



УКРАЇНА

(19) UA (11) 3353 (13) U
(51) 7 G01N33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ І МОНІТОРИНГУ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

1

2

(21) 2004010568

(22) 26.01.2004

(24) 15.11.2004

(46) 15.11.2004, Бюл. № 11, 2004 р.

(72) Незгода Ірина Іванівна, Дизик Галина Михайлівна, Онофрійчук Олена Сергіївна, Незгода Олександр Петрович, Незгода Оксана Олександрівна

(73) ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І.ПИРОГОВА

(57) Спосіб визначення і моніторингу ендогенної інтоксикації, що включає визначення ступеня ендогенної інтоксикації за концентрацією олігопептидів середньомолекулярної маси, який відрізняється тим, що визначають частку токсичних ароматичних амінокислот в ротовій рідині, а при необхідності врахування концентрації середньомолекулярних пептидів у сироватці крові перемножують показники на коефіцієнт 0,5.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема до клініко-лабораторних досліджень, і ставить за мету встановлення та динамічне спостереження ендогенної інтоксикації.

Явище інтоксикації, обумовлене дискоординацією метаболічних процесів, має місце за патології різного генезу: інфекційного (вірусного, бактеріального, мікоплазмівного, паразитарного), травматичного, генетичного, а також патології викликаной побічною дією медикаментів. Клінічно воно проявляється симптомокомплексом, притаманним кожній нозології. (Л.Л. Громашевская. "Средние молекулы" как один из показателей "метаболической" интоксикации в организме // Лабораторная диагностика. - 1997. - №1. - с. 11-16.)

Пропонується метод визначення і моніторингу ендогенної інтоксикації шляхом детекції молекул середньої маси в біологічних рідинах тіла.

Прототипом технічного рівня, що пропонується, є спосіб визначення рівня середньо молекулярних пептидів в сироватці крові (В.І. Грищенко, Є.А. Сіліна, С.Ф. Стафурін, О.В. Усачова, О.В. Конакова, Т.М. Пахольчук. "Лабораторні критерії тяжкості перебігу кишкового токсикозу і його критерії прогнозу у дітей, хворих на гострі кишкові інфекції". Запорізький державний медичний університет. Інформаційний лист №111 - 2001р.). Недоліком даного способу є те, що взяття крові має ряд обмежень і протипоказів в теперішній час, коли спостерігається ріст випадків інфікування СНІДом та іншими захворюваннями, поширюється наркоманія, коли на перебіг інфекційного процесу значно впливають соціально-демографічні фактори.

В основу корисної моделі "Спосіб визначення і моніторингу ендогенної інтоксикації" поставлене завдання розробити інформативний спосіб визначення ступеня ендотоксикозу за рівнем олігопептидів середньомолекулярної маси в ротовій рідині.

Поставлене завдання досягається способом, що передбачає визначення ступеня ендогенної інтоксикації за концентрацією олігопептидів середньомолекулярної маси, згідно з винаходом, який відрізняється тим, що визначають частку токсичних ароматичних амінокислот в ротовій рідині, а при необхідності врахування концентрації середньомолекулярних пептидів в сироватці крові, перемножують показники на коефіцієнт 0,5.

Спосіб здійснюється таким чином:

Ротову рідину попередньо звільняють від високомолекулярних білкових продуктів за допомогою 10% розчину трихлороцетової кислоти.

Отриманий кислотний елюат представляє собою грубу або неочищену фракцію середніх молекул. В склад фракції поряд із сполуками середньої молекулярної маси, входять і інші сполуки, наявність яких в силу використаного метода детекції не впливає на значення отриманих результатів. Кількісна оцінка рівня середніх молекул проводиться шляхом детекції в ультрафіолеті при довжині хвилі 254 та 280нм.

Реактиви:

а) 10% розчин трихлороцетової кислоти. Він готується з 50% розчину і зберігається в темному посуді при 4-10°C; б) дистильована вода.

Спеціальні прилади: Спектрофотометр, кварцеві кювети з довжиною світлового променя в 1см. Хід визначення:

(13) U

(11) 3353

(19) UA

а) ротову рідину центрифугують на протязі 10хв. при 3000об/хв.;

б) до 1,0 (0,5)мл освітленого субстрату додають по 0,5 (0,25)мл 10% розчину трихлороцетової кислоти. Реакцію проводять в центрифужних або в малих хімічних пробірках;

в) після попереднього перемішування центрифугують при 3000об/хв. на протязі 30хв.;

г) отриманий надосад в кількості 0,5мл переносять в пробірку, що містить 4,5мл дистильованої води рідину перемішують.; д) спектрофотометрію розчину проводять при 254 та 280нм проти дистильованої води.

