



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116109** (13) **U**  
(51) МПК (2017.01)  
**G01N 21/00**  
**G01N 33/48** (2006.01)  
**A61B 10/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2016 11328</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Давиденко Ігор Святославович (UA),</b> <b>Давиденко Оксана Миколаївна (UA),</b> <b>Гарвасюк Олександра Василівна (UA),</b> <b>Мироник Олена Володимирівна (UA),</b> <b>Іліка Віталій Валер'янович (UA),</b> <b>Попович Андрій Іванович (UA),</b> <b>Лазарук Олександр Володимирович (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>09.11.2016</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.05.2017</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.05.2017, Бюл.№ 9</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МОЗ УКРАЇНИ,</b> пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)

**(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ЛЕЙКОЦИТАХ**

**(57) Реферат:**

Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах шляхом застосування барвника бромфенолового синього та комп'ютерного мікроспектрофотометричного аналізу цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки. Проводять глибоке висушування препаратів-мазків крові. Використовують робочий розчин барвника без кислоти та потім промивають пофарбовані препарати-мазки у 95°-му етанолі.

**UA 116109 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, зокрема, зростає інтенсивність окиснювальної модифікації білків у різних клітинах, наприклад, інфекційні захворювання, анемії, захворювання легень, пухлинні захворювання, інтоксикації тощо.

Сучасна медицина володіє багатьма засобами для корекції вільнорадикальних процесів, у тому числі окиснювальної модифікації білків, зокрема, у лейкоцитах крові, окрім того, практика медицини потребує засобів прогнозування перебігу захворювань.

Тому, надзвичайно важливим для практичної медицини є удосконалення діагностики змін у лейкоцитах крові при різних захворюваннях.

Прототипом 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 прототипу-способу є те, що використовують хімічну фіксацію, кислоту в робочому розчині барвника, промивання препаратів за допомогою диференціюючих розчинів з кислотами та води.

В основу корисної моделі поставлено завдання вдосконалити спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах шляхом глибокого висушування препаратів-мазків крові, використання робочого розчину барвника без кислоти, промивання пофарбованих препаратів-мазків у 95°-му етанолі.

Спільними ознаками прототипу та корисної моделі є дослідження окиснювальної модифікації білків із застосуванням барвника бромфенолового синього та комп'ютерного мікроспектрофотометричного аналізу цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки.

Відмінними ознаками корисної моделі від прототипу є глибоке висушування препаратів-мазків крові, використання робочого розчину барвника без кислоти, промивання пофарбованих препаратів-мазків у 95°-му етанолі (табл.).

Таблиця

Порівняння корисної моделі та прототипу за ознаками

Ознака	Корисна модель	Прототип
Фіксація препаратів-мазків крові	глибоке висушування	хімічна фіксація
Робочий розчин барвника	без кислоти	з кислотою
Промивання пофарбованих препаратів-мазків	у 95°-му етанолі	у диференціюючих розчинах з кислотами та води

Визначення термінів, які використовуються при описі корисної моделі: окиснювальна модифікація білків, лейкоцити, препарати-мазки крові.

Теоретичні передумови здійснення способу, що заявляється.

При різних захворюваннях закономірно повинні зазнавати суттєвих змін показники окиснювальної модифікації білків. Так, індекс R/B (міра окиснювальної модифікації білків) зростає в лейкоцитах крові в порівнянні з практично здоровими особами при вірусному гепатиті, залізодефіцитній анемії, хоріонамніонітах.

Під глибоким висушуванням мається на увазі висушування препаратів-мазків крові не менше ніж протягом однієї години при температурі 20-25 °С і відносній вологості не більше 60 %.

При застосуванні робочого розчину барвника щодо препаратів-мазків крові в зв'язку із низькою кислотністю розчину (рН=2-3) на практиці всі клітини крові, у тому числі лейкоцити, або відшаровуються від предметних скелець, або розриваються на дрібні фрагменти, при чому різноманітна хімічна фіксація не перешкоджає вказаним негативним явищам, тому дана методика потребує адаптації до проведення дослідження в препаратах-мазках крові.

Слід окремо зазначити, що промивання пофарбованих препаратів-мазків у 95°-му етанолі без застосування диференціюючих розчинів з кислотою та води є обов'язковою умовою

отримання необхідного правильного результату остаточного забарвлення, що дозволяє краще візуалізувати лейкоцити і зберегти спектральні параметри кольорового зображення.

Корисна модель здійснюється наступним чином.

- У пацієнта беруть свіжу кров, наносять на знежирене предметне скельце рівномірним тонким шаром, проводять глибоке висушування препаратів-мазків крові - не менше ніж протягом однієї години при температурі 20-25 °С і відносній вологості не більше 60 %, потім висушені препарати-мазки занурюють у робочий розчин барвника бромфенолового синього, в який не додають кислоти і тримають у ньому при 20-25 °С протягом 8-ми хвилин, після чого препарати-мазки промивають двічі в 95°-му етанолі і висушують протягом 10-ти хвилин, далі з препаратів-мазків за допомогою оптичного мікроскопа та цифрової фотокамери роблять цифрові кольорові оптичні зображення лейкоцитів 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.

- Застосування запропонованого способу показало на практиці свою ефективність у встановленні протіоксидантної дії певного фармакологічного препарату певної дози при певному захворюванні, наприклад, при вірусному гепатиті, щодо окиснювальної модифікації білків у крові, тобто спосіб придатний для визначення дієвої протіоксидантної дози фармакологічного препарату щодо конкретного захворювання.

- Отже, запропонований спосіб дозволив досліджувати зміни окиснювальної модифікації білків навіть у тих лейкоцитах, які знаходяться в препаратах-мазках крові, тобто забезпечив їх цілісність та покращив візуалізацію у порівнянні з іншими клітинами крові.

- Технічний результат. Запропонований спосіб дозволяє проводити ефективне дослідження окиснювальної модифікації білків в у лійкоцитах, покращує візуалізацію лейкоцитів із максимальним збереженням цілісності їх структур у препаратах-мазках крові.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах шляхом застосування барвника бромфенолового синього та комп'ютерного мікроспектрофотометричного аналізу цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки, який **відрізняється** тим, що проводять глибоке висушування препаратів-мазків крові, використовують робочий розчин барвника без кислоти та потім промивають пофарбовані препарати-мазки у 95°-му етанолі.

---

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

---

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

---

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