



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83411** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 02718	(72) Винахідник(и): Терещенко Валентина Павлівна (UA), Піщиков Валерій Анатолійович (UA), Дегтярьова Лариса Вікторівна (UA), Сегеда Тетяна Прокопівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 04.03.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.09.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2013, Бюл.№ 17	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА НАУКОВА УСТАНОВА "НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЦЕНТР ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ" ДЕРЖАВНОГО УПРАВЛІННЯ СПРАВАМИ, вул. Верхня, 5, м. Київ, 01014 (UA)
	(74) Представник: Черепов Леонід Володимирович, реєстр. №19

(54) СПОСІБ ПАТОМОРФОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИХ ЗМІН У ЛЮДСЬКОМУ ОРГАНІЗМІ

(57) Реферат:

Спосіб патоморфологічної діагностики радіаційно-індукованих змін у людському організмі, що включає вилучення при обов'язкових дослідженнях шматочків тканин з уражених хворобами органів, їх обробку морфологічними методами і вивчення під світловим та електронним мікроскопами. Шматочки тканин з уражених органів вилучають під час діагностичних процедур, хірургічних втручань або розтинів померлих осіб, проводять патоморфологічне дослідження шматочків тканин за допомогою тестової системи з діагностичних критеріїв радіаційно-індукованих змін у людському організмі, що включає аналіз топографічних особливостей захворювань, особливостей інфекцій, трансформації кінетики запальних процесів, особливостей дисрегенераційних змін, характерних порушень мікроциркуляції, особливостей порушень місцевої регуляції в тканинах, інтенсифікації інволюційних процесів, інтенсифікації фібрилогенезу, індукованості патологічних змін інкорпорованими радіонуклідами, і на основі патоморфологічного дослідження оцінюють наслідки впливу радіації у малих дозах низької інтенсивності, що не спричиняють променевої хвороби і накопичуються в організмі людини поступово.

UA 83411 U

Корисна модель належить до медицини і біології та може бути використана для діагностики патологічних процесів в органах і тканинах осіб, які зазнали впливу іонізуючої радіації у малих дозах низької інтенсивності, що не спричиняють променеву хворобу і накопичуються в організмі людини поступово.

5 Існуючі методичні підходи або не передбачають патоморфологічну складову діагностики системних порушень в організмі людини під впливом радіації, або дозволяють документувати патоморфологічні зміни від малих доз низької інтенсивності різних речовин і матеріалів щодо інших біологічних об'єктів.

10 Відомо спосіб системного аналізу віддалених радіобіологічних ефектів у людини синдромного характеру, що ґрунтують неспецифічну нейросоматичну патологію, згідно з яким виділяють системні радіаційні синдроми як підґрунтя формування неспецифічної (мультифакторіальної) соматичної патології, а саме синдроми: окислювальної деструкції, вегетативної дисфункції, хронічної втоми, інсулінорезистентності (метаболічний синдром), лептинорезистентності, міодиспластичний, остеопенічний, енергетичних дефіцитів як причини
15 розвитку остеопенії, остеопорозу, пришвидшеного (передчасного) старіння. [Коваленко А.Н., Коваленко В.В. Системные радиационные синдромы. - Николаев: Изд-во НГТУ им. Петра Могили, 2008. - 248 с].

Недоліками цього методичного підходу є його винятково теоретичні міркування без створення конкретної об'єднаної діагностичної системи, а також відсутність патоморфологічної складової, яка б підтверджувала чи заперечувала системний характер змін в людському організмі.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб оцінки біологічних ефектів речовин і матеріалів, згідно з яким у запліднених курячих яйцях з 3-денними ембріонами виконують отвори, через які за допомогою шприца у жовтковий мішок вводять спеціально підготовлену речовину (суспензію у біосумісному декстрані). Отвір герметизують, і яйця розміщують в інкубаторі та витримують в інкубаційних умовах. У різні наступні терміни ембріогенезу з 6 по 20 день вилучають зародки, що разом складають серію для динамічних спостережень, і надалі проводять оцінку за тканинними (органими) відповідностями на досліджувані речовини (матеріали), здійснюючи візуальний огляд, світлову та електронну мікроскопію. [UA № 49464, G01N33/02, 2010].

Вочевидь цей методичний підхід придатний і для визначення біологічних ефектів низькодозових радіаційних впливів завдяки використанню ізольованої багатокомпонентної живої системи.

