



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **95128** (13) **U**  
(51) МПК (2014.01)  
**A61B 10/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	<b>u 2014 07337</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Бесединська Олена Володимирівна (UA), Давиденко Ігор Святославович (UA), Бесединський Володимир Ілліч (UA)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>01.07.2014</b>	(73) Власник(и):	<b>БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	<b>10.12.2014</b>		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>10.12.2014, Бюл.№ 23</b>		

## (54) СПОСІБ ВИМІРЮВАННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У МІЄЛІНОВИХ ОБОЛОНКАХ ТА АКСОНАХ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА

### (57) Реферат:

Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у мієлінових оболонках та аксонах периферійного нерва включає фарбування за методикою Мікель-Кальво та проведення візуальної оцінки білкових груп за допомогою комп'ютерної мікроспектрометрії. Окиснювальну модифікацію білків оцінюють за співвідношенням величин червоного та синього спектрів забарвлення.

UA 95128 U



Корисна модель належить до галузі медицини, а саме патологічної анатомії та неврології, і може бути використана для морфологічної діагностики патології периферійної нервової системи.

Периферійна нейропатія - клінічний синдром, що розвивається внаслідок дії різноманітних етіологічних чинників на периферійні нерви та відрізняється неоднорідними патогенетичними механізмами. Полінейропатії займають друге місце в структурі захворювань периферійної нервової системи після вертеброгенної патології, проте значно випереджають її по тяжкості клінічних проявів та інвалідизуючим наслідкам. Причини розвитку периферійних полінейропатій різноманітні та багаточисельні, проте навіть сучасні дослідження дозволяють встановити етіологічний фактор захворювання тільки у 40-70 % хворих. Гістоморфологічна оцінка мієлінових оболонок та аксонів периферійного нерва з використанням різних методик дослідження гістологічних зрізів тканини дозволяє зі значною достовірністю виявити характер та ступінь ураження досліджуваного нерва.

Аналогом корисної моделі є спосіб визначення карбонільних груп білків (Zusterzeel P.L.M. Protein carbonils in deciduas and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress /P.L.M. Zusterzeel, H. Rutten, H.M.J. Roelofs //Placenta. - 2001. - Vol. 22-P. 213-219), в якому з метою визначення карбонільних груп білків у гістологічних препаратах проводять імуногістохімічну реакцію з динітрофенілгідразином з наступним виявленням останнього за допомогою антитіл до нього та системи пероксидазно-бензидинової візуалізації.

Недоліком аналога є те, що кількість карбонільних груп може свідчити не тільки про збільшення окиснювальної модифікації білків, але і про збільшення загального вмісту білка. В той же час для оцінки збільшення окиснювальної модифікації білків насправді найбільш принципово з'ясувати співвідношення між карбонільними та аміногрупами протеїнів. Аналог цього зробити не дозволяє.

Найближчим аналогом корисної моделі є спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків (Пат. 13712 Україна, МПК А61В 10/06. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у структурах плаценти /Шендерюк О.П., Давиденко І.С.; Заявник Буковинський державний медичний університет. - № заяви U200509673 від 14.10.2005; опубл. 17.04.2006, бюл. № 4), який базується на фарбуванні гістологічного препарату за методикою Мікель-Кальво та проведенні візуальної оцінки білкових груп за допомогою комп'ютерної мікроспектрометрії.

Недоліком найближчого аналога є те, що він не апробований для мієлінових оболонок та аксонів периферійного нерва, тому може бути для них не адекватним. На відміну від аміногруп білків, характерним спектром, забарвлення яких в плаценті, мієлінових оболонках та аксонах периферійних нервів є синій (В); характерним спектром забарвлення карбонільних груп білків для плаценти є зелений (G), а для мієлінових оболонок та аксонів - червоний (R).

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків в структурах плаценти шляхом оцінки співвідношення величин червоного та синього спектрів забарвлення, для забезпечення можливості в одному гістологічному зрізі визначити співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків та за цим співвідношенням у відносних величинах виміряти ступінь окиснювальної модифікації білків, а отже, і оцінити інтенсивність утворення активних форм кисню в мієлінових оболонках та аксонах периферійного нерва.

Спільними ознаками найближчого аналога та корисної моделі є те, що для визначення білкових груп проводять фарбування препаратів методикою Мікель-Кальво та комп'ютерну мікроспектрометрію.

Відмінними ознаками корисної моделі є те, що оцінку ступеня окиснювальної модифікації білків проводять у мієлінових оболонках та аксонах периферійного нерва та визначають співвідношенням величин червоного та синього спектрів забарвлення.

Визначення термінів, які використовуються при описі корисної моделі: окиснювальна модифікація білків, периферійний нерв, мієлінова оболонка, аксон.

Теоретичні передумови здійснення способу, що заявляється. При забарвленні гістологічних зрізів тканини периферійного нерва бромфеноловим синім за методикою Мікель-Кальво карбонільним групам білків відповідає червоне забарвлення, а аміногрупам - синє забарвлення, тому шляхом встановлення математичного співвідношення між інтенсивністю забарвлення обидвома кольорами (ділянки спектра) оцінюють ступінь окиснювальної модифікації білків.

Спосіб здійснюється наступним чином. Шматочки тканини периферійного нерва фіксують у нейтральному забуференому формаліні впродовж 24 годин. Зневоднюють зразок тканини у висхідній батареї спиртів. Проводять його заливку у парафін. На санному мікротомі виготовляють гістологічний зріз товщиною 5 мікрметрів. Фарбують бромфеноловим синім при низькому рН (2,0) гістологічний зріз тканини периферійного нерва, після чого отримують

цифрову копію мікроскопічного зображення. Потім ділянки зображення (мієлінові оболонки та аксони), що зацікавили дослідника, аналізують методом комп'ютерної мікроспектрометрії за допомогою системи аналізу кольору RGB, завдяки чому з роздільною здатністю у 256 градацій отримують дві конкретні величини: інтенсивність забарвлення червоного та синього кольорів.

5 Далі, для забезпечення можливості в одному гістологічному зрізі визначити співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків, величину інтенсивності забарвлення червоного кольору ділять на величину інтенсивності забарвлення синього кольору і, таким чином, отримують співвідношення (коефіцієнт) між цими величинами. Ця величина дозволяє встановити переважання карбонільних груп над аміногрупами, виміряти це переважання у відносних величинах та оцінити ступінь окиснювальної модифікації білків.

10 Технічний результат. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у мієлінових оболонках та аксонах периферійного нерва шляхом фарбування за методикою Мікель-Кальво та проведення візуальної оцінки білкових груп за допомогою комп'ютерної мікроспектрометрії дозволяє визначити співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків та по цьому  
15 співвідношенню виміряти ступінь окиснювальної модифікації білків у відносних величинах, а отже, і судити про інтенсивність утворення активних форм кисню в тканині периферійного нерва.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків у мієлінових оболонках та аксонах периферійного нерва, що включає фарбування за методикою Мікель-Кальво та проведення візуальної оцінки білкових груп за допомогою комп'ютерної мікроспектрометрії, який **відрізняється** тим, що окиснювальну модифікацію білків оцінюють за співвідношенням величин  
25 червоного та синього спектрів забарвлення.

---

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

---

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