

Спосіб відносяться до області медицини, а саме абдомінальної хірургії і лабораторної діагностики, і може бути використаний в оцінці важкості ендогенної інтоксикації з наступною патогенетичне обґрунтованою корекцією терапії.

Існує багато способів оцінки ендогенної інтоксикації при перитоніті, а зокрема виявлення молекул середньої ваги, але ці способи найчастіше не розкривають причин викиду цих олігопептидів, що і викликало необхідність подальшого розвитку лабораторної діагностики ендогенної інтоксикації.

Відомий спосіб виявлення молекул середньої ваги, що складається в доборі проби крові, відділення формених елементів, обробки трихлороцетною кислотою, центрифугування, розведення супернатанту дистильованою водою 1:10 з наступним виміром оптичної щільності при довжині хвилі 254нм (Карпищенко А.І. Определение молекул средней массы (МСМ) по Н.И.Габриэлян. //Медицинские лабораторные технологии. Справочник. - Том 2. -1999.-С624-625.).

Спільними суттєвими ознаками аналога і винаходу, що збігаються, є такі:

- добір проби крові;
- відділення формених елементів;
- обробці супернатанта ТХО кислотою;
- центрифугування;
- спектрофотометрування при довжині хвилі 254нм.

Цей спосіб недостатньо ефективний, тому, що даний спосіб дозволяє реєструвати тільки олігонуклеотиди і полінуклеотиди малих розмірів, а в розвитку інтоксикації ведучу роль грають олігопептиди, що реєструються при довжині хвилі 280 нм.

Найбільш близьким за технічною сутністю і результатами, що досягаються, є спосіб, що полягає у взятті проби крові, відділення формених елементів, розведення супернатанту водою в співвідношенні 1:15 і обробки трихлороцетною кислотою, центрифугування з наступним виміром оптичної щільності при довжині хвилі 254нм і 280нм. За отриманими даними судять про наявність ендогенної інтоксикації. (Хохлов А.П., Иванов В.Э., Букаев Ю.Н. Способ определения содержания средних молекул в крови.//Открытия. Изобретения. -1990. -№3. -С.216.).

Спільними суттєвими ознаками прототипу і способу, що заявляється, є такі:

- добір проби крові;
- відділення формених елементів;
- обробці супернатанта ТХО кислотою;
- центрифугування;
- спектрофотометрування при довжині хвилі 254нм і 280нм.

Цей спосіб недостатньо ефективний тому що, не розкриває причини викиду в кровоток МСВ, не дозволяє диференціювати ниркові причини накопичення МСВ.

В основу винаходу поставлена задача удосконалення способу визначення генерації молекул середньої ваги та прогнозування розвитку ендогенної інтоксикації за отриманими даними шляхом введення додаткових етапів дослідження, що поліпшить якість діагностики і дозволить оптимізувати лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі, який включає осадження великомолекулярних білків сироватки крові розчином трихлороцетової кислоти, центрифугування, спектрофотометрування супернатанту при довжині хвилі 254нм і 280нм, новим є те, що перед осадженням сироватку крові змішують з ацетатним буфером у відношенні 1:1, розділяють на контрольну і дослідну аліквоти, при цьому додатково дослідну порцію після змішування з буфером витримують у термостаті при $t^{\circ} 37^{\circ}$ протягом 1 години, в обох аліквотах визначають рівень молекул середньої ваги, і якщо рівень молекул середньої ваги у дослідній порції вище, ніж в контрольній, діагностують ендогенну інтоксикацію за рахунок аутолітичних процесів.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, і технічним результатом полягає в наступному:

- змішування з ацетатним буфером дозволяє створити оптимальні умови для дії лізосомальних ферментів, якщо такі мають, а це протеази;
- інкубація на протязі години при $t^{\circ} 37^{\circ}$ дає можливість піддати деградації білки власної плазми;
- приріст вмісту МСВ у дослідній пробі в порівнянні з контрольною зв'язаний із присутністю в кровотоці протеолітичних ферментів, говорить про лабілізацію лізосомальних мембран, що приводить до аутолітичних процесів у тканинах та генерації молекул середньої ваги в умовах *in vitro*, що дозволить прогнозувати розвиток ендогенної інтоксикації *in vivo*.

Таким чином, сукупність вищевикладених позитивних моментів даного способу дозволить підвищити, ефективність діагностики і патогенетичне обґрунтувати антипротеолітичну терапію, що прискорить видужання хворих, знизить кількість ускладнень.

Спосіб здійснюють таким чином.

Роблять забір нестабілізованої крові хворого, центрифугуванням відокремлюють сироватку. Сироватку хворого змішують з ацетатним буфером у співвідношенні 1:1 при рН 4,0 і розділяють на контрольну і дослідну порції. Дослідну аліквоту після змішування з буфером витримують у термостаті при $t^{\circ} 37^{\circ}$ протягом 1 години. Далі змішують проби з 10% ТХО кислотою в співвідношенні 1:1. Центрифугують отриманий розчин при 3000 об/хв. протягом 30 хвилин. Супернатант фотометрується при довжині хвилі 254нм і 280нм. Получена різниця між дослідною та контрольною пробами в одиницях оптичної щільності виражається в умовних одиницях генерації молекул середньої ваги. Далі оцінюють отримані показники, і при рівні МСВ в дослідній порції вищому, ніж в контрольній порції, діагностують ендогенну інтоксикацію за рахунок аутолітичних процесів.

Приклад.

Хворий Б., 1936р.н., був госпіталізований в хірургічне відділення 29.04.2003р. с діагнозом перфорація положу органу. Після обстеження встановлено діагноз: перфоративна вирізка дванадцятипалої кишки. В доопераційному періоді було проведено забір крові з метою оцінки ендогенної інтоксикації. За стандартними параметрами (лейкоцитарний індекс інтоксикації (Кальф-Каліф) і концентрація молекул середньої ваги (Габріелян)) отримані наступні результати:

лейкоцитарний індекс
інтоксикації 3,3;
молекули середньої ваги 0,2ум. од.

Результати отримані по запропонованій нами методиці:

контрольна проба 0,11ум. од.
дослідна проба 0,16ум. од.

Різниця між дослідною і контрольною пробами 0,05. За одиницю приймають отриману різницю між дослідною та контрольною пробами помножену на 100. В результаті у хворого в доопераційному періоді по нашому методу ми реєструємо приріст оптичної щільності виражаючийся в 5ум. од.

В післяопераційному періоді на 3 добу отримані наступні результати по стандартним методикам:

лейкоцитарний індекс інтоксикації 28,6;
молекули середньої ваги 0,96ум. од.

По нашій методиці:

контрольна проба 0,463ум.од.
дослідна проба 0,501ум.од.
Приріст оптичної щільності 3,8ум.од.

На 6 добу післяопераційного періоду отримані наступні результати по стандартним методикам:

лейкоцитарний індекс
інтоксикації 6,3;
молекули середньої ваги 0,434ум.од.

По нашій методиці:

контрольна проба 0,223ум.од.
дослідна проба 0,236ум.од.
Приріст оптичної щільності 1,3ум.од.

На підставі розглянутого прикладу ми спостерігаємо найбільш "ранню відповідь" нашого тесту, вказуючий на розвиток та важкість ендогенної інтоксикації в порівнянні зі стандартними методиками.

Використовуючи результати даного тесту ми припускали важкість розвитку ендогенної інтоксикації в післяопераційному періоді, що дозволило заздалегідь почати патогенетичне обґрунтовану терапію.