

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **16003**

(13) **С1**

(46) **2012.06.30**

(51) МПК

A 61B 5/00 (2006.01)

G 01N 33/50 (2006.01)

(54)

**СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДА ОПЕРАЦИИ
АУТОДЕРМОПЛАСТИКИ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ОЖОГЕ**

(21) Номер заявки: а 20091695

(22) 2009.11.30

(43) 2011.06.30

(71) Заявители: Государственное учреждение "Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека"; Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Новикова Ирина Александровна; Ярец Юлия Игоревна; Прокопович Александр Семёнович (ВУ)

(73) Патентообладатели: Государственное учреждение "Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека"; Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет" (ВУ)

(56) SU 1455316 A1, 1989.

RU 2234088 C2, 2003.

RU 2050001 C1, 1995.

(57)

Способ прогнозирования исхода операции аутодермопластики при локальном ожоге, заключающийся в том, что перед операцией определяют содержание кетодиенов (КД) в изопропанольной фазе экстрактов плазмы и эритроцитов, рассчитывают отношение КД в плазме к КД в эритроцитах и прогнозируют благоприятный исход операции аутодермопластики при значении отношения, равном 1,2 или более, или неблагоприятный исход при значении отношения менее 1,2.

Изобретение относится к медицине, в частности к лабораторному биохимическому исследованию крови, и может использоваться для оценки активности метаболических процессов, полноценности адаптации организма в условиях патологического процесса, прогноза течения заболевания.

Известны способы оценки состояния мембран эритроцитов по их осмотической и кислотной устойчивости, концентрации внутриклеточной АТФ, степени агрегации и деформируемости, например способ исследования активности метаболических процессов в клетке, согласно которому дополнительно приготавливают неинкубируемые биологические пробы, в качестве исследуемого материала используют периферическую кровь в объеме 0,3-0,4 мл и эритроциты, регистрируют уровень гемолиза эритроцитов, уровни общего и связанного малонового альдегида и интенсивность деградации последнего, рассчитывают информативный показатель, представляющий собой систему из шести отношений показателей метаболизма [1].

Недостатком известного способа является то, что способ представляет собой моделирование искусственного гемолиза эритроцитов. Это способствует снижению достоверности и диагностических возможностей получаемых результатов. Кроме того, этот способ

громоздкий и трудоемкий, требует специальных реактивов. При этом способ не отражает устойчивость мембран эритроцитов к окислительному стрессу, так как в данном способе используется синтезированный *ex tempore* малоновый диальдегид, вносимый в одну из проб эритроцитов и определяемый затем в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Однако известно, что тест с тиобарбитуровой кислотой недостаточно специфичен по отношению к малоновому диальдегиду, наличие в пробе даже незначительного гемолиза мешает спектрофотометрическому определению продукта взаимодействия малонового диальдегида с тиобарбитуровой кислотой и искажает результат [2]. В литературе подчеркивается, что использование теста с тиобарбитуровой кислотой в качестве единственной методики не дает достоверной информации о ПОЛ *in vivo* [3].

Наиболее близким к предлагаемому является способ определения стабильности клеточных мембран эритроцитов, включающий биохимическое исследование крови и сравнение расчетного показателя с нормой, при этом определяют количество легкоокисляемых фосфолипидов, а о стабильности судят по отклонению от нормы токоферол-показателя, представляющего собой отношение количества токоферола к количеству легкоокисляемых фосфолипидов [4] (прототип).

Способ предполагает использование сложных и дорогостоящих методов исследования - тонкослойной хроматографии для определения фосфолипидов и спектрофлуориметрии для определения количества токоферола, что резко ограничивает его использование в клинико-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения, которые в большинстве случаев таким оборудованием не располагают. Для принятия диагностического решения необходимо сравнение расчетного показателя с нормой, то есть требуется набор референтных величин для здоровых пациентов, а также для пациентов с различной патологией. Известный способ имеет низкую клиническую информативность, так как при различных заболеваниях, в частности воспалительных процессах, количество веществ с антиоксидантными свойствами, в том числе токоферола, компенсаторно увеличивается в ответ на активацию процессов липопероксидации и при этом становится равным или даже выше значений здоровых лиц, а следовательно, уже не может отражать устойчивость мембран эритроцитов.

