



MD 2631 G2 2004.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 2631 (13) G2
(51) Int. Cl.⁷: A 61 B 5/00;
G 01 N 33/487

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2003 0222 (22) Data depozit: 2003.09.15	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.12.31, BOPI nr. 12/2004
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	
(72) Inventatori: CEREMPEI Ludmila, MD; GUDUMAC Valentin, MD; RÎMARCIUK Galina, RU; COLIBABA Elena, MD; RÎVNEAC Elena, MD	
(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	
(74) Reprezentant: VOZIANU Maria, MD	

(54) Metodă de apreciere a gradului de gravitate a afecțiunilor cronice
gastroduodenale la copii

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină, în special la gastroenterologia pediatrică.

5
Esența invenției constă în aceea că pentru aprecierea severității afecțiunilor gastroduodenale cronice la copii se colectează și se pregătește proba de salivă, iar apoi fotometric se determină nivelul

2
glutathionreductazei și în cazul în care, în salivă ea se conține, în intervalul 300,0...400,0 nM - se stabilește gradul minim, 401,0...550,0 nM - gradul mediu, și >550,0 nM - gradul sever de afectare.

10
Revendicări: 1

MD 2631 G2 2004.12.31

MD 2631 G2 2004.12.31

3

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la gastroenterologia pediatrică.

Este cunoscută metoda de apreciere a gradului de severitate a afecțiunilor gastroduodenale cronice la copii, care constă în colectarea și pregătirea probei de sânge și determinarea nivelului glutatationului [1].

Pentru determinarea a glutatationului în sânge, în eprubetă se introduce 0,5 ml de ser și 3,0 ml de soluție 5% acid sulfosalicilic, care conține 10 $\mu\text{M/l}$ EDTA și 5 $\mu\text{M/l}$ de sulfat amoniu. Se agită periodic 10...15 min, apoi se filtrează. În eprubetă se introduce 1,5 ml de supernatant, 50% de K_2CO_3 , care conține 0,1% Na Cl și 1 ml de 1% de nitroprusiat de sodiu. Amestecul se incubează 2 min la $t = 10^\circ\text{C}$, apoi se calorimetrează la 525 nM. Calcularea activității enzimei se efectuează reeșind din curba de calibrare.

Dezavantajul principal al acestei metode constă în aceea că ea este invazivă, traumatizantă, costisitoare, greu realizabilă și nu poate fi aplicată la copiii cu afecțiuni cronice gastroduodenale.

Problema pe care o rezolvă invenția dată constă în posibilitatea aprecierii gradului de gravitate a afecțiunilor cronice gastroduodenale pe baza unei metode neinvazive, atraumatizante, cât și ușor realizabile din punct de vedere al simplității materialului de diagnostic.

Esența invenției constă în aceea că pentru aprecierea severității afecțiunilor gastroduodenale cronice, se colectează și se pregătește proba de salivă de la copii, apoi se determină fotometric nivelul glutatationreductazei și, în cazul în care ea se conține în salivă, în intervalul 300,0...400,0 nM, se stabilește gradul minim, 401,0...550,0 nM -- gradul mediu, și $> 550,0$ nM -- gradul sever de afectare.

Rezultatul obținut este stabilirea rapidă, simplă, atraumatică și neinvazivă a gradului de gravitate a afecțiunilor cronice gastroduodenale la copii.

Metoda se realizează în felul următor. Dimineața, după efectuarea igienei cavității bucale cu apă timp de 10 min, se colectează saliva de la pacient. Saliva se supune centrifugării cu rata de 4500 tur/min. Apoi se determină nivelul glutatationreductazei.

Sucesiunea operațională pentru determinarea a glutatationreductazei în salivă. În microcuvele fotometrice ale analizorului biochimic "FP-901" se introduce 0,05 ml material investigat (salivă), se suplimentează 0,55 ml soluție tampon fosfat cu pH 6,6 ce conține 1 mmol EDTA și 0,125 ml soluție 1,6 mmol NADPH₂. Reacția se declanșează prin suplimentarea a 0,05 ml soluție 7,5 mmol glutatation oxidat. După 30 s se înregistrează scăderea densității optice în decurs de 1 min la o lungime de undă de 340 nm, utilizând programul "măsurare cinetica cu coeficient" al analizorului. Activitatea enzimei se calculează, reeșind din coeficientul molar de extincție a pirindindinucleotidelor (la $t = 37^\circ\text{C}$ și $\lambda = 340$ nm $\epsilon = 6,22$ mmol $\cdot\text{cm}^{-1}$, sau $\epsilon = 5,66$ μmol^{-1} cm^2). Activitatea enzimei se exprima în nM de NADPH₂, ce este oxidat timp de 1 s la 1 ml salivă (nM/sl \cdot l).

