



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62894 (13) U
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ЦИТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ТЕРМІЧНО УШКОДЖЕНОЇ БІОЛОГІЧНОЇ ТКАНИНИ

1

(21) u201100052

(22) 04.01.2011

(24) 26.09.2011

(46) 26.09.2011, Бюл.№ 18, 2011 р.

(72) ХОРОШ ВОЛОДИМИР ЯРОСЛАВОВИЧ, ПІД-
РУЧНА СВІТЛАНА РОМАНІВНА(73) ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО(57) Спосіб моделювання цитотоксичної дії терміч-
но ушкодженої біологічної тканини, що включає
інкубацію у водному екстракті термічно ураженої
біологічної тканини ізольованих нативних лейкоци-
тів із наступним визначенням реакції цитолізу,
який **відрізняється** тим, що попередньо подріб-

2

нений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині під-
дають термічній обробці при температурі 190-
200°C в стандартних умовах упродовж 3 год., охо-
лоджують до кімнатної температури, настоюють на
чистій воді у співвідношенні 1:200 впродовж 1 год.,
центрифугують при швидкості обертання
3000об/хв. тривалістю 30 хв., після чого на пред-
метному склі змішують у рівних об'ємах, напри-
клад, від 20 до 50 мкл включно, нативну кров,
отриманий водний тканинний екстракт і розчин
флуорохрому акридину оранжевого у розведенні
1:10000, накривають скельцем, витримують у за-
темненому місці при температурі 37 °C впродовж
2год., після чого мікропрепарат досліджують у лю-
мінесцентному мікроскопі.

Корисна модель належить до медицини, зокре-
ма комбустіології, і може бути використана в
експериментальній патології при вивченні патоге-
незу опікової травми на системному, зокрема клі-
тинному, рівні та при розробці ефективних засобів
детоксикаційної терапії.

Відомий спосіб моделювання цитотоксичної дії
термічно ушкодженої біологічної тканини, що
включає інкубацію у водному екстракті термічно
ураженої біологічної тканини ізольованих нативних
лейкоцитів із наступним визначенням реакції ци-
толізу [1]. За відомим способом, суспензію натив-
них лейкоцитів змішували з водним екстрактом
опеченої тканини на предметному склі, а висновок
про рівень його цитотоксичної дії робили за харак-
тером лейкоцитолізу у полі зору люмінесцентного
мікроскопу.

Недоліком відомого способу є недостатній рі-
вень методичності і точності, що впливає з не-
стандартності субстрату опеченої тканини ні за
площею, ні за глибиною, ні за характером терміч-
ного пошкодження, ні за характером патологічних
змін в організмі опеченого тощо.

В основу корисної моделі поставлено задачу
вдосконалити відомий спосіб, у якому шляхом
внесення змін у технологію виготовлення субстра-
ту термічно ушкодженої біологічної тканини, спря-
мованих на забезпечення її стандартних власти-
востей як цитотоксичного чинника, досягають

підвищення методичності, точності та інформати-
вності відтворюваного патологічного процесу.

При вирішенні поставленої задачі було взято
до уваги те, що під впливом певної температури
знає термічного пошкодження не тільки натив-
ний тканинний субстрат, але й, наприклад, консер-
вований, шляхом кріогенної обробки з наступним
ліофілічним висушуванням. В результаті, імунні
клітини реагують на змінений біотканинний суб-
страт лізісом, наприклад, у вигляді реакції лейко-
цитолізу. При цьому технологічний процес вигото-
влення кріоліофілізованої шкіри свині як виріб
медичного призначення здійснюють із дотриман-
ням фізичних умов відповідно до технічного ре-
гламенту, що, власне, містить у собі елементи ста-
ндартизації.

З огляду на наведені міркування, у відомому
способі моделювання цитотоксичної дії термічно
ушкодженої біологічної тканини, що включає інку-
бацію у водному екстракті термічно ураженої біо-
логічної тканини ізольованих нативних лейкоцитів
з наступним визначенням реакції цитолізу, відпо-
відно до корисної моделі попередньо подрібнений
субстрат кріоліофілізованої шкіри свині піддають
термічній обробці при температурі 190-200 °C в
стандартних умовах упродовж 3 год., охолоджують
до кімнатної температури, настоюють на чистій
воді у співвідношенні 1:200 впродовж 1 год.,
центрифугують при швидкості обертання

(19) UA (11) 62894 (13) U

3000об/хв. тривалістю 30 хв., після чого на предметному склі змішують у рівних об'ємах, наприклад, від 20 до 50 мкл включно, нативну кров, отриманий водний тканинний екстракт і розчин флуорохрому акридину оранжевого у розведенні 1:10000, накривають скельцем, витримують при температурі 37 °С впродовж 2 год., після чого мікропрепарат досліджують у люмінесцентному мікроскопі.

Перелік фігур:

Фіг. 1 - термічно оброблений подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині.

