



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **73087** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61B 5/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2012 02452</p> <p>(22) Дата подання заявки: 01.03.2012</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.09.2012</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2012, Бюл.№ 17</p>	<p>(72) Винахідник(и): Польова Світлана Петрівна (UA), Боюк Аліна Петрівна (UA), Польовий Віктор Павлович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): Польова Світлана Петрівна, вул. Комарова, 30, кв. 166, м. Чернівці, 58013 (UA), Боюк Аліна Петрівна, вул. Пилипчука, 67, кв. 28, м. Хмельницький, 29000 (UA), Польовий Віктор Павлович, вул. Комарова, 30, кв. 166, м. Чернівці, 58013 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ЕРИТРОЦИТАХ КРОВІ ПЛАЦЕНТИ У ВАГІТНИХ, ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики окиснювальної модифікації білків еритроцитів крові плаценти вагітних, хворих на туберкульоз легень за умов анемії включає морфологічну оцінку еритроцитів плаценти у нативних мазках з визначенням ступеня окиснювальної модифікації білків в еритроцитах плаценти у вагітних. Додатково вимірюють коефіцієнт G/B (співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків в еритроцитах), який характеризує процеси окиснювальної модифікації білків.

UA 73087 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до акушерства та гінекології і може бути використана для покращання діагностики анемії вагітних у хворих на туберкульоз легень.

Частота залізодефіцитних анемій у вагітних, що проживають у високорозвинених країнах складає 10-20 %, у країнах з низьким соціально-економічним рівнем - 30-50 %. За даними ВООЗ анемія вагітних трапляється у 51 % жінок у світі. За останні роки частота залізодефіцитної анемії в Україні зросла до 57 %.

Зростання захворюваності на туберкульоз серед вагітних призвело до підвищення частоти анемії вагітних у даного контингенту пацієнток. Анемія вагітних у хворих на туберкульоз легень трапляється у 74,8 % осіб, що в 3,5 раза частіше, ніж серед популяції. Клінічні наслідки її безпосередньо пов'язані із специфічним захворюванням, його формою, тривалістю хіміотерапії та поширенням залишкових змін після лікування.

У вагітних, хворих на вперше виявлений туберкульоз легень, обов'язково супутній загальноанемічний синдром, який зумовлений тривалим застосуванням хіміотерапії, хронічною інтоксикацією, гіпоксемією та гіпоксією.

Клінічні прояви залізодефіцитної анемії можуть проявлятися різноманітним у кожному конкретному випадку і залежить від рівня гемоглобіну до вагітності, адаптаційних можливостей, функціонування серцево-судинної і дихальної систем.

Вільне залізо - потенційно токсичне, оскільки може запускати ланцюгові вільнорадикальні реакції, які призводять до ушкоджень біологічних мембран еритроцитів, білків, нуклеїнових кислот тощо. З'ясувавши особливості патогенезу ЗДА у вагітних, хворих на туберкульоз легень, необхідно покращити ефективність діагностики останньої.

Аналогами способу, що заявляється, можуть вважатися:

1. Патент № 56104. Спосіб діагностики анемії у вагітних; автори: Н.В. Коробчинська, Б.Ф. Мазорчук, від 27.12.2010, Бюл. № 24.

2. Патент № 41061 А України, МКВ G01N33/483, A61B5/00. Спосіб виготовлення препарату-відбитка плаценти: автор І.С. Давиденко, від 15.08.2001, Бюл. № 7.

Відомий перший спосіб діагностики анемії у вагітних із визначенням рівня трансферину, феритину, розчинних рецепторів до трансферину в сироватці крові, за коефіцієнтом співвідношення рівня розчинних рецепторів до трансферину і феритину дозволяє діагностувати залізодефіцитну анемію і роль інфекції в розвитку анемії вагітних. Проте, недоліком даної діагностики є те, що остання не враховує ступінь окиснювальної модифікації білків в еритроцитах крові вагітної при супутній патології і тому є малоефективною.

Недоліком другого способу є те, що діагностика анемії вагітних базується на морфологічних змінах розмірів і форми еритроцитів плаценти з визначенням зростання частки патологічних форм еритроцитів, проте не зазначена участь ступеня окиснювальної модифікації білків в еритроцитах за умов анемії вагітних, хворих на туберкульоз легень.

