



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68128** (13) **U**  
(51) МПК (2012.01)

**A61K 35/36** (2006.01)

**A61K 35/44** (2006.01)

**G01N 13/00**

**G01N 21/00**

**G01N 21/64** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2011 11989</b>	(72) Винахідник(и): <b>Дем'яненко Василь Васильович (UA), Волков Константин Степанович (UA), Цимбалюк Анна Володимирівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>12.10.2011</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>12.03.2012</b>	(73) Власник(и): <b>ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО, Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46000 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>12.03.2012, Бюл.№ 5</b>	

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ СПРОМОЖНОСТІ КОНСЕРВОВАНОГО БІОІМПЛАНТАТА

### (57) Реферат:

Спосіб оцінки функціональної спроможності консервованого біоімплантата включає реєстрацію інтенсивності його поляризованої флуоресценції. Субстрат біоімплантата попередньо подрібнюють до порошкоподібного стану із розмірами часток принаймні не більше 5 мкм, поляризовану флуоресценцію яких додатково стимулюють внесенням у мікропрепарат краплини води як джерела протонів, а висновок про функціональну спроможність біоімплантата роблять за приростом інтенсивності флуоресценції за допомогою формули:

$$F_{pd} = \frac{I_p - I_d}{I_d} 100\% , (1)$$

де  $F_{pd}$  - показник приросту інтенсивності флуоресценції, %;

$I_d$  - показник інтенсивності світіння сухого субстрату біоімплантата, у.о.;

$I_p$  - показник інтенсивності світіння після протонної стимуляції, у.о.

UA 68128 U



Корисна модель стосується медицини, а саме трансплантології, і може бути використана при вирішенні питання вибору оптимального за біологічними властивостями, зокрема здатністю до приживлення, консервованого біоімплантата, наприклад, в комбустіології, офтальмології тощо.

Відомий спосіб оцінки функціональної спроможності консервованого біоімплантата, що включає реєстрацію інтенсивності його поляризованої флуоресценції [1]. За відомим способом, дослідний зріз тканини консервованого біоімплантата у вигляді мікропрепарату досліджують у полі зору поляризаційного мікроскопу, а висновок про функціональну спроможність біоімплантата роблять за показником інтенсивності поляризованої флуоресценції.

Недоліком відомого способу є недостатня інформативність, що впливає з обмеженого рівня активності консервованої біологічної тканини. До недоліків слід віднести також відносно невисокий рівень точності вказаного способу, що впливає із неврахування площі активної поверхні дослідного зріза під час його дослідження в полі зору поляризаційного мікроскопу.

В основу корисної моделі поставлено задачу вдосконалити відомий спосіб, в якому шляхом введення додаткових технологічних етапів, спрямованих на виявлення і оцінку властивості дослідного зріза біоімплантата змінювати біофізичні параметри у відповідь на дію стандартизованого стимулу, досягають підвищення точності вимірювання та інформативності способу в цілому.

При вирішенні технічної задачі було взято до уваги те, що за умов протонної стимуляції біологічного об'єкту, зокрема клітинного рівня, в останньому відбувається посилення інтенсивності люмінесценції, яке відображає індуковане стимулом підвищення інтенсивності метаболічних внутрішньоклітинних і позаклітинних процесів [2]. Слід відмітити при цьому, що важливим джерелом протонів у біологічних процесах зазвичай виступає вода [3]. При контакті із біомакромолекулами біоімплантата від молекули води внаслідок розриву водневих зв'язків відривається протон, енергія якого, власне, й виступає індуктором посиленої флуоресценції біоімплантата. Важливо зазначити, що швидкість реакції протонної стимуляції флуоресценції зріза істотно залежить від рівня його дисперсності, а отже площі активної поверхні його частинок, що при врахуванні нанорозмірності протону (0,3 нм) вказує на доцільність використання в тестовій реакції (для досягнення високого рівня її чутливості) саме подрібненого субстрату біоімплантата.

Виходячи із наведеного, у відомому способі оцінки функціональної спроможності консервованого біоімплантата, що включає реєстрацію інтенсивності його поляризованої флуоресценції, відповідно до корисної моделі, субстрат біоімплантата попередньо подрібнюють до порошкоподібного стану із розмірами часток принаймні не більше 5 мкм, поляризовану флуоресценцію яких додатково стимулюють внесенням у мікропрепарат краплини води як джерела протонів, а висновок про функціональну спроможність біоімплантата роблять за приростом інтенсивності флуоресценції за допомогою формули:

$$F_{pd} = \frac{I_p - I_d}{I_d} 100\% \quad (1)$$

де

$F_{pd}$  - показник приросту інтенсивності флуоресценції, %;

$I_d$  - показник інтенсивності світіння сухого субстрату біоімплантата, у. о.;

$I_p$  - показник інтенсивності світіння після протонної стимуляції, у. о.

