



УКРАЇНА

(19) UA (11) 51687 (13) U
(51) МПК (2009)
A61D 19/00
G01N 22/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ АКТИВАЦІЇ ПРОЛІФЕРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ У КУЛЬТУРІ КЛІТИН ЕПІТЕЛІЇУ ЯЙЦЕПРОВІДІВ

1

2

(21) u201001506

(22) 15.02.2010

(24) 26.07.2010

(46) 26.07.2010, Бюл. № 14, 2010 р.

(72) ГЕВКАН ІВАН ІВАНОВИЧ, НІКІТЕНКО АНАТОЛІЙ МЕФОДІЙОВИЧ, ШТАПЕНКО ОКСАНА ВСЕВОЛОДІВНА, СЛИВЧУК ЮРІЙ ІВАНОВИЧ, ФЕДОРОВА СВІТЛАНА ВОЛОДИМИРІВНА

(73) ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН

(57) Спосіб активації проліферативних процесів в культурі клітин епітелію яйцепроводів, що включає її обробку електромагнітним випромінюванням, який відрізняється тим, що використовують електромагнітні випромінювання надвисокої частоти в діапазоні 30-300 ГГц, при цьому обробку здійснюють впродовж 3-9 хвилин одноразово перед початком 72-годинного культивування клітин.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини безпосередньо до ембріології і може бути використаний при проведенні трансплантації ембріонів і, зокрема, при дозріванні ембріонів до трансферабельних стадій.

Відомі способи активації проліферативного росту клітин, що сприяють активації процесів регенерації тканин за рахунок проліферації клітин та підвищення інтенсивності розмноження інфузорій активації їх життєдіяльності та розширення адаптаційних можливостей. Нікітенко А. М. Спосіб активації процесу заживлення ран. [Текст] / Нікітенко А. М., Лясота В. П., Сидорук Ю. К., Малина В. В. / ДП на винахід 200041 Україна, Держ. Деп. Інтел. Власності. Опубл. 14.02.2005.-Бюл. №2.-С. 1-6.

Нікітенко А.М. Спосіб розширення адаптивних можливостей живих істот. [Текст] / Нікітенко А. М., Лясота В. П., Малина В. В., Сидорук Ю. К. /ДП на винахід 55585А Україна, А01G7/04. Держ. Деп. Інтел. Власності. - Заявл. 29.05.2001; Опубл. 15.04.2003.- Бюл. №4. — С 1-4.

Найбільш близьким по суті рішенням є спосіб використання джерела електромагнітного СВЧ-випромінювання низької інтенсивності на ріст і розвиток культури найпростіших з експозицією 30 хвилин, який проводився при безпосередній обробці відкритої чашки з культурою інфузорій. На другий день після опромінення інтенсивність розмноження збільшилась на 8%, на 5 добу - зросла до 18%, а на 7 добу кількість клітин, які розмножува-

лись знизилась до рівня контролю. Левина М. З. Влияние СВЧ-облучения низкой интенсивности на рост и развитие культуры простейших. [Текст] / Левина М. З., Веселого И.А., Белая Т.И./ В кн.:Миллиметровые волны в медицине и биологии. — Москва, —1989 —С. 189-195. Веселого И. А. Особенности функциональных перестроек биологических систем под внешнем воздействием. [Текст] / Веселого И. А., Левина М. З./В кн.:Миллиметровые волны в медицине и биологии. — Москва, —1989 —С.195-198.

До недоліків вищезгаданого способу слід віднести те, що для активації процесів розмноження та розширення адаптаційних можливостей інфузорій було використано СВЧ-випромінювання низької інтенсивності з експозицією дії 30 хвилин, що є енергозатратним, сприяє збільшенню затрат праці. Електромагнітні хвилі, які випромінюються джерелом СВЧ-випромінювання є в вузькому діапазоні та мають низьку інтенсивність і в результаті не спроможні резонувати з водою та біомолекулами і структурними елементами клітин.

Відомо, що електромагнітні хвилі в міліметровому діапазоні по енергетичним параметрам спроможні активувати молекули різних біологічно активних речовин, в тому числі білки, ферменти і воду, вільну чи зв'язану з біологічними структурами ядра та цитоплазми клітин за рахунок активного поглинання квантів та переходу електронів молекул на більш високу орбіту. В результаті

(19) UA (11) 51687 (13) U

процесу поглинання квантів активуються не тільки білкові молекули, активні центри ферментів, мембрана ядра та клітини, за допомогою ЕМП НВЧ структурується вода в клітинах та за її межами, що призводить до підвищення її біологічної активності. Так, зростання рівня структурованої води в хромосомах ядерного апарату клітини діє подібно до ендogenous інформаційних сигналів, що регулюють процеси метаболізму ядра їх інтенсивність та направленість, що сприяє прискоренню синтезу нуклеїнових кислот і одночасно з активацією мембран, активує клітинні мітози та проліферацію культури клітин. [Чирский Н. В. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ [Текст] / Н. В. Чирский, Н. П. Веркоу — Симферополь, ЧП "Эльиньо". — 2003. — 447 с.]

