

Antioxidáns kapacitás mérése szeptikus betegek szérumból**Kósa Brigitta¹, Vassné Lakatos Ágnes¹, Kőszegi Tamás^{1,2}**¹Laboratóriumi Medicina Intézet, Pécsi Tudományegyetem²Szentágotthai János Kutatóközpont**Összefoglalás**

Bevezetés: A szepszis szisztémás gyulladási folyamat, melynek hátterében fokozott oxidatív károsodás is áll. Antioxidáns rendszerünk fontos szerepet játszhat a betegség elleni védekezésben.

Célkitűzés: Új, erősített kemilumineszcenciás totál antioxidáns kapacitás (TAC) mérést kívántunk kidolgozni és adaptálni szeptikus betegek szérumból. A TAC eredményeket össze kívántuk hasonlítani klinikai és az antioxidáns kapacitást befolyásoló laboratóriumi paraméterekkel, valamint összefüggést kerestünk a TAC szintek és a betegség súlyossága közt.

Módszer: A PTE KK Intenzív Terápiás Intézetében bakteriális szepszis miatt kezelt betegek (n=20), illetve kontroll betegcsoport (n=20) szérumból analizáltuk. A két csoport korban és nemben hasonló volt, a kontrollcsoportot gyulladási betegségben nem szenvedő betegek alkották (PTE KK Szemészeti Klinika). Szeptikus betegeknel 5 napos követéses vizsgálatot végeztünk mintánként 5 párhuzamos meghatározással, a kontrollcsoportnál egyszeri meghatározás történt (5 párhuzamos méréssel). A TAC értékeket kemilumineszcenciás módszerünkkel mértük, amely peroxidáz, luminol, a kemilumineszcenciás jelet erősítő komponens és H₂O₂ reakcióján alapult. Minden szérumból húgysav és albumin meghatározást is végeztünk.

Eredmények: A szeptikus betegek átlagos TAC értéke Trolox ekvivalensben kifejezve magasabb volt a kontroll csoportnál, de nem mutatott szignifikáns eltérést (p=0,159). Túlélő és nem túlélő betegeknel a TAC medián értékek szignifikáns eltérést mutattak (nem túlélők: 464 μM (350-465), túlélők: 352 μM (253-494), p=0,026). A kontrollcsoport TAC értéke 368 μM (321-404) volt, amely a nem túlélőktől szignifikánsan különbözött (p=0,019). Az antioxidáns kapacitás értéke az albumin koncentrációtól nem függött, de a húgysavval pozitív korrelációt mutatott.

Megbeszélés: A kevés beteg vizsgálatával nyert eredményeink is felvetik, hogy az általunk kifejlesztett kemilumineszcenciás antioxidáns módszer hasznos kiegészítő információt nyújthat a szeptikus folyamat követésében.

Kulcsszavak: szepszis, szérumból, antioxidáns kapacitás, kemilumineszcencia

Examination of antioxidant capacity from serum of septic patients

Summary

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory process partially caused by oxidative damage. The body's antioxidant status could play an important role in the defense against the disease.

Aims: Our purpose was to work out a novel enhanced chemiluminescence total antioxidant capacity (TAC) assay and to adapt it to serum samples of septic patients. We compared TAC results with clinical and with lab parameters that might influence the antioxidant capacity and tried to find correlation between TAC values and the severity of the disease.

Methods: Serum samples of a control group (n=20) and of septic patients (n=20) treated at the Department of Anesthesiology and Intensive Care of University of Pécs were analyzed. The two patient groups were similar in age and gender, the control patients were from the Department of Ophthalmology of University of Pécs, without any inflammatory disorders. In the septic group a follow-up study was performed for 5 days with 5 parallel measurements in each day. Control patients were analyzed once (5 parallel determinations). TAC measurements were done by our chemiluminescence method based on the reaction of luminol, chemiluminescence enhancer and H₂O₂, catalyzed by peroxidase enzyme. Sera were also analyzed for albumin and uric acid levels.

