



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **100040**

(13) **U**

(51) МПК

A61B 5/145 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 13103	(72) Винахідник(и): Лемко Ольга Іванівна (UA), Габор Магдалина Людвиківна (UA), Решетар Діана Василівна (UA), Лукашук Світлана Василівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.12.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2015	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2015, Бюл.№ 13	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "РЕАБІЛІТАЦІЯ" МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", вул. Великокам'яна, 10, м. Ужгород, Закарпатська обл., 88000 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЕНДОГЕННІЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЧАСТО ХВОРИЮЧИХ ДІТЕЙ

(57) Реферат:

Спосіб визначення ендогенної інтоксикації у часто хворіючих дітей шляхом визначення рівня малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові та активності супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах крові. Розраховується коефіцієнт вільнорадикального окислення за формулою СОД/МДА, причому зменшення величини співвідношення нижче $1,25 \pm 0,04$ вказує на наявність ендогенної інтоксикації, пов'язаної з недостатністю нейтралізуючого впливу СОД на деструкцію ліпідів цитоплазматичних мембран.

UA 100040 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема біохімії та педіатрії, та може бути використана для визначення наявності і ступеня ендогенної інтоксикації, пов'язаної з розвитком оксидативного стресу (порушенням балансу між ліпопероксидацією та антиоксидантним захистом - АОЗ) у дітей з рецидивуючими інфекційно-запальними процесами бронхолегеневої системи та ЛОР-органів.

Вітчизняна педіатрична служба виділяє категорію часто хворіючих дітей (ЧХД), які частіше, ніж однолітки хворіють гострими респіраторними захворюваннями (ГРЗ), що зумовлює розвиток рецидивуючої патології бронхолегеневої системи та сприяє появі нападів бронхіальної астми [1]. Критеріями включення пацієнтів в групу ЧХД є рекомендації В.Ю. Альбінського і А.А. Баранова, згідно з якими серед дітей старше 5 років часто хворіючими вважаються ті, які мають 4 і більше епізодів ГРЗ за рік.

Зростання частоти рецидивуючих інфекційно-запальних процесів органів дихання у дітей веде до розвитку хронічної бронхолегеневої патології в дорослому віці [2]. Розвиток рецидивуючих інфекційно-запальних процесів, в більшості випадків, асоціюється із зниженням імунної реактивності організму, яка у великій мірі може бути пов'язана як із зовнішніми несприятливими екологічними умовами, так і з ендогенною інтоксикацією, що розвивається при частих респіраторних захворюваннях у дітей [1].

Однією з ланок патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації у ЧХД є розвиток оксидантного стресу, який зумовлений порушенням балансу між процесами ліпопероксидації та активністю антиоксидантної системи [3].

Відомо, що різні патологічні стани супроводжуються метаболічними порушеннями з тим чи іншим ступенем вираженості [4]. При цьому в рідинах і тканинах організму нагромаджуються проміжні та кінцеві продукти нормального і порушеного обміну речовин, які спричиняють токсичний вплив і викликають дисфункції різних органів та систем [5, 6]. Серед широкого переліку метаболітів, які здатні спричинити токсичну дію, заслуговують на увагу продукти перекисного окислення ліпідів (ПОЛ).

Вільнорадикальне окислення порушує структурно-функціональну організацію біомембран і є одним з провідних універсальних механізмів ушкодження мембранних структур клітин, що веде до змін нормального їх метаболізму. Важливо підкреслити, що зміни вільнорадикальних процесів в організмі звичайно передують появі клінічних симптомів ушкодження, а тяжкість перебігу запального процесу і його перехід в хронічну форму збігається з наростанням концентрації в крові продуктів ПОЛ [7]. Відомо, що захист від ушкоджуючого впливу продуктів ПОЛ здійснює багатокомпонентна система антиоксидантів. В фізіологічних умовах система протиантиоксиданти знаходиться у рівновазі, однак це співвідношення не є сталим і, залежно від реактивності організму та впливу різних факторів, може змінюватись [8, 9, 10]. Неконтрольована активація ПОЛ є особливо небезпечною для дітей, механізми антиоксидантного захисту у яких недосконалі.

В сучасній літературі синдром ендогенної інтоксикації розглядається як неспецифічний процес за більшістю клінічних, біохімічних і імунологічних ознак, що проявляється невідповідністю між утворенням і екскрецією як продуктів нормального обміну, так і речовин патологічного метаболізму [11]. За своєю суттю метаболічна інтоксикація є закономірним наслідком порушень мікроциркуляції, газообміну, процесів ПОЛ, які призводять до накопичення в тканинах і біологічних рідинах продуктів обміну, тканинної деструкції і клітинних стресових медіаторів [12].

Відомо, що серед різноманітних складових інтоксикації особливе місце посідають молекули середньої маси (МСМ), в першу чергу їх пептидні компоненти, котрі, на думку багатьох дослідників, відіграють значну роль в процесах ендотоксикозу [5].