Недоліками цього способу є винятково експериментальний характер зі зрозумілою обмеженістю екстраполяції експериментальних даних на набагато складніший, ніж задіяні біологічні об'єкти (курячі ембріони), людський організм.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити такий спосіб патоморфологічної діагностики радіаційно-індукованих змін у людському організмі, який би дозволив визначати системні порушення в органах і тканинах для оптимізації діагностичної, лікувальної, профілактичної й експертної тактик.

Поставлену задачу вирішують тим, що в способі патоморфологічної діагностики радіаційно-індукованих змін у людському організмі, який включає вилучення при обов'язкових дослідженнях шматочків тканин з уражених хворобами органів, їх обробку морфологічними методами і вивчення під світловим та електронним мікроскопами, згідно з корисною моделлю, шматочки тканин з уражених органів вилучають під час діагностичних процедур, хірургічних втручань або розтинів померлих осіб, проводять патоморфологічне дослідження шматочків тканин за допомогою тестової системи з діагностичних критеріїв радіаційно-індукованих змін у людському організмі, що включає аналіз топографічних особливостей захворювань, особливостей інфекцій, трансформації кінетики запальних процесів, особливостей дисрегенераційних змін, характерних порушень мікроциркуляції, особливостей порушень місцевої регуляції в тканинах, інтенсифікації інволюційних процесів, інтенсифікації фібрилогенезу, індукованості патологічних змін інкорпорованими радіонуклідами, і на основі патоморфологічного дослідження оцінюють наслідки впливу радіації у малих дозах низької інтенсивності, що не спричиняють променеву хворобу і накопичуються в організмі людини поступово.

Спосіб, що заявляється, дозволяє діагностувати патоморфологічні зміни, спричинені малими дозами низької інтенсивності іонізуючої радіації (радіаційно-індуковані) в людському організмі безпосередньо, а не шляхом екстраполяції отриманих в експерименті на тваринах чи інших біологічних об'єктах даних.

Спосіб забезпечує системний підхід до діагностики, лікування, профілактики й експертизи радіаційно-індукованих змін в організмі людини, сприяючи оптимізації таких заходів; надає можливість комплексної оцінки відповіді на низькодозові радіаційні впливи великої кількості клітинних популяцій і структурно-функціональних компонентів людського організму;

Спосіб придатний для використання як при прижиттєвій діагностиці (на біопсійному та операційному матеріалах), так і для аутопсійних досліджень у патологоанатомічній та судово-медичній практиках, а також сприяє розвитку наукових досліджень радіаційно-індукованих процесів у живих організмах.

Спосіб, що заявляється, базується на визначенні найвагомішого радіобіологічного наслідку великомасштабної радіаційної аварії (на прикладі Чорнобильської катастрофи) - патоморфозу (трансформованого перебігу) захворювань у когорт постраждалих, який почали документувати вже невдовзі після аварії як зміни клінічної симптоматики, зумовлені трансформацією структурних показників.

На користь системного характеру уражень свідчили поліморбідність (присутність кількох хвороб в одного пацієнта), поліорганність порушень й клінічні ознаки пришвидшеного старіння. Надалі з'ясувалось, що так само системно виглядають патоморфологічні зміни. Все це позиціонувало індукований (бо була конкретна точка відліку і характерна подія) патоморфоз захворювань в осіб, які зазнали впливу чинників Чорнобильської катастрофи, як системний синдром, де симптоми мають спільні етіологію і патогенез.

Результати клініко-дозиметричної оцінки залучених до дослідження когорт постраждалих від радіаційної аварії, а також періодичне виявлення в їх тканинах шляхом гістоавторадіографії інкорпорованих радіонуклідів свідчили на користь того, що до визначення "системний синдром" можна додати ще й термін "радіаційний". Документовані дози поглинутої радіації для пацієнтів - учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС віком ($40 \pm 0,6$) років на момент обстеження складали ($22,4 \pm 1,4$) сГр, а для мешканців територій, забруднених радіонуклідами, вікової групи ($40,4 \pm 1,4$) років активність γ -компоненти інкорпорованих ^{134}Cs та ^{137}Cs за показниками лічильника випромінювання людини сягала ($21252,8 \pm 357,4$) Бк. При цьому щодо першої групи вплив іонізуючої радіації був епізодичним (переважно зовнішнє опромінення та інгаляційне надходження радіонуклідів), а стосовно другої - перманентним (переважно аліментарне інкорпорування радіонуклідів з їх інгаляційним надходженням для окремих категорій).

