



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 114687

(13) U

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 10683**
(22) Дата подання заявки: **24.10.2016**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.03.2017**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.03.2017, Бюл.№ 5**

(72) Винахідник(и):
Гайдаш Ігор Славович (UA),
Гайдаш Ірина Анатоліївна (UA),
Гайдаш Олена Ігорівна (UA),
Гайдаш Дмитро Ігорович (UA),
Янчевський Олександр Валерійович (UA),
Бурцев Олексій Володимирович (UA),
Акберов Арзу Ельдарогли (UA)
(73) Власник(и):
Гайдаш Ігор Славович,
вул. Будівельників, 34/99, м. Рубіжне, 93012 (UA),
Гайдаш Ірина Анатоліївна,
вул. Будівельників, 34/99, м. Рубіжне, 93012 (UA),
Гайдаш Олена Ігорівна,
пр. Московський, 23/108, м. Рубіжне, 93012 (UA),
Гайдаш Дмитро Ігорович,
вул. Будівельників, 34/99, м. Рубіжне, 93012 (UA),
Янчевський Олександр Валерійович,
пр. Московський, 23/108, м. Рубіжне, 93012 (UA),
Бурцев Олексій Володимирович,
вул. Менделєєва, 8/61, м. Рубіжне, 93012 (UA),
Акберов Арзу Ельдарогли,
вул. Студентська, 5/117, м. Рубіжне, 93012 (UA)

(54) СПОСІБ ДЕТЕКЦІЇ ЦИТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ЧИННИКІВ БІОЛОГІЧНОЇ І ХІМІЧНОЇ ПРИРОДИ

(57) Реферат:

Спосіб детекції цитотоксичної дії чинників біологічної і хімічної природи включає проведення скринінгу кислотної резистентності еритроцитів з визначенням часу сферуляції еритроцитів, тривалості гемолізу еритроцитів, висоти максимуму гемолізу і кількості максимумів. При цьому скринінг кислотної резистентності еритроцитів проводять як з інтактними еритроцитами (які не взаємодіють з біологічними або хімічними чинниками), так і з еритроцитами, які попередньо, перед проведенням скринінгу кислотної резистентності еритроцитів, піддаються дії біологічних або хімічних чинників протягом 3 годин при температурі 37 °С.

UA 114687 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до гематології і токсикології.

Контроль за станом еритроцитів є дуже важливою проблемою.

Еритроцити - це високо диференційовані клітини, які не мають субклітинних структур (ядра, рибосом, мітохондрій, лізосом), здатних забезпечити пластичні і енергетичні потреби еритроцита в умовах дії будь-яких токсикантів. Пластичні і енергетичні ресурси еритроциту є кінцевими, тому при дії токсикантів на еритроцити вказані ресурси повинні виснажуватися, що буде тягти за собою ланцюг морфорогічних, метаболічних і функціональних змін еритроцита.

Одним із проявів процесів старіння еритроцитів є їх гемоліз, що супроводжується виходом гемоглобіну. Великий вміст кисню в еритроцитах визначає високу швидкість утворення супероксидного аніон-радикала ($O_2^{\cdot-}$), пероксиду водню (H_2O_2) і гідроксил радикала (OH^{\cdot}). Головною мішенню перекисів, гідроперекисів є ненасичені жирні кислоти будь-яких біологічних мембран, у тому числі і еритроцитарних. Біохімічні зміни крові внаслідок дії токсикантів торкаються і процесів пероксидації ліпідів, які посилюються у ліпідному шарі мембран еритроцитів. Ці зміни призводять до збільшення окислювальної активності гідроперекисів ліпідів, зменшення активності каталази, що знижує перекисну стійкість еритроцитів.

Незалежно від хімічної природи першою патогенною ланкою впливу біологічних і хімічних чинників є мембраноруйнівний ефект, який супроводжується порушенням функції мітохондріальних і мікосомальних ферментів - оксигеназ, гідролаз, які беруть участь у детоксикації та елімінації патогенного початку. Токсичні агенти впливають на клітинні мембрани, сприяючи окисленню і денатурації білків, порушуючи розташування молекул ліпідів, що веде до утворення пір. Активні форми O_2 , H_2O_2 , органічні перекиси взаємодіють з ліпідами мембран, утворюють перекиси ліпідів, що призводить до структурних порушень і зміни проникності. Отже, стійкість клітинних мембран порушується.

