



УКРАЇНА

(19) UA (11) 3945 (13) U

(51) 7 G01N33/49

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОЕФІЦІЄНТА ТЕПЛОВОО РОЗШИРЕННЯ ПЛОЩІ ПОВЕРХНІ МЕМБРАН
ЕРИТРОЦИТІВ

1

(21) 2004042570

(22) 06.04.2004

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

(72) Гордієнко Ольга Іванівна, Гордієнко Євген
Олександрович, Гордієнко Юлія Євгенівна(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І
КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК
УКРАЇНИ(57) Спосіб визначення коефіцієнта теплового
розширення площі поверхні мембран еритроцитів

2

шляхом визначення зміни площі поверхні мембран еритроцитів при зміні температури, який відрізняється тим, що методом малокутового розсіювання отримують криві осмотичної крижкості еритроцитів при двох температурах, отримані криві перетворюють на криві щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності, далі по зсуву центрів цих кривих визначають зміну площі поверхні мембран еритроцитів, звідки розраховують шуканий коефіцієнт.

Корисна модель належить до клітинної біології і може бути використаний для оцінки стану мембран еритроцитів за дії внутрішніх та зовнішніх чинників.

Відомим є спосіб визначення коефіцієнта теплового розширення (КТР) площі поверхні мембран еритроцитів (ППМЕ) мікропіпетковим методом [1, с.178-180, 223]. Згідно з цим методом коефіцієнт теплового розширення мембрани еритроцита визначають наступним чином. Попередньо набряклий еритроцит втягується в мікропіпетку з внутрішнім діаметром біля 2 мкм з перепадом тиску біля 10^3 дин/см² до тих пір, поки зовнішня частина поверхні клітини не набуде сферичної форми. При підтримці в мікропіпетці постійного всмоктуючого тиску збільшують температуру, що приводить до того, що довжина втягнутої в мікропіпетку частини клітини збільшується пропорційно збільшенню площі клітинної мембрани. Якщо температура збільшується на ΔT градусів, а відносна площа поверхні на $\Delta S/S_0$ (тобто довжина втягнутої в мікро піпетку частини клітини на $\Delta l/l_0$), то коефіцієнт теплового розширення є $k = \frac{1}{\Delta T} \frac{\Delta S}{S_0}$.

Основним недоліком цього способу є його надзвичайна експериментальна складність: для досягнення статистичне достовірних результатів необхідно виміряти шуканий параметр на дуже

великій кількості клітин, що неможливо здійснити за короткий проміжок часу. Крім того, через обмежене оптичне розрізнення неможливо точно виміряти довжину втягнутої частини мембрани, меншої за $0,5 \cdot 10^{-6}$ м [1, с. 292], що суттєво впливає на похибку вимірювання.

Задачею корисної моделі є створення такого способу визначення КТР ППМЕ, в якому би застосування нового методу вимірювання зміни площі поверхні мембран еритроцитів забезпечувало можливість його спрощення при одночасному зменшенні похибки вимірювання.

Ця задача вирішується тим, що в способі визначення коефіцієнта теплового розширення площі поверхні мембран еритроцитів шляхом визначення зміни площі поверхні мембран еритроцитів при зміні температури, згідно з корисною моделлю, методом малокутового розсіювання отримують криві осмотичної крижкості еритроцитів при двох температурах, отримані криві обертають на криві щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності, далі по зсуву центрів цих кривих визначають зміну площі поверхні мембран еритроцитів, звідки розраховують шуканий коефіцієнт.

Визначення КТР ППМЕ по зсуву розподілу еритроцитів за індексом сферичності дозволяє спростити процедуру вимірювання, оскільки передбачає проведення вимірювання на великій кількості клітин. При цьому зменшується похибка

(13) U

(11) 3945

(19) UA

визначення внаслідок того, що використання методу малокутового розсіювання світла для отримання кривих осмотичної крижкості і розрахунок щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності на підставі теоретично визначених закономірностей гіпотонічного гемолізу в розчинах не проникаючої в клітини речовини забезпечує точний кількісний аналіз популяції еритроцитів за вказаним параметром.

