

Винахід відноситься до галузі біології, медицини і сільського господарства та може бути використаний для з'ясування походження, концентрації і співвідношення супероксиданіонрадикалів у тканинах тварин.

У світі відомі способи визначення супероксиданіонрадикалів, продукованих нейтрофілами крові, що базуються на біомолюмінісценції та не характеризуються великою специфічністю [4]. Існує також спосіб, в основі якого лежить перетворення нітросинього тетразолію (НСТ) у гранули диформазау, при цьому розрахунок виражають в середньому цитохімічному коефіцієнті, або формазапозитивних гранулах [2]. Точність і інформативність при цьому є низькою. Цей недолік був дещо усунений спектрофотометричним методом [5], який можна використати тільки для дослідження нейтрофілів, але отриманий результат виражають у відносних одиницях екстинкції [6].

Отже, викладені способи мають слідуючі недоліки: вони - невисоко-специфічні, отримані результати виражаються в відносних одиницях, призначені тільки для дослідження крові та не дають змоги встановити джерела продукування супероксиданіонрадикалів.

Найближчим аналогом до винайденого є спосіб [1], що дозволяє визначити спектрофотометрично НСТ-тестом продукцію супероксиду в гомогенаті тканин з стимуляцією відновленим нікотинаденіндинуклеотид-фосфатом (НАДФ-Н) та бактеріальними ліпосахаридами. Недоліком цього прототипу є отримання даних про кількість супероксиданіонрадикалу знову в відносних одиницях екстинкції, що значно ускладнює вивчення шляхів продукування цих радикалів, особливо мітохондріальних.

Поставлена мета досягається за рахунок визначення вмісту супероксиданіонрадикалів у зразках тканин тварин, при цьому з'являється можливість диференційованого аналізу шляхів їх продукування з слідуючи джерел: внутрішньоклітинних - електронно-транспортних ланцюгів окислення мембран мітохондрій (відновленим нікотинаденіндинуклеотидом (НАД-Н) - цитохромоксидаза) і гладенької ендоплазматичної сітки (НАД-Н-цитохром Р-450) та позаклітинних на мембранах фагоцитів (НАД-Н - оксидаза, ксантиноксидаза).

Пропонований спосіб визначення відрізняється від прототипу слідуючими ознаками:

- з'являється можливість аналізувати концентрації супероксиданіон-радикалу фагоцитарного електронно-транспортного ланцюга, з врахуванням загального фону не стимульованої продукції супероксиду;
- додавання стимуляторів перед інкубацією та введення НСТ дає змогу уникнути його відновлення воднем від проміжних перевідновлених ділянок ланцюгів;
- оптимальною концентрацією гомогенату органів, часом інкубації, компонентами реакційної суміші та кількості розчинника;
- для вимірювання продукції супероксиданіонрадикалу використано більш доступний і дешевший їх індуктор від фагоцитів тканин - пірогенал або зимозан;
- вираження розрахунку кількості супероксиду проводиться в чітко визначених величинах системи СІ.

Патентний пошук показав, що жоден з аналогів не має таких широких та комплексних можливостей визначення вмісту та походження супероксиданіонрадикалів від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга при інкубації за допомогою стимуляції - НАД-Н, мікросомального електронно-транспортного ланцюга та NO-синтетази - НАД-Н, фагоцитарного електронно-транспортного ланцюга і ксантиноксидази - пірогеналом або зимозаном.

Таким чином, використання винайденого способу, що заявляється, відкриває можливість отримання даних про вміст і співвідношення супероксиданіонрадикалу мітохондріального, мікросомального та особливо фагоцитарного походження, дасть змогу визначати індуктори вільнорадикального окислення в тканинах тварин на різних етапах розвитку, відкриє шлях для пізнання і з'ясування причин апоптозу клітин.

Джерела інформації:

1. Коган А.Х., Грачев С.В., Елисеева С.В., Быевич С.Н. Свойство углекислого газа ингибировать генерацию супероксидного анионрадикала клетками и его биологическое значение// Вопросы медицинской химии. - 1997. - №1. - С.193-200.
2. Лабораторные исследования в клинике. Справочник// Под ред. В.В.Меньшова. - М.: Медицина, 1987. - 368с.
3. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. М.: Мир, 1982. - 270с.
4. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. -Казань.-Магариф, 1993, - 192с.
5. Объем и методы генотоксической оценки и побочных эффектов биологически активных веществ. Ленинград, 1989. - 90с.
6. Metcalf J.A., Gallin J.I., Nauseef W.M., Root R.K. Laboratory manual of neutrophil function, N.-Y.: Raven Press, 1986. - 192p.