



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **40164** (13) **U**
(51) МПК (2009)
A61B 5/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ОЦІНКИ АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ СЕРЦЕВУ НЕДОСТАТНІСТЬ**

1

2

(21) u200812876

(22) 04.11.2008

(24) 25.03.2009

(46) 25.03.2009, Бюл. № 6, 2009 р.

(72) МАЛЮКОВА НАТАЛІЯ ГЕОРГІВНА, UA

(73) ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ-ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, UA

(57) Спосіб оцінки активності антиоксидантної системи (АОС) у хворих на хронічну серцеву недостатність, що включає визначення за певний період

часу (1-2хв.) різниці потенціалів серця, який **відрізняється** тим, що за допомогою кардіоінтервалограми вимірюють різницю потенціалів серця шляхом визначення показників - мода (Mo) та амплітуда моди (A Mo) - до і через 2 години після перорального прийому 10,4мг імітатора фізіологічної дії оксиду азоту (нітрогранулонгу), причому при збільшенні величини A Mo активність АОС оцінюють як підвищену, а при зменшенні показників A Mo активність АОС оцінюють як знижену.

Корисна модель стосується медицини, а саме, терапії, і може бути використана при оцінці активності антиоксидантної системи (АОС) у хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН).

Установлення активності АОС, яка заважає ушкодженню клітин вільними радикалами, відіграє важливу роль у процесах метаболізму, необхідно для визначення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, обґрунтування вибору того або іншого методу лікування, рішення питання про необхідність призначення антиоксидантної терапії.

Відомий спосіб оцінки активності АОС здійснюється на підставі безпосереднього електрохімічного виміру окиснювально-відновних потенціалів. Антиокисну ємність плазми вимірюють методом циклічної вольтамперометрії на приладі Potentiostar Galvanostat Model 273 EG & G [Princeton Applied Research, США]. Використовують триелектродну систему. Як робочий електрод застосовують дисковий скловуглецевий електрод (Laboratory Instruments, Чехія) діаметром 2мм. Перед кожним визначенням електрод полірують. Платиновий дріт є допоміжним електродом, а насичений каломельний електрод - електродом порівняння. Зразок плазми в кількості 0,3мл змішують з фосфатним буферним розчином (1,5мл) при pH=7,4. Циклічні вольтамперограми знімають у діапазоні від -0,4 до -0,8 В зі швидкістю розгорнення 200мВ/с. Кожен зразок аналізують двічі. Результат дослідження зображується на дисплеї у виді графіка кривих циклічної вольтамперометрії, у яких по осі абсцис відбитий вимірюваний потенці-

ал, у В, по осі ординат - подаваний струм, у мкА. Коливання струму подають інформацію про тип і здатність антиоксидантів - донаторів електронів. Антиокисну активність визначають по відносному зменшенню сили струму. У нормі загальна АОС у здорових складає 123-178мкА, збільшення потенціалу свідчить про зниження активності АОС, зменшення - про підвищення активності АОС [Psotova J., Zahalkova J., Hrbac J. et al. Determination of total antioxidant capacity in plasma by cyclic voltammetry. Two case reports. // Biomedical Papers - 2001 - V.145 - N2 - P.81-83, Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Мальцева Е.В. Методы исследования антиоксидантов. //Химия растительного сырья - 2004 - №3 - С.63-75].

Спільною суттєвою ознакою аналога і корисної моделі, що заявляється, є така:

- оцінка активності антиоксидантної системи за даними електричного виміру окиснювально-відновних потенціалів.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що необхідні пукція вени для отримання плазми та складне технічне і коштовне оснащення [прилад Potentiostar Galvanostat Model 273 EG & G, Princeton Applied Research, США], що утрудняє використання методу в практичній медицині. Крім того, метод дозволяє визначити активність антиоксидантної системи не усього організму, а лише у пробі плазми крові.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатом, що досягається, є потенціометричний спосіб визначення антиокисної активності кро-

