



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41929 (13) U  
(51) МПК (2009)  
G01N 33/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТАНУ СИСТЕМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЮВАННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ

1

2

(21) u200902087

(22) 10.03.2009

(24) 10.06.2009

(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.

(72) ЧЕРНИШОВА ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА, UA, НІКОЛЕНКО ЄВГЕНІЙ ЯКОВИЧ, UA, АБАШИН ВІКТОР МИХАЙЛОВИЧ, UA, ПИЛИПЕНКО НАТАЛІЯ ОЛЕГІВНА, UA, БРИКАЛІН ВАЛЕРІЙ ПАВЛОВИЧ, UA, НАГОРНА ОЛЕНА ПЕТРІВНА, UA, ДРОКІНА ОЛЕНА МИРОСЛАВІВНА, UA

(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, UA

(57) Спосіб оцінки стану систем перекисного окислювання ліпідів та антиоксидантного захисту, що включає визначення в сироватці периферичної крові інтенсивності ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$ , який відрізняється тим, що вимірюють швидкий спалах та світлосуму світіння протягом 60 секунд, потім розраховують інтегральний показник стану систем (ІПСС) ПОЛ-АОЗ за формулою:

$$IPCC = \frac{Cn - FC}{\text{Сум.св.}(n_1 + \dots + n_6) / 6 - FC}, \text{ де}$$

Cn - швидкий спалах ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$ , імп/с,  
FC - темновий струм, імп/с,

Сум. св. - світлосума, імп/с,

n - кожний вимір світлосуми, імп/с,

і при значеннях ІПСС реєструють:

в межах 2,6-3,9 - помірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ,

4,0 та більше - надмірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ,

2,5 та менше - виснаження функціональних резервів систем ПОЛ-АОЗ.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до лабораторних методів виявлення ступеня ушкодження процесів перекисного окислювання ліпідів (ПОЛ), і може бути використаною як інформативний метод, в якому за одним показником можна охарактеризувати стан систем ПОЛ та антиоксидантного захисту (АОЗ).

Швидкість протікання процесів перекисного окислювання ліпідів є найбільш чутливим тестом до будь-яких стресових ситуацій, що вказує на ступінь їхньої ваги, крім того, підвищення їх інтенсивності найбільш часто супроводжує патологію, тому вони є визначальними для прогнозу характеру, важкості перебігу та перспективи завершеності захворювання. В зв'язку з цим, окремі характеристики активності процесів ПОЛ, а також стійкості факторів АОЗ, що являються невід'ємною частиною їх стану, вносять важливу інформацію про зрушення в гомеостазі організму.

Один із сучасних варіантів методів вивчення стану процесів ПОЛ і АОЗ представлений у роботі Колодуба Ф.А. та співавторів [Ф.А.Коло дуб, А.И.Клейнер, В.М.Макощенко, Д.А.Кашкалда, П.Н.Мартынов. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у больных пневмокониозом и пылевый бронхитом // Медицина труда и промышленная экология -1993. - №11-12. - С.31-33]. Суть способу полягає в визначенні у сироватки крові характеру змін показників вільнорадикальних процесів (ВРП) та антиоксидантного захисту при захворюваннях бронхолегеневої патології професійного генеза. Для визначення першого показника - активності ВРП, узятий показник інтенсивності хемілюмінесценції (ХЛ), що індукована  $Fe^{2+}$ , в якій враховують максимальну амплітуду швидкого спалаху, а також суму світіння за 360 секунд. Для оцінки другого показника - антиоксидантної здатності сироватки, узятий показник ХЛ, що індукована  $H_2O_2$ , де також враховують амплітуду швидкого спалаху та суму світіння за 360 секунд. Підвищення інтенсивності ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$ , а також ХЛ, що індукована  $H_2C_2$ , вважають прогностично несприятливим показником, а при відсутності відхилень від контрольних значень - більш сприятливою ознакою стану систем ПОЛ-АОЗ та перебігу захворювання.

