



УКРАЇНА

(19) UA (11) 53118 (13) U  
(51) МПК (2009)  
A61B 5/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ТКАНИННИХ КОМПОНЕНТІВ  
ВУШКА СЕРЦЯ

1

2

(21) u201003313

(22) 22.03.2010

(24) 27.09.2010

(46) 27.09.2010, Бюл. № 18, 2010 р.

(72) ВОЛКОВ КОСТЯНТИН СТЕПАНОВИЧ, ГЕТ-  
МАНЮК ІРИНА БОГДАНІВНА(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО(57) Спосіб визначення мембранопротекторної  
активності тканинних компонентів вуха серця, що  
включає проведення діагностичної цитолітичної  
проби in vitro в присутності екстрагованих компо-  
нентів тканинного субстрату, який відрізняється

тим, що на предметне скло вміщують 20 мкл суспензії нативних лейкоцитів в аутологічній плазмі і витримують при 37 °С в умовах вологої камери впродовж 45 хв., після чого до інкубату додають аналогічний об'єм стандартизованого водного екстракту тканинного субстрату вуха серця, суміш додатково витримують при 18-20 °С впродовж 30 хв. і досліджують під мікроскопом методом поляризованої флуоресценції, а висновок про мембранопротекторний ефект екстракту тканини вуха в мікропрепараті роблять за ступенем гальмування реакції лейкоцитолізу.

Корисна модель стосується біології і медицини, зокрема гістології, фізіології і біохімії, і може бути використана в експериментальній біології і медицині як високоточна модель для дослідження механізмів регуляції функцій організму на клітинно-молекулярному рівні.

Відомий спосіб визначення мембранопротекторної активності тканинних компонентів вуха серця, що включає проведення діагностичної цитолітичної проби in vitro в присутності екстрагованих компонентів тканинного субстрату [1]. За відомим способом, діагностичною цитолітичною пробю використовують реакцію кислотного гемолізу, попередньо модульовану екстрактом нативного тканинного субстрату вуха серця.

Недоліком відомого способу є недостатній рівень методичності, а відтак - і точності результатів, що впливає з наявності в екстракті нативного тканинного субстрату одночасно чинників цитолізу (внутрішньоклітинні протеази) і їх гальмування (інгібітори вказаних протеаз): в силу різноспрямованої дії названих чинників результати дослідження виявляються досить часто взаємно нівельованими, а отже недостатньо презентабельними.

В основу корисної моделі поставлено завдання вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом попередньої технологічної обробки тканинного субстрату серцевого вуха, спрямованої на селективну інактивацію природних чинників цитолізу з

одночасною мобілізацією мембранопротекторних факторів, досягають підвищення рівня методичності дослідження, а отже методичної доступності.

При вирішенні технічного завдання було взято до уваги явище неоднакової чутливості макромолекулярних ферментних структур до температурного чинника, зокрема, здатність до інактивації протеолітичних ферментів при низькій, особливо, наднизькій температурі, при одночасному збереженні активності інгібітора протеолізу, зокрема,  $\alpha_1$ -антитрипсину [2].

Виходячи з наведеного, у відомому способі визначення мембранопротекторної активності тканинних компонентів вуха серця, що включає проведення діагностичної цитолітичної проби in vitro в присутності екстрагованих компонентів тканинного субстрату, відповідно до корисної моделі на предметне скло вміщують 20 мкл суспензії нативних лейкоцитів в аутологічній плазмі і витримують при 37 °С в умовах вологої камери впродовж 45 хв., після чого до інкубату додають аналогічний об'єм стандартизованого водного екстракту тканинного субстрату вуха серця, суміш додатково витримують при 18-20 °С впродовж 30 хв. і досліджують під мікроскопом методом поляризованої флуоресценції, а висновок про мембранопротекторний ефект екстракту тканини вуха в мікропрепараті роблять за ступенем гальмування реакції лейкоцитолізу.

Спосіб здійснюють наступним чином.

(19) UA (11) 53118 (13) U

На предметне скло вміщують 20 мкл суспензію нативних лейкоцитів в аутологічній плазмі і витримують при 37 °С в умовах вологості камери впродовж 45 хв., після чого до інкубату додають аналогічний об'єм стандартизованого водного екстракту тканинного субстрату вушка серця, суміш додаткововитримують при 18-20 °С впродовж 30 хв. і досліджують під мікроскопом методом поляризованої флуоресценції. Висновок про мембранопротекторний ефект екстракту тканини вушка в мікропрепараті роблять за ступенем гальмування реакції лейкоцитолізу.

