



УКРАЇНА

(19) UA (11) 19431 (13) U  
(51) МПК (2006)  
G01N 33/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ РАКУ ГОРТАНІ

1

(21) u200606896

(22) 20.06.2006

(24) 15.12.2006

(46) 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.

(72) Воронцова Лоліта Леонідівна

(73) ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ-  
ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, Воронцова Лоліта Леонідів-  
на

(57) Спосіб діагностики ендогенної інтоксикації при  
раку гортані, що включає дослідження плазми кро-  
ві, а саме забір венозної крові, додавання антикоа-

2

гулянта, осадження високомолекулярних білків,  
центрифугування та проведення спектрофотомет-  
рії, який **відрізняється** тим, що після додавання  
антикоагулянта додатково вводять 2,8 % розчин  
 $\text{FeSO}_4$  та 0,2 мл фізіологічного розчину, а після 2-  
годинної інкубації при температурі  $37^\circ\text{C}$  визнача-  
ють кількість білкових альдегідних груп у осаді  
спектрофотометрією при довжині хвилі 270 нм і  
при перевищенні їх нормальної кількості діагнос-  
тують ендогенну інтоксикацію.

Корисна модель стосується медицини, а саме  
клінічної лабораторної діагностики та онкології і  
може бути використаний для діагностики ранніх  
проявів ендогенної інтоксикації.

Існує багато способів діагностики ендогенної  
інтоксикації, але основними їх недоліками  
являється те, що вони: громіздкі (потребують три-  
валого часу для виконання, велику кількість  
біологічного матеріалу), вибір методів  
здійснюється "апріорі", опираючись на досвід кон-  
кретних клінічних шкіл і не пов'язані з конкретною  
патологією.

Відомий спосіб діагностики ендогенної  
інтоксикації - визначення циркулюючих імунних  
комплексів [Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Опре-  
деление ЦИК в крови онкологических больных //  
Лаб. дело. - 1981, №8. - с.13-19].

Спосіб включає дослідження сироватки крові:  
забирають 5 - 6мл венозної крові, яку інкубують 2  
години при температурі у  $37^\circ\text{C}$ . До 0,3мл  
отриманої після цього сироватки додають 6мл ба-  
ратного буферу. Отриманий розчин розливають у  
2 пробірки: дослідна - 0,3мл розведеної сироватки  
+ 2,7мл поліетиленгліколю; контрольна - 0,3 мл  
розведеної сироватки + 2,7мл боратного буферу.

Дослідну пробу витримують 1 годину при  
температурі  $+25^\circ\text{C}$ . Проводять спектрофотометрію  
обох проб при довжині хвилі 450нм. Розраховують  
різність показників оптичної щільності. Результат  
помножують на 1000, а відповідь дають в одини-  
цях оптичної щільності.

Спільною суттєвою ознакою аналогу і корисної

моделі, що заявляється, є таке: реєстрація  
показників здійснюється методом  
спектрофотометрії.

Цей спосіб є недостатньо ефективним тому,  
що:

- використовується сироватка крові (для її при-  
готування витрачається 2 години);
- не дозволяє діагностувати ендогенну  
інтоксикацію на ранніх стадіях розвитку;
- витрачається багато часу на підготовчий  
етап.

Найбільш близьким за технічною сутністю та  
результатами, що досягаються, є спосіб  
діагностики ендогенної інтоксикації - визначення  
кількості молекул середньої ваги за методом  
Малахової М.Я. [Малахова М.Я. Метод регистра-  
ции эндогенной интоксикации. Пособие для вра-  
чей. - С.Петербург, 1995. - 34с.].

Спосіб включає дослідження плазми крові: за-  
бирають 5 - 6мл венозної крові, додається анти-  
коагулянт, центрифугують 2 хвилини при  
3000об/хв. В 1мл плазми проводиться осадження  
великомолекулярних білків 15% розчином  
трихлоруксусної кислоти й центрифугують 5 хви-  
лини при 3000об/хв. Відбирають надосадкову  
рідину й розчиняють водою у співвідношенні 1 : 9,  
проводять спектрофотометрію при довжинах  
хвиль від 238 до 306нм з кроком у 4нм. Розрахунки  
проводять за формулою: сума довжини всіх хвиль  
помножена на 4 умовні одиниці.

Спільним суттєвими ознаками аналогу і  
корисної моделі, що заявляється, є такі:

(11) 19431 (13) U  
(19) UA

- об'єктом дослідження є плазма;
- попереднє осадження високомолекулярних білків проводиться трихлоруксусною кислотою з подальшим проведенням центрифугування;
- реєстрація показників здійснюється шляхом спектрофотометрії.

