



(51) МПК  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*G01N 33/50* (2006.01)  
*A61B 10/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015148447, 10.11.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 10.11.2015

Дата регистрации:  
 26.05.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 10.11.2015

(45) Опубликовано: 26.05.2017 Бюл. № 15

Адрес для переписки:

660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка,  
 3Г, НИИ медицинских проблем Севера,  
 патентоведу

(72) Автор(ы):

Савченко Андрей Анатольевич (RU),  
 Борисов Александр Геннадьевич (RU),  
 Здзитовецкий Дмитрий Эдуардович (RU),  
 Гвоздев Иван Игоревич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
 научное учреждение "Федеральный  
 исследовательский центр "Красноярский  
 научный центр Сибирского отделения  
 Российской академии наук" (ФИЦ КНЦ СО  
 РАН) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: RU 2187809 C1, 20.08.2002 . RU  
 2158427 C2, 27.10.2000 . Савченко А.А.,  
 Черданцев Д.В., Первова О.В., Гвоздев И.И.,  
 Борисов А.Г., Шапкина В.А. Клиническое  
 состояние и хемилюминесцентная  
 активность нейтрофильных гранулоцитов  
 больных распространенным гнойным  
 перитонитом в динамике  
 послеоперационного периода //Бюллетень  
 сибирской медицины, 2014, том (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА У БОЛЬНЫХ  
 С РАСПРОСТРАНЕННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ

(57) Реферат:

Изобретение относится к диагностике, а  
 именно способу прогнозирования развития  
 абдоминального сепсиса у больных с  
 распространенным гнойным перитонитом.  
 Способ прогнозирования развития  
 абдоминального сепсиса у больных с  
 распространенным гнойным перитонитом (РГП),  
 заключающийся в том, что в течение первых  
 суток после постановки диагноза РГП с помощью  
 хемилюминесцентного анализа в крови больных

определяют индекс относительного синтеза  
 супероксид-радикала (ИОСС), представляющий  
 собой отношение площади под кривой  
 люминолзависимой хемилюминесценции к  
 площади под кривой люцигенинзависимой  
 хемилюминесценции, и при ИОСС выше 1,32  
 прогнозируют развитие абдоминального сепсиса.  
 Вышеописанный способ позволяет в ранний  
 период заболевания определить риск развития  
 абдоминального сепсиса. 1 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

13, N 6, с. 10-19. Савченко А.А. и др. Особенности цитокиновой регуляции респираторного взрыва  
 нейтрофилов крови в прогнозе развития абдоминального сепсиса у больных распространенным  
 гнойным перитонитом // Медицинская иммунология, 2016.-N 5.-С.475-482.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*G01N 33/50* (2006.01)  
*A61B 10/00* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2015148447, 10.11.2015**

(24) Effective date for property rights:  
**10.11.2015**

Registration date:  
**26.05.2017**

Priority:

(22) Date of filing: **10.11.2015**

(45) Date of publication: **26.05.2017** Bull. № 15

Mail address:

**660022, g. Krasnoyarsk, ul. Partizana Zheleznyaka,  
3G, NII meditsinskikh problem Severa, patentovedu**

(72) Inventor(s):

**Savchenko Andrej Anatolevich (RU),  
Borisov Aleksandr Gennadevich (RU),  
Zdzitovetskij Dmitrij Eduardovich (RU),  
Gvozdev Ivan Igorevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe  
nauchnoe uchrezhdenie "Federalnyj  
issledovatel'skij tsentr "Krasnoyarskij nauchnyj  
tsentr Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj akademii  
nauk" (FITS KNTS SO RAN) (RU)**

(54) **METHOD FOR ABDOMINAL SEPSIS DEVELOPMENT PREDICTION IN PATIENTS WITH ADVANCED PYOPERITONITIS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method for abdominal sepsis development prediction for patients with advanced pyoperitonitis (AP), including determination of relative superoxide radical synthesis index (RSSI) during the first 24 hours after AP diagnosis by means of chemiluminescence analysis in the patients blood; RSSI is the ratio of the area under the luminol-dependent

chemiluminescence curve to the area under the lucigenin-dependent chemiluminescence curve, and at RSSI above 1.32, development of abdominal sepsis is predicted.

