



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **16825** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 30/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ПРОЦЕС КІЛЬКІСНОЇ ОЦІНКИ ІНТЕНСИВНОСТІ АПОПТОЗУ ПРИ ДІЇ АНТИМІТОТИЧНИХ СПОЛУК НА ПУХЛИНИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ

1

2

(21) u200603121

(22) 23.03.2006

(24) 15.08.2006

(46) 15.08.2006, Бюл. № 8, 2006 р.

(72) Пушкаръов Володимир Михайлович, Тронько Микола Дмитрович, Костюченко Надія Миколаївна

(73) ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН ІМ. В.П.КОМІСАРЕНКА АМН УКРАЇНИ

(57) Процес кількісної оцінки інтенсивності апоптозу при дії антимітотичних сполук на пухлини над-

ниркових залоз, який включає виділення ДНК і аналіз ДНК в агарозному гелі, який **відрізняється** тим, що проводять інкубацію пухлинної тканини з антимітотиками та визначають частину фрагментованої ДНК щодо загальної кількості ДНК в гелі із застосуванням скануючої комп'ютерної програми "Scion Image" і за відсутності фрагментації роблять висновок про відсутність апоптозу, а при збільшенні кількості фрагментів ДНК дається кількісна оцінка апоптозу.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до ендокринології та онкології і може використовуватись для кількісної оцінки проапоптичної дії протипухлинних агентів на пухлини.

Апоптоз є генетичне запрограмованим видом клітинної смерті, який дозволяє зберегти для організму значну частину її матеріального та енергетичного потенціалу. За допомогою апоптозу також відбувається елімінація пухлинних клітин, яка посилюється в останніх під дією деяких протипухлинних препаратів. Порушення механізмів апоптозу призводить до численних патологій, в тому числі і до виникнення різного роду пухлин. Вивчення умов виникнення апоптозу в пухлинній тканині, механізмів дії та взаємодії різноманітних чинників, що на нього впливають, методів кількісної оцінки запрограмованої клітинної смерті дозволить в майбутньому розробити підходи для провокування масованого апоптозу.

Пошук нових методів терапії злоякісних пухлин є вкрай необхідним, особливо у випадку, коли хірургічне втручання неможливе, або небажане. Для оцінки ефективності дії лікарських препаратів та їх порівняння необхідно мати метод кількісної оцінки ступеня апоптозу, що викликається даними препаратами.

Методів кількісної оцінки інтенсивності апоптозу в умовно нормальній та пухлинній тканині в науковій літературі та патентах не виявлено.

Відомий процес виявлення апоптозу шляхом визначення фрагментації ДНК. Цей процес є найбільш надійним свідченням апоптозу і свідчить про

початок його завершальних стадій. Суть його полягає в тому, що з тканини, в якій відбувається апоптоз виділяють ДНК і аналізують в агарозному гелі.

Утворення характерної „драбини” з фрагментів ДНК свідчить про апоптичні зміни. Проте даний процес є непридатним для кількісної оцінки апоптозу.

В основу корисної моделі поставлено завдання розробити процес кількісної оцінки інтенсивності апоптозу при дії антимітотичних сполук на пухлини надниркових залоз із застосуванням скануючих комп'ютерних програм, що дозволить кількісно оцінити ступінь апоптичних змін в пухлинній тканині та в умовно нормальній тканині, що межує з пухлинною. Тобто дозволить оцінити ефективність дії антимітотичних сполук.

Поставлене завдання досягається тим, що в процесі кількісної оцінки інтенсивності апоптозу при дії антимітотичних сполук на пухлини надниркових залоз, який включає виділення ДНК і аналіз ДНК в агарозному гелі, згідно з корисною моделлю, проводять інкубацію пухлинної тканини з антимітотиками та визначають частину фрагментованої ДНК щодо загальної кількості ДНК в гелі із застосуванням скануючої комп'ютерної програми "Scion Image" і за відсутності фрагментації роблять висновок про відсутність апоптозу, а при збільшенні кількості фрагментів ДНК дається кількісна оцінка апоптозу.