Спосіб здійснюють таким чином. Методом малокутового розсіювання отримують криві осмотичної крижкості еритроцитів при двох температурах. Шляхом перетворення координат та диференціювання криві осмотичної крижкості еритроцитів обертають на криві щільності розподілу клітин за індексом сферичності на підставі розробленої фізико-математичної моделі гіпотонічного гемолізу в розчинах непроникаючої речовини [3]. Центри отриманих кривих щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності при різних температурах зміщені між собою. Оскільки внутрішньоклітинний розчин є практично нестисливим, зміна осмотичної крижкості при зміні температури і, відповідно, зсув кривих щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності визначаються зміною площі поверхні мембран еритроцитів. З визначення індексу сферичності (P_0)

$$P_0 = \frac{S_0^{3/2}}{6\sqrt{\pi}V_0}, \quad (1)$$

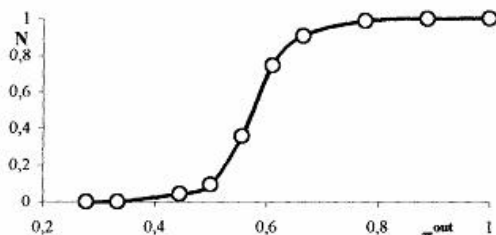
де S_0 - початкова площа поверхні мембрани еритроцита, V_0 - початковий об'єм еритроцита, впливає

$$\Delta P = \frac{1}{6\sqrt{\pi}V_0} \left[S_0^{3/2} - (S_0 + \Delta S)^{3/2} \right], \quad (2)$$

де ΔS - зміна площі поверхні мембрани еритроцита зі зміною температури. Враховуючи, що

$$\Delta S = kS_0\Delta T, \quad (3)$$

де k - коефіцієнт теплового розширення площі



Фиг. 1

поверхні мембрани еритроцита, ΔT - зміна температури, отримуємо для розрахунку КТР ППМЕ формулу:

$$k = \frac{1}{T} \left[\left(1 - \frac{\Delta P}{P_{\max}} \right)^{2/3} - 1 \right] \quad (4)$$

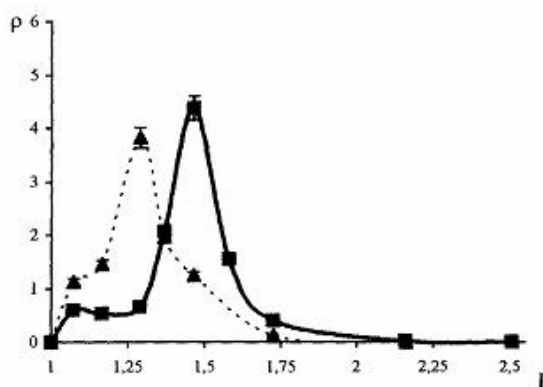
Приклад. У вимірну кювету приладу, що містить 3 мл розчину хлориду натрію з концентрацією в діапазоні від 0,15 до 0,05 Моль/л, додавали 3 мкл еритроцитів. За даними малокутового розсіювання визначали відсоток збережених клітин в гіпотонічних розчинах непроникаючої речовини (NaCl) і отримували криві осмотичної крижкості (Фиг. 1). Вимірювання здійснювали за двох температур: 37°C та 3°C. Отримані криві обертали на криві (Фиг. 2) щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності для цих температур шляхом перетворення координат та диференціювання за аргументом на підставі розробленої фізико-математичної моделі гіпотонічного гемолізу в розчинах непроникаючої речовини [3]. Підставляючи у співвідношення (4) для розрахунку КТР 111 1МЕ експериментальні дані, тобто $P_{\max} = 1.48$, $\Delta P = 0.18$ для інтервалу температур від 3 до 37°C (тобто для $\Delta T = 34^\circ\text{C}$), одержували значення коефіцієнту теплового розширення площі поверхні мембрани еритроцита $k = 2.4 \cdot 10^{-3} / ^\circ\text{C}$.

Джерела інформації:

1. Ивэнс И., Скейлак Р. Механика и термодинамика биологических мембран: Пер. с англ. - М: Мир, 1982.

2. Пат. 47910А (Україна), G01N33/49, 2002.

3. Гордієнко Є.О., Гордієнко О.І., Коваленко І.Ф., Паніна Ю.Є., Алексеев О.О. Фізико-математичний аналіз та експериментальне визначення щільності розподілу еритроцитів донорської і пуповинної крові людини за індексом сферичності // Вісник Харк.ун-ту. - 2000. - 488. - С. 75-78.



Фиг. 2