



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **99042** (13) **U**  
(51) МПК  
**A61B 5/05** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2014 14080</b>	(72) Винахідник(и): <b>Федоров Сергій Валерійович (UA), Ковальчук Лариса Євгенівна (UA), Глушко Любомир Володимирович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>29.12.2014</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>12.05.2015</b>	(73) Власник(и): <b>Федоров Сергій Валерійович, вул. Галицька, 80-а, кв. 18, м. Івано- Франківськ, 76008 (UA), Ковальчук Лариса Євгенівна, вул. Коновальця, 121, кв. 8, м. Івано- Франківськ, 76000 (UA), Глушко Любомир Володимирович, вул. Галицька, 118, кв. 20, м. Івано- Франківськ, 76008 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>12.05.2015, Бюл.№ 9</b>	

## (54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЦИТОГЕНЕТИЧНОГО СТАТУСУ ПРИ СЕРЦЕВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ ЗА КАРІОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ МОНОЦИТІВ/МАКРОФАГІВ

### (57) Реферат:

Спосіб оцінки цитогенетичного статусу при серцевій недостатності за каріологічними показниками моноцитів/макрофагів включає в себе обчислення цитогенетичних показників (частота клітин із мікроядрами; частота клітин із протрузіями; частота клітин із цитогенетичними пошкодженнями (мікроядра та протрузії сумарно); частота клітин із аномальним ядром); показників проліферації (частота клітин із двома ядрами; частота клітин із подвоєними ядрами; сумарна частота двох ядерних клітин); показників ранньої стадії деструкції ядра (апоптозу/некрозу): частота клітин із перинуклеарною вакуолею; частота клітин із конденсацією хроматину; частота клітин із вакуолізацією ядра; показників завершення деструкції ядра (частота клітин із каріорексисом; частота клітин із каріопікнозом; частота клітин із каріолісисом). Дане каріологічне дослідження проводять на основних клітинах атерогенезу - моноцитах/макрофагах периферійної крові після виділення їх за методом Recalde H. з наступним фарбуванням за методом Фольгена в модифікації, проведенням підрахунку методом світлової мікроскопії частоти виявлення атипових ядер, перинуклеарної вакуолізації, вакуолізації, конденсації хроматину, здвоєних ядер, між'ядерних містків, каріорікнозу та каріолісису.

UA 99042 U



Корисна модель належить до медицини, зокрема до кардіології та медичної генетики, і може бути використана в комплексі діагностичних заходів для оцінки цитогенетичного статусу хворих із синдромом серцевої недостатності з метою обліку генетичних порушень.

Проблема ефективної діагностики та лікування синдрому серцевої недостатності залишається актуальною.

Основним стандартизованим методом дослідження цитогенетичної дії факторів довкілля та внутрішнього середовища організму є облік хромосомних аберацій в лімфоцитах периферійної крові людини.

Відомо, що моноцити периферійної крові є основними клітинами, які беруть участь в атерогенезі. Вони являють собою пул відносно незрілих клітин, що об'єднуються в систему моноклеарних фагоцитів, куди, окрім них, входять їхні кістковомозкові попередники та органо-і тканинспецифічні макрофаги - кінцева стадія диференціювання моноцитів.

В нормі до 60 % усіх моноцитів крові рівномірно розсіяні в різних регіонах судинного русла і перебувають у стані постійного контакту із ендотелієм, складаючи так званий маргінальний пул. Контакт є нетривалим та зворотнім, який забезпечує трофіку васкулярного ендотелію. Моноцити мають здатність проникати в субендотеліальний простір артерій, вен і капілярів та після короткочасного перебування там (24-48 год.) повертатись назад у кровоплин. Присутність моноцитів та макрофагів в субендотеліальному просторі розглядають як прояв фізіологічної реакції системи моноклеарних фагоцитів, спрямованої на підтримку гомеостазу судинної стінки в умовах змінних гуморальних та гемодинамічних факторів.

