



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 3912

(13) U

(51) 7 G01N33/68

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ЛІПІДІВ СЛИНИ У ПІДЛІТКІВ

1

2

(21) 20040403208

(22) 28.04.2004

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

(72) Жигулович Зінаїда Єгорівна, Брюзгіна Тетяна  
Семенівна, Вретік Галина Михайлівна(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ(57) Спосіб оцінки порушень метаболізму  
есенціальних жирних кислот ліпідів слини у

підлітків шляхом дослідження вмісту поліненасичених жирних кислот, який відрізняється тим, що методом газорідинної хроматографії визначають вміст арахідонової та ейкозотрієнових жирних кислот, розраховують їх співвідношення, порівнюють з контролем і при зниженні або збільшенні коефіцієнта оцінюють ступінь порушень метаболізму есенціальних жирних кислот.

Корисна модель, що заявляється, відноситься до медицини, а саме до стоматології точніше до ліпідології і призначений для оцінки метаболічних порушень у ротовій порожнині підлітків.

В останні десятиліття зросла увага дослідників до вивчення властивостей слинного секрету людини. Це пов'язано не тільки з бурхливим розвитком аналітичної техніки, але і з підвищенням інтересом до унікальних властивостей слини і діагностичних можливостей, пов'язаних з нею.

У цьому відношенні аналіз слини являє собою одну з найбільш значущих альтернатив аналізу крові, у низці випадків не тільки доповнюючи його, але навіть змінюючи. Медиків приваблює також простота взяття проб і повна безпека при цьому для здоров'я пацієнта. Основна увага дослідників приділяється можливості діагностування патологічних станів різноманітних систем організму [1].

Слина є одною біологічною рідиною з унікальним набором дослідницьких можливостей, які включають повну неінвазивність, багаторазовість і майже безмежність за об'ємом забір матеріалу і т.д. Основну увагу клінічних спеціалістів приваблюють нові лабораторні способи аналізу слини з метою отримання різноманітної діагностичної інформації [2-3].

Існуючі способи оцінки метаболічних порушень у ротовій порожнині дають можливість з'ясувати ступінь активації чи пригнічення окремих факторів резистентності, але не дозволяють інтегрально оцінити стан гомеостатичних механізмів.

Так, відомий спосіб оцінки глибини метаболічних порушень у ротовій порожнині шляхом кількісного визначення вмісту білка і муцина [4]. Однак, вказаний спосіб не дозволяє оцінити характер метаболічних змін.

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення обраний в якості прототипу є спосіб оцінки метаболічних порушень у порожнині рота шляхом визначення вмісту інгібітору амілази слини [5]. Однак, вказаний спосіб дозволяє оцінити лише стан місцевого імунітету і не враховує сукупний вплив гомеостатичних порушень. Таким чином, вказаний спосіб не дозволяє повноцінно оцінити стан метаболічних порушень у порожнині рота.

Корисна модель, що заявляється, вирішує задачу підвищення ефективності лікування ліпідних порушень слини у підлітків.

Досягнутий технічний результат від використання винаходу полягає в своєчасній профілактиці, прогнозі та призначенні коректної терапії у підлітків. Поставлена задача досягається тим, що у способі оцінки метаболічних порушень у порожнині рота шляхом, що передбачає дослідження поліненасичених жирних кислот, згідно винаходу методом газорідинної хроматографії визначають вміст арахідонової та ейкозотрієнових жирних кислот, розраховують їх співвідношення, порівнюють з контролем і при зниженні або збільшенні коефіцієнта визначають ступінь порушень метаболізму есенціальних жирних кислот.

(13) U

(11) 3912

(19) UA

Переваги цього метода: чутливість газорідинної хроматографії  $10^{-7}$ А, висока інформативність, що дозволяє визначити ступінь порушень ліпідного метаболізму. Газохроматографічний метод зручний у використанні. За допомогою цього методу можна перевірити ліпідні порушення в динаміці, прогнозувати подальший перебіг захворювань, постійно контролювати загальний стан, правильність призначення ліків та ефективність лікування.