В якості контролю роботи прилада використовують визначення величини оптичної густини при 254 та 280нм 10% розчин віт. В₁₂ (ампула 1мл містить 200гамм). При інших аналогічних умовах значення екстенсії складає 0,240±0,02 од. Відповідь про значення рівня СМ визначається в одиницях численно рівних коефіцієнтам екстенсії при довжині світлового променя в 1см при іншій довжині кювети, отримані показники діляться на довжину кювети і виражаються в сантиметрах.

Проведено дослідження 25 хворих на гострі кишкові інфекції та десеїнований туберкульоз. Контрольну групу склали 12 дітей та 17 дорослих. Як видно із даних таблиці 1, в нормі у здорових осіб у ротовій рідині концентрація СМ₂₈₀ завжди менша, ніж СМ₂₅₄ і становить близько 80% останньої. У хворих з легкими формами захворювань або в стані реконвалесценції спостерігається аналогічна картина.

Навпаки, при важкому перебігу патологічного процесу (наприклад, септичній формі сальмонельозу з ускладненнями, дисеїнованому туберкульозу) з клінічними явищами ендотоксикозу значно підвищується концентрація фракції з нуклеїновими кислотами СМ₂₅₄ і результативний коефіцієнт ділення стає меншим пропорційно тяжкості інтоксикації.

До цього часу в літературі не наведено норми і діапазон коливань вмісту СМ в ротовій рідині, і через це неможливо використовувати даний показник в діагностичному процесі.

Нами розроблено такі норми на матеріалі здорових осіб і хворих з різним ступенем інтоксикації (Табл. 1). Встановлено, що у здорових осіб концентрація середньомолекулярних пептидів в ротовій рідині становить в середньому 0,360±0,093у.о. (діапазон коливань: 0,282-0,460у.о.) при довжині хвилі 254нм і 0,281±0,092у.о. при довжині хвилі 280нм (діапазон коливань: 0,260-0,410).

Приклад 1

Хворий С., 10 міс. Діагноз: Сальмонельоз (S. typhimurium б/в "а"), інтестинальна форма, тяжкий перебіг. Токсико-ексикоз III ст. соледифіцитний тип дегідратації. Парез кишечника I ст. Залізодефіцитна анемія I ст.

При поступленні стан дитини тяжкий, відмічається висока температура тіла до 39°C, в'ялість, блідість шкірних покривів з "мармуровим" малюнком, різко знижений тургор тканин, очні яблука "запавші", велике тім'ячко нижче кісток черепа, слизові оболонки сухі, стілець зеленого кольору з патологічними домішками (кров, слиз), частота

випорожнень сягає 5 разів на добу, діурез зменшений. Лейкоцитоз 6,7 x 10⁹/л, індекс інтоксикації за Каль-Каліфом 1,7, при N-1,2, що не в повній мірі відображає ступінь ендотоксикозу. При цьому рівень СМ_П в слині при довжині хвилі 254нм складає 0,75, а при довжині 280нм - 0,510, коефіцієнт 0,68.

Хворому призначено лікування: ніфуроксазид, інфузійна терапія з метою дезінтоксикації, мезіморте, бактисуптил, зілак.

Друге обстеження проведене через три доби.

В зв'язку із тяжкістю стану проведена корекція лікування: відмінений ніфуроксазид і призначений цефтриаксон, норфлоксацин. Продовжена інфузійна терапія, біопрепарати, ферменти. Лейкоцитоз 10,8 x 10⁹/л, індекс інтоксикації за Каль-Каліфом 1,6, СМ_{П254} - 0,734, СМ_{П280} - 0,514, коефіцієнт 0,70.

Третє обстеження проведене через 6 дб після початку захворювання.

Стан дитини залишається тяжким, але має місце тенденція до покращення стану: менш виражені симптоми інтоксикації, ознаки ексикозу зменшились, частота випорожнень 3 рази на добу. Продовжується призначене лікування. Лейкоцитоз 6,6 x 10⁹/л, лейкоцитарний індекс інтоксикації 1,03, СМ_{П254} - 0,624, СМ_{П280} - 0,449, коефіцієнт 0,72.

При виписці, на 11 день від початку захворювання, стан розцінений як задовільний: ознаки токсико-ексикозу відсутні, стілець двічі на добу без патологічних домішок. Лейкоцитоз 5,6 x 10⁹, лейкоцитарний індекс інтоксикації 1,04, СМ_{П254} - 0,504, СМ_{П280} - 0,393, коефіцієнт 0,78.

Приклад 2

Хворий Ч., 53р., діагноз: Десеїнований туберкульоз легень у фазі інфільтрації та розпаду. МБТ (+). ДН II ст.

