



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 52680

(13) C2

(51) 7 G01N33/48, A61B5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ ОРГАНІЗМУ ТА СПОСІБ ПІДГОТОВКИ ПРЕПАРАТУ РІДИНИ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ

1

2

(21) 99031157

(22) 01 03 1999

(24) 15 01 2003

(46) 15 01 2003, Бюл. № 1, 2003 р.

(72) Качановська Лідія Дмитрівна, Сперкач Володимир Савелійович, Усенко Юрій Дмитрович, Гончарук Владислав Володимирович, Булавін Леонід Анатолійович

(73) Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського Національної Академії Наук України, Спільна лабораторія медичної фізики та біологічних систем НАНУ та Київського Університету ім. Т. Шевченка

(56) EP A 0826981 28 08 1997

RU C 2018263 30 08 1994

RU C 2074835 10 03 1997

Г.И. Козинец, О.В. Попова, С.В. Игнатов, М.Г. Гангардт Ядерная магнитная резонансная релаксация плазмы крови больных с ожогами - Лабораторное дело, 1991, №3, с. 13-16

(57) 1 Спосіб діагностики стану організму, що включає дію вимірювальними хвилями на кров, який відрізняється тим, що здійснюють підготовку препарату рідини організму людини, діють на нього акустичною або рентгенівською хвилею і за рівнем зміни добового градієнта поглинання діагностують життєздатність організму

2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що використовують акустичну хвилю з частотою не менше 30 МГц

3 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що використовують рентгенівські хвилі з довжиною хвилі не більше 0,05 нм

4 Спосіб підготовки препарату рідини організму людини, який відрізняється тим, що як вихідний препарат використовують будь-який із компартментів рідини організму людини, в нього вводять полісахарид, отриману суміш переводять у тверду фазу охолодженням, потім суміш нагрівають до температури  $41 \pm 1^\circ\text{C}$

Винахід належить до галузі медицини, зокрема, до дослідження біологічних матеріалів, наприклад, препаратів крові, та може бути використаний для визначення життєздатності організму людини або кінетики танатогенезу шляхом дослідження рідинного середовища організму

Відомі численні способи діагностики захворювань конкретних органів, післяопераційних ускладнень у хірургічних хворих, запальних ускладнень в опікових хворих і т.п.

Відомий, наприклад, спосіб діагностики ускладнень після внутрішньочеревних операцій шляхом дослідження біохімічних показників препарату крові - сироватки крові (О.П. Мінцер, Н.М. Зюбрицкий, А.М. Семко, Б.П. Шаталюк "Диагностические алгоритмы и тактики лечения осложнений после внутрибрюшинных операций" - К "Здоров'я", 1990) [1]

Відомий спосіб діагностики накопичення неправильних білків методом знімання електрофореграм сироватки крові (А. Уайт та ін. "Основы биохимии" - М "Мир", 1981) [2]

Відомий також спосіб діагностики гострого ін-

фаркту міокарда і нестабільної стенокардії шляхом дослідження сироватки крові хворого та визначення активності лізосомальних ферментів (патент РФ № 2092856, МПК<sup>6</sup> G 01 N 33/68, 1992) [3]

В способах діагностики [1-3] як препарат крові використовують сироватку крові, традиційно одержувану за методикою, описаною в (М.А. Базарнова "Клиническая лабораторная диагностика" - К - "Здоров'я", 1987) [4]. Суть методики полягає в тому, що крові дають згорнутися, відділяють згусток та залишають злегка жовтувату прозору рідину - сироватку крові. Якісний склад сироватки такий: рідинна жовтувата кольору з домішками жовтого пігменту, білірубину та каротиноїдів. Сироватка містить нормальні білки, залишкові кількості мінеральних складових та незвичайні білки.

