



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **101381** (13) **U**  
(51) МПК (2015.01)  
**A61B 10/00**  
**G01N 33/84** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2015 02241</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Грищук Ярослав Іванович (UA),</b> <b>Лазаренко Олег Миколайович (UA),</b> <b>Лазаренко Глеб Олегович (UA),</b> <b>Литвин Петро Мар'янович (UA),</b> <b>Ничитайло Михайло Юхимович (UA),</b> <b>Грищук Богдан Ярославович (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>13.03.2015</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.09.2015</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.09.2015, Бюл.№ 17</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ДЕРЖАВНА НАУКОВА УСТАНОВА</b> <b>"НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЦЕНТР</b> <b>ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ</b> <b>МЕДИЦИНИ" ДЕРЖАВНОГО УПРАВЛІННЯ</b> <b>СПРАВАМИ,</b> вул. Верхня, 5, м. Київ, 01014 (UA)
	<b>(74)</b> Представник: <b>Черепов Леонід Володимирович, реєстр.</b> <b>№19</b>

**(54) СПОСІБ ІНДИВІДУАЛЬНОГО ТЕСТУВАННЯ СІТКИ ДЛЯ ГЕРНІОПЛАСТИКИ НА СУМІСНІСТЬ З ОРГАНІЗМОМ РЕЦИПІЄНТА**

**(57) Реферат:**

Спосіб індивідуального тестування сітки для герніопластики на сумісність з організмом реципієнта, згідно з яким спочатку з крові реципієнта виділяють імуноглобулін IgG концентрацією 70 нг/мл, цим розчином модифікують активну частину зонда атомно-силового мікроскопа, після чого визначають силу взаємодії модифікованого зонда атомно-силового мікроскопа з матеріалом імплантата.

UA 101381 U



Корисна модель належить до галузі медицини і може бути використана при імплантації сітки для герніопластики в організм реципієнта.

Відомо спосіб, який використовується для встановлення початку хронічного відторгнення імплантата за показниками рідини, що забирається з організму [RU № 99101832 A, G01N33/84, 2000].

Недоліком у використанні наведеного способу є те, що спосіб застосовується для встановлення рівня реакції відторгнення імплантата після його імплантації до організму реципієнта, тобто реєструє ускладнення, що вже виникли.

Відомо спосіб, який використовується для визначення сумісності імплантів до організму реципієнта, що включає застосування атомно-силового мікроскопа (ACM) [David E. Albert // Medical Device & Diagnostic Industry, 2002, March. 2].

Недоліком у використанні наведеного способу є те, що при його застосуванні за основу береться топографія поверхні імплантата. На жаль, шершава нерівна поверхня не є достатньою ознакою сумісності імплантата з організмом реципієнта.

Відомо спосіб, який включає вимірювання сил взаємодій між біомолекулами за допомогою ACM як інструмента та кантилівера як детектора [WO 2006016787 Cantilever for atomic force microscope, and method of measuring biomolecular interaction using the same. 3].

Відомо також спосіб для визначення хімічної взаємодії між сполуками, що не визначаються іншими методами. [Method for detecting chemical interaction between naturally occurring biological analyte molecules that non-identical binding partners US 6,436,647 B1. 4]

Способи зазначених аналогів дозволяють визначити сили взаємодії між певними біомолекулами, що перешкоджає досягненню очікуваного технічного результату.

Відомо спосіб аналітичного визначення за допомогою модифікованого зонда [Analytical method using modified scanning probe // 5,763,768// 5].

У цьому способі використовується хімічна модифікація, яка суттєво впливає на розпізнавальні центри біомолекули, внаслідок цього аналітичне вимірювання сил взаємодій між біомолекулами не відповідає реальному стану.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб індивідуального тестування імплантата на сумісність з організмом реципієнта, згідно з яким із сироватки крові реципієнта виділяють імуноглобулін класу G, який розчиняють у 0,9 % NaCl з концентрацією 70 нг/мл, і цим розчином модифікують активну частину зонда атомно-силового мікроскопа, після чого визначають силу взаємодії модифікованого зонда атомно-силового мікроскопа з матеріалом імплантата при температурі 24 °C [UA № 87387, A61B 10/00, 2008]

У цьому способі, як і в попередньому аналогу, використовується хімічна модифікація, яка суттєво впливає на розпізнавальні центри біомолекули, внаслідок цього аналітичне вимірювання сил взаємодій між біомолекулами не відповідає реальному стану і перешкоджає досягненню очікуваного технічного результату.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищення точності тестування нових матеріалів на сумісність з живим організмом шляхом встановлення індивідуальної сумісності імплантів до організму певного реципієнта.