Rezultate:

Indicii glutatationreductazei în salivă la copiii cu afecțiunile cronice gastroduodenale în fază de acutizare

Indicii	Sănătoși N=22	Gastrita cronică N=36	Castro- duodenită cronică N=49	Afecțiuni eroziv-ulceroase N=57	P
Faza de acutizare					
Glutatationr eductaza ($\mu\text{M/sl}$)	512,20 \pm 12,10	626,10 \pm 11,78	642,50 \pm 18,97	710,60 \pm 15,90	P ₁₋₂ <0,01 P ₁₋₃ <0,01 P ₁₋₄ <0,001 P ₂₋₄ <0,01 P ₃₋₄ <0,05
Faza de remisiune					
Glutatationr eductaza ($\mu\text{M/sl}$)	259,00 \pm 11,80	273,80 \pm 37,11	296,70 \pm 28,51	420,70 \pm 32,62	P ₁₋₃ <0,05 P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₄ <0,01 P ₃₋₄ <0,05

40

MD 2631 G2 2004.12.31

4

Criteriu de gravitate a bolii după glutatioreductaza: 300-400 nM/sl – gravitate minimă, 401-550 nM/sl – gravitate medie, > 550 nM/sl – gravitate maximală.

Exemplu de realizare

5 Bolnava A născ.1984 a fost examinată în Policlinica Republicană pentru Copii pe data 03.06.1988. Diagnosticul de bază: "Gastroduodenită cronică hiperplazată cu normosecreție și normo-aciditate în perioada de acutizare. Refluxul duodenogastral. Alergie alimentară. Dermatită atopică. Distonie vegeto-vasculară, tip mixt. La pacientă au fost determinat în saliva nivelul glutatioreductazei 420 nM/salivă. Peste 2 luni nivelul de glutatioreductază a constituit 404 nM/sl, copilul făcea 2 acutizări pe an, ceea ce este caracteristic pentru gravitatea medie a bolii.

10 Rezultatele confirmă: majorarea glutatioreductazei în salivă în perioada de acutizare, cât și gravitatea medie a bolii în remisiunea incompletă.

15

(57) Revendicare:

20 Metodă de apreciere a gradului de severitate a afecțiunilor gastroduodenale cronice la copii, care constă în colectarea și pregătirea probei de salivă, iar apoi fotometric se determină nivelul glutatioreductazei și în cazul în care, ea se conține, în intervalul 300,0...400,0 nM - se consideră gradul minim, 401,0...550,0 nM - gradul mediu, și >550,0 nM - gradul sever de afectare.

25

(56) Referințe bibliografice:

1. Gudumac V., Baciu E., Marin V., și coat., Metode de dozare a activității enzimactice, Elaborare metodică, Chișinău, 2001, p.60

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

IUSTIN Viorel

Redactor:

UNGUREANU Mihail

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2003 0222		(85) Data fazei naționale PCT:	
(22) Data depozit: 2003.09.15		(86) Cerere internațională PCT:	
<p>Prioritatea invocată :</p> <p>(31) nr.: 32) data : 33) țara :</p> <p>(51)⁷ : A 61 B 5/00, G 01 N 33/487</p> <p>Alți indici de clasificare:</p> <p>Titlul : Metoda aprecierii gradului de gravitate a afecțiunilor cronice gastroduodenale la copii.</p> <p>(71) Solicitantul : UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD</p> <p>Termeni caracteristici : salivă, glutathionreductază, tractul gastroduodenal, слюна, глутатионредуктаза, желудочнокишечный тракт.</p>			
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))			
(MD, EA, SU) Au fost consultate cererile de brevete și brevetele MD, EA, SU în perioada 1993-2003 și respectiv 1994-2003 și 1971-1991			
Int. Cl. ⁷ A 61 B 5/00, G 01 N 33/487			
II. Documente considerate ca relevante			
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate	
A	SU 1698774 A 1991.12.15	1	
A	SU 1686359 A 1991.10.23	1	
<input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II		<input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează	
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate	
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria care conține baza invenției	
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă	
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)		Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă cand documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă		& - document care face parte din aceeași familie de documente	
Data finalizării documentării		2004.06.10	
Examinatorul		IUSTIN Viorel	