При поступленні до стаціонару стан розцінений як тяжкий. Температура тіла 38,5°C, сухий малопродуктивний кашель, дихання виражене як в стані спокою так і при фізичному навантаженні. Хворий скаржиться на швидку втомлюваність, головний біль, погіршення сну та апетиту, виражену пітливість, особливо вночі, зниження маси тіла (на 3,5кг за 2 місяці). При об'єктивному дослідженні підшкірно-жирова клітковина не виражена, пальпуються лімфатичні вузли ший, білягрудинні, підпахвинні розмірами від 1 до 1,5см в діаметрі більше справа, в акті дихання приймає участь допоміжна мускулатура. При перкусії відмічається притуплення перкуторного звуку у верхніх і середніх відділах з обох сторін, в нижніх - коробочний. Аускультативно вислуховується ослаблене дихання в місцях вкорочення та жорстке на всьому протязі, а також вологі мілкопухирцеві хрипи в легенях. Рентгенологічно на фоні тяжкості визначаються з обох сторін, більше справа, у верхній долі вогнища зливного характеру, контури яких нечіткі. Мають місце зони розпаду розмірами 1,5-2см. Лейкоцитоз - 9,7 x 10⁹/л, лейкоцитарний індекс інтоксикації за Каль-Каліфом 0,73, рівень СМ_П при довжині хвилі 254нм - 0,850, СМ_{П280} - 0,510, коефіцієнт - 0,60.

Хворому призначено лікування: ізоніазид 0,6г/добу, рифампіцин 0,6г/добу, піразінамід 1,5г/добу, етамбутол 1,2г/добу, вітаміни групи В,

гепатопротектори (карсіл), дезінтоксикаційна терапія.

Через 2 тижні стан хворого середнього ступеню тяжкості. Значно зменшилась ядуха, став активнішим, покращився апетит, відмічається субфебрилітет. Лейкоцитоз - $7,7 \times 10^7/\text{л}$, лейкоцитарний індекс інтоксикації за Каль-Каліфом 0,58, рівень СМП₂₅₄ - 0,690, СМП₂₈₀ - 0,469, коефіцієнт - 0,68.

Через 1 місяць стан хворого задовільний. Пред'являє скарги на кашель з виділенням харко-

тиння, ядуха зберігається при ходьбі, але хворий добре переносить підйом на 2-3 поверх. Прибавив в масі 3кг. Лейкоцитоз $-6,7 \times 10^9/\text{л}$, ЛИ - 1,53, рівень СМП₂₅₄ - 0,408, СМП₂₈₀ - 0,326, коефіцієнт - 0,8.

Таким чином, проведені дослідження показали можливість використання ротової рідини, як головного субстрату для визначення ступеня ендогенної інтоксикації у хворих в порівнянні з таким біологічним середовищем як кров.

Таблиця 1

Порівняльний аналіз показників тяжкості евідотоксикозу.

| № п/п | Клінічний діагноз і тяжкість перебігу | Вік, n | Лейк. | Індекс інтоксикації за Каль-Каліф | T° тіла max | Провідний клінічний симптом евідотоксикозу | Нейтроф. зсув вліво | СМП ₂₅₄ (ротова рідина) | СМП ₂₈₀ (ротова рідина) | Частка ароматичних амінокислот (пептидний факт сираватки) |
|-------|---|----------------|----------|-----------------------------------|-------------|---|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|
| 1. | Сальмонельоз, гастроінтестинальна форма, тяжкий перебіг | 1-3р., n=3 | 8,5±4,1 | 2,6±0,02 | 38,5 | в'ялість, блідість, "мармуровість" шкірних покривів, блювання, підвищення T° тіла, рідкий стілець | 9±4 | 0,750±0,29 | 0,488±0,43 | 0,65 |
| 2. | Сальмонельоз, інтестинальна форма, середньотяжкий перебіг | Зміс.-2р., n=4 | 7,4±1,17 | 1,7±0,08 | 37,9 | ті ж самі | 4±2 | 0,682±0,37 | 0,477±0,31 | 0,7 |
| 3. | Сальмонельоз, інтестинальна форма, легкий перебіг | 6-7р, n=5 | 6,6±2,7 | 1,5±0,04 | 37,4 | ті ж самі | 3±0,9 | 0,506±0,012 | 0,394±0,01 | 0,77 |
| 4. | Дизентерія Флекснера, тяжкий перебіг | 7-9р., n=5 | 9,8±2,7 | 2,0±0,06 | 37,6 | ті ж самі | 12,5±5 | 0,745±0,021 | 0,506±0,03 | 0,67 |
| 5. | Десемінований туберкульоз легень в стадії інфільтрації | 19-31р., n=8 | 12,3±3,1 | 5,3±0,4 | 38,3 | Субфебрильна температура, втомлюваність, втрата маси тіла, пітливість вночі | 14,1±6,2 | 0,844±0,415 | 0,565±0,07 | 0,67 |
| 6. | Здорові діти | 1-9р., n=12 | 4,9±0,76 | 1,2±0,04 | 36,6 | Не виражені | 3,0±1,9 | 0,367±0,02 | 0,294±0,012 | 0,8 |
| 7. | Донори крові | 23-43р., n=17 | 5,7±0,73 | 1,5±0,06 | 36,6 | Не виражені | 3,7±1,3 | 0,411±0,03 | 0,378±0,029 | 92,0 |