Існує спосіб визначення ступеня ендогенної інтоксикації на основі визначення рівня МСМ [5] (прототип), однак цей показник не дає інформації щодо патогенетичних механізмів розвитку ендотоксикозу і потребує збільшення об'єму крові для дослідження або ж додаткового забору крові, що у дітей завжди є проблематичним, особливо поза гострим перебігом хвороби. У зв'язку з цим постає питання оцінки ендогенної інтоксикації на основі уже наявних досліджень або ж проведення обстежень, які не тільки дають інформацію про наявність ендотоксикозу, але й розкривають патогенетичні основи його виникнення та дають можливість провести відповідну корекцію лікування.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки комплексного показника для оцінки ступеня ендотоксикозу у дітей з рецидивуючими інфекційно-запальними процесами, особливо поза гострим періодом захворювання, з метою розкриття патогенетичних механізмів ендотоксикозу, визначення доцільності включення антиоксидантних засобів в комплексне

лікування часто хворіючих дітей, зменшення об'єму крові, що забирається для обстежень, та уникнення необхідності додаткового забору крові.

Поставлена задача вирішується у способі, що включає визначення рівня малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові та активності супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах крові, у якому згідно з корисною моделлю, розраховується коефіцієнт вільнорадикального окислення за формулою СОД/МДА, причому зменшення величини співвідношення нижче $1,25 \pm 0,04$ вказує на наявність ендогенної інтоксикації, пов'язаної з недостатністю нейтралізуючого впливу СОД на деструкцію ліпідів цитоплазматичних мембран.

Необхідно зауважити, що МДА є основним показником процесу деструкції ліпідів, руйнування цитоплазматичних мембран, неферментативного окислення ненасичених жирних кислот, а механізм захисту визначається активністю СОД, що відповідає за нейтралізацію ушкоджуючого впливу супероксидних радикалів.

Слід відмітити, що зниження величини співвідношення СОД/МДА супроводжується підвищенням рівня МСМ, які є загальновизнаними маркерами ендогенної інтоксикації, що підтверджує діагностичну значимість розрахунку цього співвідношення.

Запропонований спосіб має ряд суттєвих переваг над прототипом, а саме: розкриває патогенетичну суть ендотоксикозу, що дозволяє вносити відповідні корекції в комплексне лікування, спрямовані на усунення причини ендотоксикозу і не потребує збільшення об'єму крові, необхідного для проведення дослідження, що особливо актуально у дітей.

Спосіб здійснюється наступним чином:

- визначається активність СОД в еритроцитах крові, методом, що ґрунтується на здатності СОД гальмувати реакцію аутоокислення адреналіну при $pH=10,2$ [13];

- визначається рівень МДА в сироватці крові за здатністю МДА при високих температурах у кислому середовищі реагувати з 2-тіобарбітуровою кислотою і утворювати забарвлений триметильний комплекс [13];

- проводиться обчислення коефіцієнта вільнорадикального окислення за формулою $K=СОД/МДА$, а величина цього співвідношення нижче рівня контрольної групи практично здорових осіб ($1,25 \pm 0,04$) вказує на наявність ендогенної інтоксикації, пов'язаної з недостатністю нейтралізуючого впливу СОД на деструкцію ліпідів цитоплазматичних мембран.

Дослідження за відомим і новим способами проведені у 38 часто хворіючих дітей та у 11 практично здорових дітей віком 6-10 років. Проведені дослідження показали, що прояви оксидантного стресу у групи ЧХД зберігаються і поза періодом загострення (див. таблицю), що є основою для розвитку ендогенної інтоксикації, сприяє подальшому прогресуванню патологічного процесу та вимагає проведення відновлювального лікування.

Таблиця

Показники ПОЛ, АОЗ та МСМ в крові часто хворіючих дітей поза гострим періодом

Показники, одиниці виміру	Контрольна група (n = 11)	Група ЧХД (n = 38)	p
ІПЗ, од.оп.г./мл	$2,73 \pm 0,11$	$3,03 \pm 0,13$	$0,05 < p < 0,1$
ДК, од.оп.г./мл	$1,33 \pm 0,08$	$1,45 \pm 0,06$	-
КД, од.оп.г./мл	$0,67 \pm 0,03$	$0,73 \pm 0,03$	-
МДА, нмоль/мл	$3,22 \pm 0,05$	$3,63 \pm 0,15$	$< 0,02$
ОШ, од.оп.г./мл	$0,30 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,03$	$0,05 < p < 0,1$
СОД, од/мг Hb	$3,93 \pm 0,12$	$3,59 \pm 0,08$	$< 0,05$
Каталаза, %,	$64,4 \pm 1,19$	$64,4 \pm 1,77$	-
МСМ ум.од.	$0,53 \pm 0,02$	$0,83 \pm 0,05$	$< 0,001$
СОД/МДА	$1,25 \pm 0,04$	$1,05 \pm 0,06$	$< 0,01$

Примітка: p - достовірність різниці показників контролю та ЧХД.

