



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115178** (13) **C2**
(51) МПК (2017.01)
A61B 10/00
G01N 33/48 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2015 10954**
(22) Дата подання заявки: **09.11.2015**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.09.2017**
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.05.2017, Бюл.№ 9**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.09.2017, Бюл.№ 18**

(72) Винахідник(и):
**Товажнянська Віра Дмитрівна (UA),
Сорокіна Ірина Вікторівна (UA),
Андросов Євген Дмитрович (UA)**

(73) Власник(и):
**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022 (UA)**

(74) Представник:
Голданська Анна Вадимівна

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
UA 108808 C2, 10.06.2015
Кихтенко Е.В. Особенности эмбриогенеза адренкортикотропозитов аденогипофиза плода в условиях хронической внутриутробной гипоксии // Український морфологічний альманах. – 2009. – №. 7, № 1. - С. 34-35
Перинатальная гипоксия как причина патологических изменений надпочечников плодов и новорожденных / А.В. Андреев, Г.И. Губина-Вакулик // Международный медицинский журнал. - 2013. - Т. 19, № 3. - С. 65-69
Сорокина И. В. Морфологические особенности надпочечников мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей / Сорокина И. В., Шерстюк С. А., Ремнева Н. А. // Патология. – 2011. – №. 8, № 1. – С. 26-29

(54) СПОСІБ МОРФОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПОШКОДЖУЮЧОЇ ДІЇ ХРОНІЧНОЇ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ГІПОКСІЇ НА КОРУ НАДНИРНИКІВ ПЛОДА

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини, а саме до патологічної анатомії, і може бути використаний для морфологічної діагностики пошкоджуючої дії хронічної внутрішньоутробної гіпоксії (ХВГ) на кору наднирників плода, яка полягає у визначенні в плода щура на 21 добу гестації ширини клубочкової, пучкової й фетальної зон кори наднирників, кількості аденоцитів у них, площі даних клітин та їх ядер.

UA 115178 C2

Винахід належить до медицини, а саме до патологічної анатомії, і може бути використаний для морфологічної діагностики пошкоджуючої дії хронічної внутрішньоутробної гіпоксії (ХВГ) па кору наднирників плода.

Актуальність предмету винаходу пов'язана зі значною поширеністю ХВГ у вагітних, яка викликає серйозні розлади, зокрема в корі наднирників плода, і служить причиною ускладнень постнатального періоду потім у новонародженого. Тому вельми важливими є спроби розробки способів оцінки ступеню й характеру пошкоджуючої дії ХВГ, у тому числі й на морфологічному рівні, на тканини цих залоз плода, особливості яких, при необхідності, можуть бути використані як маркери дії саме цього фактора.

Відомий спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода людини шляхом констатації її при середніх значеннях діаметра аденоцитів та їх ядер у пучковій зоні кори цих залоз, які становлять $7,27 \pm 0,29$ і $5,47 \pm 0,17$ мкм відповідно терміну гестації ≤ 20 тижнів, $10,66 \pm 0,37$ і $5,95 \pm 0,19$ мкм - 21-25 тижнів, $12,45 \pm 0,44$ і $6,49 \pm 0,20$ мкм - 26-30 тижнів, $10,15 \pm 0,35$ і $5,51 \pm 0,18$ мкм - 31-35 тижнів, $8,73 \pm 0,32$ і $5,37 \pm 0,15$ мкм - ≥ 36 тижнів [Патент України (на 20 р.) № 108808. Спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії на гіпофізарно-надниркову систему плода та новонародженого хронічної внутрішньоутробної гіпоксії. МПК А61В 10/00, G01N 33/48. Опубл. 10.06.2015, бюл. № 11].

Цей спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода виявився єдиним, що виявлений нами в результаті аналізу патентної й науково-медичної інформації, а тому є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю й результатом, який може бути досягнутий, тому його вибрано за прототип.

До недоліків прототипу відноситься те, що в ньому як морфологічні маркери пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода враховується обмежене число морфометричних клітинних параметрів, причому не в усіх зонах кори цих залоз. Крім того, у прототипі чомусь навіть не вказано в яких одиницях довжини представлений діаметр клітин та їх ядер.

В основу винаходу поставлено задачу розширення арсеналу морфометричних клітинних параметрів констатації пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода, до того ж, характерних для всіх зон кори даних залоз, тобто підвищення ефективності прототипу.

Задачу, яку поставлено в основу винаходу, вирішують тим, що у відомому способі морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода людини, який включає дослідження діаметра аденоцитів та їх ядер у пучковій зоні кори цих залоз на певний термін гестації, згідно з заявленим способом, у плода щура на 21 добу гестації визначають ширину клубочкової, пучкової й фетальної зон кори наднирників в абсолютних числах і в процентному співвідношенні, щільність клітин у них (кількість на одиниці площі - у полі зору), площу останніх та їх ядер.