EFFECT: method allows to determine the risk of abdominal sepsis development in the early period of the disease.

1 tbl, 4 ex

RU 2 620 560 C 1

RU 2 620 560 C 1

Изобретение относится к медицине, а именно к анестезиологии и реаниматологии, и может быть использовано для прогноза развития абдоминального сепсиса у больных с распространенным гнойным перитонитом (РГП).

РГП остается одной из нерешенных проблем медицины. В настоящее время летальность при этом грозном осложнении воспалительных заболеваний и травм органов брюшной полости удерживается на уровне 20-30%, повышаясь при развитии осложнений, наиболее частым из которых является абдоминальный сепсис [1, 2].

Таким образом, прогнозирование развития абдоминального сепсиса у больных РГП позволит снизить частоту его развития и, соответственно, летальность заболевания.

Известен способ прогнозирования неблагоприятного течения заболевания у больных с распространенным гнойным перитонитом и абдоминальным сепсисом путем исследования биологических сред [3]. У больных с первых суток послеоперационного периода и ежедневно исследуют содержание веществ средней и низкой молекулярной массы в плазме, эритроцитах и моче с расчетом индекса синдрома эндогенной интоксикации (ИСЭИ). ИСЭИ рассчитывается по отношению содержания веществ средней и низкой молекулярной массы в эритроцитах и плазме крови к содержанию веществ средней и низкой молекулярной массы в моче. При значениях ИСЭИ более 4,5 прогнозируют неблагоприятное течение заболевания. Недостатком известного способа является то, что неблагоприятное течение РГП прогнозируется уже при наличии абдоминального сепсиса.

Наиболее близким аналогом является способ прогнозирования течения абдоминального сепсиса у больных с распространенным перитонитом [4]. Способ заключается в том, что у больных ежедневно в течение трех суток, начиная с первых суток после оперативного вмешательства, определяют в крови активность фактора Виллебранда как маркера повреждения эндотелия, и при его повышении более 140% прогнозируют неблагоприятное развитие абдоминального сепсиса. Недостатком способа является то, что характер течения сепсиса у больных с перитонитом прогнозируют уже при развитии сепсиса. Кроме того, сам прогноз осуществляется с помощью лабораторных данных, полученных в течение трех суток, что, в связи с быстрым течением острого перитонита, является слишком долгим.

Задачей изобретения является разработка информативного способа раннего прогноза развития абдоминального сепсиса у больных с распространенным гнойным перитонитом.

Поставленная задача достигается тем, что в крови больных с распространенным гнойным перитонитом в течение первых суток после постановки диагноза РГП с помощью хемилюминесцентного анализа определяют индекс относительного синтеза супероксид-радикала (ИОСС), представляющий собой отношение площади под кривой люминолзависимой хемилюминесценции к площади под кривой люцигенинзависимой хемилюминесценции. При ИОСС выше 1,32 прогнозируют развитие абдоминального сепсиса.

Значение 1,32 получено опытным путем на основании сопоставления значений рассчитываемого ИОСС и данных последующего наблюдения за клиническим состоянием больных РГП. Значение ИОСС выше 1,32 свидетельствует о низком уровне синтеза супероксидрадикала НАДФН-оксидазой, превалировании синтеза вторичных активных форм кислорода и, соответственно, снижении бактерицидной активности нейтрофильных гранулоцитов.

Нейтрофильные гранулоциты представляют собой высокореактивное звено в иммунной системе. Они первыми мобилизуются в очаг воспаления, от их фагоцитарной

активности во многом зависит эффективность противомикробной защиты организма [5, 6]. Воспринимая многочисленные сигналы о дестабилизации внутренней среды, нейтрофилы модулируют свои функции, нацеленные на ее восстановление.