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення є діагностика анемії вагітних шляхом визначення морфологічних (в т.ч. патологічних) форм еритроцитів плаценти вагітної № 22572 "Спосіб діагностики фетоплацентарної недостатності за функціональними і морфологічними змінами у вагітних, хворих на туберкульоз", автори: Польова С.П., Гошовська А.В., Магальяс В.М., UA 200612600, заяв. 30.11.2006, від 25.04.2007, бюлет. № 5. У даному патенті проведена оцінка характеру перебігу плацентарної дисфункції у вагітних, хворих на туберкульоз легень, визначальним чинником якої є наявність та ступінь тяжкості перебігу анемії вагітних. Встановлено, що за умов II та III ступеня тяжкості залізодефіцитної анемії вагітних, хворих на туберкульоз легень, найчастіше виникає дисфункція плаценти (21 %) та затримка розвитку плода (19 %). Спосіб прототип дозволяє діагностувати анемію вагітних, хворих на туберкульоз зі специфічністю 98 %, передбачуваною цінністю позитивного результату 99 % і негативного результату 1 %.

Однак, вказаний метод діагностики анемії у вагітних, хворих на туберкульоз легень, є недостатнім. До суттєвих недоліків прототипу слід віднести наступні: неінформативні результати дослідження внаслідок недооцінки змін форми еритроцитів плаценти у межах фізіологічних форм, визначення яких не дозволяє встановити ушкодження білків еритроцитів плаценти за умов туберкульозу, атипового клінічного перебігу анемії та відсутності даних щодо пошкоджуючої дії нітропероксидів на еритроцити плаценти.

Нами пропонуються рішення, що усувають вказані недоліки.

В основі корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб діагностики анемії у вагітних, хворих на туберкульоз легень, шляхом визначення ступеня ураження еритроцитів плаценти. Спільними ознаками прототипу та рішення, що заявляється є: визначення ступеня тяжкості анемії, особливості клінічного перебігу та вплив туберкульозної інтоксикації на перебіг анемії.

Поставлена задача вирішується тим, що згідно корисної моделі шляхом додаткового вимірювання коефіцієнта G/B, який характеризує процеси окиснювальної модифікації білків (співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків в еритроцитах), відповідно до корисної моделі, визначали стан окиснювальної модифікації білків в еритроцитах крові препаратів плаценти.

Корисна модель відрізняється від прототипу тим, що під час діагностики анемії морфологічно визначають не лише фізіологічно та патологічно змінені форми еритроцитів плаценти, але й ступінь ураження їх нітропероксидами.

Дослідження патологічних форм еритроцитів плаценти дозволяють визначити ушкодження мембрани еритроцитів нітропероксидами, кількість яких зростає за активності туберкульозу та наявності туберкульозної інтоксикації організму вагітної.

У порівнянні з прототипом запропонований спосіб діагностики дозволяє покращити діагностику анемії вагітних, хворих на туберкульоз легень, визначити ступінь ураження еритроцитів плаценти нітропероксидами та вибрати адекватну терапію щодо лікування анемії вагітних, хворих на туберкульоз легень.

Спосіб здійснюють наступним чином:

Досліджують мазки препаратів-відбитків плаценти, що отримані після відділення посліду, які без фіксації фарбують водним еозином, приготвленим на ізотонічному розчині та гематоксилином Грота, що здатний фарбувати нефіксовані клітинні ядра. Інші препарати-відбитки плаценти фарбували бромфеноловим синім за Мікель-Кальво для оцінки співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків в еритроцитах плаценти за технологією спектрального аналізу. У кожному дослідженні препаратів-відбитків плаценти вивчали по 10000 еритроцитів для вірогідності результатів ($p=0,05$).

Препарати-відбитки плаценти досліджували за допомогою мікроскопа ЛЮМАМ-8 з імерсійним об'єктивом $\times 100$. Цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми "ВидеоТест - Размер 5.0" (ООО Видеотест, Санкт-Петербург, Росія, 2000).

Дослідження окиснювальної модифікації білків (ОМБ) в еритроцитах препаратів плаценти вагітних показали, що за фізіологічної вагітності остання становила - $0,34 \pm 0,005$, при ЗДА I ступеня - $1,19 \pm 0,008$, II ступеня - $1,67 \pm 0,012$, III ступеня - $2,13 \pm 0,014$. Відповідно, при компенсованій плацентарній дисфункції на тлі туберкульозу - $1,23 \pm 0,009$, субкомпенсованій - $1,64 \pm 0,012$, декомпенсованій - $2,18 \pm 0,015$. Результати вимірювання коефіцієнту G/B, який характеризує процеси окиснювальної модифікації білків наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Коефіцієнт G/B в еритроцитах крові в групах дослідження

Групи дослідження	Коефіцієнт G/B
Здорові вагітні, n=41	$0,94 \pm 0,007$
Вагітні з анемією, n=14	$1,14 \pm 0,009$ ($P_k=0,003$)
Вагітні, хворі на туберкульоз (з анемією), n=28	$1,38 \pm 0,012$ ($P_k < 0,001$) ($P_a < 0,001$)

Примітка. Вірогідності обраховані за методом множинних порівнянь середніх Ньюмена-Кейлса. P_k - вірогідність при порівнянні з контролем, P_a - вірогідність при порівнянні з анемією.