За умови початкових стадій атеросклерозу відмічається посилена локальна адгезія моноцитів до судинного ендотелію, яка обумовлена зростаючою експресією на поверхні клітин молекул адгезії (ICAM-1, VCAM-1, E-селектину тощо). Адгезовані на поверхні ендотелію моноцити мігрують крізь ендотеліальні щілини в субендотеліальний простір, де набувають властивостей макрофагів. У результаті масивного поглинання ліпідних частин, опосередкованого скевенджер-механізмом, вони трансформуються в "пінисті" клітини - один із головних компонентів майбутньої атеросклеротичної бляшки.

За даними Європейського кардіологічного товариства (2013), основною причиною виникнення серцевої недостатності є ішемічна хвороба серця, в основі якої лежить атеросклероз вінцевих артерій.

Таким чином, на сьогоднішній день проблема вдосконалення діагностики цитогенетичного статусу при серцевій недостатності за каріологічними показниками моноцитів/макрофагів набуває актуального значення, а її вирішення дозволить покращити ефективність лікування синдрому і, як наслідок, - якості та тривалості життя пацієнтів.

Відомий спосіб, який передбачає цитогенетичну діагностику захворювань людини з використанням мікроядерного методу на основі лімфоцитів периферійної крові [Бочков Н.П. Клиническая генетика /Н.П. Бочков. - М.: Геотар-Медия, 2006. - 268 с.]. В даному методі використовується оцінка цитогенетичних показників, показників проліферації та деградації ядра.

Проте, інвазивний метод отримання лімфоцитів затрудняє проведення широких обстежень осіб із різними патологічними станами. Важливим є також той факт, що аналіз мутагенного ефекту в одному типі соматичних клітин не відображає рівні відповіді в інших органах.

Найбільш близьким аналогом є метод, який передбачає цитогенетичну діагностику захворювань на основі каріологічного аналізу ексфолюативних клітин [Сычева Л.П. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра каріологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека /Л.П. Сычева //Медицинская генетика. - 2007. - № 11. - С. 3-11]. Метод ґрунтується на аналізі 1000 клітин та підрахунку серед них числа клітин із мікроядрами.

Проте, основним недоліком даного методу є те, що ексфолюативні клітини часто не відображають основний характер патологічних змін, які мають місце при серцевій недостатності, особливо на тлі атеросклерозу.

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу оцінки цитогенетичного статусу при серцевій недостатності за каріологічними показниками моноцитів/макрофагів периферійної шляхом використання запропонованого мікроядерного аналізу при особливих умовах його проведення забезпечити ефективну об'єктивізацію важкості серцевої недостатності та визначення ймовірного прогнозу.

Поставлена задача вирішується тим, що комплекс діагностичних заходів при оцінці цитогенетичного статусу хворих із серцевою недостатністю передбачає використання каріологічного аналізу моноцитів/макрофагів. Новим у способі є те, що каріологічний тест проводять на моноцитах/макрофагах, виділених із периферійної крові.

Моноцити з крові виділяють за методом Recalde H. [Recalde H.R. A simple method of obtaining monocytes in suspension //J. Immunol. Meth. - 1984. - Vol.69. - P. 71-77]. Згодом клітини фарбують за методом Фольгена у модифікації, що дозволяє виявити ядерця.

Під світловим мікроскопом проводить підрахунок:

- 5 - цитогенетичних показників (частота клітин із мікроядрами; частота клітин із протрузіями; частота клітин із цитогенетичними пошкодженнями (мікроядра та протрузії сумарно); частота клітин із аномальним ядром)
- показників проліферації (частота клітин із двома ядрами; частота клітин із подвоєними ядрами; сумарна частота двох ядерних клітин);
- 10 - показників ранньої стадії деструкції ядра (апоптоз/некрозу): частота клітин із перинуклеарною вакуолею; частота клітин із конденсацією хроматину; частота клітин із вакуолізацією ядра;
- показників завершення деструкції ядра (частота клітин із каріорексисом; частота клітин із каріопікнозом; частота клітин із каріолізисом).

- 15 Використання даного методу обумовлене його показовістю стосовно спостереження динаміки цитогенетичних змін при прогресуванні серцевої недостатності.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю істотних ознак способу і технічним результатом, який досягається при його використанні, відображається в подальшому.