Фіг. 2 - загальний вигляд подрібненого субстрату кріоліофілізованої шкіри свині - контроль.

Фіг. 3 - реакція токсино-модульованого лейкоцитолізу, індукованого водним екстрактом термічно обробленого тканинного субстрату кріоліофілізованої шкіри свині.

Фіг. 4 - реакція токсин-модульованого лейкоцитолізу, індукованого водним екстрактом інтактного тканинного субстрату кріоліофілізованої шкіри свині.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Попередньо подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині шаром в 1 см піддають термічній обробці при температурі 190-200 °С впродовж 3 год., після чого охолоджують до кімнатної температури. По завершенні термічної обробки субстрат набуває коричневого кольору. Далі його настоюють на чистій воді у співвідношенні 1:200 впродовж 1 год. Суміш центрифугують при швидкості обертання 3000 об/хв. тривалістю 30 хв., після чого на предметному склі змішують у рівних об'ємах, наприклад, від 20 до 50 мкл включно, нативну кров, отриманий водний тканинний екстракт і розчин флуорохрому акридину оранжевого у розведенні 1:10000, накривають скельцем, витримують при температурі 37 °С впродовж 2 год. Виготовлений мікропрепарат досліджують у люмінесцентному мікроскопі, звертаючи увагу на рівень лейкоцитолізу. Кількісну оцінку цитотоксичної дії термічно ушкодженої біологічної тканини здійснюють за рівнем інтенсивності люмінесценції ядерної субстанції пошкоджених лейкоцитів.

Приклад 1. Подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині шаром в 1 см помістили у су-

хожарову піч і витримували при температурі 195°С впродовж 3 год. Охолоджений до кімнатної температури субстрат кріоліофілізованої шкіри набув коричневого кольору (фіг. 1). Наважку його в 5 мг змішали з 1 мл чистої води, що відповідало співвідношенню 1:200, і екстрагували впродовж 1 год. Суміш центрифугували при швидкості обертання 3000 об/хв. впродовж 30 хв. На предметному склі 20 мкл нативної крові змішали з аналогічними об'ємами надосаду з водного тканинного екстракту і розчину акридину оранжевого у розведенні 1:10000, накрили скельцем, витримали при температурі 37 °С впродовж 2 год., після чого мікропрепарат досліджували в люмінесцентному мікроскопі. Контрольний препарат готували із інтактного тканинного субстрату (фіг. 2).

Приклад 2. За запропонованим способом змоделювали цитотоксичну дію термічно ушкодженої біологічної тканини – подрібненого субстрату кріоліофілізованої шкіри. При цьому звертали увагу на рівень лейкоцитолізу, який коректно відображав токсичність термічно обробленого шкірного кріоліофілізованого субстрату (фіг. 3, 4). Оцінку його цитотоксичної дії здійснили за рівнем інтенсивності люмінесценції ядерної субстанції пошкоджених лейкоцитів, який знижувався адекватно токсичності дослідного субстрату. Завдяки застосуванню для виготовлення токсичної субстанції стандартизованого препарату кріоліофілізованої ксеношкіри - шкіри свині і можливості стандартизації подальшої термічної обробки отриманий водний екстракт термічно обробленого тканинного субстрату забезпечує гарантований рівень точності, відтворюваності та інформативності експериментальної моделі.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує вищий, ніж за відомим способом, рівень точності, відтворюваності та інформативності експериментальної моделі, і може бути використаний за призначенням в експериментальній патології.

Джерело інформації:

Дем'яненко В.В., Бігуняк В.В., Гудима А.А. / Лейкоцитоліз як критерій індивідуальної непереносимості алогенного субстрату //Здобутки клінічної та експериментальної медицини. Тернопіль: Укрмедкнига, 2003. Вип.8. – С.



Фіг. 1



Фіг. 2

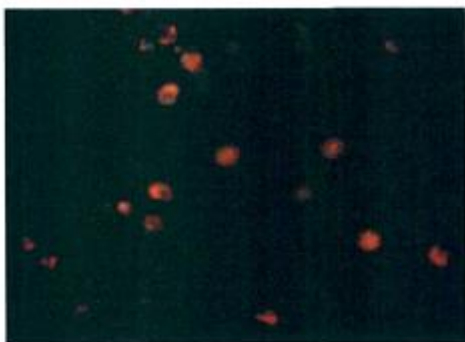


Fig. 3

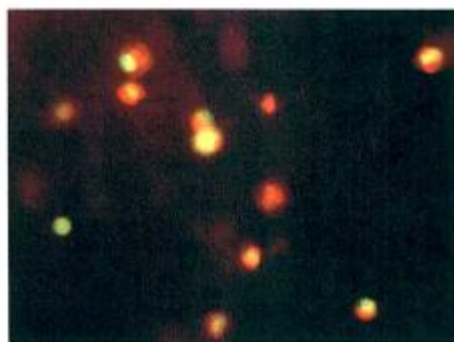


Fig. 4