Активированные нейтрофилы сами становятся мощными эффекторами пусковых и регуляторных механизмов каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Это связано с тем, что нейтрофильные гранулоциты способны не только в качестве эффекторов продуцировать цитотоксические молекулы, но и как регуляторные клетки синтезировать широкий спектр различных цитокинов [7]. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов характеризует состояние "респираторного взрыва", который развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза [8]. "Респираторный взрыв" относится к серии метаболических процессов, активность которых изменяется при стимуляции нейтрофилов: увеличение потребления кислорода и усиление окисления глюкозы в пентозофосфатном цикле. В качестве индикаторов хемилюминесцентной реакции наиболее часто используют люцигенин и люминол. Люцигенин окисляется и люминесцирует только под влиянием супероксидрадикала, который определяется как первичная активная форма кислорода и синтезируется в системе НАДФН-оксидазы [5, 8]. Люминол способен вступать в хемилюминесцентную реакцию и с первичными, и с вторичными активными формами кислорода. Площадь под кривой хемилюминесценции отражает всю сумму активных форм кислорода, которые синтезируются за время регистрации. Следовательно, отношение площади под кривой люцигенинзависимой хемилюминесценции к площади под кривой люминолзависимой хемилюминесценции позволяет определить относительный уровень синтеза первичных форм кислорода в системе НАДФН-оксидазы нейтрофильных гранулоцитов и, в целом, характеризует их бактерицидную активность. Способ осуществляется следующим образом.

У больных в первые сутки после постановки диагноза РГП забирают венозную кровь в количестве 2 мл из локтевой вены свободным током в пробирки с гепарином. Нейтрофильные гранулоциты выделяют из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина:  $\rho=1,077 \text{ г/см}^3$  - для отделения лимфоцитов,  $\rho=1,119 \text{ г/см}^3$  - для выделения нейтрофилов. Реакционная смесь для хемилюминесцентной реакции состоит из 20 мкл донорской сыворотки АВ(IV)Rh(-), 50 мкл люцигенина для определения интенсивности синтеза супероксид радикала или 50 мкл люминола для определения интенсивности суммарного синтеза активных форм кислорода ("Sigma", США) в концентрации  $10^{-5} \text{ М}$ , 200 мкл взвеси нейтрофилов (2 млн/мл) и 240 мкл раствора Хэнкса ("ПанЭко", Россия). Оценку хемилюминесцентной активности нейтрофилов осуществляют в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе "CL3606" (СКТБ "Наука", Красноярск) и определяют площадь под кривой (S) хемилюминесценции, характеризующую суммарный синтез активных форм кислорода за 90 минут исследования. Затем рассчитывают ИОСС по формуле:

$$\text{ИОСС} = S_{\text{люм.}} / S_{\text{люц.}}$$

где  $S_{\text{люм.}}$  - площадь под кривой люминолзависимой хемилюминесценции,

$S_{\text{люц.}}$  - площадь под кривой люцигенинзависимой хемилюминесценции.

При ИОСС выше 1,32 прогнозируют развитие абдоминального сепсиса у больных с РГП, при ИОСС равном или ниже 1,32 прогнозируют отсутствие развития абдоминального сепсиса.

Данный способ апробирован на 40 больных с РГП. Результаты обследования

представлены в таблице 1.

Таблица 1

Прогноз развития абдоминального сепсиса у больных с РГП по значению  
ИОСС

	ИОСС		
	Не будет абдоминального сепсиса n=10	Будет абдоминальный сепсис n=30	p
Медиана	0,73	3,90	0,009
Минимальное значение	0,21	1,33	
Максимальное значение	1,32	25,42	

По результатам обследования по заявленному способу установлено, что из 40 больных РГП у 10 (25%) прогнозируется отсутствие развития абдоминального сепсиса. У этих больных величина ИОСС составила 0,21-1,32. У 30 (75%) больных РГП прогнозировалось развитие абдоминального сепсиса. У этих больных величина ИОСС составила 1,33-25,42. Таким образом, отмечено 100% совпадение прогноза.

Примеры реализации предлагаемого способа

Пример 1. Больная Д., 31 год (история болезни №16404), доставлена скорой помощью в МБУЗ ГКБСМП им. Н.С. Карповича г. Красноярска с клиникой перитонита. Из анамнеза известно, что болеет в течение 2 дней. При поступлении имеется 4 признака синдрома системной воспалительной реакции (ССВР), проявлений полиорганной недостаточности (ПОН) нет. Поставлен диагноз распространенного гнойного перитонита.