Технічний ефект способу морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода обумовлений більш високою інформативною ефективністю комплексу морфометричних клітинних параметрів, який заявляється й характерний для всіх зон даних залоз, а також відсутністю будь-яких незручностей, пов'язаних з його використанням. Що ж стосується можливих сумнівів відносно інтеркаляції результатів заявленого способу, то при моделюванні ХВГ найбільш часто використовуються саме щури, що пов'язано зі схожістю гістологічної будови їх органів і людини, зокрема кори надниркових залоз, тому отримані нами дані в значній мірі можуть відповідати таким у плодів і вагітних жінок.

Спосіб виконують наступним чином. Пошкоджуючу дію ХВГ на кору наднирників плода діагностують шляхом визначення ширини (в абсолютних числах і в процентному співвідношенні) її клубочкової, пучкової й фетальної зон, кількості клітин у них, площу останніх та їх ядер, а також констатації цієї дії при змінах середніх величин вищезазначених морфометричних клітинних параметрів на термін гестації 21 доба в порівнянні з такими в контрольній групі. При цьому, пошкоджуючу дію ХВГ на наднирники діагностують при виявленні: зменшення ширини їх клубочкової зони в абсолютних числах від 25,54 до 24,54 мкм і кількості аденоцитів у ній від 81,89 до 71,11 у полі зору, у той же час, збільшення ширини даної зони в процентному співвідношенні від 17,09 до 18,01 %, площі клітин у ній від 34,75 до 35,81 мкм² та ядер останніх від 11,69 до 12,00 мкм²; збільшення ширини пучкової зони кори залоз в абсолютних числах від 56,05 до 59,83 мкм і в процентному співвідношенні від 39,50 до 41,40 %, площі ядер аденоцитів у ній від 23,17 до 23,75 мкм², а також зменшення кількості цих клітин від 214,49 до 213,48 у полі зору й їх площі від 63,27 до 62,21 мкм²; зменшення ширини фетальної зони кори наднирників в абсолютних числах від 60,88 до 59,12 мкм і в процентному співвідношенні від 42,62 до 41,38 %, площі аденоцитів у ній від 72,11 до 71,85 мкм² та ядер останніх від 22,16 до 21,92 мкм², а також збільшення кількості клітин від 133,52 до 144,68 у полі зору (таб.).

Дослідження проведене на 10 випадках аутопсій плодів щурів, виношених в умовах ХВГ і загиблих внаслідок виведення з експерименту вагітних щурів-самок популяції WAG на пізній термін гестації (21 доба) шляхом передозування тіопенталу нагрію з наступною їх декапітацією, з метою вилучення плодів для їх подальшого дослідження. Вагітні щури-самки до того протягом

5
10

Таблиця

Морфометричні клітинні параметри кори наднирників плодів у результаті пошкоджуючої дії на них ХВГ ($M \pm m$)

Тканина й параметри	Контроль	Досліджувана група	P
клубочкова зона:			
ширина в абсолютних числах, мкм	32,68±0,99	25,04±0,50	<0,01
у процентному співвідношенні, %	16,04±0,24	17,55±0,46	<0,05
кількість клітин, у полі зору	113,10±3,76	76,50±5,39	<0,01
площа клітин, мкм ²	30,59±0,34	35,28±0,53	<0,05
площа ядер, мкм ²	11,52±0,16	11,79±0,21	>0,05
пучкова зона:			
ширина в абсолютних числах, мкм	54,61±1,20	57,94±1,89	<0,05
у процентному співвідношенні, %	26,85±0,42	40,45±0,95	<0,001
кількість клітин, у полі зору	218,60±4,10	216,00±2,52	>0,05
площа клітин, мкм ²	69,87±0,62	62,74±0,53	<0,05
площа ядер, мкм ²	20,87±0,14	23,46±0,29	<0,05
фетальна зона:			
ширина в абсолютних числах, мкм	116,23±2,60	60,00±0,88	<0,001
у процентному співвідношенні, %	57,11±0,52	42,00±0,62	<0,01
кількість клітин, у полі зору	131,20±1,24	139,10±5,58	<0,05
площа клітин, мкм ²	83,11±1,07	71,98±0,13	<0,05
площа ядер, мкм ²	23,37±0,31	22,04±0,12	<0,05

Примітка: стовпчик P - різниця між показниками в досліджуваній групі й контролі.

Для морфологічного дослідження під час аутопсії в плодів брали шматочки кори наднирників. Матеріал фіксували в розчині нейтрального формаліну, після чого піддавали стандартній парафінній проводці. Із приготування в такий спосіб блоків робили серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м, які забарвлювали гематоксилином та еозином. На мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-soft і Microsoft-Excel виконували каріо- й цитометрію аденцитів усіх зон кори наднирників. Увесь отриманий цифровий масив даних обробляли статистично з використанням формул варіаційного аналізу [Райсина М.Е., Аялене Д.М. Статистическая обработка медицинских данных. Вильнюс: Моклас, 1989. 101 с.; Серіенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. - М.: ГЭОТАРМЕДИЦИНА, 2000. - 256 с.]

