



УКРАЇНА

(19) UA (11) 13255 (13) U  
(51) МПК (2006)  
G01N 33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ У ЖІНОК, ЩО МАЮТЬ  
ВНУТРІШНЬОМАТКОВІ КОНТРАЦЕПТИВИ

1

2

(21) u200509728

(22) 17.10.2005

(24) 15.03.2006

(46) 15.03.2006, Бюл. № 3, 2006 р.

(72) Ліхачов Володимир Костянтинович, Матьоха  
Тетяна Вікторівна(73) Ліхачов Володимир Костянтинович, Матьоха  
Тетяна Вікторівна(57) Спосіб прогнозування запальних ускладнень у  
жінок, які мають внутрішньоматкові контрацептиви,  
що включає проведення комплексу клініко-  
діagnostичних досліджень, забір досліджуваного  
матеріалу та його обробку, який **відрізняється**  
тим, що як досліджуваний матеріал використовую-

ють кров пацієнтки, з якої виготовляють сироватку, та проводять визначення концентрації  $\gamma$ -ІФН в ній, використовуючи як стандарт для порівняння рекомбінантні  $\gamma$ -ІФН з відомою концентрацією, за рівнем концентрації  $\gamma$ -ІФН будують калібровані графіки для інтерферону і визначають концентрацію  $\gamma$ -ІФН у обстежуваних зразках сироватки крові та виявляють стан інтерферонової системи пацієнтки, при зниженні рівня концентрації  $\gamma$ -ІФН в сироватці крові прогнозують запальні ускладнення.

Запропонований спосіб відноситься к галузі медицини, а саме до гінекології.

Відомі способи прогнозування запальних ускладнень у жінок-носіїв внутрішньоматкових контрацептивів [Фадеева Е.Г. Прогнозирование и лечение осложнений у женщин при использовании медьсодержащих внутриматочных контрацептивов. Автореф. дис. канд. мед. наук - Иваново. - 1995. - 24 с; Посисеева Л.В., Фадеева Е.Г. Прогнозирование осложнений при применении медьсодержащих внутриматочных контрацептивов // Вестник Рос. ассоц. акуш.-гин. - 1997. - №2. - С.58-60; Ахмадеев Р.Ф. Клиническое течение, прогнозирование и профилактика воспалительных заболеваний женских половых органов при применении внутриматочной контрацепции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Уфа, 1997. - 28с.; Константинова О.Д., Кремлева Е.А., Черкасов С.В., Бухарин О.В. Микробиологические критерии прогнозирования воспалительных осложнений внутриматочной контрацепции // Вестник Рос. ассоц. акуш.-гин. - 1999. - №3. - С.118-119; Косей Н.В. Прогнозування і профілактика ускладнень запального характеру при післяабортній внутрішньоматковій контрацепції: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Київ, 1997. - 26с.]

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб прогнозування запальних ускладнень у жінок, що мають внутрішньоматкові контрацептиви по рівню фактору некрозу пухлин в слизу цервікаль-

ного каналу жінок в динаміці використання внутрішньоматкового контрацептиву [Лапик Т.Н. Внутриматочная контрацепция: роль клинических, иммунологических и микробиологических факторов в прогнозе осложнений: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Москва, 1994. - 22с.], який включає проведення комплексу клініко-діagnostичних досліджень, забір досліджуваного матеріалу та його обробку. Як досліджуваний матеріал відбирають слиз із цервікального каналу: плоскодонні 96 лункові планшети Linbro (Flow Laboritories) "сенсibiliзували" моноклональними антитілами (IgM) (Любучані, Московская обл. Государственный концерн "Биопрепарат") до фактору некрозу пухлин (ФНП) людини в концентрації 10мкг/мл в карбонатно-бікарбонатном буфері 0,05M рН 9,6 протягом 16-18год. при t 4°C у вологій камері, по 50мкл на лунку. Після блокування вільних місць зв'язування на пластику 1% розчином BSA та 3-х кратної відмивки планшетів, вносились тестовані зразки та стандартний препарат г-ФНП людини для побудови калібровочної кривої. Розведення ФНП проводили на 0,2% розчину BSA в PBS по 50 мкл на лунку, інкубація проводилась протягом 1 години при t 37°C. Після 3-х кратної відмивки планшетів, вносили антисироватку до ФНП людини в розведенні 1/600 в 0,2% розчині BSA в PBS по 50мкл на лунку, інкубували 1 години при t 37°C. Планшети відмивали 5 разів та вносили субстратну суміш: 0,04% OPD в 0,15M цитратно-фосфатному буфері, рН 5,0 з до-

(19) UA (11) 13255 (13) U

бавленням 0,015% розчину перекисню водню по 50мкл на лунку. Кольорова реакція розвивалась протягом 15-20хв. при кімнатній температурі (планшети знаходились в темноті) та зупинялась добавленням в лунки по 50мкл 10% розчину сірчаної кислоти. Вимірювання OD проводилось при довжині хвилі 492нм на спектрофотометрі "Multiskan". Будували стандартну криву (по стандартну рекомбінантного фактору некрозу пухлин ФНП), по якій вичислювали вміст ФНП в наступних зразках.