В відомому методі підготовки препарату крові - сироватки крові спільною ознакою з запропонованим способом є фізико-хімічна дія на препарат крові. Таким чином, відомий спосіб підготовки препарату крові - сироватки крові, описаний в [4], є найближчим аналогом до запропонованого спосо-

(13) C2

(11) 52680

(19) UA

бу підготовки препарату крові

Як впливає з аналізу відомих способів діагностики, використання препарату крові в виді сироватки крові, якісний склад якої наведено вище, в поєднанні з певними параметрами препарату в процесі діагностування за способами [1-3], дозволяє визначити кількісні показники, які змінюються в процесі перебігу конкретної хвороби, і, як ми вважаємо, не дозволяють передбачати загальний стан організму, який передуює гострим клінічним проявам

Крім того, способи діагностики [1-3] характеризуються недостатньо високою точністю вимірювання показників (похибка вимірювань досягає 40%)

Відомий також спосіб діагностики запальних ускладнень в опікових хворих та спосіб підготовки препарату – плазми крові для його реалізації (ГІ Козинець, О В Попова, С В Игнатов, М Г Гангардт "Ядерная магнитная резонансная релаксация плазмы крови больных с ожогами" – Лабораторное дело, 1991 – № 3 (медицина) – С 13-16) [5]

Суть способу полягає в наступному Підготовлений препарат крові опікового хворого - плазму крові піддають опроміненню електромагнітними хвилями в ЯМР-спектрофотометрі, вимірюють час ядерної магнітної резонансної релаксації ( $T_1$ ), що дозволяє фіксувати магнітний момент молекул речовин, що містяться в плазмі На базі одержаних характеристик можна фіксувати порушення обміну речовин у досліджуваних хворих або накопичення токсинів, в їх числі, незвичайних білків або інших біологічних сполук Визначувані параметри препарату крові дозволяють виявити лише поодинокі випадки поведінки складових плазми без кваліфікації (анамнезу) загального стану організму хворого

Як свідчать дані клінічних досліджень [5] та власні дослідження авторів, метод, що розглядається, як і всі існуючі на сьогодні, дозволяє одержати конкретну якісну та кількісну інформацію про окремий компонент крові, його зміни або порушення без видачі даних про загальні параметри необоротних процесів, накопичення яких є провісником смерті організму, а використання некоректних методів лікування може призводити до летального кінця

Відомий спосіб також недостатньо ефективний, тому що вимірювання  $T_1$  компонентів крові хворих перекриваються аналогічними показниками для здорових, тобто вони однакові Крім того, дослідження складні, а точність вимірювань недостатня (похибка вимірювань досягає 50%) через присутність в об'єкті вимірювання нормальних та незвичайних білків

Спосіб діагностики запальних ускладнень у опікових хворих [5], реалізується з використанням препарату крові - плазми крові

Спосіб одержання плазми крові складається з багаторазового безперервного обмінного плазмаферезу, повернення відмитих еритроцитів, контролю за ступенем токсичності вилученої аутоплазми хворого та її стерильністю, охолодження до  $4^{\circ}\text{C}$  в присутності гепарину і заморожування при  $-30^{\circ}\text{C}$  При потребі аутоплазму розморожують при

$37^{\circ}\text{C}$ , вилучають кріофібриноген, що утворився, роблять відстрочену плазмасорбцію та реінфузію аутоплазми хворому, причому реінфузії підлягає плазма, в якій не було виявлено росту мікрофлори і нетоксична за рівнем накопичення молекул середньої маси Перед реінфузією плазму піддають біохімічному контролю

В зв'язку з викладеним заявник вважає, що в технічних, наукових та патентних джерелах, відомих заявнику, не описано спосіб діагностики загального стану організму людини і ні один з наведених аналогів, що характеризують рівень техніки в цій галузі, не може бути найближчим аналогом (прототипом) до способу діагностики, що пропонується

Таким чином, як ми гадаємо, спосіб діагностики, що пропонується, можна кваліфікувати як первинний винахід, який не має найближчого аналога (прототипа)

В основу винаходу поставлене завдання створити спосіб діагностики стану організму людини, який базується на фізичних змінах структури препарату крові, що виявляються при обробленні препарату вимірювальними хвилями, які дають можливість визначати життєздатність організму в цілому або кінетику танатогенезу, ефективність лікування в кожному конкретному випадку захворювання, в тому числі, реакцію організму на медикаменти та лікувальні препарати, виявляти небезпечні тенденції розвитку змін внутрішнього середовища організму з загрозою для життя, а також виявляти патогенез внутрішніх органів і накопичення негативних факторів, зокрема, опосередкована оцінка ступеню забруднення довкілля

Слід також відзначити, що спосіб, який пропонується, відзначається достатньою простотою апаратурного оформлення, високою точністю вимірювання та дає можливість передбачати життєздатність організму в цілому