Саме на цих ключових засадах розроблений спосіб патоморфологічної діагностики радіаційно-індукованих змін в людському організмі.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Отримані під час прижиттєвих діагностичних процедур шматочки тканин (біоптати), видаленні впродовж хірургічних втручань фрагменти органів/тканин (операційний матеріал) або шматочки органів/тканин, забір яких обов'язковий під час розтинів померлих осіб (автопсій), обробляють згідно із стандартами патоморфологічної діагностики. Отримані морфологічні дані аналізують за допомогою розробленої системи діагностичних критеріїв радіаційно-індукованих змін в людському організмі (таблиця) та діагностують такі зміни.

Таблиця

Тестова система з діагностичних критеріїв радіаційно-індукованих змін у людському організмі

Свідчення трансформованості патологічних процесів	Патоморфологічні ознаки
1	2
Топографічні особливості захворювань	- більше, ніж у пересічних пацієнтів, розповсюдження по досліджуваному органу; - відмінні від відомих поєднання локалізації патологічних процесів
Особливості інфекцій	- глибока інвазія мікроорганізмів у слизові оболонки (до власної пластинки); - свідчення реалізації патогенної дії опортуністичної мікрофлори із-за порушень імунної та запальної відповіді в організмі (обидві позиції подібні до морфологічної характеристики ВІЛ/СНІД у пересічних хворих)
Трансформація кінетики запальних процесів	- гіпореактивність; - переважання продуктивного компонента над ексудативним; - гіперплазія асоційованих лімфоїдних тканин; - депопуляція (зазвичай - часткова) окремих клітин, які продукують медіатори запалення; - дефіцит запальної відповіді (першочергово - ексудації) через патологію мікросудин
Особливості дисрегенераційних змін (порушень регенерації)	- гіперплазія камбіальних елементів; - ектопія окремих структурних компонентів; - трансформація фенотипу зрілих клітин, що ґрунтується виразною патологією камбіальних
Характерні порушення мікроциркуляції	- патологія ендотелію судин, типова для постраждалих (альтерація зміни фенотипу); - дистрофічні зміни перицитів; - морфологічні відповідності глибоких порушень мікрогемодинаміки, які прогресують з часом
Особливості порушень місцевої регуляції в тканинах	- дистрофія і катаплазія апудоцитів; - часткова депопуляція та порушення дегрануляції лаброцитів
Інтенсифікація інволюційних процесів	- збільшення, порівняно з віковими показниками, кількості клітин з ознаками постаріння; - типова для пришвидшеного старіння патологія базальних мембран судин й ендотеліоцитів, зокрема форсоване вичерпування лімітів Хейфліка (меж відтворення, потенціалу популяції) щодо ендотеліальних клітин; - розповсюдженість гіалінозу, еластозу, амілоїдозу; - поширеність мета пластичних процесів
Інтенсифікація фібрилогенезу	- розповсюджені фіброз і склероз
Індукованість патологічних змін інкорпорованими радіонуклідами	- гістоавтографи

Корисна модель пояснюється прикладами.

Приклад 1

5 У пацієнта, учасника ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, віком 39 років, на момент обстеження (документована доза поглинутої радіації 23,0 сГр) з клінічним діагнозом хронічного риніту при дослідженні операційного матеріалу слизової оболонки носа виявлено поєднання базальноклітинної гіперплазії з плоскоклітинною метаплазією вздовж СО.

10 Аби яких даних про інфекційні процеси не віднайдено. При аналізі кінетики запального процесу документовано його гіпореактивність (слабка запальноклітинна інфільтрація поверхневих відділів СО; у складі інфільтратів лімфоцити, поодинокі макрофаги, а також