Поставлену задачу вирішують тим, що у способі індивідуального тестування сітки для герніопластики на сумісність з організмом реципієнта, згідно з яким спочатку з крові реципієнта виділяють імуноглобулін концентрацією 70 нг/мл, і цим розчином модифікують активну частину зонда атомно-силового мікроскопа, після чого визначають силу взаємодії модифікованого зонда атомно-силового мікроскопа з матеріалом імплантата, згідно з корисною моделлю, виділяють імуноглобулін IgG.

Спосіб, що заявляється, дозволяє здійснити тестування вихідних матеріалів сітки для герніопластики на сумісність із організмом реципієнта, використовуючи при цьому атомно-силовий мікроскоп (АСМ) із зондом модифікованим IgG реципієнта.

Спосіб встановлює зв'язок між силою утримування зонда поверхнею матеріалу імплантата і товщиною утвореної фіброзно-сполучної капсули навколо зразка матеріалу імплантату, при цьому чим більша сила утримування зонда поверхнею, тим товстіша утворюється фіброзно-сполучна капсула навколо зразка і тим сильніша реакція відторгнення організму екзогенного матеріалу.

Відомо, що взаємодія штучних матеріалів з живим організмом починається з адсорбції білкових молекул на його поверхні. Швидкість адсорбції (зворотної або незворотної) та її характер залежать від хімії поверхні матеріалу. У системі формування реакції організму на сторонній матеріал тригерну функцію виконують імуноглобуліни класу G (IgG). Вони мають певну просторову структуру у вигляді букви Y. Центри розпізнавання IgG розміщені на верхніх кінцях Y, зв'язування комплементарних молекул відбувається за рахунок утворення

ковалентного зв'язку. В організмі IgG представлені на поверхні лімфоцитів, які при зв'язуванні IgG з іншими молекулами активуються, викидають у навколишнє середовище окисні радикали і дають сигнал для стимуляції синтезу IgG з відповідними параметрами, щоб розпізнавати і зв'язувати чужорідні молекули.

5 Принцип розпізнавання високоспецифічними IgG певних речовин лежить в основі клінічних імуноферментних аналізів.

Відомо, що взаємодія штучних матеріалів з живим організмом починається з адсорбції білкових молекул на його поверхні. Швидкість адсорбції (зворотної або незворотної) та її характер залежать від хімії поверхні матеріалу. У системі формування реакції організму на сторонній матеріал тригерну функцію виконують імуноглобуліни класу G (IgG). Вони мають певну просторову структуру у вигляді букви Y. Центри розпізнавання IgG розміщені на верхніх кінцях Y, зв'язування комплементарних молекул відбувається за рахунок утворення ковалентного зв'язку. В організмі IgG представлені на поверхні лімфоцитів, які при зв'язуванні IgG з іншими молекулами активуються, викидають у навколишнє середовище окисні радикали і дають сигнал для стимуляції синтезу IgG з відповідними параметрами, щоб розпізнавати і зв'язувати чужорідні молекули.

Принцип розпізнавання високоспецифічними IgG певних речовин лежить в основі клінічних імуноферментних аналізів.

АСМ може бути використаний для виміру впливу поверхні на зонд залежно від відстані між ними. При застосуванні АСМ можуть бути побудовані криві, які називаються силовими кривими, за допомогою яких можна охарактеризувати поверхню матеріалу. А саме, еластичність, твердість, установити константи Гамакера, адгезію або ж сумарний заряд поверхні. Всі ці характеристики є необхідними в біології та матеріалознавстві.

Для адсорбції біомолекул істотним є хімія поверхні матеріалу і/або сумарний заряд поверхні. Взаємодія між зондом і матеріалом характеризується силою, яку необхідно прикласти для відриву зонда від поверхні матеріалу.

Зонд у АСМ можна модифікувати різними методами. Розрізняють два основних способи модифікації поверхні: хімічну, за допомогою глутарового альдегіду або карбодиміду, і фізичну.

У способі, що заявляється, модифікація зонда IgG дозволить виміряти силу взаємодії між поверхнею і зондом АСМ і у такий спосіб визначити сумісність даного матеріалу з живим організмом.

Виміри проводили на приладі NANOSCANЕ IIIa (VEECO Corp.) з зондом Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (VEECO Corp.). В дослідженнях використовувались поверхні із золота, скла та кремнію.

Перед вимірами всі пластини знежирювали в суміші спирт - сірчаний ефір (1:1).

Зонд готували до вимірювань хімічним методом за допомогою глутарового альдегіду, а також фізичним методом - адсорбцією IgG з розчину концентрацією 70 нг/мл в 0,9 % NaCl.