Цей спосіб є недостатньо ефективним тому, що:

- він є досить громіздким (реєстрація спектральної характеристики водного розчину су-пернатанта проводиться в зоні довжини хвиль від 238 до 310нм, з кроком у 4нм, що потребує більшого часу на проведення обстеження одного зразка);
- він є недостатньо інформативним на ранніх етапах розвитку ендогенної інтоксикації;
- потребує великої кількості біологічного матеріалу (для аналізу потрібно не менше 1мл плазми).

Все разом взяте робить цей метод мало доступним в лабораторній практиці.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити такий лабораторний метод діагностики, який дає можливість діагностувати прояви ендогенної інтоксикації на ранніх етапах її розвитку, що забезпечує підвищення ефективності подальшого лікування хворих на рак гортані.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що у способі діагностики ендогенної інтоксикації, що включає дослідження плазми крові, а саме забір венозної крові, додавання антикоагулянта, осадження високомолекулярних білків, центрифугування та проведення спектрофотометрії. Новим є те, що після додавання антикоагулянта вводять 2,8% розчин  $\text{FeSO}_4$  та 0,2мл фізіологічного розчину, а після 2-годинної інкубації при температурі  $37^\circ\text{C}$  визначають кількість білкових альдегідних груп у осаді (спектрофотометрією при довжині хвилі 270нм) і при перевищенні їх нормальної кількості діагностують ендогенну інтоксикацію.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому:

- визначення кількості альдегідних груп (270нм) дає можливість виявити ранні (початкові) ознаки розвитку ендогенної інтоксикації;
- використовується незначний за обсягом біологічний матеріал (0,1мл плазми крові);
- спосіб потребує мінімальний час на проведення обстеження (за рахунок використання обстеження тільки на одній довжині хвилі - 270нм);
- метод є економічно доцільним (не потребує значних матеріальних витрат).

Таким чином, сукупність вищенаведених позитивних ознак дозволила підвищити діагностичну якість (особливо на ранніх стадіях розвитку

ендогенної інтоксикації), визначити об'єктивний показник при виборі тактики лікування хворого, що приводить до зниження кількості ускладнень та рецидивів захворювання.

Спосіб здійснюється таким чином: до 0,1мл плазми крові додається антикоагулянт та 2,8% розчин  $\text{FeSO}_4$  та 0,2мл фізіологічного розчину. Проводиться інкубація протягом 2 годин при температурі у  $37^\circ\text{C}$ . Додається 0,1мл 20% трихлоруксусної кислоти. Виконували центрифугування 30 хвилин при 3000об/хв. Надосадкову рідину зливають. Осад промивають 3мл етилацетату. Сушать. Після цього до осаду додають 3мл 8М сечовини й 1мл 2М хлорної кислоти. Проводили спектрофотометрування проби при довжині хвилі у 270нм, виявляючи кількість білкових альдегідних груп. При перевищенні їх нормальної кількості діагностують ендогенну інтоксикацію.

Приклад 1. Хворий С., 44 років, діагноз: рак гортані T3NxM0.

Проведено обстеження плазми крові в день госпіталізації, на 3 та 6 дні.

Кількість альдегідних білкових груп:

Норма	0,58±0,17нмоль/мг білка
день госпіталізації	1,44нмоль/мг білка
3 день	2,47нмоль/мг білка
6 день	1,68нмоль/мг білка

Для порівняння проводили традиційну оцінку молекул середньої ваги:

Норма	0,342±0,04
день госпіталізації	0,561
3 день	0,501
6 день	0,387

Таким чином, у хворого має місце перевищення кількості альдегідних груп білків плазми крові по відношенню до норми, що дозволяє діагностувати ендогенну інтоксикацію на ранніх стадіях розвитку.

Приклад 2. Хворий К., 56 років, діагноз: рак гортані T3NxM0.

Проведено обстеження плазми крові в день госпіталізації, на 3 та 6 дні.

Кількість альдегідних білкових груп:

Норма	0,58±0,17нмоль/мг білка
день госпіталізації	2,51нмоль/мг білка
3 день	2,88нмоль/мг білка
6 день	2,81нмоль/мг білка

Молекули середньої ваги:

Норма	0,342±0,04
день госпіталізації	0,624
3 день	0,771
6 день	0,699

Таким чином, у хворого спостерігається перевищення кількості альдегідних груп білків плазми крові по відношенню до норми, що дозволяє діагностувати ендогенну інтоксикацію на ранніх стадіях розвитку та дає змогу своєчасно розпочати лікування хворого.