Спосіб здійснювався таким чином: у підлітка натще брали слину в кількості 3-5мл, поміщали в пробірку з притертою пробкою ємкістю 10мл, додавали 5-7мл хлороформметанольної суміші (у співвідношенні 2:1) і тримали 30 хвилин у холодильнику. Для кращого розділення фаз додавали 1мл дистильованої води. Для аналізу відбирали хлороформну нижню фазу, яка містить ліпіди. Хлороформні екстракти випарювали досуху в потоці азоту при температурі  $45^{\circ}$  на водяній бані. Сухий осад ліпідів з'єднували з 5мл розчину 1% сірчаної кислоти ( $H_2SO_4$ ) у метанолі і вміщували в ампули, які запаювали.

Потім проводили гідроліз і метилування в термостаті при температурі  $85^{\circ}$  на протязі 20 хвилин. Екстракцію метилуваних ЖК проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (співвідношення 1:1) в кількості 5мл. Об'єднані екстракти випарювали в потоці азоту при  $40^{\circ}C$  на водяній бані і сухий осад розчиняли в 40,0-50,0мкл чистого гексану і вводили у випарювач хроматографа в кількості 5мкл.

Потім проводили газорідинний аналіз жирнокислотного складу ліпідів на газовому хроматографі "Цвет-500" в ізотермічному режимі з полум'я-іонізаційним детектором при наступних умовах: для визначення спектру жирних кислот ліпідів використовували скляну колонку (розміром 2м $\times$ 0,3см), яка заповнена фазою 5% ПЕГС на хроматоні N-AW-HMDS (зерніння 0,125-0,160мм), температура колонки  $180^{\circ}C$ , температура випаро-

увача  $240^{\circ}C$ , розходження азоту і водню 35мл/хв, повітря - 200мл/хв., швидкість діаграмної стрічки 240мм/год, чутливість шкали  $10^{-7}$ А, об'єм проби, що вводиться, 3-5мкл, тривалість аналізу - 20 хвилин.

Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів проводили за методом нормування площин і визначали долі кислот в процентах (%) [6].

На базі кафедри ортопедичної стоматології НМУ запропонованим способом було обстежено 40 студентів віком 17-19 років. Контрольну групу становили 19 підлітків того ж віку.

Таким чином, даний метод досить точний для визначення порушень ліпідного метаболізму у студентів і може бути рекомендованим для впровадження в практичну медицину.

#### Джерела інформації:

1. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека. Санкт-Петербург: 1998. - 247с.
2. Боровський Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. М: Мед. - 1991. - 302с.
3. Григорьев И.В., Чиркин А.А. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний. // Клини. лаб. диагностика. - 1998. - №6. - С.18-20.
4. Коробейникова Э.Н., Ильиных Е.Н. Количественное определение содержания белка и муцина (гликопротеинов) в слюне // Клини. лаб. диагностика. - 2001. - №8. - С.34-35.
5. Коротко Г.Ф., Булгакова В.А. Применение ингибитора слюнной  $\alpha$ -амилазы в биохимическом исследовании слюны // Клини. лаб. диагностика. - 2002. - №3. - С.20-22.
6. Савичук О.В., Брюзгша Т.С. Стан ліпідного метаболізму у ротовій порожнині при хронічному рецидивуючому афтозному стоматиті // Доповіді НАН України. - 2003. - №5. - С.183-185.

Таблиця

Показники (в %)	Контроль слини (n=19)	Патологія		
		I гр. (n=13)	II гр. (n=13)	III гр. (n=14)
Сума ПНЖК	26,7 $\pm$ 1,5	35,2 $\pm$ 1,9*	35,1 $\pm$ 1,0*	38,3 $\pm$ 1,7*
С 18:2	17,9 $\pm$ 0,9	23,5 $\pm$ 1,4*	29,0 $\pm$ 0,6*	26,4 $\pm$ 1,1*
С 18:3	5,0 $\pm$ 0,5	1,6 $\pm$ 0,5*	0,6 $\pm$ 0,08*	0,7 $\pm$ 0,07*
С 20:3	-	4,5 $\pm$ 0,6	3,4 $\pm$ 0,4	3,7 $\pm$ 0,3
С 20:4	3,9 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,5*	2,1 $\pm$ 0,2*	7,5 $\pm$ 0,3*
K1=(C 20:4)/(C 18:3+C 20:3)	0,8	0,9	0,5	1,7

\*)  $p < 0,05$  порівняно з контролем