Фізична модифікація проводилася шляхом експонування активної частини зонда в розчині IgG (концентрація 70 нг/мл). Виміри проводили при температурі 24 °С. Результати вимірів сили взаємодії модифікованого зонда IgG різними способами і вихідною підкладкою, проведених на АСМ представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

№	Навантаження зонда	Сила взаємодії зонда-підкладки в нН		
		Золото	Скло	Кремній
1	Фізична модифікація IgG	101	16	35
2	Хімічна модифікація IgG	52	14	23
3	Фізична модифікація СА	15	14	19

Як видно з таблиці, при фізичній модифікації сили утримування зонда підкладкою виражені яскравіше. Скоріше всього на зниження сил взаємодії вплинуло високе питоме зв'язування молекул IgG. З іншого боку, і при хімічній та фізичній модифікації зонда зберігається явище, при якому золота пластинка сильніше утримує модифікований зонд (101 і 52 нН відповідно). Фізична модифікація зонда сироватковим альбуміном з розчину концентрацією 100 нг/мл мало відрізняється від результатів, отриманих при хімічній модифікації зонда IgG. Виключенням є зразок із золота. У випадку альбуміну сили утримування поверхнею практично однакові (52, 14 і 23 нН відповідно).

Таким чином, у результаті проведених вимірів було встановлено, що різні поверхні по різному утримують зонд, модифікований IgG. Різниця у хімічній і фізичній модифікації зонда проявляється в тому, що питоме зв'язування IgG при хімічній модифікації більш високе і

молекули IgG екранують свої розпізнавальні (активні) центри. Іншими словами - при вимірюванні відбувається суттєва похибка і значення не відповідають дійсному стану речей.

Корисна модель, що заявляється, може бути продемонстрована прикладом конкретного виконання.

5 Статевозрілим пацюкам, самцям вагою 400 г, під загальною анестезією кетаміном у концентрації 0,2 мл/кг ваги, імплантували в ділянку спини зразки композиційних матеріалів із політетрафторетилену (ПТФЕ) і політетрафторетилен, що містить 15 % мас багатостінних вуглецевих нанотрубок (МСУНТ).

10 Через 4 тижні тварин виводили з експерименту. Зразки з навколишніми тканинами висікалися для проведення гістологічних досліджень із наступною морфометрією. Кров тварин забирали для одержання IgG шляхом преципітації охолодженням 50 % розчином  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , з наступним розчиненням осаду та діалізацією проти фізіологічного розчину за стандартною методикою. Концентрацію білка визначали методом Лоурі. При необхідності проводили розведення до 70 нг/мл. Результати наведені в таблиці 2

15

Таблиця 2

	Зразок поверхні	Сила взаємодії чистого зонда/поверхня, nN		Сила взаємодії зонда з IgG /поверхня, nN	
		відрив	похибка	відрив	похибка
1	ПТФЕ	10,640	0,332	26,283	0,283
2	ПТФЕ+МСУНТ	8,320	0,384	9,632	0,210

20 У таблиці 2 представлені дані по взаємодії зонда, модифікованого IgG, та чистого зонда з відповідними зразками. Для кожної тварини зонд модифікувався IgG, що виділяли з її крові, та окремо вимірювали силу взаємодії модифікованого зонда з поверхню імплантованого матеріалу. У таблиці 2 представлені середні значення проведених вимірів. Як видно із таблиці чистий зонд утримується обома поверхнями однаково. Істотне розходження реєструється при модифікації зонда IgG.

Дані морфометрії гістологічних зразків представлені в таблиці 3

Таблиця 3

	Зразок	Товщина капсули (мкм)
1	ПТФЕ	272±38
2	ПТФЕ+МСУНТ	56±14

25

30 При порівнянні результатів гістологічного аналізу і вимірів, одержаних за допомогою АСМ, чітко видно зв'язок між силою утримування зонда поверхнею матеріалу і утворенням фіброзно-сполучної капсули навколо зразка матеріалу. При цьому чим більша сила утримування зонда поверхнею, тим товстіша утворюється фіброзно-сполучна капсула навколо зразка і тим сильніша реакція організму на матеріал.

Виходячи із вищевикладеного, спосіб використання модифікованого IgG зонда АСМ може бути зручним інструментом для тестування нових матеріалів на сумісність з живим організмом.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

35

40 Спосіб індивідуального тестування сітки для герніопластики на сумісність з організмом реципієнта, згідно з яким спочатку з крові реципієнта виділяють імуноглобулін концентрацією 70 нг/мл, цим розчином модифікують активну частину зонда атомно-силового мікроскопа, після чого визначають силу взаємодії модифікованого зонда атомно-силового мікроскопа з матеріалом імплантата, який **відрізняється** тим, що виділяють імуноглобулін IgG.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601