



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88854** (13) **U**  
(51) МПК (2014.01)  
**G01N 33/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

|  |   |
|--|---|
| (21) Номер заявки: <b>u 2013 08795</b>                                       | (72) Винахідник(и):<br><b>Кондакова Ганна Костянтинівна (UA),<br/>Семко Галина Олександрівна (UA),<br/>Іващенко Лариса Вікторівна (UA),<br/>Мавров Геннадій Іванович (UA)</b> |
| (22) Дата подання заявки: <b>15.07.2013</b>                                  |   |
| (24) Дата, з якої є чинними<br>права на корисну<br>модель: <b>10.04.2014</b> |   |
| (46) Публікація відомостей<br>про видачу патенту: <b>10.04.2014, Бюл.№ 7</b> | (73) Власник(и):<br><b>ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ<br/>ДЕРМАТОЛОГІЇ ТА ВЕНЕРОЛОГІЇ<br/>НАМНУ",<br/>вул. Чернишевського, 7/9, м. Харків, 61057<br/>(UA)</b>                    |
|  | (74) Представник:<br><b>Євтушенко Тамара Григорівна</b>   |

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПЕРЕБІГУ УРОГЕНІТАЛЬНОЇ ХЛАМІДІЙНОЇ ІНФЕКЦІЇ

### (57) Реферат:

Спосіб діагностики особливостей перебігу інфекції шляхом виявлення порушень поверхневих шарів лімфоцитів периферійної крові за допомогою біохімічних методів. У хворих на уrogenітальний хламідіоз виявляють порушення сорбційної ємності глікокаліксу мембрани лімфоцитів за допомогою методу прижиттєвого кількісного забарвлювання лімфоцитів.

**U**  
**88854**  
**UA**



Корисна модель належить до медицини, а саме до венерології, і може бути використаною для діагностики особливостей перебігу уrogenітальної хламідійної інфекції.

Серед найбільш актуальних інфекцій, які передаються статевим шляхом - хламідійна інфекція. Проблема хламідіозів обумовлена персистентним перебігом, безплідністю, поразкою опорно-рухового апарату й серцево-судинної системи. Хламідійні інфекції характеризуються тим, що, з одного боку, *Chlamydia trachomatis* є внутрішньоклітинною бактерією, здатною викликати імунопатологічні порушення, а з іншого боку - інфекція протікає на тлі зниження імунологічної реактивності. Для того, щоб розробити ефективні методи лікування й профілактики уrogenітального хламідіоза необхідно відповісти на запитання, чому ця інфекція у різних людей протікає по-різному - від тривалого безсимптомного перебігу до виражених висхідних запальних процесів у статевих органах [Нагорный А.Е. Патоморфоз клинических проявлений при генитальном герпесе, хламидиозе и трихомонозе // Дерматология та венерология. - 2011. - № 3 (53). - С. 34-43].

Стандартні способи діагностики особливостей перебігу уrogenітальної хламідійної інфекції включають біохімічні та морфологічні методи дослідження зразків біологічного матеріалу [Негрич Т.І. Визначення сілових кислот у лімфоцитах хворих на розсіяний склероз // Лікарська справа. - 2000. - № 2. - С. 48-50].

Так, наприклад, відомий спосіб діагностики особливостей перебігу інфекції шляхом виміру поверхневих характеристик лімфоцитів периферійної крові [Новицкий В.В. Лимфоциты при хроническом вирусном гепатите С: поверхностная архитектура, микровязкость мембраны и функциональная активность / В.В. Новицкий, И.О. Наследникова, Н.В. Токарева и др. // Бюллетень СО РАМН - 2005. - № 3 (117). - С. 78-82; Grimley P.M. Abnormal structures in circulating lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus and related diseases / P.M. Grimley, J.L. Decker, H.J. Michelitch et al. // Arthritis & Rheumatism. - 2005. - V. 16 (3). - P. 313-323].

Даний спосіб діагностики особливостей перебігу інфекції є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю і результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за прототип.

В основу корисної моделі поставлено задачу розширення арсеналу способів діагностики особливостей перебігу уrogenітальної хламідійної інфекції.

Задачу, яку поставлено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі діагностики особливостей перебігу інфекції шляхом виявлення порушень поверхневих шарів лімфоцитів периферійної крові за допомогою біохімічних методів, згідно з корисною моделлю, у хворих на уrogenітальний хламідіоз виявляють порушення сорбційної ємності глікокаліксу мембрани лімфоцитів за допомогою методу прижиттєвого кількісного забарвлювання лімфоцитів.

Технічний ефект корисної моделі обумовлений тим, що однією з найважливіших структурних складових мембрани є її глікокалікс, утворений негативно зарядженими сіловими кислотами трансмембранних білків і який формує поверхневий мембранний заряд. Лімфоцити людини несуть на зовнішній поверхні плазматичної мембрани тонкий (близько 5-10 нм) шар глікокаліксу, що складається із глікопротеїнів, гліколіпідів і глікозаміногліканів. Цей шар, нерівномірний по товщині й структурі, має високу лабільність, і його компоненти здатні десорбуватися навіть при м'яких впливах.

Спосіб виконують наступним чином: у хворих на уrogenітальний хламідіоз виявляють порушення сорбційної ємності глікокаліксу мембрани лімфоцитів за допомогою методу прижиттєвого кількісного забарвлювання лімфоцитів.

Ефективність способу доказана експериментально.

Було обстежено 18 хворих на уrogenітальний хламідіоз у віці від 19 до 48 років (у середньому  $32,4 \pm 3,1$  роки). Чоловіків було 11 (61,1 %), жінок - 7 (38,9 %). Давнина захворювання коливалася від 3 місяців до 11 років. Всі хворі мали суб'єктивні симптоми й об'єктивні ознаки хламідіозу. Контрольну групу складали 22 здорових донора (12 чоловіків і 10 жінок) у віці від 22 до 45 років.

