



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 115009

(13) C2

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

A61B 5/02 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2016 11212	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
(22) Дата подання заявки:	07.11.2016	RU 2215469 C1, 10.11.2003
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	28.08.2017	BY 14288 C1, 30.04.20011
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.05.2017, Бюл.№ 10	RU 2521359 C2, 27.06.2014
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	28.08.2017, Бюл.№ 16	UA 24574 A, 30.10.1998
(72) Винахідник(и):	Щербина Микола Олександрович (UA), Ліпко Оксана Петрівна (UA), Щербина Ірина Миколаївна (UA), Скорбач Олена Іванівна (UA)	Веропотвелян П.Н. Современные подходы к диагносите преэклампсии / П.Н. Веропотвелян, Н.П. Веропотвелян, Е.П. Смородская // Здоровье женщины. - 2013. - № 8(84). - С. 79-83
(73) Власник(и):	ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022 (UA)	Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева, А.С. Акатьева, А.М. Холин и др. // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 6. - С. 14-19
(74) Представник:	Голданська Анна Вадимівна	Powe C.E. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease / C.E. Powe, R.J. Levine, S.A. Karumanehi // Circulation. - 2011. - Vol. 123 (24). - P. 2856-2869
		Сидорова И.С. Современный взгляд на проблему преэклампсии: аргументы и факты / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // Акушерство и гинекология. - 2013. - № 5. - С. 10-16
		Роль ангиогенных факторов роста в патогенезе преэклампсии и плацентарной недостаточности / О.В. Макаров, Е.В. Волкова, Е.Ю. Лысюк и др. // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 12. - С. 64-70

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ РОЗВИТКУ ПІЗЬНОГО ГЕСТОЗУ**(57) Реферат:**

Винахід належить до медицини, а саме до акушерства, і може бути використаний для діагностики розвитку пізнього гестозу.

Спосіб включає моніторинг артеріального тиску, згідно з винаходом, при достовірному підвищенні артеріального тиску у порівнянні з попередніми значеннями додатково в сироватці крові вагітної методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-систем на напівавтоматичному мікродисківому аналізаторі визначають рівні плацентарного фактора росту (ПФР), плацентарного протеїну (ПП) та ендогліну. При реєстрації зниження рівнів ПФР та ПП з одночасним підвищенням рівня ендогліну діагностують розвиток пізнього гестозу.

Спосіб є високоінформативним та прогностичним для діагностики розвитку пізнього гестозу.

UA 115009 C2

Винахід належить до медицини, а саме до акушерства, і може бути використаний для діагностики розвитку пізнього гестозу.

В Україні гіпертензивні розлади у вагітних визначаються на основі класифікації ISSHP, 2000 р. (Міжнародного товариства з вивчення гіпертензії у вагітних) і регламентовані наказом МОЗ України № 676 від 31 грудня 2004 року "Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги" [Наказ МОЗ України № 676 від 31 грудня 2004 р. "Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги"].

Прееклампсію/еклампсію, прогресуючу на тлі хронічної артеріальної гіпертензії, діагностують при появі після 20 тижнів вагітності протеїнурії (0,3 білка в сечі) або при помітному збільшенні раніше розпочатої протеїнурії; при різкому підвищенні артеріального тиску у тих пацієнток, у яких до 20 тижнів вагітності артеріальну гіпертензію легко контролювали, а також при появі ознак поліорганної дисфункції (олігурія, збільшення креатиніну, тромбоцитопенія, гемоліз, підвищення печінкових трансфераз), еклампсію діагностують у разі виникнення у пацієнток з прееклампсією генералізованих тоніко-клонічних судом, які не можуть бути пояснені іншими причинами (наприклад, епілепсія) [Сидорова И.С. Современный взгляд на проблему преэклампсии: аргументы и факты / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // Акушерство и гинекология. - 2013. - № 5. - С. 10-16].

