



УКРАЇНА

(19) UA (11) 59264 (13) U
(51) МПК
G01N 33/52 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ СХИЛЬНОСТІ ДО РОЗВИТКУ ПРЕЕКЛАМПСІЇ У ВАГІТНИХ

1

2

(21) u201012282

(22) 18.10.2010

(24) 10.05.2011

(46) 10.05.2011, Бюл.№ 9, 2011 р.

(72) ЛОСКУТОВА ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ВОРОНІН КОРНЕЛІЙ ВАЛЕНТИНОВИЧ

(73) ЛОСКУТОВА ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА

(57) Спосіб прогнозування індивідуальної схильності до розвитку прееклампсії у вагітних, котрий

включає визначення поліморфізму гена параоксонази 1, який **відрізняється** тим, що одночасно проводять визначення коефіцієнта атерогенності (КА) і коефіцієнта АОС-ПОЛ, і при наявності генотипу GlnI92Arg або GlnI92Gln, коефіцієнта атерогенності (КА) < 2,8 та коефіцієнта АОС-ПОЛ > 1,3 прогнозується відсутність схильності до розвитку прееклампсії.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до акушерства, і може бути використана для прогнозування схильності до розвитку прееклампсії у вагітних.

Актуальність розробки способу пов'язана з високою частотою прееклампсії, котра у вагітних складає 10-21 %. 15-35 % вагітних з прееклампсією стають резистентними до загальноприйнятої терапії, внаслідок чого прееклампсія має тенденцію до неухильного прогресування з розвитком серйозних ускладнень, як з боку матері, так і плода. Така резистентність до лікування може бути наслідком генетичної схильності та мутації генів, що беруть участь у патогенезі та етіології прееклампсії.

Тому перспективним може бути попередження розвитку прееклампсії, шляхом якомога раннього виявлення та прогнозування її розвитку для своєчасного проведення профілактичних засобів.

Найбільш близьким з технічної сутності і результату, що досягається, є спосіб прогнозування схильності до прееклампсії за допомогою визначення активності параоксонази 1 (м.з. № WO2009105622, МПК A61B5/145, A61B5/145, опубл. 27.08.2009), що містить тестування ДНК на наявність поліморфізму гена параоксонази 1.

Параоксоназа 1 володіє антиоксидантними і антиатерогенними властивостями: перешкоджає окисленню ліпідів у ліпопротеїдах низької щільності шляхом їх гідролізу, диференціюванню моноцитів в макрофаги, захопленню макрофагами окислених ліпопротеїдів низької щільності і перетворенню макрофагів в піністі клітини. Активність параоксонази 1 залежить від її генотипу. Но-

сії мутантної гомозиготи Arg192Arg мають знижену активність параоксонази 1, що призводить до її низької продуктивності, що збільшує ризик серцево-судинних захворювань.

Однак недоліком є те, що пропонується спосіб застосовується тільки для визначення ризику серцево-судинних захворювань (атеросклероз, ішемічна хвороба серця, церебро-васкулярна хвороба, хвороби периферійних судин), адже відомо, що в патогенезі прееклампсії лежать процеси, подібні до атеросклерозу: збільшується кількість загального холестерину та ліпопротеїдів високої щільності, активізуються процеси перекисного окислення ліпідів, відбувається недостатність антиоксидантного захисту. Відомий спосіб не враховує стан антиоксидантної системи та процесів перекисного окислення ліпідів (АОС-ПОЛ), не дає можливість оцінити індивідуальну схильність до розвитку прееклампсії у вагітних.

В основу корисної моделі покладена задача вдосконалення способу прогнозування розвитку прееклампсії у вагітних за рахунок оцінки індивідуальної схильності шляхом врахування стану антиоксидантної системи та процесів перекисного окислення ліпідів (АОС-ПОЛ), що забезпечують прогнозування результату для визначення тактики лікування, терміну можливого продовження вагітності, зниження материнської і перинатальної захворюваності і смертності.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі прогнозування індивідуальної схильності до розвитку прееклампсії у вагітних, котрий включає визначення поліморфізму гена параоксонази 1, відповідно до корисної моделі, одночасно про-

UA (19) 59264 (13) U

водять визначення коефіцієнта атерогенності (КА) і коефіцієнта АОС-ПОЛ, і при наявності генотипу Gln192Arg або Gln192Gln, коефіцієнта атерогенності (КА) < 2,8 та коефіцієнта АОС-ПОЛ > 1,3 прогнозується відсутність схильності до розвитку преєклампсії.

Перевагою є те, що в запропонованому способі включене дослідження поліморфізму гена параоксонази 1, яке є суцільно індивідуальним, специфічним і незалежним від впливу різних факторів, визначення коефіцієнту атерогенності (КА) та стану антиоксидантної системи та процесів перекисного окислення ліпідів (коефіцієнт АОС-ПОЛ) саме у вагітних, що дозволить прогнозувати перебіг преєклампсії, визначити тактику лікування і термін можливого пролонгування вагітності, зниження материнської та перинатальної захворюваності та смертності.