15
20
25
30

Аналізуючи дані, представлені в таблиці, необхідно відзначити, що вплив ХВГ на кору наднирників плодів викликає зміни деяких морфометричних клітинних параметрів, іноді суттєві, у порівнянні з такими в контрольній групі, зокрема - зменшення ширини клубочкової зони цих залоз в абсолютних числах на 23,38 % ($P < 0,01$) і кількості аденцитів у ній в полі зору на 32,36 % ($P < 0,01$), у той же час, збільшення ширини цієї зони в процентному співвідношенні на 9,41 % ($P < 0,05$), площі клітин у ній на 15,33 % ($P < 0,05$) та їх ядер на 2,34 % ($P > 0,05$); збільшення ширини пучкової зони кори наднирників в абсолютних числах на 6,10 % ($P < 0,05$) і в процентному співвідношенні на 50,65 % ($P < 0,001$), площі ядер аденцитів у ній на 12,41 % ($P < 0,05$), а також зменшення кількості даних клітин на 1,19 % ($P > 0,05$) та їх площі на 10,20 % ($P < 0,05$); зменшення ширини фетальної зони кори залоз в абсолютних числах на 48,38 % ($P < 0,001$) і в процентному співвідношенні на 26,46 % ($P < 0,01$), площі аденцитів у ній на 13,39 % ($P < 0,05$) та їх ядер на 5,69 % ($P < 0,05$), а також збільшення кількості клітин на 6,02 % ($P < 0,05$). Що стосується останніх змін, то це вказує на зниження морфофункціональної активності

фетальної зони кори наднирників плода й, очевидно, свідчить про прискорене дозрівання цих залоз під дією перенесеної ХВГ та виснаження, тим самим, їх адаптаційних резервів.

Отже, проведене дослідження вказує на те, що ХВГ є потужним пошкоджуючим фактором для кори наднирників плода, а використання заявленого способу морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору даних залоз плода сприяє отриманню більш об'ємної інформації про наслідки цієї дії. Виходить, що результати проведеного експериментального дослідження надають фактичний матеріал, аналіз якого дає підставу стверджувати, що задача, яка поставлена в основу винаходу, виконана.

Тому, отримані дані дозволяють вважати перспективним заявлений спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода для широкого використання не тільки в патологічній анатомії для уточнення патогенезу цього пошкоджуючого фактора, а й практичній медицині для рекомендацій щодо ведення вагітності.

Таким чином, заявлений спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії ХВГ на кору наднирників плода має суттєві переваги стосовно прототипу. Він не потребує додаткових дефіцитних або дорогих реактивів та обладнання. Заявлений спосіб сприяє більш високій інформативності щодо пошкоджуючої дії ХВГ па кору надниркових залоз плода, а тому є корисним для медицини й може бути рекомендований для широкого впровадження в практику роботи лікарів патологоанатомів, неонатологів та ендокринологів, профільних центрів і науково-дослідних інститутів з метою більш об'єктивної констатації природи чинників, які впливають на організм вагітних жінок, зокрема кору їх наднирників, а тому й своєчасного надання їм відповідної медичної допомоги.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб морфологічної діагностики пошкоджуючої дії хронічної внутрішньоутробної гіпоксії (ХВГ) на кору наднирників плода людини, що включає дослідження діаметра клітин та їх ядер у пучковій зоні кори даних залоз на певний термін гестації, який **відрізняється** тим, що в плода щура на 21 добу гестації визначають ширину клубочкової, пучкової й фетальної зон кори наднирників, кількість аденоцитів у них, площу цих клітин та їх ядер і, у разі виявлення: зменшення ширини клубочкової зони кори залоз в абсолютних числах від 25,54 до 24,54 мкм і кількості аденоцитів у ній від 81,89 до 71,11 у полі зору, у той же час, збільшення ширини даної зони в процентному співвідношенні від 17,09 до 18,01 %, площі клітин у ній від 34,75 до 35,81 мкм² та їх ядер від 11,69 до 12,00 мкм²; збільшення ширини пучкової зони кори наднирників в абсолютних числах від 56,05 до 59,83 мкм і в процентному співвідношенні від 39,50 до 41,40 %, площі ядер аденоцитів у ній від 23,17 до 23,75 мкм², а також зменшення кількості клітин від 214,49 до 213,48 у полі зору й площі останніх від 63,27 до 62,21 мкм²; зменшення ширини фетальної зони кори залоз в абсолютних числах від 60,88 до 59,12 мкм і в процентному співвідношенні від 42,62 до 41,38 %, площі аденоцитів у ній від 72,11 до 71,85 мкм² та їх ядер від 22,16 до 21,92 мкм², а також збільшення кількості клітин від 133,52 до 144,68 у полі зору, діагностують як причину зазначених змін у корі наднирників саме ХВГ.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

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