Перелік фігур.

Фіг. 1. Поляризована флуоресценція мікрочасток кріоліофілізованого біоімплантата ксеногенної шкіри розміром до 5 мкм (контроль). ЛЮАМ Р 8МЗ.

Фіг. 2. Поляризована флуоресценція мікрочасток кріоліофілізованого біоімплантата ксеногенної шкіри розміром до 5 мкм (протонна стимуляція). ЛЮАМ Р 8МЗ.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Субстрат біоімплантата попередньо подрібнюють до порошкоподібного стану із розмірами часточок принаймні не більше 5 мкм, і наносять його моношаром на предметне скло. Реєструють вихідний рівень поляризованої флуоресценції, після чого на шар порошкоподібного біоімплантата мікропіпеткою вносять краплину води і відразу повторно реєструють інтенсивність флуоресценції зволоженого зріза. Висновок про функціональну спроможність біоімплантата роблять за приростом інтенсивності флуоресценції за допомогою формули (1):

$$F_{pd} = \frac{I_p - I_d}{I_d} 100\%, \quad (1)$$

де

$F_{pd}$  - показник приросту інтенсивності флуоресценції, %;

$I_d$  - показник інтенсивності світіння сухого субстрату біоімплантата, у.о.;

$I_p$  - показник інтенсивності світіння після протонної стимуляції, у.о.

Приклад 1

- 5 Клапоть кріоліофілізованої ксеногенної шкіри як біоімплантат із тканини шкіри свині попередньо подрібнили до порошкоподібного стану із розмірами часточок, що не перевищували 5 мкм, який нанесли на предметне скло і зареєстрували вихідний рівень поляризованої флуоресценції (фіг. 1). Після цього на шар порошкоподібного шкірного біоімплантата на предметному склі мікропіпеткою внесли краплину води очищеної, - і відразу повторно реєстрували за допомогою мікрофотонасадки ФМЭЛ-1 інтенсивність флуоресценції його у
- 10 зволоженому стані. При цьому спостерігали миттєве збудження флуоресценції мікрочасток взірця біоімплантата (фіг. 2). Результати занесли у робочу таблицю 1 і визначили показник приросту інтенсивності флуоресценції за допомогою формули (1):

$$F_{pd} = \frac{I_p - I_d}{I_d} 100\%.$$

Таблиця 1

Показники поляризованої флуоресценції взірця біоімплантата  
як вихідні дані до оцінки його функціональної спроможності

$I_d$	$I_p$	$F_{pd}$ , %	
288	1006	249,3	Приріст інтенсивності поляризованої флуоресценції біоімплантата внаслідок протонної стимуляції склав 249,3 %

15

Висновок про функціональну спроможність біоімплантата формулювали за критерієм зміни показника  $F_{pd}$ , діагностичні межі якого наведено в робочій табл. 2.

Таблиця 2

Критеріальні межі показника поляризованої флуоресценції  
біоімплантата з рівнями його функціональної спроможності

Діапазон значень показника $F_{pd}$ , %				
<10	10-50	50,1-100	100,1-200	>200
низький	нижче середнього	середній	вище середнього	високий

20

Встановлений приріст інтенсивності поляризованої флуоресценції біоімплантата внаслідок протонної стимуляції склав 249,3 %, що відповідає високому рівню його функціональної спроможності.

Приклад 2

- 25 За відомим способом проведено дослідження функціональної спроможності трьох взірців порошкоподібного біоімплантата - ксеногенної шкіри (свині) з різним рівнем дисперсності мікрочасток, а саме: менше 5 мкм, у межах від 100 до 200 мкм і від 200 до 500 мкм включно.

