



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **94388** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
G01N 33/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2014 06037	(72) Винахідник(и):	Булик Роман Євгенович (UA), Власова Катерина Василівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	02.06.2014	(73) Власник(и):	БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ, пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.11.2014		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.11.2014, Бюл.№ 21		

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ПІНЕАЛОЦИТІВ У ЩУРІВ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СВІТЛОВОГО РЕЖИМУ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження ультраструктури пінеалоцитів у щурів у залежності від світлового режиму шляхом дослідження активності шишкоподібної залози. На морфологічному рівні визначають такі критерії активності шишкоподібної залози як об'єм ядер і ядерець; характер каріоплазми; стан органел, агранулярного, гранулярного та пластівцеподібного вмісту секреторних міхурців; осміофільні включення пінеалоцитів.

UA 94388 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до нормальної фізіології, і може бути використана при клінічних діагностичних та наукових дослідженнях, а також при виконанні експериментальних науково-дослідних робіт.

Останнім часом доведено, що всі біологічні ритми ссавців чітко підпорядковуються основному водію ритмів, розташованому у вентролатеральному відділі супрахіазматичних ядер гіпоталамуса. Через ретиногіпоталамічний тракт ядра одержують інформацію про зовнішню освітленість і ендогенну ритмічність. Гормоном, що постачає інформацію про біологічні ритми до органів і тканин, є мелатонін, який синтезується в шишкоподібній залозі, сітківці, ціліарному тілі ока та в органах шлунково-кишкового тракту. Рівень його концентрації в плазмі крові залежить, у першу чергу, від епіфізарної активності. На секрецію мелатоніну шишкоподібною залозою вагомий вплив має зовнішнє освітлення. У світловий проміжок доби ГАМК-ергічна проекція супрахіазматичних ядер на шишкоподібну залозу пригнічує вивільнення медіаторів (норадреналіну та нейропептиду Y) у нейрозалозистих закінченнях і секрецію мелатоніну. У темряві з симпатичних нервів активно вивільняється нейротрансмітер норадреналін, який діє на мембрану пінеалоцитів, що в подальшому призводить до підвищення синтезу епіфізарного мелатоніну, максимум якого спостерігається близько 02.00 год.

Про важливу роль шишкоподібною залози в регуляції спряження з фотоперіодизмом біологічних ритмів та адаптаційних процесів до дії різних стресорів свідчать ультраструктурні зміни пінеалоцитів у щурів під впливом світла та інших чинників. Критерієм активності шишкоподібною залози на морфологічному рівні є такі показники як об'єм ядер і ядерець; характер каріоплазми; стан органел, агранулярного, гранулярного та пластівцеподібного вмісту секреторних міхурців; осміофільні включення пінеалоцитів. Однак, механізми порушень діяльності шишкоподібною залози за умов різної тривалості світлового періоду у циркадіанному аспекті вивчені недостатньо.

Найближчим аналогом до запропонованої корисної моделі є спосіб визначення субмікроскопічних змін пінеалоцитів при тривалому освітленні шляхом визначення біохімічних та фізіологічних показників (Патент України № 81331, МПК А61К 38/00. опубл. 25.01.2013, бюл. № 2), який базується на субмікроскопічних змінах пінеалоцитів, та в якому для підвищення якості діагностики використовують препарат тетрапептид епіталону.

Недоліком найближчого аналога є те, що він не враховує ультраструктурні зміни пінеалоцитів у циркадіанній залежності при різному режимі освітлення.

В основу корисної моделі поставлено задачу, що полягає в удосконаленні способу дослідження ультраструктурних змін пінеалоцитів у циркадіанній залежності при різному режимі освітлення.

Спільною ознакою корисної моделі та найближчого аналога є дослідження ультраструктурних змін пінеалоцитів.

Відмінною ознакою корисної моделі від корисної моделі є дослідження ультраструктурних змін пінеалоцитів у циркадіанній залежності при різному режимі освітлення шляхом визначення таких критеріїв, як об'єм ядер і ядерець; характер каріоплазми; стан органел, агранулярного, гранулярного та пластівцеподібного вмісту секреторних міхурців; осміофільні включення пінеалоцитів.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Для вирішення поставленої задачі, експерименти проведено на 36 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 150-180 г. Тварин утримували у твариннику при сталій температурі, вологості повітря та вільному доступі до води та їжі. Об'єктом дослідження в експериментальних тварин вибрано шишкоподібну залозу.