Лімфоцити виділяли із цільної гепаринізованої крові в градієнті щільності фікол-верографін. Отримані клітини двічі відмивали забуференим фізіологічним розчином (рН 7,2-7,4). Життєздатність клітин у тесті із трипановим синім становила не менш ніж 98 %.

Сорбційну ємність глікокаліксу лімфоцитів для альціанового синього визначали за допомогою методу прижиттєвого кількісного забарвлювання лімфоцитів [Арцишевская Р.А., Миронова А.П., Самойлова К.А. Десорбция гликопротеинов с поверхности лимфоцитов периферической крови человека после облучения коротковолновыми УФ лучами // Цитология. - 1984. - Т. XXVI, № 2. - С. 209-214]. Вміст гексоз визначали біохімічним методом [Биохимическое исследование мембран / под ред. Э. Медди: Пер. с англ. - М.: Мир, 1979. - С. 287]. Для

кількісного визначення гексуронових кислот використовували карбазоловий і орциновий методи, для оцінки якісного складу глікозаміногліканів (ГАГ) обчислили карбазол-орциновий коефіцієнт (К/О) [Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbazole reaction // Anal. Biochem. - 1962. - Vol. 4. - P.330-334; Svennerholm L. The quantitative estimation of cerebrosides in nervous tissue // J. Neurochem. - 1956. - Vol. 1. - N1. - P. 42-53].

Електронну мікроскопію глікокаліксу здійснювали за загальноприйнятою методикою з додатковим контрастуванням рутенієм червоним, що специфічно зв'язується із сіаловими кислотами мембран [Гайер Г. Электронная гистохимия. - М.: Мир - 1974. - 488 с.]. Ультратонкі зрізи, отримані на ультрамикротомі УМТП-7, збирали на паладировані сіточки й контрастували насиченим ураніацетатом і цитратом свинцю. Потім досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К при прискорювальній напрузі 75 kV, постаченого системою знімання й аналізу зображення САІ - 01 А (АТ "Selmi", м. Суми) з використанням високочутливої CCD камери DX-2 і пакета програм для обробки зображення фірми "КАРРА", Німеччина.

При вивченні сорбційної ємності глікокаліксу до альціанового синього виявилось, що у хворих урогенітальним хламідіозом спостерігається зниження спорідненості до барвника до 60 %, що може свідчити про порушення стану примембранних шарів імункомпетентних клітин при цій урогенітальній інфекції (табл. 1).

Таблица 1

Стан зовнішніх примембранних шарів лімфоцитів  
периферичної крові у хворих урогенітальним хламідіозом ( $M \pm m$ )

| Обстежені групи                         | Сорбційна ємність ( $\times 10^{-10}$ г/л) |
|---|--|
| Практично здорові донори (n=22)         | 5,9 $\pm$ 0,4                              |
| Хворі урогенітальним хламідіозом (n=18) | 4,4 $\pm$ 0,6*                             |

Примітка: \*p < 0,05.

Отримані дані про порушення сорбційних властивостей глікокаліксу лімфоцитів у хворих урогенітальним хламідіозом обумовили проведення досліджень по визначенню рівня окремих вуглеводних макромолекул. Нами було показано, що у хворих у лімфоцитах відбувається достовірне зниження вмісту гексоз (на 28 %) і гексуронових кислот (на 17 %) у порівнянні із групою здорових осіб (табл. 2).

У контрольній групі коефіцієнт К/О був менше одиниці, що свідчить про те, що в нормі переважають ГАГ, які містять уронові кислоти. При хламідіозі коефіцієнт К/О вірогідно зростав, що свідчить про перевагу в лімфоцитах хворих ГАГ, які містять в основному глюкуронові кислоти (табл. 2).

Таблица 2

Рівень глікозоаміногліканів у лімфоцитах  
периферичної крові хворих урогенітальним хламідіозом ( $M \pm m$ )

| Обстежені групи                         | Вміст гексоз, мкмоль/мг білка | Вміст гексуронових кислот, мкмоль/мг білка | К/О            |
|---|-------------------------------|--|----------------|
| Практично здорові донори (n=22)         | 13,5 $\pm$ 1,3                | 5,4 $\pm$ 0,4                              | 0,6 $\pm$ 0,1  |
| Хворі урогенітальним хламідіозом (n=18) | 9,9 $\pm$ 1,3*                | 4,1 $\pm$ 0,6                              | 0,9 $\pm$ 0,1* |

Примітка: \*p < 0,05.

Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що у групі хворих хламідіозом виявлялася неоднорідність порушень глікокаліксу - одні пацієнти мали відносно збережений стан примембранного шару лімфоцитів, а інші - значні порушення. Ці дані погоджуються з нерівномірністю й розкидом кількісних даних при визначенні вмісту гексоз, гексуронових кислот, а також сорбційної ємності глікокаліксу.

Таким чином, визначення вмісту гексоз, гексуринових кислот та сорбційної ємності лімфоцитів підтверджує можливість використання визначення сорбційної ємності лімфоцитів як рівноцінного діагностичного критерію оцінки перебігу уrogenітальної хламідійної інфекції.

5

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10

Спосіб діагностики особливостей перебігу інфекції шляхом виявлення порушень поверхневих шарів лімфоцитів периферійної крові за допомогою біохімічних методів, який **відрізняється** тим, що у хворих на уrogenітальний хламідіоз виявляють порушення сорбційної ємності глікокаліксу мембрани лімфоцитів за допомогою методу прижиттєвого кількісного забарвлювання лімфоцитів.

---

Комп'ютерна верстка С. Чулій

---

---

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

---

---

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

---