

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д.Л.Пиневиц

12.06.2013

Регистрационный № 044-0413

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММАРНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ  
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Гродненский государственный  
медицинский университет», РНИУП «Институт биохимии биологически активных  
соединений» НАН Беларуси

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Т.И. Ровбуть, д-р биол. наук, проф. А.Г. Мойсеенок,  
Е.А. Мойсеенок, И.Н. Катковская, Т.А. Пеховская

Гродно 2013

Настоящая инструкция по применению (далее — инструкция) разработана с целью объективной оценки состояния окислительного стресса путем определения в крови количества совокупных свободно радикальных продуктов окисления у детей препубертатного и пубертатного возраста при острой рецидивирующей и хронической патологии, а также подвергающихся воздействию на организм неблагоприятных факторов окружающей среды.

Область применения: педиатрия, гигиена питания, радиационная медицина, медико-лабораторная служба.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

1. Спектрофотометр,  $\lambda = 505$  нм.
2. Термостат (водяная баня), температура —  $37^{\circ}\text{C}$ .
3. Пробирки биологические.
4. Пипетки (объем 10; 20; 1000 мкл).
5. ДМФД (100 мМ) — 20,9 мг N,N-диметил-p-фенилендиамина (дигидрохлоридная соль) растворяют в 1,0 мл деионизированной воды. Раствор сохраняет стабильность в темноте в течение месяца ( $-20^{\circ}\text{C}$ ); 12 ч ( $0^{\circ}\text{C}$ ).
6. Ацетатный буфер (0,1 М, рН = 4,8). Готовится путем растворения 8,16 г ацетата натрия и 2,48 мл ледяной уксусной кислоты в 1000 мл дистиллированной воды и доведением конечного рН до 4,8.

## **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

1. Оценка состояния окислительного стресса при хронической патологии органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, органов зрения, рецидивирующих респираторных заболеваниях и анемиях у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

2. Выявление состояния окислительного стресса у детей в возрасте от 10 до 16 лет, проживающих на территориях радиационного контроля.

3. Мониторинг состояния антиоксидантной защиты с целью исключения недостаточности эссенциальных микронутриентов с антиоксидантными свойствами в питании у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

4. Определение показаний к лечебно-профилактическому назначению антиоксидантных лекарственных средств у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

5. Контроль антиоксидантной терапии у детей в возрасте от 10 до 16 лет.

## **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Отсутствуют.

## **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

### **I этап — методика забора материала для исследования**

Для исследования используется стандартная процедура взятия 0,2 мл капиллярной или венозной крови и получения плазмы (сыворотки).

Допускается хранение образцов при температуре от  $-20$  до  $+4^{\circ}\text{C}$ .

## **II этап — методика определения СПОС**

1. В пробирки вносят по 10 мкл образца плазмы (сыворотки) крови.
2. В контрольную пробу вносят 10 мкл дистиллированной воды.
3. Добавляют в исследуемые образцы 2,0 мл ацетатного буфера (0,1 М, рН = 4,8) и 20 мкл ДМФД (конечная концентрация 1 мкм), встряхивают 30 с.
4. Измеряют оптическую плотность ( $A_1$ ) при длине волны 505 нм.
5. Пробы инкубируют при 37°C в течение 75 мин.
6. Измеряют оптическую плотность ( $A_2$ ) при длине волны 505 нм.

## **III этап — обработка и оценка результатов**

Величину определяют по формуле:

$$\text{ДМФД-РП [ед./мл]} = (\Delta A_{\text{опыт.}} - \Delta A_{\text{конт.}}) \times 1000,$$

где  $\Delta A_{\text{опыт.}}$ ,  $\Delta A_{\text{конт.}}$  — разница между значениями оптической плотности ( $A_2 - A_1$ ) для опытной и контрольной проб соответственно.

Диагностический критерий величины СПОС для здоровых детей в возрасте от 10 до 16 лет, определенный данным методом, в сыворотке крови составляет до 550 ед./мл. Превышение данного показателя указывает на развитие состояния окислительного стресса в организме обследуемого ребенка.

## **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

1. Вещества с интенсивностью поглощения излучения в области 505 нм могут потенциально увеличить показатель. По этой причине гемолизированные образцы крови не допускаются к анализу.

2. Значение окислительного статуса для плазмы немного ниже такового для сыворотки в зависимости от выбранного антикоагулянта. Плазма, полученная с использованием ЭДТА или цитрата, дает значения на 10% ниже, в то время как плазма с гепарином дает значения наравне с пробами сыворотки.