



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113103** (13) **C2**
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2015 03417</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.04.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 12.12.2016</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 27.07.2015, Бюл.№ 14</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.12.2016, Бюл.№ 23</p>	<p>(72) Винахідник(и): Муквіч Олена Миколаївна (UA), Коваль Олександра Павлівна (UA), Мокрик Ігор Юрійович (UA), Дубова Ганна Валеріївна (UA), Шведка Олена Вікторівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ПЕДІАТРІЇ, АКУШЕРСТВА ТА ГІНЕКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. П. Майбороди, 8, м. Київ, 04050 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 51096 U, 25.06.2010 UA 76421 U, 10.01.2013 Тихонов М.Н. Металлоаллергены в общей проблеме безопасности жизнедеятельности человека / М.Н. Тихонов, В.Н. Цыган [Интернет-публикация] ULR: http://www.proatom.ru/modules.php?name=News&file=article&sid=2220 (Знайдено 12.02.2016) Нагорная Н.В. Значение спектрального анализа волос в диагностике нарушенной элементной гомеостаза и в оценке эффективности профилактических и лечебно-реабилитационных мероприятий // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2010. - №2 (20). – С. 40-46 Krajewski P. Macro-, micro- and trace elements concentrations in mother's and newborn's hair and its impact on pregnancy outcome: a review / P. Krajewski, A. Chudzik, M. Pokrzywnicka // Archives of Perinatal Medicine. - 2009. - №15(2). – p. 67—71. Гнатейко О.З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З. Гнатейко, Н.С. Лук'яненко// Здоров'я дитини. – 2007. - №6(9) [Интернет-публикация] ULR: http://www.mif-ua.com/archive/article_print/3639 (Знайдено 16.02.2016) JP 2011047715 A, 10.03.2011 (реферат) Gundacker C, S. Frohlich et all. Perinatal lead and mercury exposure in Austria // Sci Total Environ.-2010. - Vol. 408(23). - P. 5744-5749.</p>
---	--

(54) СПОСІБ НЕПРЯМОЇ ОЦІНКИ ПАТОЛОГІЧНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ТОКСИЧНИХ МЕТАЛІВ ТА МЕТАЛОЇДІВ В ТКАНИНАХ СЕРЦЯ ТА МАГІСТРАЛЬНИХ СУДИНАХ У ДІТЕЙ

(57) Реферат:

Винахід належить до способу непрямой оцінки патологічної концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах серця та магістральних судинах у дітей, причому визначають наявність та концентрацію зазначених токсичних субстанцій у волоссі та сечі, причому патологічна концентрація барію (більше 2,1 мг/дм), алюмінію (більше 23 мг/дм), літію (більше 0,04 мг/дм), нікелю (більше 0,55 мг/дм), стронцію (більше 0,9 мг/дм), миш'яку (більше 0,3 мг/дм), титану (більше 1,2 мг/дм) у волоссі та патологічна концентрація літію (більше 0,01 мг/мл), нікелю (більше 1,8 мг/мл) та титану (більше 1,6 мг/мл) в сечі свідчать про те, що в тканинах кардіоваскулярної системи вміст цих токсичних металів та металоїдів є вищим за допустимий.

UA 113103 C2

Винахід належить до галузі медицини, зокрема педіатрії, дитячої кардіології та токсикології і може бути використаний для оцінки наявності та концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах серця та магістральних судин у дітей.

Актуальність мальформацій кардіоваскулярної системи обумовлена значною поширеністю. При цьому останні десятиріччя характеризуються постійним зростанням частоти вад серця і збільшенням кількості складних комбінованих варіантів [1, 2]. Наявність вродженої вади серця може не тільки стати причиною смерті плоду, новонародженого, хворого будь-якого віку, ранньої інвалідизації дітей, а й фактором зниження якості життя всіх членів сім'ї. Лікування та хірургічна корекція вади вимагає тривалого та дорогого медичного забезпечення, що фінансується не тільки родиною, але й державою.

