



УКРАЇНА

(19) UA (11) 19215 (13) U
(51) МПК (2006)
A61B 5/145

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТАНУ АДАПТАЦІЇ

1

2

(21) u200605169

(22) 11.05.2006

(24) 15.12.2006

(46) 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

(72) Колбасіна Людмила Павлівна

(73) Колбасіна Людмила Павлівна

(57) Спосіб оцінки стану адаптації, який включає дослідження крові, який відрізняється тим, що використовують периферичну кров, в якій визна-

чають показники ферментативної активності нейтрофілів – сукцинатдегідрогеназу (СДГ) і лактатдегідрогеназу (ЛДГ), і при значеннях $1,88 \pm 0,10$ ум. од. і $2,26 \pm 0,14$ ум. од. відповідно судять про нормально виражений процес адаптації, при відхиленні від значень показників в бік зростання для ЛДГ - більше 13,7% і зниження для СДГ більше 15,9% судять про можливість розвитку процесів дизадаптації.

Корисна модель відноситься до області медицини, а саме до педіатрії і може бути використана в санаторно-курортній практиці для оцінки стану адаптації у часто і тривало хворіючих дітей.

В якості прототипу обрано спосіб оцінки стану адаптації [Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. «Адаптационные реакции и резистентность организма». - Ростов-на-Дону: Издательство Ростовского университета, 1990. - 223 с.], який включає дослідження крові, і за отриманими результатами використання лейкоцитарної формули для визначення стану адаптаційних процесів.

Ознаками, які співпадають із суттєвими ознаками запропонованого способу, є: дослідження крові.

Причинами, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату (підвищення ефективності санаторно-курортного лікування, зниження напруги адаптаційних процесів), є: застосування лейкоцитарної формули у тривало і часто хворіючих дітей не дозволяє ефективно оцінити перебіг адаптації, оскільки є напівкількісним методом і має малу інформативність.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу оцінки стану адаптації шляхом визначення цитохімічної активності нейтрофілів периферичної крові, що дозволить досягнути очікуваний технічний результат.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі оцінки стану адаптації, який включає дослідження крові, згідно корисної моделі, використовують периферичну кров, в якій визначають показники ферментативної активності нейтрофілів -

сукцинатдегідрогеназу і лактатдегідрогеназу, і при значеннях $1,88 \pm 0,10$ ум. од. і $2,26 \pm 0,14$ ум. од. відповідно судять про нормально виражений процес адаптації, при відхиленні від значень показників в бік зростання для ЛДГ - більш 13,7% і зниження для СДГ більше 15,9% судять про можливість розвитку процесів дизадаптації.

Сукцинатдегідрогеназа і лактатдегідрогеназа відносяться до числа найважливіших клітинних ферментів, що беруть участь в процесі гліколізу. Значення сукцинатдегідрогенази - СДГ і лактатдегідрогенази - ЛДГ, розглядають як неспецифічний показник пошкодження клітин. СДГ міцно пов'язана із внутрішньої мітохондріальною мембраною клітин і каталізують реакцію, при якій янтарна кислота - сукцинат дегідратується в фумарову кислоту - фумарат. ЛДГ знаходиться в цитозолі клітини і в анаеробних умовах каталізує оборотну реакцію відновлення піровиноградної кислоти - пируват в молочну - лактат, що є кінцевим продуктом гліколізу.

При патологічних станах, дані ферменти із клітин вимиваються в кров і їх активність при цьому різко зростає, вони є індикаторами ступеня і глибини пошкодження.

Дегідрогенази - ферменти, які відщеплюють водень від відповідного субстрата і переносять його на акцептор. Цей механізм дії використовують в цитохімічних методах, при яких в систему вводять індикатор, що беруть на себе водень. Індикатор при цьому повинен мати забарвлення і випадати в осад. Для цього найбільш часто застосовують водорозчинні солі тетразолію - неотетразоліохлорид

(19) UA (11) 19215 (13) U

- НТ, синій тетразолій - СТ, нітротетразолій синій - НСТ, які під дією відновлюючих речовин перетворюються у водорозчинний забарвлений формаза, який дозволяє установити внутрішньоклітинну локалізацію дегідрогеназ під світловим мікроскопом.

Клітини крові поміщають в середовище, що містить субстрат, кофермент, інгібітор ферментів, барвник, у вказаному середовищі клітини крові інкубують впродовж 45-60 хвилин при температурі 37°C. Єдиний фермент СДГ із визначаємих гістохімію не вимагає кофермента, оскільки продукт фурамат, що утворюється, не гальмує реакцію, тому не потрібно вводити будь-який агент, що зв'язує його.

