



УКРАЇНА

(19) UA (11) 25892 (13) U

(51) МПК (2006)

A61B 5/117

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПІДГОТОВКИ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ БІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

1

2

(21) u200704204

(22) 16.04.2007

(24) 27.08.2007

(46) 27.08.2007, Бюл. №13, 2007р.

(72) Бажора Юрій Іванович, Тимчишин Олег Львович, Рожко Катерина Павлівна

(73) ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб підготовки біологічного матеріалу для біофізичних досліджень, що включає дослідження

секрету слизової оболонки методом лазерної кореляційної спектроскопії, який **відрізняється** тим, що на слизову оболонку накладають смужку фільтрувального паперу на 2-2,5хв, поміщують її в пробірку "еппендорф", куди додають 0,5мл фільтрованого розчину хлориду натрію 0,9% на 5-7хв, після чого вміст центрифугують при 3000об/хв протягом 25-30хв.

Корисна модель відноситься до галузі медицини, а саме до клінічної біофізики, і може бути застосований в реаніматології, терапії, хірургії, стоматології, гінекології.

Підготовка біологічного матеріалу для досліджень має принципове значення для якості одержуваних результатів досліджень, як наукових так і клінічних. Стандартизація умов одержання біологічного матеріалу (особливо мікрокількості) запобігає розбіжності одержуваних результатів, підвищує їхню діагностичну цінність і слугує зменшенню кількості помилок у діагностиці, значна частина яких (більш 75%) пов'язана з доаналітичним етапом досліджень [1].

Відомий спосіб підготовки біологічного матеріалу для біофізичних досліджень у виді піхвових змивів для вивчення секрету слизових оболонок полових шляхів у діагностиці й оцінці ефективності лікування різних захворювань в акушерсько-гінекологічній практиці [2]. За допомогою одноразового шприца і пластикового подовжувача передній звід піхви зрошується 5 мл стерильного 0,9 % розчину хлориду натрію, потім відбирають змивну рідину і досліджують її біофізичним методом - методом лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС).

Недоліками зазначеного методу підготовки біологічного матеріалу є те, що він недостатньо стандартизований (за рахунок наявних похибок розведення секрету слизових оболонок), не дозволяє оцінити стан конкретної ділянки слизової оболонки і провести порівняння стану сусідніх ділянок слизової оболонки у межах однієї анатомічної області; складний і трудомісткий у виконанні.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб підготовки біологічного матеріалу у виді ротоглоткових змивів, коли після попереднього полоскання порожнини рота і ротоглотки дистильованою водою виконується полоскання порожнини ротоглотки стерильним розчином 0,9 % розчину хлориду натрію: отриманий змив центрифугують і надосадову рідину досліджують біофізичним методом - ЛКС [3]. По змінах у отриманих спектрах судять про наявність патологічного процесу.

Однак такий спосіб підготовки біологічного матеріалу недостатньо коректний, тому що попереднє полоскання порожнини рота і ротоглотки дистильованою водою приводить до значних змін секрету слизових оболонок, не дозволяє одержувати мікрокількість біологічного матеріалу у стандартних об'ємах, оцінити стан гомеостазу окремих ділянок слизових оболонок, зазначених анатомічних областей. Крім того, при такому способі підготовки у досліджуваний біологічний матеріал попадають залишки їжі і її розпаду, що є артефактом, який впливає на кінцевий результат дослідження.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу підготовки біологічного матеріалу для біофізичних досліджень, за рахунок сорбції секрету слизової оболонки на фільтрувальний папір з наступним дослідженням методом ЛКС, що спрощує процедуру забору біологічного матеріалу, стандартизує кількість одержуваного секрету (за рахунок визначених фізико-хімічних властивостей фільтрувального папера), забезпечує можливість оцінки гомеостазу конкретних ділянок слизової оболонки, у результаті чого стає

(13) U

(11) 25892

(19) UA

можливим використання способу підготовки біологічного матеріалу, що заявляється, для оцінки гомеостазу усіх доступних слизових оболонок (незалежно від локалізації), при різних захворюваннях, тобто спосіб є універсальним і загальним, тому що може бути використаний для підготовки біологічного матеріалу до різних методів оцінки гомеостазу слизових оболонок різних анатомічних областей різними діагностичними методами.

Поставлена задача вирішується тим, що, відповідно до корисної моделі, на слизову оболонку накладають смужку фільтрувального папера на 2-2,5хв, помішують її в пробірку "еппендорф", куди додають 0,5мл фільтрованого розчину хлориду натрію 0,9% на 5-7хв, після чого вміст центрифугують при 3000об/хв. на протязі 25-30хв.