Задача, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, заключается в упрощении способа, повышении достоверности, чувствительности и клинической информативности.

Задача решается тем, что способ прогнозирования исхода операции аутодермопластики при локальном ожоге заключается в том, что перед операцией определяют содержание кетодиенов (КД) в изопропанольной фазе экстрактов плазмы и эритроцитов, рассчитывают отношение КД в плазме к КД в эритроцитах и прогнозируют благоприятный исход операции аутодермопластики при значении отношения, равном 1,2 или более, или неблагоприятный исход при значении отношения менее 1,2.

Новым в способе является использование в качестве показателя устойчивости мембран эритроцитов расчетного индекса - соотношения КД в плазме крови к КД в мембранах эритроцитов - вместо используемого в способе-прототипе токоферол-показателя, применение доступных для клинической лаборатории биохимических методов исследования, отсутствие необходимости определения референтных значений при проведении лабораторных исследований. Технический результат, обеспечиваемый изобретением, достигается всей совокупностью существенных признаков.

Как известно, перекисное окисление липидов (ПОЛ) является неспецифическим универсальным регулятором метаболических процессов в организме [5, 6]. При патологических состояниях и травмах наблюдается активация ПОЛ, что является одним из отражений компенсаторно-адаптационных реакций в организме. В результате этих процессов содержание продуктов липопероксидации в плазме и эритроцитах увеличивается с одновременным увеличением активности антиоксидантных систем. В нормальных условиях, а также

при незначительной активации ПОЛ и сохранении баланса между про- и антиоксидантной системой уровень продуктов липопероксидации в плазме и эритроцитах приблизительно одинаковый: соотношение показателей окисленности плазмы к показателям окисленности эритроцитов $\approx 0,98-1,1$. При развитии патологических процессов на фоне недостаточности адаптационных механизмов интенсивность липопероксидации эритроцитов превышает таковую в плазме крови, что является неблагоприятным прогностическим признаком.

Для оценки интенсивности липопероксидации принято использовать спектрофотометрическое определение содержания в плазме и эритроцитах для оценки интенсивности липопероксидации принято использовать определение первичных, вторичных и/или конечных продуктов пероксидации [3]. Наиболее клинически информативным считается определение промежуточных продуктов пероксидации фосфолипидов - кетодиенов и сопряженных триенов. Фосфолипиды, как структурный компонент мембран, обеспечивают их нормальное функционирование, а с другой стороны, в первую очередь подвергаются пероксидному окислению при изменениях мембранного метаболизма, так как в своем составе содержат много ненасыщенных жирных кислот. Показатель КД хорошо коррелирует с динамикой патологического процесса [3, 6].

Способ выполняют следующим образом: берут гепаринизированную венозную кровь в количестве 5 мл, центрифугируют в течение 10-15 минут при 1500 об./мин, для разделения плазмы и эритроцитов. После этого по известной методике определяют содержание КД в изопропанольной фазе экстракта. Для этого в опытные пробирки вносят по 0,5 мл плазмы и отмытых эритроцитов венозной крови; в оптические контроли вносят 0,5 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. К исследуемым образцам добавляют 5 мл смеси гептан-изопропанол (1:1 по объему) для раздельной экстракции продуктов перекисного окисления липидов: в гептан экстрагируются нейтральные липопероксиды, в изопропанол - фосфолипидпероксиды. Пробы встряхивают в закрытых пробирках в течение 15 мин, после чего центрифугируют 15 мин при 8000 об./мин. Полученные липидные экстракты переливают в стеклянные пробирки и добавляют 5 мл смеси гептан-изопропанол 3:7 по объему и 2 мл соляной кислоты рН 2,0. Перемешивают и отстаивают в течение 30 мин, после чего удаляют пипеткой гептановую фазу, т.к. для анализа эта фаза не используется. К оставшейся изопропанольной фазе липидного экстракта для обезвоживания добавляют 1 г хлорида натрия и отстаивают в течение 30 мин. Отбирают изопропанольную фазу в отдельную стеклянную пробирку. Эта фаза используется для анализа.