Приклад 1. На предметне скло внесли 20 мкл суспензії лейкоцитів білої миші в аутологічній плазмі і витримали при 37 °С в умовах вологості камери, зокрема в чашці Петрі в термостаті, впродовж 45 хв., після чого до інкубату внесли 20 мкл стандартизованого за вмістом білку водного екстракту тканинного субстрату вушка серця, обережно перемішали і додатково витримали при 20 °С впродовж 30 хв. у затемненому місці, після чого отриманий мікропрепарат досліджували під мікроскопом методом поляризованої флуоресценції. Звертали увагу на характер лейкоцитолізу і характеристики спектрального складу флуоресценції клітинних ядер, а висновок про мембранопротекторний ефект екстракту тканини вушка формулювали за ступенем гальмування реакції лейкоцитолізу. Так, якщо в контролі цитоліз лейкоцитів після інкубації в аутологічній плазмі характеризувався вираженням набряком клітин, розмиванням структури їх зовнішньої мембрани і виходом ядрової субстанції назовні, то в результаті дії чинників екстракту тканинного суб-

страту вушка серця ізолювані лейкоцити зберігали притаманну їм структуру і характер поляризованої флуоресценції.

Приклад 2. Мембранопротекторну дію правого і лівого вушок серця лабораторних тварин досліджували запропонованим способом, а результати порівнювали з аналогічними, отриманими за відомим способом, тобто з використанням тесту на резистентність мембран еритроцитів до гемолітичного чинника в реакції кислотного гемолізу. В результаті дослідження, виконаного на вушках серця 5 білих щурів, встановлено, що мембранопротекторна дія тканинних компонентів правого і лівого вушка не співпадають за інтенсивністю (табл.). Так, водний екстракт тканини правого вушка суттєво перевищував протекторний ефект тканини лівого вушка серця: рівень лейкоцитолізу при інкубації клітин з екстрактом правого вушка був значно меншим, порівняно з впливом екстракту з лівого вушка. З наведених у таблиці даних видно, що порівняно із вираженням цитолізом нативних лейкоцитів в аутологічній плазмі, чому відповідає максимальне значення індексу (1,0), екстракти правого і лівого вушка суттєво гальмують цитолітичний процес: на 55 % - правого та на 40 % - лівого вушків ( $P > 0,05$ ). При цьому ефект гальмівної дії компонентів екстракту правого вушка на 15 % переважає аналогічну дію лівого, може слугувати доказом існування регуляторної за функціональною направленістю генетично детермінованої системи захисту клітинних мембран клітин крові і судинної стінки від дії цитолітичних чинників.

Таблиця

Мембранопротекторний ефект екстракту тканини вушків серця в експерименті на лабораторних тваринах ( $\bar{X} \pm m$ )

Показник	n	Контроль	Екстракт правого вушка (d)	Екстракт лівого вушка (s)	$P_{d/s}$
Індекс лейкоцитолізу	5	1,0	0,45 $\pm$ 0,02	0,6 $\pm$ 0,02	>0,05
Індекс резистентності мембран еритроцитів	5	23,4 $\pm$ 2,6	44,6 $\pm$ 7,3	32,8 $\pm$ 6,6	>0,05

Аналогічний результат отримано при дослідженні мембранопротекторної дії екстрактів тканини вушків серця за відомим способом: екстракт правого вушка обмежує активність гемолітичного процесу на 90,6 %, а лівого – на 40,2 % порівняно з контролем ( $P > 0,05$ ).

Отже, з урахуванням доказів вищої, ніж за відомим способом, методичної доступності запропонованого способу, останній знайде використання в медичній практиці, зокрема, в реаніматології, інтенсивній терапії тощо для експрес-діагностики

ризиків емболії, перш за все тромбоемболії, судинного кола кровообігу, а також в експериментальній медицині.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Тураш І.Б. Мембранотропний ефект компонентів тканин серця за впливом на резистентність еритроцитів у тестовій пробі *in vitro* // X міжнародний медичний конгрес студентів і молодих учених. Матеріали конгресу. -Тернопіль, 2006. - С. 125.