(13) **U**
(11) **40164**
(19) **UA**

ві шляхом визначення різниці електричних потенціалів, який полягає в наступному. В електродний осередок з електродами дозатором подають окиснювально-відновну систему (ОВС). ОВС - розчин, що містить одночасно окиснену і відновлену форми, діє на легкоокисненні речовини досліджуваної біологічної проби. Визначають і реєструють початковий потенціал ОВС (E_o). Дозатором вводять пробу (цільну кров, сироватку, плазму) і через фіксований час, коли практично закінчиться процес окислювання системою і потенціал системи складе не більш 2мв у хв (звичайно 5-10хв), вимірюють і реєструють кінцеве значення потенціалу ОВС. Різниця значень потенціалів ОВС до введення в неї проби (E_o) і через фіксований час (E_f) після початку окислювально-відновної реакції залежить від співвідношення концентрації окисленої і відновленої форм досліджуваної проби. Антиокисну активність визначають по кривій, що описує залежність активності від величини відновленої ємності. [Способ определения антиокислительной активности крови /Доброхотова Е.Г., Крунчак В.Г., Денисенко П.П. и др./Открытия - 1988 - №33-с. 182].

Спільною суттєвою ознакою прототипу і корисної моделі, що заявляється, є така:

- визначення різниці потенціалів (потенціометричного методу) шляхом установлення фонових і кінцевих потенціалів за визначений період часу.

Цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що дозволяє визначити активність системи лише у пробі біологічного субстрату (цільної крові, сироватці, плазмі), вимагає пункції вени для одержання крові, навичок лабораторної роботи, реактивів, спеціального устаткування.

Разом з тим активація ПОЛ-АОС супроводжується порушенням функціонування іонних каналів, зміною трансмембранного потенціалу і електричної збудливості клітин провідної системи та кардіоміоцитів, а імітатор фізіологічної дії оксиду азоту нітрогранулонг (НТГ) є вільним радикалом, ефект якого залежить від активності АОС, що відображається на різниці потенціалів серця і дозволяє встановлювати активність АОС організму по показниках кардіоінтервалограми після прийому НТГ.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробки доступного способу оцінки активності антиоксидантної системи у хворих хронічною серцевою недостатністю на рівні макроорганізму шляхом виміру за визначений період часу (1-2хв) різниці потенціалів серця і їх змін під впливом імітатора фізіологічної дії оксиду азоту (нітрогранулонгу), що дозволить підвищити якість діагностики та ефективність терапії хронічної серцевої недостатності.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі оцінки антиоксидантної системи у хворих хронічною серцевою недостатністю, який включає визначення за відповідний період часу (1-2хв) різниці потенціалів серця, новим є те, що різницю потенціалів серця вимірюють за допомогою кардіоінтервалограми. Показники кардіоінтервалограми: мода (Мо) - значення кардіоінтервала, що найбільш часто зустрічається, амплітуда моди (А Мо)

-число кардіоінтервалів, які відповідають Мо, виражене в % загального числа кардіоциклів масиву, обчислюють до і через 2 години після перорального прийому 10,4мг імітатора фізіологічної дії оксиду азоту (нітрогранулонгу). Причому при збільшенні показника А Мо через 2 години після прийому 10,4мг нітрогранулонгу активність АОС оцінюють як підвищену, а при зменшенні показника А Мо активність АОС оцінюють як знижену.

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

Проведеними дослідженнями встановлено, що зміна активності АОС, що настає під дією використовуваного як імітатор фізіологічної дії оксиду азоту (нітрогранулонгу) проявляється зміною різниці потенціалів серця, яка реєструється за відповідний період часу і виявляється при аналізі кардіоінтервалограми.

На відміну від використовуваних раніше методів дослідження активності АОС, пропонується метод дозволяє визначити активність досліджуваної системи не в обмеженому біологічному субстраті, а на рівні макроорганізму, що підвищує можливість діагностики ПОЛ-АОС і обґрунтування відповідної терапії. Крім того, метод не вимагає спеціального устаткування, коштовної апаратури, реактивів і лабораторних навичок. Таким чином, сукупність вищезазначених позитивних впливів дозволяє здійснювати визначення активності АОС у хворих ХСН за даними ЕКГ у будь-якій лікувальній установі, і, тим самим, підвищити ефективність діагностики і лікування цього захворювання.