В теперішній час кардіоваскулярні мальформації визначають як мультифакторіальне захворювання [3, 4, 5]. Поряд з наявними теоріями генетичних порушень, інфекційних причин, захворювань матері та інших факторів, що впливають на появу вроджених аномалій, згідно з експериментальними даними ряду авторів (Thakur J.S., 2010; Samuel G., 2008; Дж. Метьюдж-Елленхорн, 2003; Залавіної С. В., 2009; Косаревої В.П., 2004; Наумової Л.І., 2001; Деревоедова А.А., 2001; Агаджаняна Н.А., 2001; Goyer R.A., 1995; Underwood E.J., 1977) токсичні субстанції, в тому числі барій, свинець, миш'як, ртуть, титан, стронцій, кадмій, нікель, літій та ін., здатні проникати через плацентарний бар'єр тератогенно впливати на плід, порушуючи кардіогенез шляхом уповільнення темпів диференціювання кардіоміоцитів, зміни міофібрилогенеза та ін.

Оцінка наявності хімічних елементів в організмі людини проводиться шляхом визначення їх концентрацій в різних біосубстратах - крові, волоссі, нігтях, сліні, сечі, грудному молоці, зубному дентині та в ін. [6, 7, 8].

Так, наприклад, в патенті 2082975 RU "Способ оценки уровня ионов металлов в сердце и сосудистой стенке крыс" виявлена висока кореляція між рівнями іонів натрію, калію, кальцію, магнію в тканині серця і в плазмі крові щурів. Однак ця робота виконана на експериментальних тваринах та включає визначення вмісту тільки 4 хімічних елементів, які вважають життєво необхідними (есенціальними). Доведено також, що аналіз вмісту хімічних елементів в сироватці крові відображає короткотривалий біохімічний стан, наявний в момент проведення аналізу [8] та не завжди достовірно відображає наявність токсичних металів в організмі.

Згідно з даними О. В. Скального [9], більш достовірним відображенням вмісту хімічних металів є дослідження їх концентрації в твердих тканинах організму - волоссі, нігтях та кістках. Це демонструє довготривалий біохімічний стан, що відображає наявність хімічних елементів протягом останніх місяців. При цьому найбільш легкодоступним біологічним матеріалом є волосся, збір його простий, безболісний та, що особливо важливо в педіатричній практиці, неінвазивний. Матеріал може довго зберігатися і бути придатним при масових скринінгових обстеженнях [10, 11].

С. Gundacker et al. [12] провели порівняльний аналіз концентрації ртуті та свинцю в крові і волоссі матері, плаценті, пуповинній крові, меконії, грудному молоці 53 пар "мати - дитина" та довели наявність кореляційної залежності між рівнем цих токсичних речовин в тканинах матері та дитини. За думкою авторів це обумовлено здатністю вищезазначених металів проникати через плацентарний бар'єр. Цей спосіб інформативний для оцінки плоду-материнського співвідношення вмісту хімічних елементів та може бути корисним в поясненнях перинатальної патології.

Враховуючи вищезазначене представляє науковий інтерес визначення залежності між вмістом токсичних металів у волоссі та тканинах серця та магістральних судин. Найбільш близьким за технічною суттю є "Способ определения макро- и микроэлементного баланса в организме" пат. 2129426 RU. Спосіб здійснюється наступним чином. В волоссі та нігтях визначають вміст макро- і мікроелементів Cu, Fe, Mg, Mn, P, Zn, Cd, Co, Mo, Pb, Rb, Ca, Se, Cr та їх кореляційні зв'язки при зміні щодо норми, вмісту макро- і мікроелементів, порушення кореляційних зв'язків, що відображають іонний баланс в організмі, виявляють кореляцію з різними захворюваннями. Так, при діагностиці захворювань щитовидної залози спостерігається зміна щодо норми у вмісті Cu, Fe, Mg, Mn, P, Zn, Cd, Co, Mo, і їх кореляційних зв'язків. При цьому при гіпофункції щитовидної залози виявлені достовірні відмінності ($P < 0,05$) у вмісті Cd, Mn і Fe в порівнянні з нормою, зниження кількості Cd і одночасне кореляційних зв'язків, поява позитивної кореляційної зв'язку Mn з Fe ($r=0,69$) підвищення вмісту P і поява негативної кореляційної зв'язку з Co ($r=0,76$), зниження вмісту Mg, Mn, Mo. При гіпофункції щитовидної залози виявлено наявність високого негативного коефіцієнта кореляції ($r=0,90$) між Zn і Fe, збільшення вмісту Mg, P і Mo. При нормальному функціональному стані щитовидної залози виявлено наявність негативної кореляційної зв'язку Cd з P ($r=0,64$) і позитивною з Zn ($r=0,79$), позитивної кореляційної зв'язку Mn з Cu ($r=0,76$), Mg ($r=0,67$) і негативною з P ($r=0,66$). При

