



УКРАЇНА

(19) UA (11) 65627 (13) U
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО ЕНЕРГООБМІНУ

1

2

(21) u201106334

(22) 20.05.2011

(24) 12.12.2011

(46) 12.12.2011, Бюл. № 23, 2011 р.

(72) ШКЛЯР СЕРГІЙ ПЕТРОВИЧ, МАРЧЕНКО ВІРА ГРИГОРІВНА, ЦОДІКОВА ОЛЬГА АНАТОЛІЙВНА, ЧЕРКАШИНА ЛІДІЯ ВОЛОДИМИРІВНА, БАРЧАН ГАННА СЕРГІЙВНА, ШКЛЯР АНАСТАСІЯ СЕРГІЙВНА

(73) ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ-ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

(57) Спосіб оцінки ефективності корекції мітохондріального енергообміну, що здійснюють шляхом

дослідження показників крові, який відрізняється тим, що у лімфоцитах периферичної крові пацієнтів визначають вміст лактатдегідрогенази та рівень загального карнітину у сироватці крові, до початку лікування та після його закінчення, і коли показник гістохімічної активності лактатдегідрогенази лімфоцитів менше, а загального карнітину більше попереднього рівня, роблять висновок про ефективну корекцію мітохондріального енергообміну і навпаки.

Корисна модель належить до медицини, зокрема санології, неврології, дерматології, педіатрії та інших клінічних спеціальностей і може застосовуватися в технологіях клініко-лабораторного моніторингу задля індивідуалізації комплексного лікування пацієнтів, первинної та вторинної профілактики.

Виникнення та розвиток хронічних захворювань супроводжується перебудовою функціонального стану контактних захисних систем організму людини, насамперед енергетичного гомеостазу та, зокрема, біоенергетики клітин на мітохондріальному рівні [Михайлова Л. Н. Репаративная регенерация костной и хрящевой ткани в условиях воздействия различных биомеханических факторов; автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора мед. наук /Институт эволюционной морфологии и экологии животных им. А. Н. Северцова. - М., 1988. - 29 с.]. Як правило, при будь-якому патологічному процесі зростають енергетичні втрати організму, особливо на тлі системної прозапальної відповіді, що і слугує чинником мітохондріально зумовлених порушень, які складають морфологічний субстрат формування патології [Зеленько О. А. Вплив комбінованої дії стрес-факторів на перебіг адаптаційних реакцій організму // Фізiol. журнал. - 2002. - Т. 48, № 2. - С. 97-98.], насамперед за рахунок гіпоксії тканин та порушень

окислювального фосфорилування і зниження активності мітохондріальної транспортної системи [Коган В. С., Орлов О. Н., Прилипка Л. Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. - М.: Медицина, 1986. - 287 с.]. Окрім того, в патогенезі більшості відомих патологічних процесів діагностично цінним та прогностично значимим є активація цитокінового каскада, пошкодження ендотеліоцитів, гіпоксія тканин та, як наслідок, формування мікроциркуляторно-мітохондріального дистрес-синдрому.

Відомий спосіб оцінки біоенергетичного обміну та діагностики мітохондріально залежних розладів біоенергетики клітин, який включає урахування стану енергетичного обміну на рівні ферментативного аеробного та анаеробного ланцюгів мітохондріальної біоенергетики. При цьому, активність аеробних мітохондріальних ферментів: сукцинатдегідрогенази (СДГ), глутаматдегідрогенази (ГДГ) та анаеробних мітохондріальних ферментів α -гліцерофосфатдегідрогенази (α -ГФДГ) та позамітохондріальної лактатдегідрогенази (ЛДГ) визначають у лімфоцитах периферичної крові, застосовуючи кількісний цитохімічний метод Пірса у модифікації Р. П. Нарцисова (1986) і Э. И. Обозной (1989) у реакції з нітрофіолетовим тетразолієм з наступною візуалізацією та морфометрією [Чевари С., Андеял Т., Штрэнгер Я. Определение

(19) UA (11) 65627 (13) U

антиоксидантних параметрів крові и их диагностическое значение //Лабораторное дело. - 1991. - № 10. - С. 9-13]. Спосіб базується на здатності п-нітротетразолія фіолетового в процесі ферментативної реакції утворювати водонерозчинні гранули формазана, кількість яких підраховують у кожній з клітин. Цитохімічні реакції виконують на мазках крові, з фіксацією препарату проводять розчином ацетону, попередньо насиченого динатрієвою сіллю етилендіамінтетраоцетної кислоти за визначених стандартних умов цитохімічної фіксації мазків; для визначення активності ферменту в популяції лімфоцитів - підраховують кількість гранул формазана з подальшим перерахунком рівня ферментів в гранулах на клітину. Зростання ферментативної активності супроводжується збільшенням у лімфоцитах кількості гранул формазана; водночас, утворення в лімфоцитах поліморфних, великих агрегатів формазана, свідчить про пошкодження мітохондрій, насамперед - мітохондріальних мембран. Недоліками цього способу є неврахування загальної реакції окислювального гомеостазу у взаємозв'язку з типом мітохондріального енергодефіциту клітин, що знижує точність діагностики, особливо на ранніх стадіях формування патології.