Спосіб здійснюють таким чином. За даними електрокардіограми до і через 2 години після перорального прийому 10,4мг імітатора фізіологічної дії оксиду азоту (нітрогранулонгу) визначають тривалість 50 - 100 послідовних інтервалів R-R і обчислюють наступні показники: мода (Мо) - значення кардіоінтервала, що найбільш часто зустрічається, амплітуда моди (А Мо) - число кардіоінтервалів, які відповідають Мо, виражене в % загального числа кардіоциклів масиву. Причому при збільшенні через 2 години після прийому 10,4мг нітрогранулонгу, відносно вихідних даних, величини А Мо (контроль $28,9 \pm 1,3$), активність АОС оцінюють як підвищену, а при зменшенні показників А Мо, активність АОС оцінюють як знижену.

Приклад 1

Хвора Ф., 68 років, була госпіталізована у МСЧ №7 з діагнозом:

ІХС: кардіосклероз атеросклеротичний, атеросклероз вінцевих артерій і аорти, миготлива аритмія, ХСН ПБ-Ш ст. Гіпертонічна хвороба П ст. Залишкова явища інсульту. Історія хвороби №8253. За даними КІГ визначені наступні показники: до прийому НТГ Мо-0,64, А Мо-10,1, через 2 години після прийому 10,4мг НТГ Мо-0,54, А Мо-8,0 (зниження на 20,8%). При біохімічному дослідженні виявлено, що активність каталази (АК) склала 13,3мкат/л (контроль - $35,6 \pm 2,3$ мкат/л), рівень вітаміну Е-13,1мкмоль/л (контроль - $19,1 \pm 1,0$ мкмоль/л), вітаміну А1,29мкмоль/л (контроль - $1,85 \pm 0,17$ мкмоль/л). Активність АОС за даними КІГ оцінюється як знижена, що підтверджу-

ється виявленим при біохімічному дослідженні зниженим рівнем показників АОС АК (на 62,4%), вітамінів Е (на 31,4%) і А (на 30,3%).

Приклад 2

Хворий Г., 64 років, був госпіталізований у МСЧ №7 з діагнозом: ІХС: кардіосклероз атеросклеротичний, атеросклероз аорти і вінцевих артерій, ХСН ПА ст. Історія хвороби №5715. При аналізі КІГ визначені наступні показники: до прийому НТГ Мо-0,99, А Мо-17,6, через 2 години після прийому 10,4мг НТГ Мо-1,17, А Мо-25,0 (підвищення на 42,0%). При біохімічному дослідженні виявлено, що АК склала 61,2мкат/л (контроль - 35,6±2,3мкат/л). Активність АОС за даними КІГ оцінюється як підвищена, що підтверджується виявленим при біохімічному дослідженні збільшеним на 71,9% рівнем АК.

Приклад 3

Хворий А., 42 років, був госпіталізований у МСЧ №7 з діагнозом: ІХС: стенокардія напруги, функціональний клас Ш, кардіосклероз постінфарктний і атеросклеротичний, атеросклероз вінцевих артерій і аорти, ХСН 1ст., хронічний пієлонефрит, гіпертонічна форма, хронічна ниркова недостатність 0ст. Історія хвороби №7279. За даними КІГ визначені наступні показники: до прийому НТГ Мо-0,91, А Мо-22,2, через 2 години після прийому 10,4мг НТГ Мо-0,88, А Мо-30,0 (підвищення на 35,1%). При біохімічному дослідженні виявлено, що АК склала 66,5мкат/л (контроль - 35,6±2,3мкат/л), рівень вітаміну Е-7,73мкмоль/л (контроль - 19,1±1,0мкмоль/л), вітаміну А-4,47мкмоль/л (контроль - 1,85±0,17мкмоль/л). Активність АОС за даними КІГ оцінюється як збільшена, що підтверджується виявленим при біохімічному дослідженні підвищеним рівнем показників АОС АК (на 86,8%), вітаміну А (на 141,6%).