



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16158 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 30/00
G01N 33/487

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ У РОТОВІЙ РІДИНІ ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ

1

2

(21) u200602504

(22) 07.03.2006

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Борисенко Анатолій Васильович, Юрженко Анастасія Володимирівна, Брюзгіна Тетяна Семеновна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб оцінки порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит, що включає дослідження малонового діальдегіду у ротовій рідині методом спектрофотометрії, який **відрізняється** тим, що додатково досліджу-

ють жирнокислотний склад ліпідів ротової рідини за допомогою газової хроматографії, визначають вміст есенціальних жирних кислот, а саме олеїнової та ейкозопентаєнової, розраховують їх співвідношення за формулою: $k = C_{18:1}/C_{20:5}$, де: k - коефіцієнт порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині;

$C_{18:1}$ - олеїнова кислота;

$C_{20:5}$ - ейкозопентаєнова кислота,

отриманий коефіцієнт порівнюють із контрольним, і при значенні коефіцієнта нижче 6 судять про наявність порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит.

Корисна модель, що заявляється, відноситься до медицини, а саме до стоматології, точніше до ліпідології, може використовуватися для покращення ранньої діагностики і результатів лікування генералізованого пародонтита (ГП) та призначена для оцінки порушень метаболізму ліпідів в ротовій рідині.

Проблема хвороб пародонта є однією із головних в стоматології, що пов'язано з широким розповсюдженням цієї форми патології. ГП - це дистрофічно-запальне захворювання, яке виникає у наслідок поєданого впливу екзо- та ендогенних факторів, в значній мірі пов'язано з погіршенням мікроциркуляції, з порушенням інтимних ферментативних процесів у тканинних структурах пародонта. Характер цих процесів залежить і від інтенсивності процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), стану ліпідного бішару клітинних мембран в пародонті.

Поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) які є структурними компонентами біомембран, служать субстратами ПОЛ і попередниками синтезу ейкозаноїдів.

В останні десятиріччя дослідники звернули увагу на можливість вивчення процесів ліпопероксидації при ГП у ротовій рідині [1]. Особливості нинішнього часу (зростання випадків інфікування через кров ВІЛ та іншими небезпечними захворюваннями) роблять необхідним пошук неінвазивних методів діагностики і контролю стану пацієнта. Аналіз ротової рідини являє собою одну із найбільш значних альтернатив аналізу крові. Увагу медиків привертає також простота отримання, повна безпечність при цьому здоров'я пацієнта, можливість багатократного взяття проб для контролю ефективності лікування. В клінічних рекомендаціях описуються нові лабораторні способи аналізу ротової рідини з метою отримання різноманітної діагностичної інформації [2].

Стан ПОЛ та антиоксидантної системи у ротовій рідині хворих на ГП широко вивчається із використанням спектрофотометричних методів визначення активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази та супероксиддисмутази) і вмісту малонового діальдегіду [3].

Відомі методи оцінки метаболічних порушень у

(13) U

(11) 16158

(19) UA

ротовій рідині дають можливість оцінити пригнічення чи активність окремих факторів, але не дозволяють інтегрально оцінити стан ліпідного обміну.

Так, найбільш близьким до запропонованого технічного рішення, обраний в якості прототипу, є спосіб оцінки метаболічних порушень в ротовій рідині шляхом визначення вмісту малонового діальдегіду, вторинного продукту ПОЛ і активності каталази із використанням спектрофотометричних методів [4]. Однак, вказаний спосіб дозволяє оцінити лише дестабілізацію антиоксидантної системи, але не враховує сукупний вплив гомеостатичних порушень. Цей спосіб недостатньо інформативний, складно виконується, тривалість способу біля двох годин. Таким чином, вказаний спосіб не дозволяє повноцінно оцінити стан метаболічних порушень ліпідного комплексу в ротовій рідині і тим самим в пародонті.

Корисна модель, що заявляється, вирішує задачу отримання більш повної та інформативної оцінки порушень метаболізму ліпідів в ротовій рідині, ранньої діагностики ГП, і знешкодження цих ліпідних порушень в ротовій рідині хворих на ГП.

Технічний результат, який досягається при вирішенні задачі, полягає в можливості прогнозу захворювання та призначенні об'єктивної коректної терапії, підвищенні ефективності лікування при генералізованому пародонтиті, що дає можливість знизити захворюваність та терміни лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, що включає дослідження малонового діальдегіду у ротовій рідині методом спектрофотометрії згідно корисної моделі додатково досліджують жирнокислотний склад ліпідів ротової рідини за допомогою газової хроматографії, визначають вміст есенціальних жирних кислот, а саме олеїнової та ейкозопентаєнової, розраховують їх співвідношення за формулою:

$$k = C_{18:1} / C_{20:5}, \text{ де:}$$

k - коефіцієнт порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині,

$C_{18:1}$ - олеїнова кислота,

$C_{20:5}$ - ейкозопентаєнова кислота,

отриманий коефіцієнт порівнюють із контролем і при значенні коефіцієнту нижче 6 судять про наявність порушень метаболізму ліпідного комплексу ротової рідини хворих на генералізований пародонтит.