Процес здійснюється наступним чином.

Пухлинну тканину надниркової залози, одер-

(13) **U**

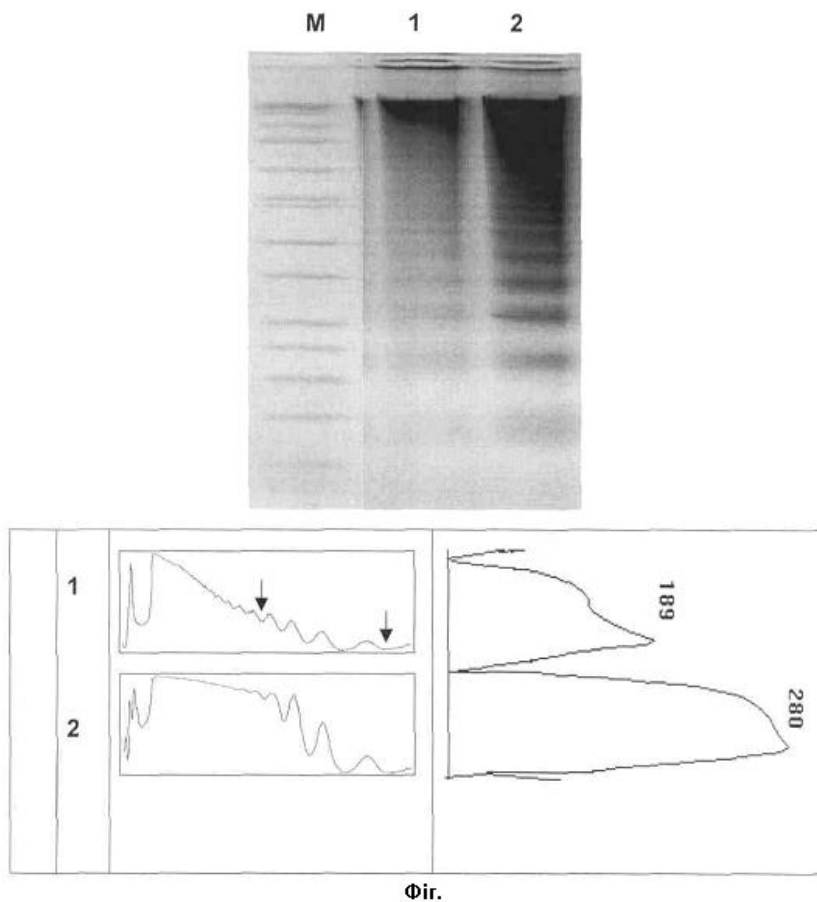
(11) **16825**

(19) **UA**

жану після операції, інкубують протягом 3 годин при 37°C з антимітотичними сполуками: таксолем (кінцева концентрація 1мкМ) або колхіцином (10мкМ). Потім тканину гомогенізують, виділяють ДНК, яку розділяють в агарозному гелі. Проводять сканування і обчислення сумарної площі фрагментів ДНК відносно загальної площі, що займає ДНК в гелі за допомогою комп'ютерної програми "Scion Image" і по зміні об'єму фрагментів ДНК відносно загальної площі, що займає ДНК в гелі визначається інтенсивність апоптозу, що свідчить про ефективність дії препарату.

На Фіг. наведено електрофореграму ДНК з пухлинної тканини надниркової залози. Де: М - ДНК маркер (50-10000 пар основ), 1 - контроль, 2 - колхіцин. Нижче наведені сканограми відповідних треків та кількісна оцінка об'єму фрагментованої ДНК. Стрілочками позначені межі фрагментованої ДНК.

Таким чином за допомогою описаного процесу отримана кількісна оцінка ефекту антимітотиків на пухлинну тканину кори надниркових залоз людини, що може використовуватись при тестуванні нових протипухлинних препаратів.



Фіг.