Відомі критерії діагностики гестозу є недостатньо точні, так як базуються на клініко-лабораторних ознаках, які є ознаками багатьох патологічних станів вагітності та її ускладнень. Так, наприклад, відомо, що багато із тих факторів, що призводять до прееклампсії, являються факторами ризику розвитку серцево-судинних захворювань. Рядом авторів були встановлені дані, які свідчать, що материнська ендотеліальна дисфункція виникає ще до клінічних проявів прееклампсії та зберігається в деяких випадках і після пологів. Більш того, відомі критерії реєструють вже патологію, в той час, як фахівці потребують ознак її розвитку.

У зв'язку з цим, одним із основних напрямків досліджень в останні роки вважають визначення плацентарних факторів у пацієнток з прееклампсією для оцінки їх потенціальної ролі як неінвазивного методу прогнозування або ранньої діагностики прееклампсії.

На сьогодні для ранньої діагностики або прогнозування розвитку прееклампсії визначають наступні плацентарні маркери ризику розвитку цього захворювання або діагностики на доклінічній стадії: ендоглін, зовнішньоклітинну фетальну ДНК (effDNA), пентраксин 3 (PTX 3), асоційований з вагітністю протеїн-А плазми (PAPP-A), вісфатин, адреномедулін, аутоантитіла до рецептору ангіотензину II типу 1 (AT1) [Веропотвелян П.Н. Современные подходы к диагностике преэклампсии / П.Н. Веропотвелян, Н.П. Веропотвелян, Е.П. Смородская // Здоровье женщины. - 2013. - № 8(84). - С. 79-83].

Даний спосіб діагностики розвитку пізнього гестозу є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю і результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за прототип.

В основу винаходу поставлено задачу розширення арсеналу ефективних способів діагностики розвитку пізнього гестозу шляхом визначення плацентарних факторів ризику його розвитку.

Задачу, яку поставлено в основу винаходу, вирішують тим, що у відомому способі діагностики розвитку пізнього гестозу, що включає моніторинг артеріального тиску, згідно з винаходом, при достовірному підвищенні артеріального тиску у порівнянні до попередніх значень додатково в сироватці крові вагітної методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-систем на напівавтоматичному мікростриковому аналізаторі визначають рівні плацентарного фактору росту (ПФР), плацентарного протеїну (ПП) та ендогліну і при реєстрації зниження рівнів ПФР та ПП з одночасним підвищенням рівня ендогліну діагностують розвиток пізнього гестозу.

Технічний ефект винаходу, а саме розширення арсеналу ефективних способів діагностики пізнього гестозу шляхом визначення плацентарних факторів ризику його розвитку, обумовлений синергізмом діагностичних заходів, які заявляються, засобів, які були використані при цьому та кількісними значеннями заявлених вимірів. Сукупність суттєвих ознак способу невідома із рівня техніки і створює надсумарний результат - оригінальний спосіб діагностики розвитку пізнього гестозу, який дозволяє досягнути клінічних ефектів, яких раніше неможливо було досягти. Сукупність суттєвих ознак способу, яка є невідомою із рівня техніки, має суттєві відмінності відносно відомих способів діагностики розвитку пізнього гестозу та є неочевидною для фахівця. Відрізняє винахід те, що поєднане використання відомих в медицині заходів та засобів невідоме із рівня техніки і призводить до результату, який не витікає із очевидності з відомих характеристик цих заходів та засобів, таким чином одержуючи значний зверхсумарний результат - створення нового ефективного способу діагностики розвитку пізнього гестозу.