На спектрофотометре с диапазоном частот от 220 до 280 нм (ультрафиолетовая часть спектра) проводят измерение оптической плотности изопропанольной фазы против соответствующего контроля при 220 и 278 нм. Концентрацию КД для изопропанольной фазы определяют по формуле и выражают в виде единиц индексов окисления (е.и.о.): $\text{КД (е.и.о.)} = E_{278}/220$.

Рассчитывают соотношение КД в плазме/КД в эритроцитах. Значения соотношения 1,2 и выше свидетельствуют об активации адаптационных процессов, необходимых для устойчивости эритроцита к окислительному стрессу и благоприятном прогнозе заболевания. Значения соотношения ниже 1,2 говорят о нарушении устойчивости мембран эритроцита к окислительному стрессу и неблагоприятном прогнозе патологического процесса.

Пример 1.

Проведена оценка содержания КД в изопропанольной фазе экстрактов плазмы и эритроцитов для прогноза исхода аутодермопластики у больного М. 43 лет с локальным глубоким ожогом, давность травмы 14 дней. На основании клинических визуальных критериев: отсутствие признаков воспаления, отсутствие выраженной экссудации, высокая адгезивность ран, наличие краевой эпителизации, рана пациента была готова к проведению аутодермопластики. Накануне планируемой операции аутодермопластики содержание КД в плазме 0,425 (е.и.о.), в эритроцитах 0,250 (е.и.о.), а показатель КДп/КДэ равен 1,7. Это свидетельствует о достаточно высокой резистентности организма, мобилизации компенса-

торных механизмов. Спрогнозирован благоприятный исход оперативного вмешательства. Больному была проведена операция восстановления кожного покрова путем аутодермопластики. На 7 сутки после операции произошло полное приживление аутодермотрансплантата. Длительность нахождения больного в стационаре составила 9 дней.

Пример 2.

Проведена оценка содержания КД в изопропанольной фазе экстрактов плазмы и эритроцитов для прогноза исхода аутодермопластики у больного З. 42 лет с локальным глубоким ожогом, давность травмы 11 дней. На основании клинических визуальных критериев: отсутствие признаков воспаления, отсутствие выраженной экссудации, высокая адгезивность ран, наличие краевой эпителизации, рана пациента была готова к проведению аутодермопластики. Накануне планируемой операции аутодермопластики содержание КД в плазме 0,294 (е.и.о.), в эритроцитах 0,350 (е.и.о.), а показатель КДп/КДэ равен 0,84. Это свидетельствует о нарушении устойчивости мембран эритроцита к окислительному стрессу и характеризует недостаточную клеточную адаптацию, и больному спрогнозирован неблагоприятный исход при проведении оперативного вмешательства. Ему была проведена операция аутодермопластики. На 4 сутки после операции произошло отторжение пересаженного кожного лоскута в виде частичного лизиса. После этого пациенту пришлось провести дополнительное консервативное лечение и повторную операцию аутодермопластики. Длительность нахождения больного в стационаре при этом составила 30 койко-дней.

Таким образом, заявляемый способ является чувствительным, информативным, доступным и легко выполнимым в любом учреждении здравоохранения, где есть биохимическая лаборатория. Способ способствует повышению достоверности, клинической информативности и расширению диагностических возможностей прогнозирования исхода аутодермопластики. Использование способа в клинической практике позволяет прогнозировать исход патологического процесса при планировании оперативного вмешательства у больных с локальными ожогами при выполнении операций аутодермопластики. Это позволяет сократить койко-дни пребывания больного в стационаре, избежать дополнительного консервативного лечения и повторной операции, которые проводятся в случае осложненного лизисом кожного лоскута послеоперационном периоде, что предупреждает также повышенный расход донорских ресурсов кожи.

Источники информации:

1. RU 2050001 C1, 1995.
2. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема - анализ эндогенных продуктов ПОЛ. Итоги науки и техники. Биофизика, 1989. - Т. 18. - С. 77-92.
3. Волчегорский И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы мед. химии. - Т. 35. - 1989. - № 1. - С. 127-135.
4. RU 02234088 C1, 2004.
5. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопросы мед. химии. - 2001. - № 6. - С. 561-581.
6. Шанин, Ю.И., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведение). - СПб., 2003. - 128 с.