На сучасному етапі відомо, що можливою причиною виникнення і розвитку оксидативного стресу є мутація ферменту параоксонази 1 Gln192Arg. Параоксоназа 1 володіє антиоксидантними і антиатерогенними властивостями: перешкоджає окисленню ліпідів у ліпопротеїдах низької щільності шляхом їх гідролізу, диференціюванню моноцитів в макрофаги, захопленню макрофагами окислених ЛПНЩ і перетворенню макрофагів в піністі клітини. Знижена каталітична активність параоксонази 1, зумовлена як генетичними, так і токсичними впливами навколишнього середовища, може призводити до посиленого перекисного окислення ліпідів і пошкодження ендотелію. Наявність мутації в гені параоксонази 1 призводить до його низької продуктивності і може бути маркером в діагностиці преєклампсії у вагітних.

Спосіб дозволяє проводити доклінічну діагностику вірогідності виникнення преєклампсії у жінок, своєчасно визначити індивідуальний підхід до тактики ведення вагітності, необхідності профілактичних заходів.

Спосіб прогнозування розвитку преєклампсії шляхом оцінки індивідуальної схильності полягає в тому, що вагітній жінці з преєклампсією проводиться визначення алельних варіантів гена параоксонази 1. Це дослідження проводили за допомогою алельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції, з подальшою детекцією методом електрофорезу в 3 % агарозному гелі. Використовувався комплект реагентів «SNP-експрес» виробництва НВФ "Літех" (Росія). Геномна ДНК виділялася за допомогою реагенту "ДНК-експрес-кров". Визначення концентрації загального холестерину (ЗХС), холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХСЛПВЩ), холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХСЛПНЩ), тригліцеридів (ТГ) проводилося в автоматичному режимі на аналізаторі «Biochemistry Analyzer 88». Коефіцієнт атерогенності (КА) розраховували за формулою: $КА = (ЗХС - ХСЛПВЩ) / ХСЛПВЩ$. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю каталази в сироватці крові та активності супероксиддисмутази (СОД). Інтенсивність окислювальних процесів оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів. Інтегральну оцінку процесів перекисного окислення ліпідів та

антиоксидантної системи проводили розраховуючи коефіцієнт АОС-ПОЛ = $(СОД / ТБК)$ каталаза.

При розробці запропонованого способу оцінки індивідуальної схильності до розвитку преєклампсії нами було обстежено три групи пацієнток, які були рандомізовані за віком та особливостями акушерсько-гінекологічного і соматичного анамнезу. Першу групу склали (23 вагітні) вагітні з гестаційною артеріальною гіпертензією та преєклампсією легкого ступеня, другу групу (16 вагітних) з преєклампсією середнього та важкого ступеня, контрольну (К) групу 26 здорових вагітних. У результаті проведеного дослідження було виявлено, що частота генотипу Arg192Arg у вагітних II-ї групи зустрічалася частіше, ніж у контрольній і становила 56,3 % і 34,6 % відповідно ($\chi^2 = 3,87$, $p = 0,03$), а в I-й групі не відрізнялася від контролю і становила 21,8 %. Частота гетерозиготних форм Gln192Arg частіше відзначалася в I-й групі (39,1 %), ніж в контрольній (26,9 %), а в II-й групі не відрізнялася від контролю (25 %). Аналіз ліпідних показників виявив достовірне збільшення рівня тригліцеридів, загального холестерину, ХСЛПНЩ, коефіцієнта атерогенності у вагітних II-ї групи. Підвищений рівень ТГ, ХСЛПОНЩ, ХСЛПНЩ відіграє важливу роль в патофізіології преєклампсії, так як вони здатні пошкоджувати ендотеліальні клітини, що викликає зниження продукції простагліну, активацію всіх компонентів зовнішнього шляху згортання крові, що асоціюється з гіперкоагуляцією, гіперагрегацією тромбоцитів і вазоконстрикцією. Гіпертригліцеридемія, гіперліпідемія, на тлі порушеної функції параоксонази 1 є доброю мішенню для окислювальних реакцій з формуванням окислювального стресу. Результати дослідження показників АОС-ПОЛ показали, що при прогресуванні захворювання достовірно збільшується вміст ТБК-активних продуктів: $80,9 \pm 3$ мкмоль / л у вагітних II-ї групи проти $42,1 \pm 6,3$ мкмоль/л у здорових вагітних ($p < 0,05$). Одночасно з активацією окислювальних процесів настає зниження антиоксидантної активності крові, про що свідчить знижена активність каталази та супероксиддисмутази. Причому у вагітних I-ї групи відзначається підвищення активності каталази на 62,1 % в порівнянні зі здоровими вагітними, що може свідчити про активацію і напругу АОС, так як у цієї групи рівень ТБК-активних продуктів не відрізняється від параметрів здорових вагітних. Відзначається зниження активності СОД в I-й групі на 33,4 %, в II-й групі на 23 % у порівнянні зі здоровими вагітними. Дисбаланс процесів АОС-ПОЛ впливає на захисну функцію ендотелію: антиагрегантну і антикоагулянтну. Нами була зроблена спроба визначити ризик розвитку преєклампсії при наявності того чи іншого поліморфізму параоксонази 1 в поєднанні з підвищеним коефіцієнтом атерогенності (вище значення контрольної групи), зниженим коефіцієнтом АОС-ПОЛ (менше значення контрольної групи). Ризик розвитку преєклампсії середнього і важкого ступеня у носіїв генотипу Arg192Arg збільшується в 2,43 рази (95 % ДІ 0,67-8,07), в порівнянні з носіями генотипу Gln192Arg і Gln192Gln. Таким чином, наявність генотипу Arg192Arg є одним з факторів ризику виникнення і