Переваги способу, що заявляється: чутливість газової хроматографії - 10^{-7} А, висока інформативність, що дозволяє визначити ступінь порушень ліпідного метаболізму. Газохроматографічний метод зручний у використанні. За допомогою цього методу можна перевірити ліпідні порушення в динаміці, прогнозувати подальший перебіг захворювань, постійно контролювати загальний стан, адекватність призначення ліків та ефективність лікування.

Спосіб здійснюється таким чином: у хворих на ГП беруть ротову рідину натще в кількості 3-5мл, поміщають в дві пробірки. В одній пробірці в ротовій рідині виявляють малоновий діальдегід методом спектрофотометрії. Паралельно в другу пробірку із притертою пробкою ємністю 10мл, додають 5мл хлороформметанольної суміші (у

співвідношенні 2:1) та екстрагують. Для аналізу відбирають нижню хлороформну фазу, яка містить ліпіди. Хлороформні екстракти випарюють досуха в потоці азоту при температурі 45°. Сухий осад ліпідів з'єднують з 5мл 1% розчину сірчаної кислоти у метанолі і поміщають в скляні ампули, які запаюють.

Потім проводять гідроліз ліпідів і метилування ЖК (жирних кислот) в термостаті при температурі 85° на протязі 20 хвилин. Екстракцію метилування ЖК проводять двічі 5мл гексан-ефірною сумішшю (співвідношення 1:1). Об'єднані екстракти випарюють в потоці азоту при 40°C. Сухий осад розчиняють в 50,0мкл гексану і вводять 5мкл у випарувач хроматографа.

Потім проводять газохроматографічний аналіз жирнокислотного складу ліпідів на газовому хроматографі "Цвет-500" в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором при наступних умовах: для визначення спектру жирних кислот ліпідів використовують скляну колонку (розміром 2мх0,3см), яка заповнена фазою 5% ПЕГС на хроматоні N-AW-HMDS (зерніння 0,125-0,160мм), температура колонки 180°C, температура випарувача 240°C, розходження азоту і водню 35мл/хв, повітря - 200мл/хв., швидкість діаграмної стрічки 240мм/год, чутливість шкали 10^{-7} А, тривалість аналізу - 20 хвилин. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів проводять за методом нормування площин і визначають долі кислот в процентах

Таким способом визначають вміст в ротовій рідині есенціальних жирних кислот: олеїнової та ейкозопентаєнової, розраховують їх співвідношення за формулою

$$k = C_{18:1} / C_{20:5}, \text{ де:}$$

k - коефіцієнт порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині,

$C_{18:1}$ - олеїнова кислота,

$C_{20:5}$ - ейкозопентаєнова кислота,

отриманий коефіцієнт порівнюють із контролем (6,06) і при значенні коефіцієнта нижче 6 судять про наявність порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині. При цьому слід зазначити, що при нижчому значенні коефіцієнта, ступінь порушення метаболізму ліпідів у ротовій рідині вищий (таблиця).

Таблиця

Показники, (%)	Контрольна група n=15	Хворі на ГП початкового ступеня (n=27)	Хворих на ГП І ступеня (n=25)
Сума насичених ЖК	43,2±2,4	35,3±1,8	45,8±1,5
Сума ненасичених ЖК	56,8±1,8	64,7±2,9	54,2±2,3
Сума поліненасичених ЖК	34,2±1,6	51,7±1,4	39,9±2,1
$C_{18:1}$	20,6±1,2	14,0±1,0	14,3±1,1
$C_{20:5}$	3,4±0,21	9,3±0,7	15,5±1,2
$k = C_{18:1} / C_{20:5}$	6,06	1,5	0,9

На базі кафедри терапевтичної стоматології НМУ запропонованим способом було обстежено 52 хворих на ГП, контрольну групу становили 15 осіб того ж віку. Даний спосіб зарекомендував себе, як досить точний для визначення порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині хворих на ГП і може бути рекомендованим для впровадження в

практичну медицину.

Джерела інформації:

1. Боровський Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. М: Мед. - 1991. - 302с.
2. Григорьев И.В., Чиркин А.А. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний. // Клин. лаб. диагностика. - 1998. - №6. - С.18-20.
3. Белоклицкая Г.Ф. Возможности антиоксида-

нтной коррекции перекисного окисления липидов при заболеваниях пародонта разной тяжести // Современная стоматология. - 2000. - №1(9) - С. 38-41.

4. Тургенева Л.Б., Новиков В.Е., Цепов Л.М. Клинико-фармакологическое изучение олифена при воспалении пародонта // Эксперим. и клинич. фармакология - 1997. – т.60, №2 -С.75-77.