Проведено исследование заявленным способом. С помощью хемилюминесцентного анализа установлено, что Слюм.= $3,54 \times 10^6$  о.е.хсек., Слюц.= $1,03 \times 10^6$  о.е.хсек., соответственно ИОСС=3,44 (выше 1,32), что дает основание прогнозировать развитие у больной абдоминального сепсиса.

Больная в экстренном порядке оперирована. На операции выявлена перфорация подвздошной кишки инородным телом, распространенный гнойный перитонит. Произведено удаление инородного тела, ушивание перфорации подвздошной кишки, санация, дренирование брюшной полости. В послеоперационном периоде проводилась инфузионная, антибактериальная, симптоматическая терапия, перевязки. Несмотря на проводимую терапию развилась полиорганная недостаточность, течение заболевания осложнилось абдоминальным сепсисом. Послеоперационный период на 7-е сутки осложнился перфорацией острой язвы тощей кишки, распространенным гнойным перитонитом, по поводу чего производилась релапаротомия по требованию и санационные релапаротомии. На 23-и сутки госпитализации констатирована смерть.

Пример 2. Больная И., 41 год (история болезни №10504), доставлена скорой помощью в МБУЗ ГКБСМП им. Н.С. Карповича г. Красноярска с клиникой перфорации полого органа, перитонита. Сопутствующий диагноз: ХИБС, гипертоническая болезнь. Из анамнеза известно, что болеет в течение 72 часов. При поступлении имеется 3 признака ССВР, проявлений ПОН нет. Поставлен диагноз распространенного гнойного перитонита

Проведено исследование заявленным способом. С помощью хемилюминесцентного анализа установлено, что Слюм.= $6,5 \times 10^6$  о.е.хсек., Слюц.= $0,98 \times 10^6$  о.е.хсек., соответственно ИОСС=6,63 (выше 1,32): прогнозируется развитие абдоминального сепсиса.

Больная в экстренном порядке оперирована. На операции выявлена перфоративная язва луковицы ДПК, распространенный гнойный перитонит. Произведено ушивание перфоративной язвы, санация, дренирование брюшной полости. На 2-е, 4-е сутки после первичной операции произведены программированные санации брюшной полости. В послеоперационном периоде проводилась инфузионная, антибактериальная, симптоматическая терапия, перевязки. Несмотря на проводимую терапию развилась полиорганная недостаточность, течение заболевания осложнилось абдоминальным сепсисом. К 23-м суткам проявления ПОН купированы. На 34-е сутки больная выписана на амбулаторное лечение у хирурга по месту жительства.

Пример 3. Больная А., 61 год (история болезни №27760), доставлена скорой помощью в МБУЗ ГКБСМП им. Н.С. Карповича г. Красноярска с клиникой перитонита. Из анамнеза известно, что болеет в течение 96 часов. Сопутствующий диагноз: ХИБС, бронхиальная астма. Имеется три признака ССВР. Признаков органной дисфункции при поступлении нет. Поставлен диагноз распространенного гнойного перитонита

Проведено исследование заявленным способом. С помощью хемилюминесцентного анализа установлено, что Слюм.= $1,9 \times 10^6$  о.е.хсек., Слюц.= $2,1 \times 10^6$  о.е.хсек., соответственно ИОСС=0,90 (ниже 1,32): прогнозируется отсутствие развития абдоминального сепсиса.

Больная оперирована в экстренном порядке. На операции выявлен гангренозно-перфоративный аппендицит, распространенный гнойный перитонит. Произведена аппендэктомия, санация, дренирование брюшной полости. Через 48 и 96 часов проводились программированные санации брюшной полости. В послеоперационном периоде в течение 5 дней проводилась инфузионная, антибактериальная, симптоматическая терапия, перевязки. Проявлений органной недостаточности в послеоперационном периоде не было. К 7 суткам ССВР купирован. Послеоперационный период без осложнений. Больная выписана на 27-е сутки в удовлетворительном состоянии на амбулаторное лечение у хирурга по месту жительства.