Однак відомий спосіб має низку недоліків, а саме:

1. Визначення фактору некрозу пухлини в слизу цервікального каналу не є інформативним методом, оскільки слиз не є середовищем життєдіяльності для флоритів, які продукують фактор некрозу пухлин.

2. Потрапляючи в порожнину цервікального каналу такі цитокіни, як фактор некрозу пухлин, знаходяться під впливом умовно-патогенної чи, можливо, патогенної мікрофлори, ферментів, що призводить до руйнування цих цитокінів.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб прогнозування запальних ускладнень у жінок, що мають внутрішньоматкові контрацептиви, шляхом удосконалення відомого, досягти підвищення інформативності способу та забезпечити підвищення ступеню достовірності прогнозування запальних ускладнень до введення внутрішньоматкових контрацептивів та в процесі їх використання.

Поставлену задачу вирішують створенням способу прогнозування запальних ускладнень у жінок, що мають внутрішньоматкові контрацептиви, що включає проведення комплексу клініко-діагностичних досліджень, забір досліджуваного матеріалу та його обробку який, згідно винаходу, відрізняється тим, що як досліджуваний матеріал використовують кров пацієнтки, з якої виготовляють сироватку, та проводять визначення концентрації  $\gamma$ -ІФН в ній, використовуючи як стандарт, для порівняння рекомбінантні  $\gamma$ -ІФН з відомою концентрацією, за рівнем концентрації  $\gamma$ -ІФН будують калібровані графіки для інтерферону і визначають концентрацію  $\gamma$ -ІФН в обстежуваних зразках сироватки крові та визначають стан інтерферонової системи пацієнтки, при зниженні рівня концентрації  $\gamma$ -ІФН в сироватці крові прогнозують запальні ускладнення.

Спосіб прогнозування запальних ускладнень у жінок-носіїв внутрішньоматкових контрацептивів здійснюють наступним чином:

1. Виконують забір крові пацієнтки, за допомогою венепункції, в суху пробірку, після згортання крові і рефракції згустку центрифугують при

3000об/хв. і відокремлюють сироватку, яку використовують для дослідження інтерферонів.

2. Для цього перший тип моноклональних антитіл  $\gamma$ -ІФН мобілізують на внутрішніх поверхнях осередків планшетів для мікротитрування і вносять досліджувані зразки. Після стандартного режиму інкубації зразків з першими антитілами лунки планшета промивають і вносять другі моноклональні антитіла до інтерферонів у вигляді кон'югата з біотином.

3. Після інкубації і наступного відмивання в лунки додають кон'югат пероксидази зі стрептавідином і реагент кольорової реакції (3-диметіламінобензоат). Після розвитку забарвлення вимірюють активність зв'язаної пероксидази з використанням фотометра для мікропланшета з довжиною хвилі 450 нм. Як стандарт для порівняння в кожній реакції використовують рекомбінантні  $\gamma$ -ІФН з відомою концентрацією.

4. За даними титрування стандартних зразків будують калібровані графіки для інтерферону і визначають концентрацію  $\gamma$ -ІФН у обстежуваних зразках сироватки.

#### Приклад 1

Жінка С. виявила бажання користуватися внутрішньоматковим контрацептивом. Скарг об'єктивних немає. В анамнезі запальні захворювання внутрішніх статевих органів. Крім звичайного клінічного обстеження проведено дослідження рівню сироваткового  $\gamma$ -ІФН - 44,1пг/мл. Виявлена концентрація  $\gamma$ -ІФН в 2,3 рази менша від норми. Такій жінці показано обстеження на наявність збудників інфекції, що передається статевим шляхом, при виявленні яких рекомендовано проведення етіопатогенетичного лікування, що передуює введенню внутрішньоматкового контрацептиву.

#### Приклад 2

Жінка П. використовує внутрішньоматковими контрацептивами 1 рік, скарг немає. В анамнезі хронічні захворювання статевих органів. Крім звичайного клінічного обстеження проведено дослідження рівню сироваткового  $\gamma$ -ІФН - 29,5пг/мл. Виявлена концентрація  $\gamma$ -ІФН в 3,5 рази менша від норми. Такій жінці показано обстеження на наявність збудників інфекції, що передається статевим шляхом, при виявленні яких рекомендовано проведення етіопатогенетичного лікування з застосуванням індукторів інтерфероногенезу.

Таким чином, запропонований спосіб прогнозування запальних ускладнень у жінок, що мають внутрішньоматкові контрацептиви достатньо інформативний і забезпечує високий ступінь достовірності прогнозування запальних ускладнень до введення внутрішньоматкових контрацептивів та в процесі його використання.