Завдання створення способу діагностики стану організму людини в цілому вирішується і створенням запропонованого способу одержання препарату крові шляхом послідовності дій, що заявляються, на вихідний препарат крові Кількісний і якісний склад одержаного препарату крові забезпечує реалізацію діагностики загального стану організму людини, що не вирішується ні одним з відомих способів діагностики

Для вирішення поставленого завдання запропоновано спосіб діагностики організму людини, який характеризується тим, що на препарат крові діють вимірювальними хвилями, визначають параметр структури препарату і з останнього роблять висновок про стан та життєздатність організму Як вимірювальну хвилю використовують акустичні та/або електромагнітні хвилі, і як акустичні хвилі використовують хвилі частотою не менше 30МГц

Поставлене завдання вирішується також запропонованим способом підготовки препарату крові для діагностики стану організму людини, який включає введення в препарат крові полісахариду, переведення одержаної суміші в твердий стан, нагрівання до температури  $41\pm 1^{\circ}\text{C}$  та проведення при указаній температурі вимірювань за п 1 При цьому переведення суміші в тверду фазу

здійснюють охолодженням. Як препарат крові використовують сироватку крові та/або лімфу та/або будь-який з компартментів рідини в організмі людини. Полісахарид вводять в кількості 0,01-0,03% мас від маси препарату крові.

Нами вперше розроблено спосіб діагностики, що дозволяє діагностувати стан організму людини та визначати життєздатність організму в цілому або кінетику танатогенезу. Спосіб має широкий спектр функціональних можливостей при визначенні ефективності вибраного методу лікування фармацевтичними препаратами та медикаментами, що застосовуються.

Однією з оригінальних ознак способу діагностики, що заявляється, є використання препарату крові, одержаного відповідно до розробленої авторами методики.

Методика передбачає використання як вихідного матеріалу препаратів крові - сироватки крові, лімфи. Препарати внаслідок запропонованих фізико-хімічних дій при заданих параметрах набувають особливої структури, що дозволяє запропонованим способом діагностики за кількісними вимірами параметрів структури препарату крові оцінювати загальний стан організму, прогнозувати розвиток захворювання або гомеостаз в цілому, визначати початок можливих ускладнень, в тому числі і з важким перебігом, та передбачати необоротність накопичення в організмі факторів, що призводять до петального кінця.

Вищевикладене підтверджується проведеннями дослідженнями препаратів крові 32 хворих з опіками, 68 хворих з діагнозом онкологія та 26 хворих з запаленням легень.

Характеристики використовуваних речовин

Сироватка крові - препарат крові, традиційно одержуваний за методикою, описаною в [4].

Лімфа - рідина, яка знаходиться в лімфатичних протоках організму. В ній знаходяться білки, залишкові кількості мінеральних складових, фібриноген та протромбін.

Полісахарид - (крохмаль, хітозан та ін.) ДСТУ 2211-93.

Приклад реалізації за винаходом

У хворого відбирають кров та готують сироватку крові за відомою методикою [4]. Потім 50мл сироватки крові вміщують в стерилізовану, хімічно чисту кварцеву кювету. Додають 0,01г полісахариду - хітозану, що складає 0,02% від маси препарату крові, і суміш ретельно перемішують. Хітозан попередньо розчиняють в дистильованій, деіонізованій воді. Одержану суміш вміщують в крокамеру та витримують при температурі -18°C до повного переходу в твердий стан - повного замерзання. Після цього кювету витягають і термостатують при температурі 41°C на протязі 1 години. Одержаний продукт є готовим препаратом крові, який використовують для діагностики.

Діагностику здійснюють таким чином. З кювети відбирають 25мл підготованого препарату крові і вносять в вимірювальну комірку, яку вміщують в ультразвукову камеру стандартної установки акустичної спектроскопії типу УЗИС-7. В установці проходить оброблення препарату крові звуковою хвилею, параметри якої наведені нижче, з наступною реєстрацією сигналу з використанням імпульсного

методу змінної відстані та резонансного збудження перетворювачів -монокристалів кварцу Х-зрізу, що знаходяться в акустичних контактах зі звукопроводами з плавленого кварцу (Шахпаронов М.И., Механизмы быстрых процессов в жидкостях - М. Высш. школа, 1960 - 352 с.) [6].

На сироватку крові діють звуковою хвилею частотою 30МГц та, у відповідності до принципу дії приладу, на виході одержують значення коефіцієнта поглинання звукової хвилі. Вимірювання проводять не менше 5 разів з обчисленням середньої величини коефіцієнта.