Даний спосіб оцінки стану систем ПОЛ та АОЗ є найбільш близьким за суттю та результатом до корисної моделі, що заявляється, тому його обрано за найбільш близький аналог.

(19) UA (11) 41929 (13) U

Недоліком відомого способу оцінки систем ПОЛ-АОЗ є його складність, тривалість, використання додаткових реактивів (перекису водню), а також відсутність однозначної оцінки функціонального стану систем ПОЛ-АОЗ.

У зв'язку з вищевикладеним, в основу корисної моделі покладена задача спрощення способу та розширення можливості оцінки функціонального стану систем ПОЛ-АОЗ.

Задачу, яку покладено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способу оцінки стану систем перекисного окислювання ліпідів та антиоксидантного захисту, що включає визначення в сироватці периферичної крові інтенсивності ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$ , згідно з корисною моделлю вимірюють швидкий спалах та світлосуму світіння протягом 60 секунд, після чого за формулою розраховують інтегральний показник стану систем (ІПСС) ПОЛ-АОЗ:

$$ІПСС = \frac{Сп - ФС}{Сум.св.(n_1 + ...n_6) / 6 - ФС}, \text{ де}$$

Сп - швидкий спалах ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$ , імп/с,

ФС - темновий струм, імп/с,

Сум. св. - світлосума, імп/с,

n - кожний вимір світлосуми, імп/с

і при значеннях ІПСС реєструють:

в межах 2,6-3,9 - помірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ

4,0 та більш - надмірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ

2,5 та менше - виснаження функціональних резервів систем ПОЛ-АОЗ

Спосіб здійснюють таким чином.

Венозну периферичну кров особи, яку обстежують, беруть натще. Шляхом центрифугування (20-25хв.), при 1500об/хв, виділяють сироватку. 200мкл сироватки наливають в кварцову кювету, додають 0,8мл ТРИС-НС1 буфера (рН 7,4-7,5), потім поміщають її в кюветне відділення хемілюмінометру (вітчизняний хемілюмінометр типу ХЛМ1Ц-01, що дозволяє вимірювати у режимі рахунку фотонів інтенсивність понадслабкого світіння в діапазоні от 200 до 600нм). Після цього проводять реєстрацію хемілюмінесценції, вимірюючи інтенсивність понадслабкого світіння у режимі рахунку фотонів. Спочатку вимірюють рівень фонового світіння, а потім додають 30мкл розчину  $FeSO_4$  (2мг/мл) і відразу ж реєструють спалах, після чого реєструють результати світіння за кожні 10с в перебігу 60 секунд (усього 6 цифр). Після виміру ХЛ розраховують інтегральний показник стану систем (ШСС) ПОЛ-АОЗ за формулою:

$$ІПСС = \frac{Сп - ФС}{Сум.св.(n_1 + ...n_6) / 6 - ФС}, \text{ де}$$

Сп - швидкий спалах ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$ , імп/с,

ФС - темновий струм, імп/с,

Сум. св.- світлосума, імп/с,

n - кожний вимір світлосуми, імп/с

і при значеннях ІПСС реєструють:

в межах 2,6-3,9 - помірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ

4,0 та більш - надмірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ

2,5 та менше - виснаження функціональних резервів систем ПОЛ-АОЗ

Ефективність способу ілюструють наступні приклади:

Приклад 1.

Робітник З., вік - 45 років, обрубник сталеливарного цеху, стаж у шкідливих умовах праці - 7 років.

Показник інтенсивності спалаху ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$  - 962,2імп/с, ФС - 242,5імп/с, то єсть  $962,2-242,5=719,7$ імп/с; показник світлосуми, середнє значення з 6 цифр - 482,5імп/с,  $(482,5-242,5)=240$ імп/с.

$ІПСС=719,7:240=3,0$  - відповідає помірному підвищенню активності систем ПОЛ-АОЗ.