- 20 Сукупність усіх ознак способу оцінки цитогенетичного статусу при серцевій недостатності, а саме - каріологічний аналіз моноцитів/макрофагів периферійної крові, дозволить підвищити ефективність діагностики ступеня прогресування синдрому серцевої недостатності та оптимізувати лікувальні заходи з метою стабілізації патологічного процесу та попередити низку загальних ускладнень. Проведення каріологічного аналізу моноцитів/макрофагів периферійної крові на етапі постановки діагнозу, впродовж лікування та після його завершення дозволить
- 25 дати об'єктивну вихідну оцінку стану серцевого м'язу, динаміку процесу на етапі лікування та ефективність лікувальних заходів після завершення останнього.

За рахунок введення нових ознак даний спосіб набуває нових властивостей та особливий характер функціонування.

- 30 При створенні даного способу клінічними, лабораторними та інструментальними методами досліджень встановлено достовірну ефективність та високий рівень об'єктивності каріологічного аналізу моноцитів/макрофагів периферійної крові.

Практичне здійснення даного способу ілюстровано конкретними прикладами.

- 35 Приклад 1. У хворого С, 65 років, в якого діагноз серцевої недостатності встановлений 15 років тому, проведено забір крові та виділення моноцитів/макрофагів. Каріологічні препарати виготовлені описаним вище способом. Обчислене співвідношення частоти появи ядерних змін у моноцитах/макрофагах по відношенню до незмінених клітин склало: атипові ядра - 0,09; перинуклеарна вакуолізація - 0,10; вакуолізація - 0,77; конденсація хроматину - 0,59; здвоєні ядра - 0,04; між'ядерні містки - 0,09.

- 40 Приклад 2. У практичного здорової особи чоловічої статі, 63 років, проведений забір крові та виділення моноцитів/макрофагів. Каріологічні препарати виготовлені описаним вище способом. Обчислене співвідношення частоти появи ядерних змін у моноцитах/макрофагах по відношенню до незмінених клітин склало: атипові ядра - 0,07; перинуклеарна вакуолізація - 0,03; вакуолізація - 0,31; конденсація хроматину - 0,49; здвоєні ядра - 0,02; між'ядерні містки - 0,13.

- 45 Дані приклади вказують на вірогідно вищі параметри початкових явищ апоптозу/некрозу в хворих із серцевою недостатністю, порівняно зі практично здоровими особами, в яких домінували ознаки проліферації моноцитів/макрофагів.

Отже, пропонується спосіб оцінки цитогенетичного статусу при серцевій недостатності за каріологічними показниками моноцитів/макрофагів периферійної крові може бути використаний як достовірний маркер оцінки прогресування серцевої недостатності.

50

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб оцінки цитогенетичного статусу при серцевій недостатності за каріологічними показниками моноцитів/макрофагів, який включає в себе обчислення цитогенетичних показників
- 55 (частота клітин із мікроядрами; частота клітин із протрузіями; частота клітин із цитогенетичними пошкодженнями (мікроядра та протрузії сумарно); частота клітин із аномальним ядром); показників проліферації (частота клітин із двома ядрами; частота клітин із подвоєними ядрами; сумарна частота двох ядерних клітин); показників ранньої стадії деструкції ядра (апоптозу/некрозу): частота клітин із перинуклеарною вакуолею; частота клітин із конденсацією хроматину; частота клітин із вакуолізацією ядра; показників завершення деструкції ядра
- 60

- (частота клітин із каріорексисом; частота клітин із каріопікнозом; частота клітин із каріолізисом), який **відрізняється** тим, що дане каріологічне дослідження проводять на основних клітинах атерогенезу - моноцитах/макрофагах периферійної крові після виділення їх за методом Recalde Н. з наступним фарбуванням за методом Фольгена в модифікації, проведенням підрахунку
- 5 методом світлової мікроскопії частоти виявлення атипових ядер, перинуклеарної вакуолізації, вакуолізації, конденсації хроматину, здвоєних ядер, між'ядерних містків, каріорікнозу та каріолізису.

---

Комп'ютерна верстка М. Шамоніна

---

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