



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127606** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2018 02800</p> <p>(22) Дата подання заявки: 19.03.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.08.2018</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.08.2018, Бюл.№ 15</p>	<p>(72) Винахідник(и): Омельченко Олександр Євгенійович (UA), Білець Марина Володимирівна (UA), Весніна Людмила Едуардівна (UA), Мамонтова Тетяна Василівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "УКРАЇНЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ", вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ НИЗЬКОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики системного запалення низької інтенсивності полягає у тому, що як діагностичний критерій системного запалення низької інтенсивності використовують не тільки макрофагальну інфільтрацію жирової тканини, але і інтегральний показник системного запалення та функціональної активності макрофагів - вміст ІЛ-1 β в сироватці крові.

UA 127606 U

Запропонований спосіб належить до галузі медицини, зокрема патофізіології, біохімії, патоморфології, і може бути використаний для вивчення механізмів розвитку ожиріння, запальних процесів та їх експериментальної терапії.

5 Відомий спосіб діагностики системного запалення низької інтенсивності шляхом визначення гематологічних показників, зокрема лейкограми при гострих респираторних інфекціях у дітей [Абрамович М.Л. Особенности гематологических показателей при острых респираторных инфекциях у детей разного возраста / М.Л. Абрамович, А.А. Плоскирева // Лечащий врач. - 2015. - № 11. - С. 59-64].

10 Однак даний спосіб не враховує участь у розвитку системного запалення макрофагів та їх функцію - синтез біологічно активних речовин.

Найбільш близьким до заявленого способу є діагностика системного запалення низької інтенсивності шляхом урахування макрофагальної інфільтрації жирової тканини у щурів [Пат. № 98477 Україна, МПК G01N 33/48. Спосіб визначення маркера системного запалення шляхом оцінки макрофагальної реакції жирової тканини / Тарасенко Л.М., Омельченко О.Є., Цубер В.Ю., Білець М.В. № u201412864; заявл. 01.12.2014; опубл. 27.04.2015, бюл. № 8]. Виявлено, що у щурів, які отримували висококалорійний раціон, чисельність макрофагів в жировій тканині достовірно більше ніж у інтактних тварин, що отримували стандартний корм.

20 В основу корисної моделі поставлена задача розробити в експерименті діагностику системного запалення низької інтенсивності шляхом визначення макрофагальної інфільтрації епідидимальної жирової тканини (найбільш чутливої до регуляторних впливів) та одночасної оцінки функціональної активності макрофагів на основі їх здатності утворювати прозапальний цитокін - інтерлейкін 1-бета (ІЛ-1 β), який є ключовим у відповіді на дію запальних агентів. Численні факти вказують на наявність тісного взаємозв'язку між рівнем продукування ІЛ-1 β і клінічними проявами запального процесу.

25 Запропонований спосіб відрізняється тим, що як опорні діагностичні критерії системного запалення низької інтенсивності використовується не тільки макрофагальна інфільтрація жирової тканини, але і рівень прозапального цитокіну ІЛ-1 β в сироватці крові, які продукують макрофаги.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином.

30 Формують чотири групи щурів: перша - інтактні тварини; друга - високожирове харчування, яке моделюють додаванням до стандартного (збалансованого) раціону тваринного жиру - свинячого сала ad libitum, тобто без обмеження [Kraegen E. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats / E. Kraegen, P. Clark, A. Jenkins [et al.] // Diabetes. - 1991. - Vol. 40, № 11. - P. 1397-1403], впродовж 9 тижнів; третя - моделювання іммобілізаційного стресу шляхом щоденної фіксації тварин на предметному столику у положенні лежачи на спині по 3 години впродовж 5 днів; четверта - поєднаний вплив високожирового харчування та іммобілізаційного стресу. Через 9 тижнів щурів дослідних груп забивали під тіопенталевим наркозом (40 мг на 1 кг маси тіла). Шляхом пункції серця забирали 1 мл крові для визначення вмісту ІЛ-1 β в сироватці крові, який досліджували методом імуноферментного аналізу, використовуючи стандартний набір та методику ELISA-тест, виробник "ВекторБест" (Новосибірськ, Росія). Для оцінки макрофагальної реакції відбирали шматочки епідидимальної жирової тканини, яка відзначається високою чутливістю до біологічної дії інсуліну. Отриманий матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, потім піддавали парафіновій проводці, після чого виготовляли серійні зрізи товщиною 4-5 $\times 10^{-6}$ м. Препарати зафарбовували гематоксиліном і еозином, а також використовували PAS-реакцію по МакМанусу-Хочкісу (контроль з амілазою). Вивчення мікропрепаратів і фотографування проводили на мікроскопі "Olympus" VX-41 (Японія) при збільшенні на $\times 200 \times 400 \times 1000$. Морфометричним методом оцінювали загальну кількість макрофагів в одному полі зору (3,12 $\times 10^{-7}$ м). Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики за допомогою електронних таблиць "Excel-5".

50 Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS 17.0 для Windows методами варіаційної статистики.

Показники системного запалення низької інтенсивності у щурів, яких утримували на високожировому харчовому раціоні та піддавали іммобілізаційному стресу (M±m)

Показники Групи досліджень	Кількість макрофагів в одному полі зору ($3,12 \times 10^{-7} \text{ м}^2$), екз.	Вміст ІЛ-1β, нг/мл
Контроль (інтактні), n=6	0,86±0,26	3,47±0,65
Високожировий раціон, n=7	2,86±0,26**	4,56±0,18
Стрес, n=7	3,86±0,34**	4,54±0,28
Високожировий раціон + стрес, n=8	4,71±0,29**	8,66±1,79*

Примітка: * - порівняно з контролем (p<0,05);

** - p<0,001 між дослідними і контрольною групами;

Приклад: у щура № 1, який впродовж 9 тижнів отримував високожировий раціон у сполученні з іммобілізаційним стресом, кількість макрофагів в одному полі зору жирової тканини становила 6 екземплярів, в інтактного щура першої групи - один екземпляр. В усіх досліджуваних групах порівняно з групою інтактних тварин спостерігалось достовірне зростання макрофагальної інфільтрації (таблиця). Також спостерігались відмінності у синтезі ІЛ-1β, який характеризує функціональну активність макрофагів. Вміст ІЛ-1β в інтактних тварин становив в середньому 3,47±0,65 нг/мл, під впливом високожирового раціону - 4,56±0,18 нг/мл, при іммобілізаційному стресі - 4,54±0,28 нг/мл, а при поєднаному впливі високожирового раціону та іммобілізаційного стресу - 8,66±1,79 нг/мл (таблиця).

Отже, сполучення впливу високожирового харчового раціону та іммобілізаційного стресу викликає розвиток системного запалення низької інтенсивності, про що свідчить наявність макрофагальної інфільтрації в жировій тканині та підвищена продукція макрофагами ІЛ-1β.

Позитивний ефект полягає в високій об'єктивності і доступності оцінки системного запалення низької інтенсивності під дією патогенних чинників, що ініціюють системне запалення.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики системного запалення низької інтенсивності, що включає кількісне визначення макрофагів в жировій тканині, який **відрізняється** тим, що як діагностичний критерій системного запалення низької інтенсивності використовують не тільки макрофагальну інфільтрацію жирової тканини, але і інтегральний показник системного запалення та функціональної активності макрофагів - вміст ІЛ-1β в сироватці крові.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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