Наведені дані однозначно вказують на суттєве зростання коефіцієнту G/B в еритроцитах крові плаценти вагітних, хворих на туберкульоз легень, і, відповідно, підвищення окиснювальної модифікації білків.

Технічний результат. Таким чином, спосіб, що заявляється, є ефективним методом діагностики анемії у вагітних на тлі туберкульозу стосовно прототипу за рахунок того, що дозволяє скоротити терміни діагностики анемії вагітних, є високо специфічним щодо виявлення ураження еритроцитів нітропероксидами, потребує значно менших витрат часу та дозволяє швидко діагностувати форму та ступінь тяжкості анемії, а також ступінь ушкодження мембран еритроцитів безпосередньо у плаценті, володіє кращою специфічністю та передбачуваною цінністю результатів.

Ефективність даного методу підтверджується наступними прикладами:

Вагітна Д., історія пологів № 1357/761 від 2.10.2002 р. поступила в обсерваційне відділення Одеського пологового будинку № 2 з діагнозом: Вагітність II, 35-36 тиж., головне передлежання, повздовжнє положення, I позиція, передній вид. Хронічна дисфункція плаценти. Вогнищевий туберкульоз легень. БК (-). ДНО. Анемія вагітних II ступеня. Обстежена: УЗД, КТГ, БПП плода. Загальний аналіз крові - рівень гемоглобіну 90 г/л, еритроцити 3,0 т/л, кольоровий показник 0,75, сироваткове залізо 12,6 мкмоль/л. Мікроскопічним дослідженням нативного мазка плаценти вагітної виявлено: ОМБ $1,69 \pm 0,012$; коефіцієнт G/B становив $0,96 \pm 0,009$.

Вагітна К., 37 років, історія пологів № 972/558 від 4.06.03 р. Поступила в обсерваційне відділення Одеського пологового будинку № 2 з діагнозом: Вагітність III, 33-34 тиж., головне передлежання повздовжнє положення, вогнищевий туберкульоз легень. Анемія вагітних I ступеня. Обстежена: УЗД, КТГ, БПП плода. Загальний аналіз крові - рівень гемоглобіну 110 г/л, еритроцити 3,28 т/л, кольоровий показник 0,8, сироваткове залізо 12,4 мкмоль/л. Мікроскопічним дослідженням нативного мазка плаценти вагітної: виявлено ОМБ $1,21 \pm 0,011$; коефіцієнт G/B становив $1,36 \pm 0,012$.

Таким чином, застосування запропонованої методики дозволило встановити, що зростання коефіцієнта G/B в еритроцитах крові плаценти прямопропорційне до ступеня тяжкості анемії, перебігу плацентарної дисфункції та активності туберкульозного процесу у вагітної.

Все це дає підстави вважати, що спосіб, який заявляється, дає можливість діагностувати стан окиснювальної модифікації білків в еритроцитах крові плаценти і завдяки цьому визначати один із можливих молекулярних механізмів впливу плаценти на материнські еритроцити - посилення вільнорадикальних процесів у синцитіотрофобласті з подальшим окиснювальним ушкодженням спектрину та актину еритроцитів.

Використання способу діагностики, що заявляється, дозволяє підвищити інформативність параклінічних методів обстеження вагітних, хворих на туберкульоз легень, а також оптимізувати діагностику залізодефіцитної анемії вагітних, хворих на туберкульоз легень.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики окиснювальної модифікації білків еритроцитів крові плаценти вагітних, хворих на туберкульоз легень за умов анемії, який включає морфологічну оцінку еритроцитів плаценти у нативних мазках з визначенням ступеня окиснювальної модифікації білків в еритроцитах плаценти у вагітних, який **відрізняється** тим, що додатково вимірюють коефіцієнт G/B (співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків в еритроцитах), який характеризує процеси окиснювальної модифікації білків.

Комп'ютерна верстка Д. Шеврун

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