Про це свідчать і інші показники систем ПОЛ-АОЗ: вміст малонового діальдегіду (МДА) в сироватки - 3,62мкМ/л, свідчить про низький рівень продуктів ПОЛ і, з другого боку, отже про ефективність роботи АОЗ. На це указує і високий рівень церулоплазміну (ЦП), основного антиоксиданту сироватки крові, його вміст склало - 2,1г/л.

В цілому, як ІПСС так і інші показники підтверджують достатньо легкий, не обтяжений стан робітника.

Приклад 2.

Робітник К., вік - 53 роки, чистильник обрубний ділянки чавуноливарного цеху, стаж у шкідливих умовах праці - 29 років.

Показник інтенсивності спалаху ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$  - 670,34імп/с, ФС - 297,9імп/с, то єсть  $670,34-297,9=372,44$ імп/с, показник світлосуми, середнє значення з 6 цифр=450,8імп/с,  $(450,8-297,9)=152,9$ імп/с,

$ІПСС=372,44:152,9=2,44$  - відповідає виснаженню функціональних резервів систем ПОЛ-АОЗ.

Про це свідчать і інші показники ПОЛ-АОЗ: вміст МДА в сироватки - 10,03мкМ/л, свідчить про підвищений рівень продуктів ПОЛ і, отже зніжену ефективність роботи АОЗ. На це указує і достатньо низький рівень ЦП, основного антиоксиданту сироватки крові, його вміст склало - 1,6г/л.

Приклад 3.

Хворий Б., Історія Х. №963, вік - 50 років, основний діагноз - хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) II стадії у фазі ремісії. Супутні захворювання - емфізема легень I-II ступеню, дихальна недостатність II ст., гіпертонічна хвороба 2-й стадії, ішемічна хвороба серця (ІХС).

Показник інтенсивності спалаху ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$  - 900,75імп/с, ФС - 211,3імп/с, то єсть  $(900,75-211,3)=689,45$ імп/с; показник світлосуми, середнє значення з 6 цифр=385,2імп/с,  $(382,5-211,3)=171,2$ імп/с,

$ІПСС=689,45:171,2=4,03$  - відповідає про надмірне підвищення активності систем ПОЛ-АОЗ.

Про це свідчать і інші показники систем ПОЛ-АОЗ: вміст МДА в сироватки - 11,2мкМ/л, це достатньо низький для хворого рівень, може свідчити що ефективність роботи АОЗ ще в припустимих границях. Рівень ЦП, основного антиоксиданту сироватки крові надмірне високий, його вміст

склало - 3,4г/л, що може свідчить про активність запального процесу.

Приклад 4.

Хворий А., Історія Х. №545, вік - 66 років, основний діагноз - ХОЗЛ II-III стадії, у фазі загострення. Супутні захворювання - емфізема легень II ступеню, дихальна недостатність III ст., гіпертонічна хвороба 2-й стадії, ІХС, атеросклероз, кардіосклероз, недостатність мітрального клапана.

Показник інтенсивності спалаху ХЛ, що індукована  $Fe^{2+}$  - 652,4 імп/с, ФС - 251,5 імп/с, то єсть  $(652,4 - 251,5) = 400,9$  імп/с; показник світлосуми,

середнє значення з 6 цифр = 599,7 імп/с,  $(599,7 - 251,9) = 347,8$  імп/с,

ІПСС =  $400,9 : 347,8 = 1,15$  - відповідає стадії крайнього виснаження функціональних резервів систем ПОЛ-АОЗ.

Про це свідчать і інші показники систем ПОЛ-АОЗ: вміст МДА в сироватки - 16,5 мкМ/л, свідчить про підвищений рівень продуктів ПОЛ і, отже зніжену ефективність роботи АОЗ. На це указує і достатньо низький рівень ЦП, основного антиоксиданту сироватки крові, який склав - 1,28 г/л. В цілому, як ІПСС так і інші приведені показники підтверджують дуже тяжкий стан хворого.