Даний стан характеризується дисбалансом в системі перекисне окислення ліпідів-антиоксидантний захист (ПОЛ-АОЗ), а саме: надлишковим нагромадженням переважно вторинних (МДА) і кінцевих (основ Шиффа-ОШ) продуктів ліпопероксидації на тлі пригніченої активності основного ферменту АОЗ - СОД.

Ці зміни супроводжувались одночасним вираженням достовірним зростанням рівнів МСМ, які є маркерами ендогенної інтоксикації. Слід ще раз відмітити, що наростання ендогенної інтоксикації сприяє імуносупресії та хронізації інфекційно-запальних процесів.

Проведено також кореляційний аналіз між величиною співвідношення СОД/МДА та рівнем МСМ. Підтверджено наявність від'ємного кореляційного зв'язку помірної сили між цими показниками ($r=-0,45$), тобто зменшення величини співвідношення нижче нормальних величин ($1,25\pm 0,04$) супроводжується підвищеним рівнем МСМ, які є маркерами ендогенної інтоксикації.

Отже, розраховуючи співвідношення СОД/МДА, навіть без додаткового визначення рівню МСМ, можна судити про наявність та ступінь вираженості ендотоксикозу, зумовленого порушенням балансу в системі ПОЛ-АОЗ.

Корисну модель можна використовувати для діагностики і моніторингу вираженості ендогенної інтоксикації у дітей з частими інфекційно-запальними процесами в органах дихання та ЛОР-органах поза гострим періодом, визначення доцільності включення антиоксидантних впливів в комплексне лікування, спрямованих на повноцінне оздоровлення дітей і попередження розвитку хронічної бронхолегеневої патології.

Джерела інформації:

1. Речкин Е.А. Часто болеющие дети и роль иммунокорекции в их лечении / Е.А. Речкин // Астма та алергія. - 2013. - № 1. - С. 44-47.

2. Кучма В.Р. Физическое развитие детей Украины и России в начале XXI столетия / В.Р. Кучма, Н.А. Скоблина, А.Г. Платонова. - К.: Генеза, 2013. - 128 с.

3. Павлишин Г.А., Сарапук І.М. Окисний стрес у дітей раннього віку при негоспітальній пневмонії / Г.А. Павлишин, І.М. Сарапук / Педіатрія, акушерство та гінекологія. - 2012. - № 4. - С. 25-28.

4. Антипкин Ю.Г. Рецидивирующий бронхит у детей: дискуссионные вопросы / Ю.Г. Антипкин, Т.Р. Уманец // Здоров'я України. - 2008. - № 18 (1). - С. 19-21.

5. Радченко О.М. Синдром ендогенної інтоксикації в клініці внутрішніх хвороб (огляд літератури та власні спостереження) / О.М. Радченко, М.О. Кондратюк // Медична гідрологія та реабілітація. - 2009. - Т. 7, № 3. - С. 25-32.

6. Формирование окислительного стресса у мальчиков-подростков с артериальной гипертензией / Л.И. Колесникова, Л.В. Натяганова, Е.В. Осипова и др. // Вопросы диагностики в педиатрии. - 2012. - № 4 (4). - С. 43-45.

7. Цимбаліста О.Л. Корекція порушень прооксидантно-антиоксидантної системи у дітей, хворих на ускладнену позалікарняну пневмонію / О.Л. Цимбаліста, Г.М. Єрстенюк, О.І. Гаврилук // Перинатологія і педіатрія. - 2011. - № 4. - С. 73-75.

8. Применение антиоксидантных препаратов в педиатрической практике / И.Н. Захарова, Т.М. Творогова, Е.В. Скоробогатова, Е.Г. Обычная // Трудный пациент. - 2010. - № 8 (3). - С. 33-36.

9. Нагорная Н.В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н.В. Нагорная, Н.А. Четверик // Здоровье ребенка. - 2010. - № 2 (23). - С. 140-145.

10. Lee W.J. Future applications of antioxidants in premature infants / J.W. Lee, J.M. Davis // Curr. Opin. Pediatr. Author manuscript. - 2011. - Vol.23, № 2 - P. 161-166.

11. Шано В.П. Синдром эндогенной интоксикации / В.П. Шано, Е.А. Кучер // Острые неотложные состояния в практике врача. - 2011. - № 1 (25). - С. 35-41.

12. Patologikal aspects of lipid peroxidation / A. Negre-Salveyre, N. Auge, V. Ayala [et al] // Free Radic. Res. - 2010. - Vol. 44, № 10. - P. 1125-1171.

13. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: методичні рекомендації. / Л.М. Овсяннікова, С.М. Альохіна, О.В. Дробінська [та ін.]. - Київ: Друкарня Агентства «Чорнобильінтерінформ». - 1999. - 18 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення ендогенної інтоксикації у часто хворіючих дітей шляхом визначення рівня малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові та активності супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах крові, який **відрізняється** тим, що розраховується коефіцієнт вільнорадикального окислення за формулою СОД/МДА, причому зменшення величини співвідношення нижче $1,25\pm 0,04$ вказує на наявність ендогенної інтоксикації, пов'язаної з недостатністю нейтралізуючого впливу СОД на деструкцію ліпідів цитоплазматичних мембран.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601