



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **106383** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61B 10/00
G01N 33/50 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2015 10287	(72) Винахідник(и):	Запорожан Валерій Миколайович (UA), Марічереда Валерія Геннадіївна (UA), Фетеску Світлана Анатоліївна (UA)
(22) Дата подання заявки:	21.10.2015	(73) Власник(и):	ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пров. Валіховський, 2, м. Одеса, 65082 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.04.2016		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.04.2016, Бюл.№ 8		

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РИЗИКУ РЕЦИДИВУВАННЯ ГІПЕРПЛАСТИЧНОГО ПРОЦЕСУ ЕНДОМЕТРІЯ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування ризику рецидивування гіперпластичних процесів ендометрія шляхом проведення імунофенотипування лімфоцитів периферичної крові. Додатково проводять імуногістохімічне дослідження тканини ендометрія, при якому визначають функціональний стан антигенпрезентуючих клітин та стан апоптозу з розрахунку індексу активності проліферації (ІАП).

UA 106383 U

Корисна модель належить до області медицини, а саме гінекології, і може бути використана для прогнозування перебігу гіперпластичних процесів ендометрія.

У структурі гінекологічної патології гіперплазія ендометрія (ГЕ) становить від 10 до 50 % і захворюваність неухильно зростає [1, 2]. Найбільш часто ГЕ виявляють у жінок у віці 45-55 років. ГЕ відрізняється схильністю до тривалого рецидивуючого перебігу, на тлі якого можуть виникати злоякісні ураження слизової оболонки матки, особливо при відсутності лікування. Доведено, що у 80 % хворих на тлі гіперплазії ендометрія виникає ендометріоїдна аденокарцинома. Частота малігнізації варіює від 3 % до 29 % в залежності від форми ГЕ; в постменопаузі ризик малігнізації значно зростає [1].

Найбільш близьким аналогом до запропонованої корисної моделі є спосіб раннього прогнозування пухлинних захворювань ендометрія [2], який полягає в імунофенотипуванні лімфоцитів периферичної крові, що включає визначення відносного вмісту Т-хелперів, Т-супресорів і природних кілерів із розрахунком індексу пухлиноасоційованої реактивності (ІПР).

Однак, даний спосіб є недостатньо специфічним і не відображає функціональний стан антигенпрезентуючих дендритних клітин організму та активності апоптозу, що не дозволяє точно прогнозувати активність клітинної проліферації, а отже, й визначити прогноз захворювання.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу прогнозування перебігу гіперпластичних процесів ендометрія шляхом проведення імунофенотипування лімфоцитів периферичної крові, а саме визначення функціонального стану антигенпрезентуючих клітин та стан апоптозу з використанням імуногістохімічних досліджень, після чого розраховують індекс активності проліферації за заявленою формулою, що дозволяє прогнозувати перебіг гіперпластичного процесу та диференційовано вибирати спосіб лікування.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з корисною моделлю, поряд з імунофенотипуванням лімфоцитів периферичної крові додатково проводять імуногістохімічне дослідження тканини ендометрія, при якому визначають функціональний стан антигенпрезентуючих клітин та стан апоптозу з розрахунку індексу активності проліферації (ІАП) за заявленою формулою:

$$\text{ІАП} = \frac{\text{CD}(16+56+) \times \text{CD}(3+4+)}{\text{CD}(3+8+)} \times \frac{\text{H-score}(\text{CD}1a)}{\text{H-score}(\text{CD}56+)} \times \frac{\text{H-score}(\text{bcl}-2)}{\text{H-score}(\text{BAX})};$$

де: $\text{CD}(16+56+)$ - кількість NK-клітин; $\text{CD}(3+4+)$ - кількість Т-супресорів; $\text{CD}(3+8+)$ - кількість Т-хелперів; $\text{H-score}(\text{CD}1a)$ - рівень експресії незрілих ДК; $\text{H-score}(56+)$ - рівень експресії зрілих ДК; $\text{H-score}(\text{bcl}-2)$ - рівень експресії bcl; $\text{H-score}(\text{BAX})$ - рівень експресії BAX і при значенні індексу $\geq 10,0$ визначають високий ризик рецидивування гіперпластичного процесу ендометрія.

Спосіб виконують наступним чином.