Теоретичною передумовою для розробки способу послугував той факт, що розвиток ішемії плаценти пов'язаний з дисбалансом проангіогенних чинників, що сприяють адекватному розвитку і проростанню спіральних артерій, що стимулюють проліферацію і активність ендотеліоцитів, і антиангіогенних чинників, що перешкоджають ангіогенезу [Роль ангиогенных факторов роста в патогенезе преэклампсии и плацентарной недостаточности / О.В. Макаров, Е.В. Волкова, Е.Ю. Лысюк и др. // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 12. - С. 64-70; Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева, А.С. Акатьева, А.М. Холин и др. // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 6. - С. 14-19]. До важливих проангіогенних чинників в даний час відносяться плацентарний фактор росту (ПФР) і плацентарний протеїн (ПП), до антиангіогенних - ендоглін. ПФР бере участь в нормальній проліферації і імплантації трофобласта, стабілізує клітини ендотелію в зрілих судинах матері [Powe C.E. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease / C.E. Powe, R.J. Levine, S.A. Karumanehi // Circulation. - 2011. - Vol. 123 (24). - P. 2856-2869]. Плацентарний протеїн є специфічним для плаценти маркером, який відіграє роль в правильній імплантації, розвитку судин плаценти і ремоделюванні спіральних артерій [Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева, А.С. Акатьева, А.М. Холин и др. // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 6. - С. 14-19]. Ендоглін експресується в основному на поверхні клітин ендотелію, а також на синцитіотрофобласті плаценти і є складовою частиною рецепторного комплексу ТФР [Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева, А.С. Акатьева, А.М. Холин и др. // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 6. - С. 14-19; Circulatory soluble endoglin and its predictive value for preeclampsia in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion / H. Stepan, A. Geipel, F. Schwarz et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. - 2008. - Vol. 198 (2). - P. 175-176]. Таким чином, одна з сучасних патогенетичних теорій розвитку прееклампсії базується на дисбалансі про- і антиангіогенних чинників зростання, які беруть участь в забезпеченні імплантації, формуванні плацентарного трофобласта, а в подальшому, судинної мережі плаценти. Це призводить до порушень перфузії плаценти і, як наслідок, вивільнення різних чинників, що викликають активацію ендотелію судин, його дисфункцію з розвитком основних клінічних симптомів прееклампсії.

Спосіб виконують наступним чином: Для діагностики розвитку пізнього гестозу проводять моніторинг артеріального тиску при достовірному підвищенні артеріального тиску у порівнянні до попередніх значень додатково в сироватці крові вагітної методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-систем на напівавтоматичному мікростриковому аналізаторі визначають рівні плацентарного фактору росту (ПФР), плацентарного протеїну (ПП) та ендогліну і при реєстрації зниження рівнів ПФР та ПП з одночасним підвищенням рівня ендогліну діагностують розвиток пізнього гестозу.

Ефективність способу доведена клінічними дослідженнями.

Було обстежено 59 вагітних у віці 19-39 років з прееклампсією різного ступеня тяжкості в терміні вагітності 24-34 тижні, які за ступенем тяжкості прееклампсії були розділені на 3 клінічні групи: I група - 25 вагітних з легким ступенем прееклампсії, II група - 19 вагітних з прееклампсією середнього ступеня тяжкості, III група - 15 вагітних з важким ступенем прееклампсії. Контрольну (IV групу) склали 32 здорові вагітні у віці 19-39 років в терміні вагітності 24-34 тижні з неускладненим перебігом вагітності.

З усіх обстежених пацієнток першороділь було 15 (62,7 %) в I клінічній групі, 12 (68,3 %) - в II, 10 (66,6 %) - в III і 17 (53,1 %) - в IV клінічній групі.

У 3 (15,8 %) вагітних II і 2 (13,3 %) вагітних III клінічної групи були двійні. У 7 (36,8 %) вагітних II, 5 (33,3 %) вагітних III і 2 (6,3 %) IV клінічної групи вагітність наступила в результаті екстракорпорального запліднення. Всі пацієнтки, включені в дослідження, не мали тяжкої екстрагенітальної патології.

У 12 (48,0 %) вагітних I групи, у 9 (47,4 %) II і 10 (66,6 %) III клінічної групи мала місце плацентарна недостатність різного ступеня тяжкості, підтверджена доплерометричним і гормональними дослідженнями. У 12 (80,0 %) пацієнток III клінічної групи мав місце синдром затримки росту плода середнього та важкого ступеня тяжкості. В основному, це були пацієнтки, у яких клінічні ознаки пізнього гестозу реєструвалися з 24-26 тижня вагітності, проте, маніфестна клінічна картина прееклампсії і ретардації плода з'явилася тільки до 30-34 тижня вагітності.