Спосіб здійснюють наступним чином.

При надходженні дітей на санаторно-курортний етап лікування проводять обстеження. Здійснюють забір крові і досліджують цитохімічні показники в нейтрофілах периферичної крові, далі їх аналізують.

Для визначення активності дегідрогеназ в нейтрофілах крові, мазки клітин гепаринизованої крові роблять після обробки відповідними реактивами через годину після інкубації.

В якості індикатора ферментного процесу використовують нітротетразолій синій - НСТ, що утворюється при відновленні в клітині дрібні гранули формаза і забарвлюють цитоплазму від димчастосірого до насиченого синього кольору. Використовують тонкі нативні мазки крові, висушені на повітрі, які після відповідної обробки інкубують протягом 45хв. при температурі 37°C. Ядра клітин дофарбовують розчином метилового зеленого. Висушені мазки мікроскопують з іммерсійним об'єктивом на мікроскопі МБІ-15. Приготовлені розчини реактивів у відповідних концентраціях і об'ємах наносять на мазок в наступній послідовності.

Для визначення активності ЛДГ застосовують розчини: ціаніду натрію, лактату натрію, НСТ, гемодез, нікотинамідаденіндинуклеатиду - НАД, причому останній готують безпосередньо перед застосуванням. Відкладення гранул формаза спостерігають в місцях локалізації ЛДГ. Інтенсивність забарвлення варіює від димчато-сірого до інтенсивного синього кольору. Ядра клітин хорошо контуріровані.

Для визначення активності СДГ використовують розчини: НСТ, сукцинату натрію, фосфатного буфера. Відмічають чітку локалізацію гранул формаза. Про активність СДГ судять за інтенсивністю відкладення гранул формаза.

Для оцінки активності ферментів в клітинах крові обчислюють середній цитохімічний показник - СЦП за формулою:

$$\text{СЦП} = \frac{(x_1 \times 1) + (x_2 \times 2) + (x_3 \times 3) + (x_4 \times 4)}{100}$$

де x - кількість клітин із 100 проглянутих нейтрофілів в одному мазку з певним ступенем активності фермента;

1, 2, 3, 4 - ступінь активності;

100 - число проглянутих нейтрофілів в одному мазку.

Виділяють чотири ступені активності: 4-й ступінь - повна активність, оскільки нейтрофіл повністю вкритий гранулами формаза; 3-й ступінь - $\frac{3}{4}$ активності; 2-й ступінь - $\frac{1}{2}$ активності і 1-й ступінь - $\frac{1}{4}$ активності.

Визначають показники ферментативної активності нейтрофілів - сукцинатдегідрогеназу і лактатдегідрогеназу, та при значеннях $1,88 \pm 0,10$ ум. од. і $2,26 \pm 0,14$ ум. од. відповідно судять про нормально виражений процес адаптації, при відхиленні від значень показників в бік зростання для ЛДГ - більш 13,7% і зниження для СДГ більш 15,9% судять про можливості розвитку процесів дезадаптації.

Застосування запропонованого способу оцінки стану адаптації у дітей тривало і часто хворіючих, що заключається у визначенні показників ферментативної активності нейтрофілів периферичної крові в різних групах дітей підтверджується наступними прикладами його виконання.

Приклад 1

Дитина К., 12 років. Поступив в санаторій. Було проведено дослідження запропонований спосіб. Показники ферментативної активності периферичної крові становили СДГ $1,87 \pm 0,09$ ум. од., ЛДГ $2,25 \pm 0,13$ ум. од., що відповідає нормі, а, отже, адекватним процесам адаптації.

Приклад 2.

Дитина Ж., 11 років. Поступив в санаторій. Було проведено дослідження запропонованим способом. Показники ферментативної активності нейтрофілів периферичної крові становили СДГ - $1,54 \pm 0,05$ ум. од., що було на 18% нижче показників норми - $p < 0,05$, ЛДГ - $2,59 \pm 0,09$ ум. од., що було на 14,6% вище норми $p < 0,05$. Все це свідчило про процеси дезадаптації, що розвинулися.

Запропонований спосіб дозволяє вирішувати проблему оцінки стану адаптації і може бути широко використаний на санаторно-курортному етапі лікування дітей, тривало і часто хворіючих.