



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77426** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61B 5/00
G01N 33/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 10129	(72) Винахідник(и): Веропотвелян Микола Петрович (UA), Кодунов Леонід Олексійович (UA), Нестерчук Дарія Олександрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 23.08.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.02.2013	(73) Власник(и): ОБЛАСНИЙ КОМУНАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "МІЖОБЛАСНИЙ ЦЕНТР МЕДИЧНОЇ ГЕНЕТИКИ І ПРЕНАТАЛЬНОЇ ДІАГНОСТИКИ", пл. Визволення, 3-а, м. Кривий Ріг, Дніпропетровська обл., 50000 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.02.2013, Бюл.№ 3	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КАРІОТИПУ ПЛОДУ ПРИ СПОНТАННИХ АБОРТАХ ТА МЕРТВОНАРОДЖЕННІ

(57) Реферат:

Спосіб визначення каріотипу плоду при спонтанних абортах та мертвонародженні методом цитогенетичного дослідження цитотрофобласту, у якому як транспортувальну рідину використовують сольовий розчин Хенкса (HBSS).

UA 77426 U

Дана корисна модель належить до області медицини і може використовуватись для визначення каріотипу плоду при мертвонародженні.

Визначення каріотипу плоду при мертвонародженні, спонтанних абортах (СА), особливо при наявності вроджених вад розвитку (ВВР) має велике значення для уточнення діагнозу і визначення прогнозу в родині.

В структурі вродженої і спадкової патології особливе місце займають хромосомні аномалії (ХА). При СА, що складають біля 15% всіх вагітностей, частота ХА перевищує 50 %. Біля 25 % СА II триместру, в тому числі в період проведення масового ультразвукового (УЗ) пренатального скринінгу, етимологічно пов'язані з ХА. Частота ХА серед доношених живонароджених складає 0,5-07%, серед недоношених - 3% і 6% серед мертвонароджених, причому серед дітей з ВВР в цих групах ХА складає від 10-30% при ізольованих вадах і до 40-50 % при множинних вадах розвитку.

Тим не менш на практиці далеко не в усіх випадках СА та мертвонароджень, особливо без видимих зовнішніх вад розвитку плоду, проводиться каріотипування, у зв'язку з чим певна частина ХА залишається неідентифікованою або незареєстрованою.

В більшості випадків цитогенетичне дослідження мертвонароджених плодів, СА не вдається провести через невчасну доставку матеріалу, оскільки медико-генетичний центр може знаходитися на значній відстані від місця отримання матеріалу.

Існуючі методи постмортального каріотипування плодів матеріально витратні, потребують багато операцій і витрат часу до двох місяців. Для культивування фібробластів використовуються дерма шкіри, нирки та інші тканини з високим вмістом сполучної тканини. Часто після загибелі плоду ці елементи підлягають некрозу і мацерації, тому ефективність культивування некропсій не перевищує 50 % (Кузнецова Т.В., Логинова Ю.А., Чираєва О.Г., Пендина А.А., Баранов В.С. Длительное культивирование клеток для исследования хромосом. В кн.: Справочник. Медицинские лабораторные технологии (в 2-х томах), Т.2. / Под ред. А.И. Карпущенко. - Санкт-Петербург: Интермедиа, 1999. - С. 553-554).

Найбільш близьким аналогом до заявленого способу є спосіб посмертного каріотипування плаценти (Кузнецова Т.В., Логинова Ю.А., Чираєва О.Г., Пендина А.А., Баранов В.С. Приготовление препаратов хромосом из различных эмбриональных органов. В кн.: Справочник. Медицинские лабораторные технологии (в 2-х томах), Т. 2. / Под ред. А.И. Карпущенко. - Санкт-Петербург: Интермедиа, 1999. - С. 553-554)). Недоліком даного способу є те, що як транспортувальну рідину було використано 0,85 % хлориду натрію з низькою осмотичністю, що призводило до набряку плацентарних ворсин і сильного зниження мітотичної активності клітин цитотрофобласту.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу створення способу визначення каріотипу плоду при мертвонародженні, який дозволив би досягати високої вірогідності співпадіння цитогенетичного діагнозу і забезпечувати транспортування і зберігання протягом певного часу досліджуваного матеріалу для забезпечення можливості проведення досліджень матеріалу, доставленого до медико-генетичного центру з віддалених місць.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення каріотипу плоду при спонтанних абортах та мертвонародженні, що включає цитогенетичне дослідження цитотрофобласту, згідно з корисною моделлю як транспортувальну рідину використовують сольовий розчин Хенкса (HBSS).