захворюваннях сполучної тканини аутоімунного характеру спостерігається зниження міді, цинку, кальцію, селену. При сечокам'яній хворобі - достовірне підвищення кобальту, магнію і фосфору. При симпатоадреналових кризах, поєднаних з нейтроендокринно-обмінною формою гіпоталамічного синдрому спостерігається достовірне підвищення калію, магнію, зниження марганцю. При алергодерматозах, що поєднуються з синдромом мальабсорбції, виявлено різке зниження цинку, достовірне підвищення свинцю і полімінеральних дефіцитів. При остеопорозах різної етіології виявлено достовірне підвищення стронцію, зниження магнію, кальцію, марганцю, цинку і міді. При захворюваннях серцево-судинної системи виявлено достовірне зниження калію, магнію хрому і міді. При бронхіальній астмі виявлено достовірне зниження цинку, міді і магнію. При порушенні вуглецевого обміну виявлено зниження хрому, калію, марганцю і цинку.

Зазначений спосіб високоінформативний, дозволяє прогнозувати розвиток різної патології за вмістом хімічних елементів в волоссі та нігтях. Проте він побічно відображає баланс речовин в тканинах, органах та системах організму людини та не дозволяє оцінити їх концентрацію.

В основу запропонованого способу оцінки патологічної концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах серця та магістральних судин у дітей поставлена задача визначення їх наявності та концентрації як безпосередньо в тканинах кардіоваскулярної системи, так і в інших біосубстратах організму з подальшим кореляційним аналізом, що надасть можливість, з найбільшою серед існуючих способів точністю, винайти доступний, найбільш інформативний та найменш інвазивний біосубстрат.

Поставлена задача визначення способу патологічної концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах серця та магістральних судин у дітей, згідно з винаходом, здійснювалась шляхом визначення наявності та концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах кардіоваскулярної системи та інших біосубстратах організму (волосся, нирка, скелетний м'яз та ін.) з подальшим проведенням кореляційного аналізу, причому:

патологічна концентрація барію (більше 2,1 мг/дм), алюмінію (більше 23 мг/дм), літію (більше 0,04 мг/дм), нікелю (більше 0,55 мг/дм), стронцію (більше 0,9 мг/дм), миш'яку (більше 0,3 мг/дм), титану (більше 1,2 мг/дм) в волоссі свідчить, що в тканинах кардіоваскулярної системи вміст цих токсичних металів та металоїдів є вищим за допустимий;

патологічна концентрація літію (більше 0,01 мг/мл), нікелю (більше 1,8 мг/мл), та титану (більше 1,6 мг/мл) в сечі свідчить, що в тканинах кардіоваскулярної системи вміст цих токсичних металів та металоїдів є вищим за допустимий.

Причинно-наслідковий зв'язок заявлених маркерних показників з позитивним результатом, що досягається, полягає в наступному: токсичні речовини потрапляють в організм плода через плацентарний бар'єр та дитини з навколишнього середовища (водопровідна вода, запилене повітря, продукти харчування, автомобільні викиди, побутова хімія та ін.) і накопичуються в різних органах та системах, що насамперед залежить від шляху потрапляння (інгальційний, пероральний, поверхневий та ін.) та тропності хімічних елементів до певних тканин. Так, літій, нікель та титан переважно накопичуються в нирках та абсорбуються через сечовивідну систему, що й обумовлює отриману пряму сильну кореляційну залежність між вмістом цих металів в нирці та тканинах кардіоваскулярної системи. Доведена здатність волосся до накопичення та виведення токсичних речовин й пояснює сильний кореляційний зв'язок між вмістом барію, алюмінію, літію, нікелю, стронцію, миш'яку та титану в тканинах серця та магістральних судин і зазначеним біосубстратом.