поодинокі плазмоцити без ознак активного імуногенезу, тобто піроніпофільної цитоплазми). Зафіксована суттєва депопуляція лаброцитів (синоніми: тучні, опасисті клітини). Патологія мікросудин (їх звужені просвіти) була однією з причин дефіциту запальної відповіді (гіпореактивності). Про переважання продуктивного компонента над ексудативним у кінетиці запального процесу свідчили невиразний набряк, мінімально виражена гіперемія, інтенсивний фібрилогенез. При хронічних ринітах завжди присутні порушення регенерації, проте у цього пацієнта вони були надто виразними. Так, гіперплазія базальних (камбіальних) клітин поєднувалась із плоскоклітинною метаплазією і сосочкоподібною деформацією епітеліальної базальної мембрани. Зміни фенотипу зрілих епітеліоцитів і неспроможність секреторних залоз спричинялись виявленою патологією камбіальних клітин (наявні мієліноїди, набубнявілі, "балонної" форми мітохондрії з ознаками кристолізу, присутність ліпідних включень). Була виявлена клітина - химера (мікст-клітина), яка сполучала риси шипуватої клітини плоского епітелію і війчастої - миготливого. На поверхні миготливого епітелію зменшена кількість війок, а в наявних спостерігались наступні дефекти: патологія мембран, злиття в групи з утворенням гігантських війок, редукція війок, мікротубулярні розлади. Документовано нетипові вкорочені й розгалужені форми ворсинок, порушення впорядкованого розташування базальних тілець, поява слизових клітин з гетерогенними за щільністю гранулами. Порушення мікроциркуляції в СО носа теж мали особливості порівняно з даними щодо пересічних пацієнтів. Ендотелію були притаманні, крім люмінальних, базальні вирости і складки; виразна звивистість каріотеки, наявність мієліноїдів та ліпідних включень, індукція утворення тілець Вейбеля-Паладе. Перицити зазнали вакуолізації, містили ліпідні включення і вочевидь були задіяні в інтенсивному формуванні базальних мембран судин. Документоване свідчення перепрограмування гладком'язової клітини судини зі скоротливого фенотипу на синтетичний. Про порушення мікрогемодинаміки в СО носа свідчили наявні в просвіті судин ліпідні краплі, зруйновані форменні елементи крові, мієліноїди. Особливості порушень місцевої регуляції в тканинах СО носа документували виражена депопуляція та дистрофія апудоцитів і суттєва депопуляція опасистих клітин. Про інтенсифікацію інволюційних процесів у СО носа цього хворого можна було судити через багаточисельність базальних мембран мікросудин, ліпідні включення в ендотеліоцитах, а також виражені еластоз, гіаліноз, амілоїдоз судинно-стромальних компонентів. Інтенсифікація фібрилогенезу реалізувалась розповсюдженими склеротичними процесами.

Не дивлячись на відсутність гістоавтографів у морфологічному матеріалі, за сукупністю ознак було зроблено висновок про те, що патоморфологічні зміни у СО носа цього хворого є радіаційно-індукованими.

Через рік виникла необхідність у проведенні даному пацієнту бронхофіброскопії у зв'язку з тяжким перебігом хронічної обструктивної хвороби легень (пацієнтам - ліквідаторам властива не лише поєднана патологія повітропровідних шляхів, а й загалом поліорганна). При патоморфологічній діагностиці на матеріалі бронхобіоптата виявлені принципово однорідні, односкеровані з порушеннями у СО носа, зміни в СО бронхів, які також визначено нами як радіаційно-індуковані.

Приклад 2

У пацієнтки - мешканки території, забрудненої радіонуклідами, віком 40 років, на момент обстеження (в історії хвороби немає даних дослідження інкорпорованих радіонуклідів за показниками лічильника випромінювання людини) з клінічним діагнозом хронічного гастриту була проведена гастрофібродуоденоскопія з взяттям гостро - і дуоденобіоптатів. При клініко-патоморфологічному дослідженні згідно з розробленими критеріями діагностовано паралельне ураження шлунка і дванадцятипалої кишки (ДПК): хронічний гастрит, хронічний дуоденіт, рубцеві зміни ДПК, які можуть свідчити про мало - (без-) симптомний перебіг пептичної виразки дванадцятипалої кишки. Щодо патології шлунка, то вона мала вигляд пангастриту (ураження корпусної частини сукупно з антральною) з колонізацією СО пілоричним гелікобактером (*H. pylori*) з його глибокою інвазією. Доказами змін кінетики запального процесу були:

- переважання продуктивного компонента над ексудативним, тобто клітинна інфільтрація СО виражена більше за набряк та гіперемію;

- порушення медіаторного регулювання запалення і свідчення гіпореактивності: неадекватність лейкодіapedезу інфекційному заселенню СО (часто помірна активність запалення при високому ступені колонізації СО шлунка); відсутність вираженої інфільтрації нейтрофільними гранулоцитами епітеліального шару при значній адгезії до нього *H. pylori*; якісні зміни нейтрофільних гранулоцитів (невеликий вміст PAS - позитивних (реактивно спроможних) гранулоцитів в інфільтраті, імовірний дефіцит мієлопероксидази; зміни співвідношення клітин