У запропонованому способі цитогенетичного дослідження на матеріалі цитотрофобласту (зразки ворсин хоріону/плаценти), природна міотична активність яких дуже висока і не потребує культивування завдяки тому, що некротичні процеси у цитотрофобласті наступають найпізніше, ніж в інших тканинах. Цитотрофобласт може доставлятися окремо, а для довшого збереження міотичної активності запропоновано використовувати збалансований сольовий розчин Хенкса (HBSS), що містить в собі 9,8 г/л сухих компонентів, а саме (г/л): магнію сульфату (безводного) - 0,09767; калію хлориду - 0,450; калію фосфату однозаміщеного (безводного) - 0,060; натрію бікарбонату - 0,350; натрію хлориду - 8,00; натрію фосфату двозаміщеного (безводного) - 0,04788, а також D-глюкози - 1,00; феноловий червоний (натрій) - 0,011. Такий підбір компонентів забезпечує стабільність рН - $7,4 \pm 0,3$ та стійку осмотичність - $284 \pm 5\%$ мОсм/кг, а також енергетичну підтримку за рахунок D-глюкози. Оптимальним температурним режимом транспортування є температура 10-20 °С.

Відтворюваність методу було досліджено на двох вибірках:

А: Кривий Піг - 144 некропсій, де матеріал для дослідження доставляється від декількох годин до 3 діб.

Б: Шість прилеглих областей (Дніпропетровська, Запорізька, Кіровоградська, Черкаська, Миколаївська, Херсонська) - 127 некропсій, матеріал доставляється протягом доби.

Достовірно більш вдале каріотипування було здійснене в групі Б (\bar{X} , 95 % CI) 78,0 (70,4 - 84,7)% проти 66,0 (58,1 - 68,9)% у групі А.

У групі А було досліджено безвибірково посмертний матеріал плацент, що направляється з прозектури іноді з затримками до 2-3 діб.

5 Спостереження показали, що на другу добу каріотипування було успішним на 50 %, на третю - декілька відсотків.

Не вдалося одержати каріотип при перериванні вагітностей за допомогою граміцидину.

Отже в групі Б, не зважаючи на відстань до 200-300 км при тривалості доставки некропсії менше доби, одержано задовільні результати.

10 Метод адекватний і специфічний на 90 % за умови дотримання вимог:

1. термін транспортування до однієї доби;

2. передчасна довгострокова загибель плоду;

3. традиційний спосіб переривання вагітності;

15 4. використання осмотично-збалансованого середовища для транспортування або його невикористання.

5. забезпечення умов кімнатної температури.

Наші дослідження показали, що за умови виявлення при ультразвуковому дослідженні вад розвитку плоду, хромосомна патологія складає третину: (\bar{X} , 95% CI) 32,5% (26,1% - 39,2%) і достовірно не відрізняється від частот в різні строки вагітності.

20 Застосування прямого цитогенетичного методу обробки клітин цитотрофобласту дозволяє ставити 98 % вірогідність співпадіння цитогенетичного діагнозу, так як, обмежений плацентарний мозаїцизм складає 1,8 %. Мітотичні аберації, пов'язані з тривалим культивуванням клітин у незвичному штучному середовищі, відсутні.

25 Широке втілення способу цитогенетичного дослідження некропсії плаценти дозволить підвищити якість і повноцінність ультразвукового і паталогоанатомічного діагнозів на третину, а при деяких вадах розвитку до 70 %.

Це дасть змогу підвищити якість прогнозу ризику, збільшивши або зменшивши ризик народження потомства з вадами розвитку в десятки разів, диференціюючи мультифакторіальний тип наслідування з аутосомно-домінантним або рецесивним.

30 Впровадження запропонованого способу цитогенетичного (хромосомного) дослідження некропсії плаценти дозволить підвищити якість і повноцінність ультразвукового і паталогоанатомічного діагнозів на третину, а при деяких вадах розвитку до 70 %, що у свою чергу дозволить зменшити ризик народження дітей з вадами розвитку при медико-генетичному консультуванні батьків.

35

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення каріотипу плоду при спонтанних абортах та мертвонародженні методом цитогенетичного дослідження цитотрофобласту, який **відрізняється** тим, що для довшого збереження міотичної активності дослідного матеріалу як транспортувальна рідина використаний сольовий розчин Хенкса (HBSS).

40

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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