Із кожним із вказаних взірців біоімплантата проведено по 6 паралельних досліджень, результати яких наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Результати дослідження функціональної спроможності біоімплантата  
ксеношкіри за показником протонноіндукованої інтенсивності флуоресценції ( $X \pm m$ )

Дисперсність часточок біоімплантата	n	Показник приросту протонноіндукованої інтенсивності флуоресценції	Рівень функціональної спроможності біоімплантата	p
<10	6	346,8±39,3	високий	<0,05
100-200	6	168,3±21,4	вище середнього	<0,05
200-500	6	78,4±12,7	середній	<0,05

30

Із наведених в таблиці 3 даних видно, що ефект протонної стимуляції інтенсивності поляризованої флуоресценції біоімплантата змінюється пропорційно до рівня дисперсності його мікрочасток: чим вони дрібніші, тим більшою відносно поверхнею вони взаємодіють із протонами води, що тісно корелює ( $r=0,624$ ) із рівнем функціональної спроможності біоімплантата, зокрема за характером приживлення в рані.

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує вищу, ніж за відомим способом, інформативність і точність дослідження, і може бути використаний у клінічній і експериментальній медицині, а також в біотехнологічному процесі для контролю за якістю виготовленого продукту - біоімплантата.

Джерела інформації:

1. Бігуняк В.В., Дем'яненко В.В., Гуда Н.В. Можливості використання субстрату консервованої ксеногенної шкіри: проблеми і перспективи // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів//Матеріали II-ої міжнародної науково-практичної конференції. Тернопіль: Укрмедкнига, 2007. - С. 34-36.

2. Скулачев В.П. Трансформація енергії в біомембранах. М: Наука, 1972. - 203 с.

3. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. Пер. с англ. Под ред. акад. С.Е. Северина, том 2. М: Мир. 1985. - С. 87-88.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб оцінки функціональної спроможності консервованого біоімплантата, що включає реєстрацію інтенсивності його поляризованої флуоресценції, який **відрізняється** тим, що субстрат біоімплантата попередньо подрібнюють до порошкоподібного стану із розмірами часток принаймні не більше 5 мкм, поляризовану флуоресценцію яких додатково стимулюють внесенням у мікропрепарат краплини води як джерела протонів, а висновок про функціональну спроможність біоімплантата роблять за приростом інтенсивності флуоресценції за допомогою формули:

$$Fpd = \frac{Ip - Id}{Id} 100\% , (1)$$

де  $Fpd$  - показник приросту інтенсивності флуоресценції, %;

$Id$  - показник інтенсивності світіння сухого субстрату біоімплантата, у.о.;

$Ip$  - показник інтенсивності світіння після протонної стимуляції, у.о.



Fig.1

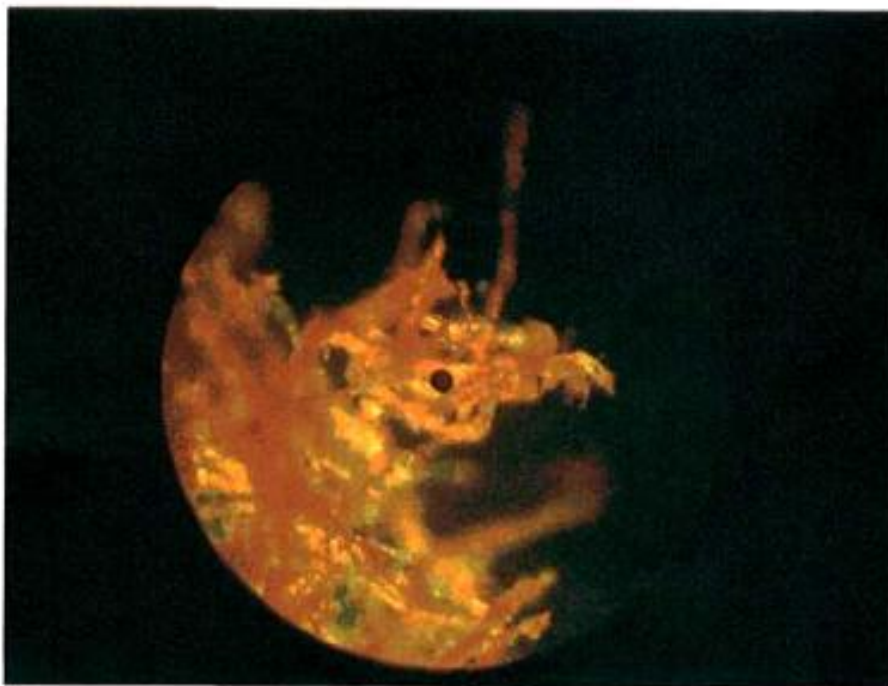


Fig. 2

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

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