

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ
№ 93433

СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ
СИСТЕМИ КРОВІ ЗА УМОВ ВОДНОГО ТА СОЛЬОВОГО
НАВАНТАЖЕННЯ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.09.2014.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України

— М.В. Ковіня

Covin



Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до нормальної фізіології та біохімії, і може бути використана при клінічних діагностичних та наукових дослідженнях, а також при виконанні експериментальних науково-дослідних робіт.

Співвідношення прооксидантних та антиоксидантних систем визначає антиоксидантний статус організму. Порушення цього статусу призводить до синдрому пероксидації, який включає деструкцію клітинних мембрани, інактивацію і трансформацію ферментів, пригнічення процесів поділу клітини, накопичення інертних біополімерів типу ліпофусцину, і є патогенетичним чинником виникнення захворювань.

Механізм антиоксидантного захисту організму може реалізуватися двома шляхами: 1) зниження рівня генерування активних форм кисню (АФК) та радикалів унаслідок обриву ланцюгів вільнопардикальних реакцій, що забезпечується ферментативною (супероксидисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіон-8-трансфераза, які постійно відновлюють супероксид (H_2O_2), і органічні гідропероксиди, та чинять перешкоду розвитку пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у біомембрахах), або неферментативною (численна група ендогенних сполук, які здатні взаємодіяти з активними формами окисигену і переривати процес ПОЛ) антиоксидантними системами; 2) видалення пулу металів змінної валентності (залізо, мідь) за рахунок зв'язування їх із білками (трансферин, лактоферін, церулоплазмін), що усуває можливість їх участі у вільнопардикальних реакціях.

Антиоксиданти прямої дії (вільні радикали жирних кислот, пероксиди і гідропероксиди ліпідів) безпосередньо інактивують АФО. Ці антиоксиданти спроможні гальмувати реакції ліпопероксидації, зокрема у біологічних мембрахах, у дуже низьких концентраціях.

Сумарна антиоксидантна активність "прямих" антиоксидантів визначається спроможністю утвореного радикала самого антиоксиданту паралельно з реакціями рекомбінації з утворенням стабільних молекул ініціювати нові ланцюги вільнопардикального окиснення при взаємодії з кожною новою молекулою окисненої сполуки. Ендогенні "прямі" антиоксиданти мають більш виражену антиоксидантну активність.

Біоантиоксиданти непрямої дії: попередники глутатіону (глутамінова кислота, цистеїн, метіонін), селеноорганічні сполуки, які є індукторами пероксидаз (натрію селеніт і селеновмісні аналоги амінокислот), рибофлавін, нікотинова кислота, метіонін, селен, мідь, цинк, марганець є ефективними тільки в біологічних об'єктах, але неефективні *in vitro* - сприяють синтезу чи активності "прямих" антиоксидантів або знижують продукування АФК, реактивують антиоксидантні ферменти чи викликають зсув реакцій вільнопардикального окиснення в бік утворення менш реакційноздатних сполук. Зміни вмісту біооксидантів у різних компартментах клітини є сигналом для зміни вмісту антиоксидантних ферментів. Тому актуальним є дослідження показників вільнопардикального окиснення ліпідів і білків та активностей ферментів антиоксидантного захисту, які забезпечують оксидантно-антиоксидантну рівновагу в крові.

Найближчим аналогом (порототипом) корисної моделі є спосіб визначення загальної антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові (Пат. № 31683, МПК G01N 33/49. Спосіб визначення загальної антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові. Мещищен І.Ф., Пішак В.П., Польовий В.П., Магаліс В.М., Вісоцька В.Г.; Заявник Магаліс В.М. - № заяви і200709374 від 17.08.2007; опубл. 25.04.2008 р., Бюл. №8), який характеризується простотою виконання, доступністю реактивів і доброю відтворюваністю за гальмуванням плазмою (сироваткою) крові пероксидного окиснення ліпідів головного мозку щурів.

Недоліком прототипу-способу є визначення загальної антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові, без врахування впливу водного та сольового навантаження, що впливає на стан основних показників оксидантно-антиоксидантної системи крові.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб визначення антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові в умовах водного та сольового навантаження, що впливає на стан основних показників оксидантно-антиоксидантної системи крові.

Спільною ознакою корисної моделі та прототипу є визначення загальної антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові.

Відмінною ознакою корисної моделі від прототипу є визначення оксидантно-антиоксидантної системи крові в умовах водного та сольового навантаження.

Спосіб здійснюється наступним чином. Для вирішення поставленої задачі, дослідження проведено на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях, масою 180 ± 10 г. Тварини перебували в умовах віварію зі сталим температурним та світловим режимами і були розподілені на такі групи: 1-а група (n=8) - контрольна (тварини, які не отримували водного та сольового навантаження); 2-а група (n=8) - тварини, які отримували 5 % водне навантаження (5 мл води на 100 г маси тіла тварини); 3-я група (n=8) - тварини, які отримували 3 % сольове

навантаження (з розрахунку 3 мл 0,45 % розчину NaCl на 100 г тіла тварини); 4-а група (n=8) - тварини, яким проводилось 0,75 % сольове навантаження (з розрахунку 0,75 мл 0,45 % розчину NaCl на 100 г тіла тварини).

5 Проводять збір сечі та визначають величину діурезу (мл /2 год. /100г маси тіла). Водне та сольове навантаження проводять за 2 години до евтаназії внутрішньошлунково через металевий зонд. Сечу збирають впродовж 2 годин після навантаження і визначають величину діурезу (мл /2 год. /100 г маси тіла). Через 2 год. після навантаження проводять евтаназію тварин шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Евтаназію тварин здійснюють відповідно до вимог Європейської конвенції з захисту експериментальних тварин (86/609 ЄЕС).

10 Кров збирають в пробірки з гепарином, для одержання гепаринізованої плазми.

У крові визначають вміст ТБК-реакційних продуктів, каталазну та глутатіонпероксидазну активності. У плазмі крові досліджують вміст продуктів окисно-модифікованих білків (ПОМБ), церулоплазміну (ЦП), глутатіон-8-трансферазну активність (FST).

15 При використанні запропонованого способу відмічено наступне: як водне, так і сольове навантаження через 2 години призводять до підвищення вмісту ТБК-реакційних продуктів в крові щурів і не впливають на вміст продуктів окисно-модифікованих білків. Серед системи антиоксидантного захисту в сироватці крові щурів при водному та 3 % сольовому навантаженню підвищується вміст церулоплазміну та глутатіон-S-трансферазна активність.

20 Технічний результат. Способ визначення оксидантно-антиоксидантної системи крові в умовах 5 % водного та 3 % сольового навантаження показує, що таке навантаження призводить до зсуву оксидантно-антиоксидантної рівноваги в крові щурів у бік активації окиснювальних процесів.

25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Способ визначення оксидантно-антиоксидантної системи крові за умов водного та сольового навантаження шляхом дослідження антиоксидантної активності плазми (сироватки) крові, який відрізняється тим, що визначають основні показники оксидантно-антиоксидантної системи крові в умовах 5 % водного та 3 % сольового навантаження.