Ступінь тяжкості пізнього гестозу встановлювалася згідно з Наказом МОЗ України № 670 від 31.12.2004 року. Всім вагітним проведено дослідження рівнів ПФР, ПП і ендогліна методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням комерційних наборів фірми R & D Systems (США) на напівавтоматичному мікростриковому аналізаторі ІФА Stat-fax-303plus (США).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакетів програм Statistica7 і Excel 2010 (Microsoft).

Всі дані представлені як середньоарифметичне \pm стандартне відхилення середнього. Порівняння середніх здійснювали за допомогою двостороннього t-критерію Стюдента для незалежних змінних. Достовірність відмінностей вважалася при $p < 0,05$.

В результаті проведеного дослідження виявлено достовірні відмінності в вмісті ПФР, ПП і ендогліну залежно від ступеня тяжкості гестозу в порівнянні зі здоровими вагітними ($p < 0,05$). Так, вміст ПФР у вагітних контрольної групи склав $432,6 \pm 132$ пг/мл, у вагітних I групи - $129,8 \pm 24,6$ пг/мл, II групи - $48,9 \pm 14,7$ пг/мл, III групи - $27,7 \pm 11,2$ пг/мл. Достовірність відмінностей між контрольною групою і клінічними групами $p < 0,05$, що свідчить про те, що зниження ПФР прямо пов'язане з розвитком прееклампсії. Аналогічна тенденція відзначена і в відношенні ПП. Так, у вагітних з неускладненим перебігом вагітності його вміст склав 823 ± 127 пг/мл, у вагітних I групи - $372,5 \pm 89,9$ пг/мл, II групи - $132,7 \pm 38,5$ пг/мл, III групи - $86,2 \pm 39,3$ пг/мл. Достовірність відмінностей між основними і контрольною групою склала $p < 0,05$, що вказує на те, що при прееклампсії відбувається достовірне зниження ПП. Однак, слід зазначити, що достовірних відмінностей у вмісті ПП і ПФР у вагітних із середнім ступенем тяжкості і тяжкою прееклампсією не виявлено ($p > 0,05$), в той же час у порівнянні з легким ступенем тяжкості прееклампсії в II і III клінічних групах відзначено достовірне зниження ПП і ПФР ($p < 0,05$).

Отримані дані вказують на те, що для діагностики прееклампсії ПП і ПФР можуть мати прогностичне значення, проте, прогнозувати перехід прееклампсії з середнього ступеня тяжкості в тяжку за даними показниками не представляється можливим.

Що стосується антиангіогенних чинників зростання, то вміст розчинного ендогліну в сироватці здорових вагітних склав 6210 ± 560 пг/мл. В 1 клінічній групі цей показник досягав 17306 ± 1370 пг/мл, у 2 групі - 32267 ± 2995 пг/мл, в 3 групі - 38860 ± 3232 пг/мл. Достовірність відмінностей між здоровими вагітними і пацієнтками з прееклампсією різного ступеня тяжкості $p < 0,05$, що вказує на те, що при прееклампсії ендоглін достовірно підвищується. Крім цього, відзначено достовірне підвищення цього показника в залежності від ступеня тяжкості гестозу ($p < 0,05$ між I-й і II-й групами); ($p < 0,05$ між I-й і III-й групами). У той же час між II-й і III-й групами достовірних відмінностей не відмічено ($p > 0,05$).

Встановлено, що ПФР, ПП і ендоглін мають достовірні відмінності в їх вмісті в порівнянні зі здоровими вагітними і в залежності від ступеня тяжкості прееклампсії. ПФР і ПП знижуються, а ендоглін підвищується, причому зміна цих показників пропорційно ступеню тяжкості гестозу. Таким чином, дослідження рівня ПФР, ПП та ендогліну є високоінформативним прогностичним методом діагностики розвитку пізнього гестозу, а медична технологія, яка заявляється, має всі ознаки винаходу, а саме є невідомою з рівня техніки, корисною в підвищенні ефективності діагностики розвитку пізнього гестозу та має винахідницький рівень - неочевидна для фахівця.