Як прототип була вибрана методика дослідження кислотної резистентності еритроцитів [1], яка дозволяє визначити стійкість мембран еритроцитів до органічних кислот.

Недоліком цієї методики є неможливість визначення цитотоксичної дії чинників біологічної і хімічної природи, якщо вказана методика виконується в її класичному варіанті.

Задачею даної корисної моделі є розробка способу детекції цитотоксичної дії чинників біологічної і хімічної природи, яка вирішується тим, що по черзі проводять скринінг кислотної резистентності еритроцитів як з інтактними еритроцитами (які не взаємодіють з біологічними або хімічними чинниками), так і з еритроцитами, які попередньо, перед проведенням скринінгу кислотної резистентності еритроцитів, піддаються дії біологічних або хімічних чинників протягом 3 годин при температурі 37 °C. При порівнянні показників кислотної резистентності інтактних еритроцитів з показниками кислотної резистентності еритроцитів, які попередньо взаємодіяли з біологічними або хімічними чинниками, наявність зменшення часу сферуляції менше 3 хвилин, тривалості гемолізу менше 7,0 хвилин та підвищення висоти максимуму гемолізу більше 18 % і кількості максимумів більше 1,0 умовних одиниць реєструється присутність цитотоксичної дії чинників біологічної або хімічної природи.

Приклад практичного використання.

Встановлено, що толуол при контакті з еритроцитами крові людини *in vitro* викликає суттєві зміни кислотної резистентності еритроцитів, що має прояв у скороченні часу сферуляції еритроцитів, скороченні часу появи максимуму і тривалості гемолізу, зростанні максимуму гемолізу і кількості таких максимумів. Результати дослідження впливу толуолу на кислотну резистентність еритроцитів людини наведені у таблиці.

Таблиця

Вплив толуолу на кислотну резистентність еритроцитів людини in vitro, M±m

Показник	Інтактні еритроцити	Еритроцити, які зазнали дії толуолу протягом 1-3 години		
		1 година	2 години	3 години
Час сферуляції, хв.	3,02±0,09	2,78±0,1	2,66±0,1*	2,27±0,07**
Час появи максимуму, хв.	4,33±0,1	4,06±0,14	3,98±0,09*	3,66±0,12**
Час появи максимуму, с	273±6	243,6±7,8	239,4±5,5**	219,6±8,9***
Тривалість гемолізу, хв.	3,6±0,11	3,36±0,14	3,21±0,08*	2,87±0,09***
Тривалість гемолізу, с	240±6,7	201,6±8,5**	192,6±5,4***	172,2±6,4****
Висота максимуму гемолізу, %	17,5±0,4	18,66±0,57	19,7±0,65***	21,7±0,83****
Кількість максимумів, у. о.	1±0,01	1,05±0,02	1,4±0,04***	1,52±0,05****

Примітка: * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001, **** - p<0,001 порівняно з інтактними еритроцитами.

Джерело інформації:

1. Гительзон И.И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови / И.И. Гительзон, И.А. Терсков. – Красноярск. - 1959. - 249 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб детекції цитотоксичної дії чинників біологічної і хімічної природи, що включає проведення скринінгу кислотної резистентності еритроцитів з визначенням часу сферуляції еритроцитів, тривалості гемолізу еритроцитів, висоти максимуму гемолізу і кількості максимумів, який **відрізняється** тим, що скринінг кислотної резистентності еритроцитів проводять як з інтактними еритроцитами (які не взаємодіють з біологічними або хімічними чинниками), так і з еритроцитами, які попередньо, перед проведенням скринінгу кислотної резистентності еритроцитів, піддаються дії біологічних або хімічних чинників протягом 3 годин при температурі 37 °С.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що при порівнянні показників кислотної резистентності інтактних еритроцитів з показниками кислотної резистентності еритроцитів, які попередньо взаємодіяли з біологічними або хімічними чинниками, при наявності зменшення часу сферуляції менше 3 хвилин, тривалості гемолізу менше 7,0 хвилин та підвищенні висоти максимуму гемолізу більше 18 % і кількості максимумів більше 1,0 умовних одиниць реєструється присутність цитотоксичної дії чинників біологічної або хімічної природи.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601