Відомий також спосіб оцінки стану біоенергетичного обміну, зокрема мітохондріальної біоенергетики, шляхом визначення рівня вмісту загального карнітину сироватки крові ензиматичним методом [Коган В. С., Орлов О. Н., Прилипка Л. Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. - М.: Медицина, 1986. - 287с.]. Спосіб базується на здатності вільного карнітину ацилізуватися при взаємодії з ацетил-КоА у присутності карнітил-ацетил-трансферази; коензим А, що утворюється в результаті реакції, взаємодіючи з 5,5'-дیتیобис-2-тетробензойною кислотою, утворює забарвлений продукт, а кількість цього продукту пропорційно вмісту вільного карнітину; визначається спектрофотометрично при визначеній довжині хвилі, а отриманий результат перераховується в мкмоль/л сироватки крові. Недоліком цього способу, також, є неврахування загальної реакції окислювального гомеостазу у взаємозв'язку з типом мітохондріального енергодефіциту клітин, що знижує точність діагностики та є значимим, особливо на ранніх стадіях формування патології.

Відомий спосіб оцінки ефективності корекції біоенергетики за показниками стану окислювального гомеостазу: окисної модифікації білків, нуклеїнових кислот та рівнями вмісту первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів мембран клітин (Шкляр С. П., Фролова Т. В., Черкашина Л. В. Діагностика адаптаційних реакцій системи антиоксидантного захисту //Методичні рекомендації МОЗ України. - К., 2007. - 20 с.; Черкашина Л. В. Мета-аналіз функціонального стану окислювального гомеостазу під впливом антиоксидантної терапії хворих з системними дерматозами //Медицина 1...- 2008. - № 3. - С. 45-50). Цей спосіб дозволяє диференціювати наявність у пацієнта однієї із реакцій окислювального гомеостазу: функціональної компенсації, дисбалансу чи метаболічної компенсації. Для його здійснення викону-

ють біохімічне дослідження периферичної крові пацієнта, визначаючи стан ферментативного ланцюга окислювального гомеостазу за вмістом супероксиддесмутази, глутатіонпероксидази, каталази у еритроцитах та α -токоферолу ацетату у сироватці крові. Окрім того, визначають вміст продуктів перекисного окислення ліпідів: малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів і вміст NO-залежних метаболітів в плазмі, а також вміст білкових компонентів у сироватці крові динітрофенілгідрозонів та альдегідних і карбонільних продуктів окисної модифікації білків у спонтанних та індукованих біохімічних реакціях. Після чого, застосовуючи спеціальний табличний алгоритм, виконують диференційну діагностику реакцій окислювального гомеостазу. Недоліком цього способу є його громіздкість та ресурсозатратність, а також недовраховання типу мітохондріального енергодефіциту клітин, що знижує точність діагностики та збільшує терміни її виконання.

Цей спосіб є найбільш близьким по технічній суті та результату, що може бути досягнуто, тому його вибрано за найближчий аналог.

В основу корисної моделі покладено задачу удосконалення способу оцінки ефективності корекції мітохондріального енергообміну, в якому за рахунок урахування цитохімічної активності індикативних мітохондріальних ферментів у лейкоцитах периферичної крові та маркерів енергодефіцитності окислювального гомеостазу у сироватці крові, досягається зменшення ресурсозатратності та підвищення точності.

Поставлена задача, вирішується тим, що у відомому способі оцінки ефективності корекції, який містить дослідження показників крові, згідно з корисною моделлю, у лімфоцитах периферичної крові пацієнтів визначають вміст лактатдегідрогенази та рівень загального карнітину у сироватці крові до початку лікування, та після його закінчення, і коли показник гістохімічної активності лактатдегідрогенази лімфоцитів менше, а загального карнітину більше попереднього рівня, роблять висновок про ефективну корекцію мітохондріального енергообміну і навпаки.

Зменшення ресурсозатратності та підвищення точності оцінки ефективності корекції біоенергетичного обміну у пацієнтів з хронічною патологією досягають тим, що для процедури діагностики застосовують найбільш інформативні показники, що дозволяє відповідним чином індивідуалізувати лікувально-профілактичну тактику.

Спосіб виконують наступним чином. В спеціальних умовах стаціонару або поліклініки, із плечової вени забирають необхідну кількість крові для проведення біохімічного та гістохімічного її дослідження до та після лікування, після чого у лімфоцитах визначають вміст лактатдегідрогенази, а у плазмі крові - рівень вмісту загального карнітину, і коли показник гістохімічної активності лактатдегідрогенази менше, а загального карнітину більше попереднього (до лікування) рівня, роблять висновок про ефективну корекцію біоенергетичного обміну; і навпаки.

Приклад, який ілюструє спосіб. Пацієнт Ю., 23 роки, госпіталізований до профільного стаціонару

в зв'язку з дисморфобією. До початку лікування пацієнту виконано біохімічне дослідження щодо визначення рівня вмісту загального карнітину у сироватці крові (становить 26,5 мкмоль/л) та гістохімічне дослідження вмісту лактатдегідрогенази у лейкоцитах (становить 11,7 гр/кл). Після закінчення лікування пацієнту повторно виконано біохімічне дослідження щодо визначення рівня вмісту загального карнітину у сироватці крові (становить

34,8 мкмоль/л) та гістохімічне дослідження вмісту лактатдегідрогенази у лейкоцитах (становить 8,5 гр/кл). Оскільки на етапах лікування пацієнта рівень вмісту карнітину збільшився (з 26,5 до 34,8 мкмоль/л), а вміст лактатдегідрогенази у лейкоцитах зменшився (з 11,7 до 8,5 гр/кл) то, згідно з корисною моделлю, можна зробити висновок про ефективність корекції мітохондріального енергообміну.