Results: Mean TAC values (expressed as Trolox equivalents) of septic patients were higher than those of the control group, but this alteration was not significant (p=0,159). Median TAC levels of survivors and non-survivors differed significantly (non-survivors: 464 µM (350-465), survivors: 352 µM (253-494), p=0,026). TAC value of the control group was 368 µM (321-404), being significantly different from values of the non-survivor group (p=0,019). We found a positive correlation between TAC and uric acid levels but not with albumin concentrations.

Discussion: In spite of the relatively small sample size, our results suggest that the developed chemiluminescence antioxidant method might give useful complementary information in septic patients to follow the septic process.

Keywords: sepsis, serum samples, antioxidant capacity, chemiluminescence

Irodalom

1. Bosmann M, Ward AP. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol.* **2012**; 34(3): 129-136.
2. Kollárné Ogonovszky H. Túledzés és oxidatív stressz. Doktori értekezés, Semmelweis Egyetem Nevelés- és Sporttudományi Doktori Iskola. **2005**.
3. Biswal S, Remick DG. Redox Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* **2007**; 9(11): 1959–1961.
4. Wright E, Scism-Bacon JL, Glass LC. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *Int. J. Clin. Pract.* **2006**; 60(3): 308–314.
5. Kongara S, Karantza V. The interplay between autophagy and ROS in tumorigenesis. *Front. Oncol.* **2012**; 2:171.
6. Alonso de Vega JM, Diaz J, Serrano E, Carbonell LF. Plasma redox status relates to severity in critically ill patients. *Crit. Care Med.* **2000**; 28:1812–1814.
7. Hoesel LM, Gao H, Ward PA. New insights into cellular mechanisms during sepsis. *Immunol. Res.* **2006**; 34:133–141.
8. Lü JM, Lin, PH, Yao O, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell. Mol. Med.* **2010**; 14(4): 840–860.
9. Lorente L, Martín MM, Almeida T, Abreu-González P, et al. Association between serum total antioxidant capacity and mortality in severe septic patients. *J Crit Care.* **2015**; 30(1):217.
10. Lorente L, Martín MM, Almeida T, Abreu-González P, et al. Total antioxidant capacity is associated with mortality of patients with severe traumatic brain injury. *BMC Neurology* **2015**; 15:115.
11. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine.* **2000**; 29(12): 1106-1114.
12. Ungvári É. Nanopartikuláris szelénkészítmények farmakológiai vizsgálata - új lehetőségek a szelénpótlás területén. Doktori értekezés, Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola. **2015**.
13. Hracskó Zs. Szabadgyökök szerepe neonatológiai kórképekben. Doktori értekezés, Szegedi Tudományegyetem Biológia Doktori Iskola. **2009**.

14. Chaudière J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* **1999**; 37(9-10): 949-62.
15. Balogh E. Antioxidáns kapacitás meghatározása és ennek kialakításában szerepet játszó vegyületek vizsgálata bogyós gyümölcsök esetében. Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar. **2010**.
16. Lásztity R. Természetes antioxidánsok antioxidatív hatásának meghatározása. *Élelmiszervizsgáló Közlemények.* **2009**; 55(4): 209-219.
17. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J, Agric. Food Chem.* **2005**; 53: 4290-4302.
18. Majer P. Antioxidánsok szerepe a levelek akklimációjában – rövidtávú alkalmazkodás változó megvilágításhoz. Doktori értekezés, SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola. **2013**.
19. <https://www.google.com/patents/EP0124909B1?cl=en> (letöltve 2016. július 22)
20. Müller Ch, Lee TK, Montano MA. Improved Chemiluminescence Assay for Measuring Antioxidant Capacity of Seminal Plasma. *Meth. Mol. Biol.* **2013**; 927: 363-376.
21. Sies H. Total Antioxidant Capacity: Appraisal of a Concept. *J. Nutr.* 2007; 137(6): 1493-1495.
22. Chuang CC, Shiesh SC, Chi CH, Tu YF et. al. Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis. *Crit. Care.* **2006**; 10: 1-7.