Наприклад, досліджували препарат крові хворої С., 58 років, діагноз - рак шлунка 3 ступеня, оперована. Сироватку крові піддавали дії звукової хвилі частотою 30МГц до операції та на другу добу після операції. Величини коефіцієнтів поглинання складали 71 одиницю та 72 одиниці, відповідно.

Для визначення анамнезу хвороби були здійснені вимірювання, аналогічно до описаного вище прикладу, в динаміці. Величини коефіцієнту поглинання звукової хвилі складали на четверту добу - 70 одиниць, на шосту добу - 74, на десятю добу - 78 одиниць. Таким чином, добова зміна величини коефіцієнта поглинання не перевищує 2 одиниці.

На базі одержаних результатів нами був розрахований градієнт поглинання звукової хвилі препаратом крові за методикою, описаною в ("Экспериментальные методы определения поглощения звука в жидкостях" - К. УМК ВО при Минвузе УССР, 1989 р - 68 с.) [7]. Величина добового градієнта падіння поглинання складає 1 - 2 одиниці. Хвора видужала, виписана без ускладнень.

Таким чином, зміна величини коефіцієнта поглинання звукової хвилі в межах 1-2 одиниць, величина добового градієнта падіння поглинання на рівні 1-2 одиниць свідчать про достатньо високий ступінь життєздатності організму.

Аналогічно описаному прикладу реалізації були досліджені препарати крові хворих з іншими клінічними показниками.

Досліджувався препарат крові хворого В., 64 роки, з таким же діагнозом. Поглинання при 30МГц складало 80 одиниць. Після операції динаміка поглинання така: друга доба - 50, третя доба - 48, при 50МГц - 40 одиниць. Градієнт падіння поглинання - 6 одиниць за добу. Хворий помер. По аутопсії визначена основна причина смерті - двостороння абсцедуюча пневмонія.

Досліджувався препарат крові хворої Г., 46 років, діагноз - опік дихальних шляхів. Поглинання при 30МГц складало 85 одиниць. Після проведеного лікування динаміка поглинання така: друга доба - 71, третя доба - 78. Градієнт падіння поглинання не перевищував 2 одиниць. Хвора видужала, виписана без ускладнень.

Як впливає з наведених даних, використання в діагностиці величини добового градієнта падіння поглинання звукової хвилі може бути кількісним показником для прогностичної оцінки загального стану організму: добова зміна коефіцієнта поглинання звукової вимірювальної хвилі та добового градієнта поглинання більш ніж на дві одиниці від початкового значення діагностує ускладнення стану організму, до шести одиниць - важкі ускладнення, а поєднання коефіцієнта поглинання на частоті

30МГц – 48 одиниць, на частоті 50МГц – 40 одиниць – ускладнення необоротно закінчуються смертю хворого

Для обґрунтування межових значень параметрів способу діагностики та способу підготовки препарату крові для (реалізації) діагностики стану організму людини були здійснені серії дослідів, дані яких наведені в таблицях 1 і 2

В таблиці 1 показана залежність характерис-

тичних показників, одержаних при дії звукової хвилі на препарат крові різної природи, від природи полісахариду та умов оброблення препарату крові – кількості полісахариду, температури нагрівання, при якій здійснюють вимірювання

В таблиці 2 наведені характеристичні показники, одержані при дії на препарат крові електромагнітної хвилі, при умовах оброблення препарату крові, ідентичних таблиці 1

Таблиця 1

Препарат крові	Спосіб підготовки			Коефіцієнт поглинання звукової хвилі при 50МГц	Похибка вимірювань,%	Відтворюваність результатів вимірювань	Добовий градієнт поглинання при 50МГц (на протязі 5 діб)
	полісахарид		Темп °С				
	назва	кп-сть, %мас					
1	2	3	4	5	6	7	8
за винаходом							
Сироватка крові	Крох-маль	0,01	41±1	69	11	0,8	0
		0,02		72	7	1,0	2
		0,03		68	10	0,7	1
	Хітозан	0,01		75	8	0,9	2
		0,02		67	10	0,7	0
		0,03		71	6	0,8	1
Лімфа	Крох-маль	0,01		65	5	1,0	0
		0,02		72	11	0,9	1
		0,03		70	9	0,7	2
	Хітозан	0,01		73	15	0,8	2
		0,02		69	6	0,9	0
		0,03		71	8	1,0	1
Поза межні							
Сироватка крові	Крох-маль	0,005	41±1	68	50	0,2	0
		0,04		72	35	0,5	2
		0,02	38±1	73	45	0,4	1
		0,02	44±1	69	45	0,4	2