Експериментальних тварин було поділено на дві серії, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 і о 02.00 год. Обрані терміни проведення експерименту зумовлені різною функціональною активністю шишкоподібною залози у вказані часові періоди доби.

Тварини I серії перебували сім діб за умов стандартного світлового режиму - LD (світло з 08.00 до 20.00 год., освітленість люмінесцентними лампами на рівні кліток 500 лк). Щури II серії перебували за умов світлової депривації тривалої темряви (DD-моделювання гіперфункції шишкоподібною залози) впродовж семи діб. Тварини III серії перебували за умов постійного освітлення (LL-моделювання гіпофункції шишкоподібною залози) впродовж семи діб. Наступного дня після закінчення семиденного експерименту о 14.00 і 02.00 год. здійснювали виведення тварин з експерименту шляхом одномоментної декапітації під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг внутрішньоочеревинно).

Для електронно-мікроскопічного дослідження шишкоподібною залози забір матеріалу проводили згідно з загальноприйнятими правилами. Після трепанації вилучали залозу і фіксували її в 2,5 % розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері Міллонга з активною

реакцією середовища pH 7,2-7,4. Фіксований матеріал переносили у буферний розчин і промивали протягом 20-30 хв. Після цього впродовж 60 хв. здійснювали постфіксацію матеріалу, використовуючи для цього 1 % розчин чотириокису осмію на буфері Міллонга. Далі проводили дегідратацію матеріалу в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол відповідно до загальноприйнятої методики. Дослідження у інтактних тварин у нічний період доби та у щурів II серії проводили при слабкому (2 лк) червоному світлі, яке практично не впливає на біосинтез мелатоніну шишкоподібною залозою. Всі етапи експерименту проведено з дотриманням основних вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до тварин (Страсбург, 1986).

При використанні способу дослідження ультраструктури пінеалоцитів щурів у залежності від світлового режиму відмічено зростання функціональної активності світлих пінеалоцитів о 02.00 годині і зниження о 14.00 годині, що вказує на те, що за умов світлової депривації, ультраструктурна організація шишкоподібної залози характеризується збереженням ритмічності. За умов цілодобового постійного освітлення субмікроскопічна організація пінеалоцитів характеризується більш вираженими порушеннями реактивного характеру на тлі пригнічення біосинтетичних внутрішньоклітинних процесів. При постійній темряві ультраструктурна організація шишкоподібної залози характеризується збереженням ритмічності та зростанням функціональної активності світлих пінеалоцитів о 02.00 годині і зниженням о 14.00 годині. За умов цілодобового постійного освітлення субмікроскопічна організація пінеалоцитів характеризується більш вираженими порушеннями реактивного характеру на тлі пригнічення біосинтетичних внутрішньоклітинних процесів. Зокрема, о 02.00 годині це структурно проявляється гіпертрофованими мітохондріями і зменшенням числа рибосом, помірно розширеними цистернами комплексу Гольджі і канальцями гранулярного ендоплазматичного ретикулулу.

Технічний результат.

Спосіб дослідження ультраструктури пінеалоцитів щурів у залежності від світлового режиму шляхом визначення таких критеріїв, як об'єм ядер і ядерець; характер каріоплазми; стан органел, агранулярного, гранулярного та пластівцеподібного вмісту секреторних міхурців; осміофільні включення пінеалоцитів, дозволяє дослідити механізми порушень діяльності шишкоподібної залози за умов різної тривалості світлового періоду у циркадіанному аспекті.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб дослідження ультраструктури пінеалоцитів у щурів у залежності від світлового режиму шляхом дослідження активності шишкоподібної залози, який **відрізняється** тим, що на морфологічному рівні визначають такі критерії активності шишкоподібної залози як об'єм ядер і ядерець; характер каріоплазми; стан органел, агранулярного, гранулярного та пластівцеподібного вмісту секреторних міхурців; осміофільні включення пінеалоцитів.

Комп'ютерна верстка М. Шамоїна

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