В основу корисної моделі поставлено завдання розробити спосіб проліферативних процесів а культурі клітин епітелію яйцепроводів шляхом використання випромінювання електромагнітного поля надвисокої частоти (ЕМП НВЧ) в діапазоні 30-300 ГГц приладом «Політон», що забезпечить біологічну активність внутрішньоклітинної води та субмолекулярних складових клітин епітелію яйцепроводів за рахунок резонансу частоти коливань молекул води.

Технічний результат досягається однократною обробкою електромагнітним випромінюванням надвисокої частоти в діапазоні 30-300 ГГц впродовж 3-9 хвилин перед початком 72 годинного культивування клітин.

Технічне рішення поставленої задачі ґрунтується на результатах досліджень.

Приклад 1. В якості об'єкта досліджень була взята культура епітеліальних клітин яйцепроводів

корів. Культуру епітеліальних клітин яйцепроводу (дослід 1) опромінювали пристроєм «Політон». Термін опромінювання 3 хв. одноразово, культивування проводили згідно загальноприйнятих методик. Посівна концентрація клітин становила $0,8 \text{ млн/см}^3$. Спостереження за проліферацією клітин проводились впродовж 72 годин. Кожних 24 години проводили відбір середовища та його заміну, а також відбір проб клітин і підрахунок їх концентрації в камері Горяєва. Результати дослідження викладено в таблиці.

Приклад 2. Культуру епітеліальних клітин яйцепроводу (дослід 2) згідно вищезгаданої схеми опромінювали 6 хвилин одноразово. Кожної доби проводили відбір та заміну середовища і підрахунок кількості клітин в камері Горяєва. Результати дослідження викладено в таблиці.

Приклад 3. Дослід проводили згідно розробленої схеми. Культуру клітин епітелію яйцепроводу (дослід 3) опромінювали 9 хвилин одноразово. Заміну середовища, відбір проб для аналізу проводили щоденно. Результати досліджень викладено в таблиці.

Із таблиці видно, що отримані дані свідчать про те, що опромінювання культури клітин епітелію яйцепроводів корів на протязі трьох хвилин одноразово сприяє активації проліферативних процесів в 1,8 рази, опромінювання 6 хвилин одноразово - в 2,2 рази і опромінювання 9 хвилин одноразово активує проліферацію клітин епітелію яйцепроводів в 2,6 рази.

Таким чином опромінювання ЕМП НВЧ культури клітин епітелію яйцепроводів корів однократно сприяє активації проліферативних процесів. Опромінювання пропонується проводити за допомогою приладу «Політон».

Таблица

Проліферативна активність культури клітин епітелію яйцепроводів за умов впливу на них ЕМП НВЧ впродовж 72 годин культивування, ($M \pm m$), $n=3$

Групи тварин Опромінювання ЕМП НВЧ	Посівна концентрація клітин $\times 10^6/\text{см}^3$	Концентрація клітин $\times 10^6/\text{см}^3$ через 24 год культивування	Концентрація клітин $\times 10^6/\text{см}^3$ через 48 год культивування	Концентрація клітин $\times 10^6/\text{см}^3$ через 72 год культивування
К - контроль	$0,8 \times 10^6$	$1,5 \pm 0,13$	$2,6 \pm 0,07$	$3,6 \pm 0,13$
Дослід 1 опромінювання 3 хв 1 раз	$0,8 \times 10^6$	$3,3 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,07$	$6,4 \pm 0,07$
P		$<0,002$	$<0,001$	$<0,001$
Дослід 2 опромінювання 6 хв 1 раз	$0,8 \times 10^6$	$3,3 \pm 0,13$	$4,6 \pm 0,13$	$7,8 \pm 0,07$
P		$<0,001$	$<0,001$	$0,001$
Дослід 3 опромінювання 9 хв 1 раз	$0,8 \times 10^6$	$2,1 \pm 0,27$	$4,7 \pm 0,13$	$9,3 \pm 0,13$
P		$>0,1$	$<0,001$	$<0,001$

Примітка: ОС - основне середовище, яке складалося з ДМЕМ, 0,4% BSA, 4 мкг/см^3 гентаміцина, 1 мкг/см^3 естрадіола, 10 мкг/см^3 фолікотропіна, α -глутаміна, Na пірувата, лактата, $0,2 \text{ мкг/см}^3$ преднізолону, 20 мкг/см^3 інсуліну; об'єм середовища в чашці - 2 см^3 .

Запропонований винахід є екологічно чистий, економічно вигідний через низьку енерговитратність з широким діапазоном впровадження: в біології, тваринництві, репродуктивній біотехнології, гуманній медицині та інших напрямках науки та виробництва.

Винахід має не тільки економічне, а й соціальне значення, адже його застосування у тваринни-

цтві підвищить відсоток якісних ембріонів при дозріванні їх до трансферабельних стадій, що впливатиме на відсоток приживлення ембріонів у тва-

рин-рецепієнтів та одержання генетично цінних тварин, продуктивність в цілому по стаду і забезпечення населення тваринницькою продукцією.