Встановлено, що параметри оброблення препарату крові (кількість полісахариду 0,01 - 0,03%мас від маси препарату крові, температура нагрівання, при якій проводять вимірювання), що заявляються, вибрані з умов, які забезпечують одержання структури препарату, що дозволяє при дії звукової хвилі одержати практично стабільні характеристичні показники процесу діагностування - коефіцієнта поглинання звукової хвилі та добового градієнта падіння поглинання звукової хвилі (на протязі 5 діб) Стабільність указаних показників забезпечує надійність способу діагностики

При цьому, спосіб діагностики відзначається достатньо високою точністю вимірювань - похибка вимірювань складає 7-15%, та доброю відтворюваністю результатів вимірювань, величина якої

знаходиться в діапазоні 0,7-1,0

Дані, наведені в таблиці 2, одержані на стандартній установці рентгеноструктурного аналізу В пучок монохроматичного Ag ( $\lambda=0,056\text{nm}$ ) або W ( $\lambda=0,020\text{nm}$ ) випромінювання вміщують спеціальну вимірювальну кювету з досліджуванним препаратом Відбиті від досліджуваного об'єкта рентгеновські промені попадають в лічильник квантів та нормалізовані по амплітуді і тривалості корисні довжини хвиль реєструються на вимірювачі швидкості лічби (імпульс/сек) або ж подаються на самопис-потенціометр для реєстрації дифракційної картини на діаграмній стрічці (Хейкер Д М, Зевин Л С Рентгеновская дифрактометрия -М, Физматгиз, 1963, - 380с) [8]

Таблиця 2

Вимірювальні хвилі - рентгеновські,  $\lambda=0,05\text{nm}$ , вимірюється співвідношення  $J/J_0$

Препарат крові	Спосіб підготовки			J/J <sub>0</sub>	Похибка вимірювань,%	Відтворю-ваність результатів вимірювань
	полісахарид		Темп ,°C			
	назва	кіл-сть, %мас				
1	2	3	4	5	6	7
за винаходом						
Сироватка	Крох-маль	0,01	41±1	10, 3	7	0,9
		0,02		10, 3	4	1,0
		0,03		10, 3	7	0,9
Поза межні						
Сироватка	Крох-маль	0,005	41±1	8,3	35	0,5
		0,04		9, 5	51	0,3
		0,0	38±1	8, 2	45	0,4
		2	44±1	8, 5	45	0,4
		0,02				

Як впливає з одержаних даних (таблиця2), використання як вимірювальної хвилі електромагнітної хвилі, при збереженні інших умов, забезпечує одержання стабільного показника процесу діагностування - співвідношення  $J/J_0$ , при високій точності вимірювань (4 - 7%) та добрій відтворюваності (0,9 - 1,0) Тобто, спостерігається повна кореляція характеристикних показників процесу діагностування, одержаних при дії на препарат крові як звукової, так і електромагнітної хвилі

Порівняльний аналіз результативності запропонованого та відомих способів діагностики показує, що вперше запропоновано спосіб діагностики загального стану організму людини, який дозволяє визначати життєздатність організму людини в цілому та кінетику танатогенезу, що не забезпечує ні один з відомих способів діагностування

Переваги запропонованого способу діагности-

ки досягаються при підготовці препарату крові запропонованим способом Реалізація способу підготовки препарату крові забезпечує необхідну структуру препарату, яка дозволяє в процесі дії вимірювальних хвиль одержати достовірні відомості про стан організму

Необхідно також відзначити, що запропонований спосіб діагностики підвищує точність вимірювань, призводить до зменшення похибки вимірювань з 40 - 50% до 7 - 15%, тобто в 3,1 - 6 разів, та забезпечення відтворюваності результатів вимірювань на рівні 0,7 - 1,0 при одержанні стабільних результатів

Достоїнством запропонованих способів діагностики та підготовки препарату крові є надійність, простота технологічних операцій, можливість одержання препарату на наявному обладнанні