



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **31301** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
**G01N 33/50**  
**A61B 10/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ АКТИВНОСТІ ПАТОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ В ПЕЧІНЦІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С**

1

2

(21) а200713990

(22) 13.12.2007

(24) 10.04.2008

(46) 10.04.2008, Бюл.№ 7, 2008 р.

(72) НІКІТІН ЄВГЕН ВАСИЛЬОВИЧ, UA, СЕРВЕЦЬКИЙ КОСТЯНТИН ЛЕОНІДОВИЧ, UA, ЧАБАН ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА, UA

(73) ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, UA

(57) Спосіб визначення ступеня активності патологічного процесу в печінці у хворих на гепатит С

шляхом проведення біохімічних досліджень сироватки крові, який **відрізняється** тим, що досліджують вміст відновленого глутатіону (G-SH) та малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові і, при значенні співвідношення  $G-SH/MDA > 0,2$ , визначають стан компенсації антиоксидантної системи (АОС), при значенні  $G-SH/MDA$  від 0,19 до 0,16 констатують стан субкомпенсації АОС, а при його значенні 0,15 і менше - стан декомпенсації АОС.

Корисна модель відноситься до області медицини, а саме до інфектології, і може бути використана для визначення ступеня активності патологічного процесу в печінці у хворих на

При вивченні багатьох патологічних станів значну увагу приділяють структурно-функціональним змінам в клітинних мембранах, як то вільно-радикальному окисленню. Вираженість і тривалість процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в організмі визначають клінічну важкість, особливість перебігу і виходи гепатиту С

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення є розробка, в якій розглядаються метаболічні аспекти прогнозування виходів хронічного вірусного гепатиту шляхом вивчення стану ПОЛ і системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в комплексі з клінічними, імунологічними, біохімічними і морфологічними показниками у хворих і встановлення на основі порівняльних даних значення їх взаємозв'язку для прогнозування ступеня тяжкості захворювання [1].

Однак, у наведеній роботі не оцінюється ступінь тяжкості хронічного гепатиту С, що не дозволяє діагностувати значні метаболічні порушення у хворих з мінімальною активністю гепатиту.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалення способу визначення ступеня активності патологічного процесу в печінці у хворих на гепатит С шляхом дослідження вмісту відновленого глутатіону та малонового діальдегіду в сироватці

крові і за співставленням цих значень - визначення функціонального стану антиоксидантної системи, що дозволить с високим ступенем вірогідності визначити клінічну важкість, особливо-сті перебігу і виходи.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно корисної моделі, досліджують вміст відновленого глутатіону (G-SH) та малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові і при значенні співвідношення  $G-SH/MDA > 0,2$  визначають стан компенсації антиоксидантної системи (АОС), при значенні  $G-SH/MDA$  від 0,19 до 0,16 констатують стан субкомпенсації АОС, а при його значенні 0,15 і менше - стан декомпенсації АОС.

Спосіб виконується наступним чином.

Обстежено 87 хворих (67 чоловіків і 20 жінок) у віці від 17 до 60 років (середній вік 39,2 роки). До моменту дослідження хворі не отримували лікування антиоксидантними засобами. У всіх хворих клінічно і амнестично були виключені зловживання алкоголем, приймання гепатотоксичних препаратів, вплив токсичних засобів. У всіх досліджуваних був діагностований хронічний гепатит С. Для вивчення активності ПОЛ і системи АОЗ в сироватці крові визначали вміст малонового діальдегіду (МДА).

Концентрацію малонового діальдегіду досліджували за І. Д. Стальної та Т. Г. Гаришвілі, який базується на тому, що при умовах високої температури в кислому середовищі МДА реагує з 2-

(13) **U**(11) **31301**(19) **UA**

тіобарбітуровою кислотою. В результаті цієї реакції утворюється пофарбований триметіновий комплекс з максимумом поглинання 532нм.

До досліджуваного матеріалу об'ємом 0,2мл додавали 2,5мл буферного розчину (рН - 7,4) та 1мл 17% розчину трихлороцтової кислоти. Проводили центрифугування проб протягом 10 хвилин при 4000 обертів. Надосадову рідину відбирали в окремі пробірки та додавали 1,5мл 0,8% водного розчину 2-тіобарбітурової кислоти. Проби витримували на водяній бані протягом 10 хвилин. Після розвитку рожевого пофарбування їх охолоджували при кімнатній температурі. Оптичну густину вимірювали при  $\lambda = 532\text{нм}$  на спектрофотометрі СФ-46. Контролем був буферний розчин, рН - 7,4. Для розрахунку концентрації МДА використовували молярний коефіцієнт екстинції, який дорівнювався  $1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{м}^{-1}$ :

$$C = \frac{\Delta\varepsilon \cdot 2,7 \cdot 2}{156},$$

де С - концентрація МДА,

$\Delta\varepsilon$  - оптична густина проби,

2,7 - об'єм проби.