Спосіб ілюструють наступні приклади

Приклад 1. Хвора О., 28 років, діагноз: Вагітність I, 28 тижнів.

Менструальний цикл регулярний, менструації з 12 років по 5 днів через 26 днів, помірні. Статеве життя з 18 років. Соматично здорова. Вагітність перебігала без ускладнень. На обліку у жіночій консультації з 11 тижнів. Збільшення ваги рівномірне, артеріальний тиск (АТ) одноразово підвищувався до 135/95 мм рт. ст., результати клініко-лабораторних досліджень - без особливостей. Проведено дослідження рівня плацентарного фактору росту (ПФР), плацентарного протеїну (ПП) та ендогліну. Рівень ПФР склав 458,4 пг/мл, ПП - 847 пг/мл, ендоглін - 6428 пг/мл. У терміні 38 тижнів через природні пологові шляхи народила живого доношеного хлопчика масою 3560 г, довжиною 51 см, з оцінкою за шкалою Апгар 8-9 балів. Післяпологовий період перебігав без ускладнень. На 3-ю добу виписана з новонародженим зі стаціонару.

Приклад 2. Пацієнтка Д., 32 років, діагноз: Вагітність II, 32 тижнів.

Менархе у 13 років, менструальний цикл регулярний, менструації по 6 днів через 29 днів, рясні. Статеве життя з 17 років. Соматичний та алергологічний анамнези не обтяжені. 1-а вагітність - штучне переривання у терміні 7 тижнів. На обліку у жіночій консультації з 13 тижнів. Збільшення ваги рівномірне, артеріальний тиск одноразово підвищувався до 140/95 мм рт. ст., в клінічному аналізі сечі реєструвались сліди білка. Проведено дослідження рівня плацентарного фактору росту (ПФР), плацентарного протеїну (ПП) та ендогліну. Рівень ПФР склав 138,6 пг/мл, ПП - 384,2 пг/мл, ендоглін - 17856 пг/мл. У терміні 35 тижнів госпіталізована до пологового будинку зі скаргами на підвищення АТ до 140/95 мм рт. ст., при клінічному дослідженні сечі білок - 0,3 г/л. Дані біохімічного та клінічного аналізу крові, коагулограми в межах норми. Встановлено діагноз: Вагітність II, 35 тижнів. Пологи I, II позиція, задній вид, тазове передлежання. Прееклампсія легкого ступеня. Протягом 2 тижнів проводилось консервативне

- лікування. У терміні 37 тижнів поскаржилась на головний біль, АТ підвищився до 145/100 мм рт. ст., білок в сечі - 1,2 г/л, набряки гомілок. Враховуючи прогресування прееклампсії, доношену вагітність, змішане сідничне передлежання при задньому виді плоду проведено розродження шляхом операції Кесарів розтин. Народилась жива доношена дівчинка масою 2850 г, довжиною 49 см, з оцінкою за шкалою Апгар 7-8 балів. Виписана з дитиною зі стаціонару на 6-у добу. Жінку передано під диспансерний нагляд у жіночу консультацію.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 10 1. Спосіб діагностики розвитку пізнього гестозу, що включає моніторинг артеріального тиску, який **відрізняється** тим, що при достовірному підвищенні артеріального тиску у порівнянні з попередніми значеннями додатково визначають рівень плацентарного фактора росту (ПФР), плацентарного протеїну (ПП) та ендогліну і при реєстрації зниження рівня ПФР та ПП з одночасним підвищенням рівня ендогліну діагностують розвиток пізнього гестозу.
- 15 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ПФР, ПП та ендоглін визначають в сироватці крові вагітної.
- 20 3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ПФР, ПП та ендоглін визначають методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням тест-систем на напівавтоматичному мікростриковому аналізаторі.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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