Спосіб реалізується шляхом проведення дослідження наявності та концентрації 22 токсичних речовин (алюміній, кадмій, свинець, барій, талій, ртуть, вісмут, берилій, миш'як, нікель, сурма, олово, стронцій, титан, вольфрам, цирконій, бор, срібло, кобальт, літій, кремній, ванадій) методами атомно-емісійної спектроскопії в індуктивно-зв'язаній плазмі та атомно-абсорбційній спектроскопії з електротермічною атомізацією на мас-спектроскопії "ICPE-9000 Plasma Atomic Emission Spectrometry" ("Shimadzu", Японія). Матеріалами дослідження стали 107 біоптатів тканин серця та магістральних судин (23 з аорти, 20 з місця коарктації аорти, 13 зі стінки передсердя, 19 з міокарда, 9 з міжпередсердної перетинки, 6 з міжшлуночкової перетинки, 7 з перикарду, 3 з клапана легеневої артерії, 2 зі стінки легеневої артерії, 1 з артеріальної протоки, 1 з мітрального клапана, 1 з клапана легеневої артерії, 1 з трикуспідального клапана), отриманих у 44 пацієнтів з вродженими вадами серця та магістральних судин інтраопераційно під час хірургічної корекції вади; у 9 хворих, які померли до оперативного втручання або після нього, та 2 плодів після термінування вагітності на 21 тижні гестації при патологоанатомічному обстеженні. Поряд з вищезазначеним наявність та концентрацію токсичних металів визначали в волоссі 23 дітей, в 31 біоптаті зі скелетного м'яза, 9 - з нирок, 5 - з тимусу, 6 - зі шкіри, 7 - з підшкірно-жирової клітковини, 4 - з головного мозку.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми MedStat з використанням кореляційного методу з критерієм Спірмена.

Спосіб діагностики демонструється наступними прикладами: Приклад 1. Хвора М, 2 міс., була прийнята в клініку для хірургічної корекції вродженої вади серця - коарктація аорти с гіпоплазією дуги аорти, двостулковий аортальний клапан, відкрита артеріальна протока, рестриктивний перимембранозний дефект міжшлуночкової перетинки. Дівчинці впродовж оперативного втручання був проведений забір біоптата з місця коарктації аорти, після операції - волосся. В зазначених біосубстратах було проведено дослідження наявності та концентрації 22 металів та металоїдів методами атомно-емісійної спектрометрії в індуктивно-зв'язаній плазмі та атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією. В обох досліджених біосубстратах обстеженої дитини було встановлено наявність токсичних металів стронцію та алюмінію з наступними концентраціями, в стінці аорти (0,205 мг/кг та 4,07 мг/кг відповідно), в волоссі (5,05 мг/дм та 14,0 мг/дм відповідно). При проведенні кореляційного аналізу документована пряма сильна залежність ($r = 0,76$) між вмістом стронцію та алюмінію в тканині магістральної судини та волоссі.

Приклад 2. У плода К, 21 тижня гестації, з дефектом міжшлуночкової перетинки та аномалією розвитку головного мозку, що помер внаслідок термінування вагітності, впродовж патологоанатомічного дослідження був проведений забір наступних біоптатів: з міокарда лівого шлуночка, з міжшлуночкової перетинки, зі стінки аорти, з нирки. В зазначених біосубстратах було проведено дослідження наявності та концентрації 22 металів та металоїдів методами атомно-емісійної спектрометрії в індуктивно-зв'язаній плазмі та атомно-абсорбційній спектрометрії з електротермічною атомізацією. В досліджених біосубстратах обстеженого була встановлена наявність токсичних металів літію та нікелю з наступними концентраціями: в міокарді лівого шлуночка (0,043 мг/кг та 0,8 мг/кг відповідно), в міжшлуночкової перетинці (0,037 мг/кг та 1,29 мг/кг відповідно), в стінці аорти (0,061 мг/кг та 1,02 мг/кг відповідно), в нирці (0,017 мг/кг та 0,492 відповідно). Результати кореляційного аналізу виявили пряму сильну залежність ($r = 0,82$) між вмістом літію та нікелю в тканинах кардіоваскулярної системи та нирці.

Як видно з наведених прикладів, спосіб оцінки патологічної концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах серця та магістральних судин дітей на основі порівняльного кореляційного аналізу з іншими біосубстратами організму, що пропонується, дозволяє використовувати волосся та сечу, як біологічний матеріал, що відображають наявність патологічної концентрації токсичних речовин в тканинах кардіоваскулярної системи. Даний спосіб неінвазивний, доступний в практичній медицині, що дозволяє рекомендувати його для обстеження дітей з вадами серця та іншими захворюваннями кардіоваскулярної системи та, ґрунтуючись на дослідженнях Krajewski P. et al. [13], які довели що рівень макро- і мікроелементів в волоссі матері може бути ознакою диселементозу плоду, та С. Gundacker et al., що встановили наявність кореляційної залежності між рівнем токсичних речовин в тканинах матері (плацента, волосся) та дитини (пуповинна кров, меконій), для оцінки плодово-материнського співвідношення вмісту хімічних елементів, що може бути корисним в профілактиці порушень кардіогенезу.