Отриманий результат виражали в нмоль/л сироватки крові.

Принцип методу дослідження вмісту відновленого глутатіону (G-SH) заснований на тому, що глутатіон реагує з надлишком алоксану. В результаті такої реакції утворюється сполука, яка має максимум поглинання при довжині хвилі 305нм. Умовно така речовина має назву "алоксан-305". Кількість утвореного комплексу "алоксан-305" прямо пропорційна вмісту G-SH в пробі. Для визначення кількості G-SH в біологічній рідині використовували калібровану криву, побудовану за стандартним розчином G-SH. Отриману концентрацію G-SH виражали в мг/мл сироватки.

Збільшення активності гепатиту відбувається разом із появою та ростом ознак декомпенсації в глутатіоновій протиперекисній системі, що проявляється значним зменшенням концентрації відновлених еквівалентів глутатіону та низькою активністю ферменту ГР. Тобто, спостерігається неспроможність перебігання основних реакцій глутатінової редокс-системи, спрямованих на нейтралізацію токсичних перекисів. Паралельно із зростанням функціональної декомпенсації АОС відбувається посилення процесів фіброзування в печінковій тканині у хворих на ХГС.

За даними статистичних досліджень було розроблено індекс, який характеризує появу ознак декомпенсації в АОС. З цієї метою розраховували

співвідношення концентрації G-SH та вмісту кінцевого продукту ПОЛ -МДА в сироватці крові хворих на ХГС. Отримані результати показали наступні значення індексу декомпенсації (G-SH/МДА): >0,2; 0,19-0,16 та <0,15, які трактували таким чином. Співвідношення G-SH/МДА більше 0,2 свідчить про наявність фізіологічної рівноваги ПОЛ/АОС. Функціональна активність АОС є достатньою для нейтралізації вільних радикалів; швидкість реакцій АОС відповідає швидкості перебігання процесів пероксидації. Такий стан АОС розцінюється як компенсація.

У випадку, коли показник G-SH/МДА знаходиться в межах 0,19 -0,16 виникають ознаки субкомпенсації в АОС. Відбувається активація ПОЛ, на яку АОС відповідає посиленням функціональної активності. Але, тривалість такого процесу недовга, розвивається перебіг в системі антиоксидантного захисту, внаслідок чого її компоненти спроможні лише частково забезпечити нейтралізацію надлишкових перекисних радикалів. Клінічно це проявляється ознаками інтоксикаційного, диспепсичного синдромів, спостерігається активація амінотрансфераз, відбувається фіброзування в печінковій тканині.

Величина індексу G-SH/МДА менше 0,15 свідчить про наявність значних змін з боку АОС. Робота в напруженому режимі всіх ланок та компонентів АОС на початку розвитку патологічного процесу є адаптаційною захисною реакцією. Однак, АОС не спроможна функціонувати тривалий час в надмірному неадекватному напруженні, настає виснаження АОС. До того ж, інтенсифікація ПОЛ поглиблює функціональну нездатність ферментів АОС. Все це призводить до розвитку функціональної декомпенсації АОС, внаслідок чого клітини залишаються практично незахищеними від руйнівальної дії продуктів пероксидації, відбувається суттєвий ушкоджуючий вплив перекисів на структуру біомембран. У таких хворих стають більш вираженими ознаки інтоксикації, диспепсичного синдрому, виникає жовтяниця, спостерігається значна активація маркерів цитолізу гепатоцитів (АлАТ та АсАТ), прискорюються процеси фіброзування в тканині печінки, розвивається цироз.

В таблиці 1 показаний розподіл хворих на ХГС в залежності від активності гепатиту та індексу декомпенсації АОС. За значеннями індексу декомпенсації, а саме: G-SH/МДА більше 0,2 відповідає стану компенсації АОС; 0,19-0,16 - стану субкомпенсації та <0,15 - стану декомпенсації АОС.

Таблиця 1

Індекс декомпенсації АОС	>0,2	0,19-0,16	<0,15
Групи спостереження			
I група - хворі з мінімальною активністю гепатиту (n=30)	6	22	2
II група - хворі із слабо вираженою активністю гепатиту (n=30)	3	23	4
III група - хворі з помірно вираженою активністю гепатиту (n=30)	2	9	19
IV група - хворі із вираженою активністю гепатиту (n=30)	1	4	25

Таким чином, в порівнянні з прототипом, запропонований спосіб дозволяє з високим ступенем вірогідності встановлювати ступінь активності патогенетичного процесу в печінці у хворих на хронічний гепатит С, що, в свою чергу, дозволяє своєчасно призначати адекватну антиоксидантну терапію.

Література:

1. Белобородова Э.И., Савченко И.В., Белобородова Е.В. и др. Метаболические аспекты прогнозирования исходов хронического вирусного гепатита // Российский журнал «Клиническая медицина», №2, 2005. - С.53-56.