інфільтрату власної пластинки СО (порівняно з нозологічно типовою); редукція фібропластичної реакції, спотворений колагеногенез;

- стадійні зміни місцевого імунного гомеостазу - типові для терміну досліджень щодо цієї пацієнтки (після 1994 р.), а саме: превалювання дифузної інфільтрації імунотоксичними клітинами власної пластинки СО та її поєднання з утворенням лімфатичних вузликів;

- характерні зміни мукозосоціоїзованої лімфоїдної тканини: редукція кількості міжепітеліальних лімфоцитів, збільшення лімфатичних вузлів, зниження вмісту зрілих плазматичних клітин в інфільтраті. При цьому збільшене представництво клітин, які містили агрегати імунoglobulinів, засвідчували за давності запального процесу у цієї хворої. Дослідження особливостей дисрегуляторних змін констатувало гіперплазію камбіальних елементів (поглиблення ямок СО шлунка, подовження генеративної зони), збільшення проліферативної активності епітелію переважно в корпусній частині, наявність патологічних мітозів, пролонгацію існування епітеліоцитів (затримка експлітації, недостатність апоптозу), перебудову висилок залозистих структур (зменшення коефіцієнта співвідношення клітин-секреторів пепсиногену та соляної кислоти у власних залозах шлунка < 1,9, зменшення кількості апудоцитів у власних залозах, збільшення представництва парієнтальних клітин у пілоричних залозах); зміни (кількісні та якісні) слизової секреції, перебудова секреторного процесу в мукоцитах шлунка (деталізовані за допомогою лектинової гістохімії). Про трансформацію фенотипу зрілих клітин цієї хворої свідчила наявність кишкової метаплазії II типу. Характерні порушення мікроциркуляції включали морфологічні прояви порушень мікрогемодинаміки (агрегація еритроцитів і виявлений тромбоз мікросудин), патологію структурних компонентів стінок мікросудин (ендотелію, базальної мембрани, серицитів - як у прикладі 1, збільшення радіусів дифузії мікрогемосудин. При вивченні згідно з розробленими критеріями (див. таблицю) особливостей порушень місцевої регуляції в тканинах виявлені характерні зміни апудоцитів (зменшення представництва, збідніння цитоплазми на секреторні гранули, дистрофічні зміни - численні мієліноїди та вакуолі), а також свідчення про особливості окремих клітинних ефекторів - перерозподіл лектинів поверхні епітеліоцитів. Переконаливими були дані на користь інтенсифікації інволюційних процесів у СО шлунка. Зокрема, документована недостатність гуморального імунітету (зменшення кількості плазматичних клітин та їх незрілості, водночас гіперплазія плазматичних клітин із тільцями Русселя), периваскулярний склероз, порушення регенерації з атрофією епітеліальних структур, інволюційні зміни "молодих" епітеліоцитів. До всього цього долучалась інтенсифікація фібрилогенезу (розповсюдженні процеси фіброзу СО шлунка). За допомогою контактної гістоавторадіографії із застосуванням фоточутливих емульсій було виявлено треки від α - β - випромінювачів над структурами СО шлунка. За сукупністю патоморфологічних ознак зроблено висновок про наявність у пацієнтки радіаційно-індукованих змін СО шлунка.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб патоморфологічної діагностики радіаційно-індукованих змін у людському організмі, що включає вилучення при обов'язкових дослідженнях шматочків тканин з уражених хворобами органів, їх обробку морфологічними методами і вивчення під світловим та електронним мікроскопами, який **відрізняється** тим, що шматочки тканин з уражених органів вилучають під час діагностичних процедур, хірургічних втручань або розтинів померлих осіб, проводять патоморфологічне дослідження шматочків тканин за допомогою тестової системи з діагностичних критеріїв радіаційно-індукованих змін у людському організмі, що включає аналіз топографічних особливостей захворювань, особливостей інфекцій, трансформації кінетики запальних процесів, особливостей дисрегуляторних змін, характерних порушень мікроциркуляції, особливостей порушень місцевої регуляції в тканинах, інтенсифікації інволюційних процесів, інтенсифікації фібрилогенезу, індукованості патологічних змін інкорпорованими радіонуклідами, і на основі патоморфологічного дослідження оцінюють наслідки впливу радіації у малих дозах низької інтенсивності, що не спричиняють променевої хвороби і накопичуються в організмі людини поступово.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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