У разі потреби збереження сорбованого з ділянки слизової оболонки секрету його однократно заморожують при температурі -20°C і нижче, що дозволяє коректно зберегти основні біофізичні властивості його компонентів.

Пропонований спосіб заснований на сорбції секрету з невеликих ділянок слизової оболонки, що щадить, дозволяє коректно одержати стандартну мікрокілкість біологічного матеріалу, достатнього для порівнювальної оцінки гомеостазу різних ділянок слизової оболонки в рамках одного анатомічного утворення, наприклад слизової оболонки порожнини рота, слизової оболонки статевих органів і ін.

Пропонований нами спосіб здійснюється таким чином:

Пацієнту на ділянку слизової оболонки накладається смужка стерильного фільтрувального паперу на 2-2,5 хвилини. Після цього смужку із сорбованим секретом слизової оболонки поміщують у пробірку "еппендорф", куди додають 0,5мл фільтрованого розчину хлориду натрію 0,9% на 5-7хв., після чого центрифугують при 3000 обертів у хвилину 25-30хв. Отриманий супернатант досліджують біофізичним методом - ЛКС.

Обстежено дві групи пацієнтів. У пацієнтів I групи (n=70) були клінічні прояви хронічного гінгівіту, а у пацієнтів II групи (n=15) - прояви хронічного пародонтиту. Як групу порівняння (ГП, n=10) були відібрані 10 чоловік, у яких не було виявлено патології слизової оболонки ясен. Отриманий біологічний матеріал досліджували біофізичним мето-

дом - ЛКС на приладі лазерному кореляційному спектрометрі "ЛКС-03 Интокс", а отримані результати оброблялися за допомогою програмного забезпечення, яке додається до ЛК-спектрометру.

Виявлені зміни в лазерних спектрах у пацієнтів I й II груп вірогідно ($p<0,05$) відрізняються від таких, що отримані у осіб із ГП. У пацієнтів I і II груп були виявлені значні зрушення лазерних спектрів у бік збільшення відсотка світлорозсіювання в I дискретній зоні (від 1 до 50нм) за рахунок зменшення відсотка світлорозсіювання в II дискретній зоні (від 50 до 250нм). Причому у пацієнтів із хронічним пародонтитом (I гр.) зміни були більш виражені і достовірно відрізнялися ($p<0,05$) від даних, отриманих у пацієнтів що страждають хронічним гінгівітом (II гр.) (табл.).

На Фіг. відображені усереднені гістограми спектрів відокремлюваного у різних груп обстежених.

Таким чином, пропонований нами спосіб дозволяє коректно одержувати мікрокілкість секрету слизових оболонок, якої достатнє для виконання дослідження біофізичним методом (ЛКС), а отримані результати свідчать про можливість реальної оцінки гомеостазу слизових оболонок.

У порівнянні з прототипом, запропонований спосіб більш коректний, простий у виконанні, менш травматичний, дозволяє одержувати стандартну мікрокілкість секрету слизових оболонок, спрощує спосіб підготовки біологічного матеріалу, дає можливість диференційовано оцінити стан локальних ділянок слизових оболонок у межах однієї анатомічної області, скоротити витрати на дослідження, застосовувати для діагностики захворювань як порожнини рота, так і порожнини носа, гінекологічних захворювань і ін.

Література:

1. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Управление качеством лабораторных исследований. - М.: Медицина, 2001. - 360с.
2. Лазерная корреляционная спектроскопия влагалищных смыслов: Методические рекомендации / В.Н. Запорожан, Ю.И. Бажора, Л.А. Носкин и др. - Одесса: Одес. гос. мед. университет, 1999, - 24с.
3. Лазерна кореляційна спектроскопія у стоматології та отоларингології. Методичні рекомендації/ Упор.: Ю.І. Бажора, Л.Д. Чумак, К.М. Косенко та інш. - Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2001 - 34с.

Таблиця

Група обстежуваних	Внесок світлорозсіювання (%) у		
	I дискретній зоні (от 1 до 50нм)	II дискретній зоні (от 50 до 250нм)	III дискретній зоні III (більш 250нм)
ГП	59,00±1,91*	37,00±2,75	4,00±2,41*
I	66,00±6,22	33,20±6,10**	0,80±0,54
II	84,40±9,18	15,50±8,94	0,10±0,45

Примітки:

* - розходження між обстежуваними ГС і пацієнтами I і II груп достовірні при $p<0,05$;

** - розходження між пацієнтами I і II груп достовірні при $p<0,05$.