перебігу прееклампсії в більш важкій формі. Було встановлено, що за наявності гомозиготної форми Arg192Arg, коефіцієнта атерогенності $> 2,8$, коефіцієнта АОС-ПОЛ $< 1,3$ ризик виникнення прееклампсії середнього і важкого ступеня збільшується в 15 раз (95 % ДІ 1,55-71,45). Ризик розвитку прееклампсії легкого ступеня при коефіцієнті атерогенності $> 2,8$, коефіцієнті АОС-ПОЛ $< 1,3$ і гомозиготній формі Arg192Arg збільшується в 3,75 рази (95% ДІ 0,39-21,43). При наявності коефіцієнта атерогенності $< 2,8$, коефіцієнта АОС-ПОЛ $> 1,3$ і генотипу Gln192Arg або Gln192Gln відносний ризик розвитку прееклампсії легкого ступеня збільшується в 1,15 рази (95 % ДІ 0,26-11,38), тобто не відрізняється від контролю, а в II-й групі даної комбінації факторів не було відмічено, тобто при такій комбінації розвиток прееклампсії важкого ступеня не відбувається.

Сутність способу, що заявляється пояснюється наступними прикладами.

Приклад 1. Вагітна Т., 23 років, історія пологів №514. Дана вагітність перша. При обстеженні способом, що заявляється в терміні 30 тижнів вагітності було встановлено наявність нормальної гомозиготи параоксонази 1 Gln192Gln, коефіцієнта атерогенності - 2,6, коефіцієнта АОС-ПОЛ - 1,3, що належить критеріям, що заявляються та передбачає неускладнений прееклампсією перебіг вагітності. В 39 тижнів відбулися термінові пологи. Новонароджений мав вагу 3520 г, зріст 53 см, оцінка за шкалою Апгар 7-8 балів. Діагноз заключний: 1 термінові пологи в 39 тижнів, головному передлежанні. Заключення: прогноз по способу, що заявляється, підтвердився.

Приклад 2. Вагітна Т., 22 років, історія пологів №8. Дана вагітність перша. Має надлишкову вагу тіла. При обстеженні способом, що заявляється в терміні 23 тижнів вагітності було встановлено наявність нормальної гомозиготи параоксонази 1 Gln192Gln, коефіцієнта атерогенності - 3,3, коефіцієнта АОС-ПОЛ - 0,32, що належить критеріям, що заявляються та передбачає ускладнений прееклампсією перебіг вагітності. В 27 тижнів вагітна поступила у реанімаційне відділення акушерського профілю: 1 вагітність, 27 тижнів, головне передлежання. Виявлена прееклампсія середнього ступеню. Метаболічний синдром. Під час перебування у відділенні вагітна отримувала лікування згідно з клінічним протоколом МОЗ України №676 але незважаючи на лікування стан погіршувався, наростала протеїнурія, набряки, гіперферментемія, з'явився головний біль, погіршився стан плода і в 28 тижнів відбулись передчасні пологи оперативним шляхом. Новонароджений мав вагу 770 г, зріст 32 см, оцінка за шкалою Апгар 6-7 балів, знаходився у відділенні реанімації і у подальшому був переведений на другий етап лікування. Діагноз заключний: 1 дострокові пологи в 28 тижнів, головному передлежанні. Прееклампсія середнього ступеня важкості без ефекту від лікування. Метаболічний синдром. Заключення: прогноз по способу, що заявляється, підтвердився.

Таким чином, пропонований спосіб при одночасному тестуванні ДНК на наявність поліморфізму гена параоксонази 1, коефіцієнта атерогенності і коефіцієнта АОС-ПОЛ, є корисним для оцінки індивідуальної схильності до розвитку прееклампсії, і дозволить визначати серед вагітних групи високого ризику розвитку прееклампсії.