5}{2}$  – средняя светосумма фона;

$S_2, S_3, S_4$  – светосуммы показателей общей хемилюминесценции;

$S_2', S_3', S_4'$  – светосуммы собственно хемилюминесценции;

$S_2' = S_2 - S_{cp}; S_3' = S_3 - S_{cp}; S_4' = S_4 - S_{cp}.$

$$\sigma = \frac{S_2' + S_3' + S_4'}{90} - \text{интенсивность метаболического свечения в единицу времени (имп./с).}$$

При получении величины интенсивности метаболического свечения в пределах 13000–24000 имп./с диагностируют доклинический период холелитиаза, при котором имеется тенденция желчи к камнеобразованию, а при интенсивности свечения менее 13000 имп./с – клинические стадии желчнокаменной болезни, которые характеризуются наличием образовавшихся конкрементов.

Пример 1. Больная А., 12 лет, поступила в детский гастроэнтерологический центр г. Харькова на обследование. Нигде ранее не лечилась. Считает себя больной в течение последних двух лет, когда впервые появились коликообразные болевые приступы (примерно 1 раз в 2–3 мес), купированные анальгетиками и холеспазмолитиками при пероральном введении. За полгода до настоящей госпитализации приступы участились до 1 раза в 3–4 недели, купируются только парентеральным введением анальгетиков и холеспазмолитиков. Кроме того, отмечались выраженные диспептические явления (тошнота и рвота съеденной пищей и желчью главным образом во время приступа, отрыжка воздухом и горечь во рту после приступа) и симптомы неспецифической хронической интоксикации (слабость, быстрая утомляемость, головные боли). Объективно: область правого подреберья интенсивно болезненна, резкоположительные пузырьные симптомы, печень +1,5+2,0 см ниже правой реберной дуги, нижний ее край плотноватый, малоподвижный, болезненный. Девочке был произведен хемилюминесцентный анализ сыворотки крови с результатом 12278 имп./с, что свидетельствует о наличии у ребенка клинического периода желчнокаменной болезни. При эхохолецистографии: стенки пузыря утолщены и уплотнены, в полости – обильное неоднородное застойное содержимое, "хлопья желчи" с единичными эхо-позитивными очагами кристаллизации, в области дна – образование повышенной акустической плотности 5х9 мм, дающее "акустическую дорожку", и плотный пристеночный осадок. Клинический анализ крови: лейкоциты  $12 \cdot 10^9/\text{л}$ , палочкоядерные 10%. СОЭ 30 мм/ч. Таким образом, наш способ подтвержден эхографическими данными. Клинический диагноз: "Желчнокаменная болезнь, 3 клиническая стадия (клинический период, хирургическая стадия). Хронический калькулезный холецистохолангит, пе-

риод обострения". Больная получала противовоспалительное лечение, после которого на фоне приема гепатопротекторов и витаминного комплекса ей была проведена хенотерапия. Через 6 месяцев произведен повторный хемилюминесцентный анализ сыворотки крови с результатом 16868 имп./с. Эхохолецистография подтвердила положительную динамику после хенотерапии: на месте образования вышеуказанных размеров определялось образование повышенной акустической плотности 2х6 мм с размытыми контурами, дающее акустическую тень, и обильный осадок, перемещающийся при перемене положения тела.

Пример 2. Больная С., 14 лет, поступила в отделение на обследование. Жалуеться на продолжительные, ноющие, интенсивные боли в области правого подреберья, усиливающиеся после пищевой погрешности. Выраженные диспептические явления и астено-вегетативный синдром. Объективно: общее состояние удовлетворительное; положительные пузырьные симптомы, печень 1,5 см ниже правой реберной дуги, нижний край ее закругленный, уплотненный, малоподвижный, слабоболезненный. Интенсивность метаболического свечения: 20200 имп./с, что укладывается в интервал

13000–24000 имп./с. Эхографически: стенки уплотнены и утолщены, обильное хлопвидное застойное содержимое с единичными эхо-позитивными очагами кристаллизации, плотный пристеночный осадок. Клинический диагноз: "Холелитиаз, доклинический период. Хронический холецистохолангит, период неполной клинической ремиссии." Девочке проведен 1 курс хенотерапии. При контрольном исследовании через 6 месяцев интенсивность свечения увеличилась до 28886 имп./с, что свидетельствует о тенденции к нормализации. Эхографически отмечается уменьшение количества гетерогенного содержимого и исчезновение очагов кристаллизации.

Предлагаемым способом обследовано 120 детей с билиарной патологией. Совпадение диагнозов имело место в 97% случаев. Данный способ применим в качестве скрининг-теста (длительность осуществления одного измерения с расчетами – 10–15 мин, а также на начальном этапе обследования для определения дальнейшей тактики применения лабораторно-инструментальных методов (эхографических, биохимических и пр.) и для контроля эффективности хенотерапии. Не требует предварительной подготовки, прост в реализации.

30

Упорядник

Техред М.Моргентал

Корректор М. Куль

Замовлення 4062

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул Гагаріна, 101