Таким чином, вищевикладені дані свідчать про можливість застосування даного способу з найбільшою серед існуючих способів об'єктивністю, що може використовуватися для клінічного та амбулаторного обстеження з метою дослідження патологічної концентрації барію, алюмінію, літію, нікелю, стронцію, миш'яку, титану в тканинах кардіоваскулярної системи шляхом визначення у волоссі та сечі дітей, майбутніх батьків при плануванні вагітності.

Джерела інформації:

1. Database and the assessment of complications associated with the treatment of patients of congenital cardiac diseases. *Cardiology in the Young*. 2008; 18, supplement 2: 3-9.
2. Linde D., Konings E. et al. Birth prevalence of congenital heart disease worldwide. A systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 58:2241-2247.
3. Беспалова С. Д. Аналіз причин виникнення вродженої вади у плоду. *Дитячі хвороби серця і судин*. 2007; 3: 34-37.
4. Гнатейко О. З., Лук'яненко Н. С. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища. *Здоров'я дитини*. 2007; 6 (9): 82-87.
5. Лук'янова ІС, Сопко Я.О. Вроджені вади серця у плода: основні аспекти етіології та фактори ризику. *Перинатологія та педіатрія*. 2004; 2: 47-50.
6. Агаджанян Н. А., Скальный А. В. Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека. - М.:, 2001.-83 с.
7. Нагорная Н.В., Дубовая А.В., Гончаренко И.П., Морозова И.А. Значение спектрального анализа волос в диагностике нарушенной элементного гомеостаза и в оценке эффективности

профилактических и лечебно-реабилитационных мероприятий//Актуальные проблемы транспортной медицины.-2010г. - №2(20).-40-46.

8. Скальный А. В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение): Практическое руководство для врачей и студентов медицинских вузов// -М: 2001.-96 с.

5 9. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: 2004-215 с.

10 10. Глушкова Е.М., Матвиенко А.Г. Определение некоторых тяжёлых металлов в волосах жителей донецкого региона методом атомно-абсорбционной спектрометрии. // Сборник научных статей Вип. XX. Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием "Достижения в области аналитической, судебно-медицинской, клинической токсикологии и наркологии" - Запоріжжя: ЗДМУ, 2007. - С. 268-271.

11. Скальный А.В. Микроэлементозы у детей: распространённость и пути коррекции/ А.В. Скальный, Г.В. Яцык, Н.Д. Одинаева. - М: Изд-во КМК, 2002.-86С.

12. Gundacker C, S. Frohlich et all. Perinatal lead and mercury exposure in Austria // Sci Total Environ.-2010. - Vol. 408(23). - P. 5744-5749.

15 13. Krajewski P., Chudzik A., Pokrzywnicka M. Macro-, micro-and trace elements concentrations in mother's and newborn's hair and its impact on pregnancy outcome: a review. Archives of Perinatal Medicine 2009 15(2), 67-71.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

20 Спосіб непрямой оцінки патологічної концентрації токсичних металів та металоїдів в тканинах серця та магістральних судинах у дітей, що включає дослідження волосся, який **відрізняється** тим, що визначають наявність та концентрацію зазначених токсичних субстанцій у волоссі та сечі, причому патологічна концентрація барію (більше 2,1 мг/дм), алюмінію (більше 23 мг/дм), літію (більше 0,04 мг/дм), нікелю (більше 0,55 мг/дм), стронцію (більше 0,9 мг/дм), миш'яку (більше 0,3 мг/дм), титану (більше 1,2 мг/дм) у волоссі та патологічна концентрація літію (більше 0,01 мг/мл), нікелю (більше 1,8 мг/мл) та титану (більше 1,6 мг/мл) в сечі свідчать про те, що в тканинах кардіоваскулярної системи вміст цих токсичних металів та металоїдів є вищим за допустимий.

30

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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