



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115329** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61B 10/00
G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 11329	(72) Винахідник(и): Давиденко Ігор Святославович (UA), Давиденко Оксана Миколаївна (UA), Мироник Олена Володимирівна (UA), Лазарук Олександр Володимирович (UA), Гарвасюк Олександра Василівна (UA), Попович Андрій Іванович (UA), Іліка Віталій Валер'янович (UA)
(22) Дата подання заявки: 09.11.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2017, Бюл.№ 7	(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИНАХ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, при якому застосовують барвник бромфеноловий синій та комп'ютерно мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки. Хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.

UA 115329 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до патологічної анатомії, і може бути використана для морфологічної діагностики хвороб, при яких активізуються вільнорадикальні процеси в епітеліальних клітинах, зокрема, зростає інтенсивність окиснювальної модифікації білків наприклад, інфекційні захворювання, анемії, захворювання легень, пухлинні захворювання, інтоксикації тощо.

Сучасна медицина володіє багатьма засобами для місцевої чи загальної корекції вільнорадикальних процесів, у тому числі окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, окрім того, практика медицини потребує засобів прогнозування перебігу захворювань.

Тому, вкрай важливим для практичної медицини є удосконалення діагностики змін в епітеліальних клітинах при різних захворюваннях.

Найближчим аналогом до корисної моделі є спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків [Пат. № 38260, МПК А61В 10/00. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у тканині печінки /Давиденко І.С., Ленга Е.Л., Мещишен І.Ф.; Заявник Давиденко І.С., Ленга Е.Л., Мещишен І.Ф., заяв. № u200810681 від 27.08.2008, опубл. 25.12.2008, бюл. № 24], в якому досліджували гістологічні парафінові зрізи печінки, які попередньо піддавали хімічній фіксації на звичайних чистих знежирених предметних скельцях в нейтральному забуференому розчині формаліну, потім проводили гістохімічне забарвлення бромфеноловим синім при низькому рН "кислих" та "основних" білків за методом Мікель-Кальво, та проводили комп'ютерний мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки.

Недоліком найближчого аналога є те, що для хімічної фіксації використовують чисті знежирені предметні скельця, які володіють порівняно низькими адгезивними властивостями щодо епітеліальних клітин, та водний розчин формальдегіду.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах шляхом проведення хімічної фіксації препаратів-відбитків на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків, при якому застосовують барвник бромфеноловий синій та комп'ютерно мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки, згідно з корисною моделлю, хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.

При різних захворюваннях закономірно повинні зазнавати суттєвих змін показники окиснювальної модифікації білків. Так, індекс R/B (міра окиснювальної модифікації білків) зростає в епітеліальних клітинах в порівнянні з практично здоровими особами при ангінах, дерматитах, епітеліальних пухлинах різних органів, в трофобласті плаценти при залізодофіцитній анемії вагітних та інших захворюваннях.

Епітеліальні клітини при виготовленні препаратів-відбитків на відміну, наприклад, від клітин крові, значно гірше утримуються на чистих предметних скельцях внаслідок порівняно низьких адгезивних властивостей епітеліальних клітин; застосування ж класичних білкових плівкових покриттів для підвищення адгезії клітин до скла (наприклад, яєчний білок чи білок сироватки крові) непридатні для гістохімічної методики на окиснювальну модифікацію білків, так як білкове покриття предметного скельця так само дає позитивну реакцію на білок, як і білки клітин, тому частково перебиває позитивну реакцію в епітеліальних клітинах і тому перешкоджає отриманню істинних результатів дослідження.

Варто зазначити, що використання для фіксації препаратів-відбитків саме парів параформальдегіду замість водного розчину формальдегіду чи водних розчинів інших хімічних фіксаторів значно покращує електричну адгезію епітеліальних клітин до предметних скельців і є важливим засобом збереження структур епітеліальних клітин на предметних скельцях.

Корисна модель здійснюють наступним чином.

У пацієнта беруть препарат-відбиток органа, де добре представлена епітеліальна тканина (наприклад, мигдалики, шкіра, плацента), при цьому його роблять за допомогою предметного скельця з фабричною електричною адгезією, наприклад, предметні скельця "SuperFrost[®]" або "Histobond[®]", далі препарат-відбиток висушують не менше ніж протягом 20 хвилин при температурі 20-25 °С і відносній вологості не більше 70 %. Висушений препарат-відбиток з метою хімічної фіксації розміщують в закритій ємності (наприклад, в ексикаторі) разом з присутнім там параформальдегідом на 10-15 хвилин, далі препарат-відбиток занурюють у робочий розчин барвника бромфенолового синього і тримають у ньому при 20-25 °С протягом 8 хвилин, після чого обробляють у диференціюючому розчині з кислотою, далі промивають двічі у дистильованій воді і висушують протягом 10 хвилин, потім за допомогою оптичного мікроскопа та цифрової фотокамери роблять цифрову кольорову копію оптичного зображення лейкоцитів

препарату-відбитка і засобами комп'ютерної програми ImageJ отримують мікроспектрофотометричні показники R та B, на основі яких розраховують індекс R/B, який є мірою окиснювальної модифікації білків.

Приклад застосування корисної моделі.

- 5 Застосування запропонованого способу показало на практиці свою ефективність у прогнозуванні тяжкості перебігу захворювання за станом епітеліальних клітин певного органу, наприклад, при ангіні чи при раку молочної залози, тобто запропонований спосіб придатний для дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, що призводить до ефективного складання прогнозу захворювання, при якому суттєвою ознакою є ураження саме
- 10 епітеліальних клітин.

Спосіб дозволяє проводити ефективне дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, покращує візуалізацію епітеліальних клітин із максимальним збереженням цілісності їх структур у препаратах-відбитках.

15 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в епітеліальних клітинах, при якому застосовують барвник бромфеноловий синій та комп'ютерно мікроспектрофотометричний аналіз цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки, який **відрізняється** тим, що
- 20 хімічну фіксацію препаратів-відбитків проводять на предметних скельцях з електричним принципом клітинної адгезії у парах параформальдегіду.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

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