Пример 4. Больная Б., 59 лет (история болезни №30504), доставлена скорой помощью в МБУЗ ГКБСМП им. Н.С. Карповича г. Красноярска с клиникой перфорации полого органа, перитонита. Сопутствующий диагноз: ХИБС, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, 2 тип. Из анамнеза известно, что болеет в течение 3 дней. При поступлении имеется 4 признака ССВР, проявлений ПОН нет. Поставлен диагноз распространенного гнойного перитонита.

Проведено исследование заявленным способом. С помощью хемилюминесцентного анализа установлено, что Слюм.= $1,2 \times 10^6$  о.е.хсек., Слюц.= $1,85 \times 10^6$  о.е.хсек., соответственно ИОСС=0,65 (ниже 1,32): прогнозируется отсутствие развития абдоминального сепсиса.

Больная в экстренном порядке оперирована. На операции выявлена перфорация подвздошной кишки, распространенный гнойный перитонит. Произведено ушивание перфорации, санация, дренирование брюшной полости. Через 48 часов произведена программированная санация брюшной полости. В послеоперационном периоде в течение 4 суток проводилась инфузионная, антибактериальная, симптоматическая терапия, перевязки. Затем продолжена консервативная терапия. ССВР полностью купирован к 10 суткам послеоперационного периода. Больная выписана на 21-е сутки в удовлетворительном состоянии на амбулаторное лечение у хирурга по месту жительства.

10 Технический результат от реализации предлагаемого способа:

- возможность раннего прогноза развития абдоминального сепсиса при РГП (в течение 1 суток после постановки диагноза);

- инвазивное вмешательство ограничено однократным забором из вены малого объема крови (2 мл);

15 - высокий уровень достоверности прогноза - 100%;

- возможность своевременной профилактики развития абдоминального сепсиса у больных РГП.

Таким образом, способ информативен, отвечает современным требованиям к методам лабораторной диагностики, позволяет своевременно определить развитие абдоминального сепсиса у больных РГП и может быть рекомендован для применения в клинической практике.

Источники информации

1. Изимбергенов Н.И., Койшибаев А.С, Изимбергенова Г.Н., Каримова Б.Ж., Иманбаев К.С, Садуов М.А., Мухамедгалиева Б.М. Малоинвазивная хирургия распространенного перитонита, осложненного абдоминальным сепсисом // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2014. - Т. 173, №2. - С. 42-46.

2. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г. Иммунометаболические нарушения при распространенном гнойном перитоните. - Новосибирск: Наука, 2013. - 142 с.

3. Патент РФ №2236006. Способ прогнозирования неблагоприятного течения заболевания у больных с распространенным перитонитом и абдоминальным сепсисом / Шукевич Л.Е., Чурляев Ю.А., Григорьев Е.В., Шукевич Д.Л. Оpubл. 10.09.2004.

4. Патент РФ №2187809. Способ прогнозирования течения абдоминального сепсиса / Чурляев Ю.А., Григорьев Е.В., Рейник В.Я. Оpubл. 20.08.2002.

5. Савченко А.А., Борисов А.Г. Основы клинической иммунометабомики. Новосибирск: Наука, 2012. 263 с.

6. Wright H.L., Moots R.J., Bucknall R.C., Edwards S.W. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases // Rheumatology (Oxford). 2010. V. 49. №9. P. 1618-1631.

7. Куртасова Л.М., Савченко А.А., Шкапова Е.А. Клинические аспекты функциональных нарушений нейтрофильных гранулоцитов при онкопатологии. Новосибирск: Наука, 2009. 184 с.

8. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. 2009. №49. С. 341-388.

(57) Формула изобретения

45 Способ прогнозирования развития абдоминального сепсиса у больных с распространенным гнойным перитонитом (РГП), включающий исследование крови, отличающийся тем, что в течение первых суток после постановки диагноза РГП с помощью хемилюминесцентного анализа в крови больных определяют индекс

относительного синтеза супероксидрадикала (ИОСС), представляющий собой отношение площади под кривой люминолзависимой хемилюминесценции к площади под кривой люцигенинзависимой хемилюминесценции, и при ИОСС выше 1,32 прогнозируют развитие абдоминального сепсиса.

5

10

15

20

25

30

35

40

45