У дослідженні прийняли участь 150 жінок репродуктивного віку, що страждали на гіперпластичні процеси ендометрія та 30 практично здорових жінок того ж віку. Всім пацієнткам проводили комплексне обстеження, що включало клінічні і параклінічні методи дослідження, згідно з наказами МОЗ України № 620 від 29.12.2003 р. та № 676 від 31.12.2004 р. "Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги". Додатково проведено дослідження імунологічного профілю з визначенням субпопуляцій імунокомпетентних клітин та функціонального стану гуморальної та клітинної ланки імунітету [2]. Визначення якості складу клітинної популяції імунокомпетентних клітин периферійної крові здійснювали методом проточної цитометрії. Визначення вмісту CD рецепторів дендритних клітин в біоптатах ендометрія було проведено імуногістохімічним методом з використанням моноклональних антитіл. Матеріал для досліджень одержаний шляхом виконання біопсії слизової оболонки тіла матки пацієнток за 2-3 дні до передбачуваного терміну менструації з використанням кюретки типу Пайпель або фракційного лікувально-діагностичного вискоблювання слизової оболонки порожнини матки і цервікального каналу.

Експресію активаційних маркерів $\text{CD}16+\text{CD}56+$, $\text{CD}3+4+$, $\text{CD}3+8+$ на поверхні лімфоцитів вивчали методом проточної цитофлуориметрії за допомогою приладу "FACScan" фірми "Becton Dickinson" і набору прямих моноклональних антитіл і ізотипових контролів цієї ж фірми. Визначення вмісту CD рецепторів у біоптатах ендометрія проведено імуногістохімічним методом з використанням моноклональних антитіл LIR (Dardilly) до $\text{CD}56(+)$, $\text{CD}1a(+)$. Експресія антиапоптозного білка BCL-2 і проапоптозного білка BAX оцінювалася імуногістохімічним методом за допомогою наборів DAKO LSAB+kit (Dako corporation).

Після проведення розрахунку індексу активності проліферації, встановлено, що він складав для здорових жінок контрольної групи - $0,22 \pm 0,07$, для жінок з простою гіперплазією ендометрія - $0,76 \pm 0,13$, для жінок з атиповою гіперплазією ендометрія - $1,56 \pm 0,25$. Найвищі значення були притаманні хворим на гіперплазією ендометрія з атипією, в яких цей індекс склав $17,5 \pm 4,9$.

Таким чином, при наявності клітинної атипії мають місце не лише імунологічні порушення у вигляді активації системного клітинного (зростання активності НК-клітин) та локального клітинного імунітету (зміни співвідношення зрілих та незрілих дендритних клітин), але й особливості регуляції апоптозу. При цьому діагностично значущим слід вважати значення індексу активності проліферації, що перевищують 10,0.

Абляція ендометрія має виконуватися пацієнткам з гіперпластичними процесами ендометрія, за наступних умов: відсутність клінічного ефекту стандартної гормональної терапії протягом 3 місяців у хворих з атиповою комплексною гіперплазією ендометрія та значеннях індексу активності проліферації, що перевищує 10,0.

У порівнянні з найближчим аналогом запропонована корисна модель дозволяє з високим ступенем вірогідності визначити прогноз ризику рецидивування гіперпластичних процесів ендометрія та диференційовано вибрати спосіб лікування.

Джерела інформації:

1. Шешукова Н.А. Оценка функционального статуса слизистой оболочки тела матки у пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия / Н.А. Шешукова, И.О. Макаров // Акушерство и гинекология. - 2012. - № 2. - С. 72-75.

2. Патент України № 21743, МПК(2006); G01N 33/38; A61B 5/12; G01N 33/49; Спосіб раннього прогнозування пухлинних захворювань ендометрія. Винахідники: Запорожан В.М, Дубініна В.Г., Пономаренко А.І. Заявник і патентовласник: Одеський державний медичний університет. Заявл. 22.01.2007; опубл. 15.03.2007. - Бюл. № 3.

3. Фетеску С.А. Проліферативний потенціал при гіперпластичних процесах ендометрія та методи його оцінки / С.А. Фетеску // Вісник проблем біології і медицини. - 2015. - Вип. 2(3). - С. 342-346.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування ризику рецидивування гіперпластичних процесів ендометрія шляхом проведення імунофенотипування лімфоцитів периферичної крові, який **відрізняється** тим, що додатково проводять імуногістохімічне дослідження тканини ендометрія, при якому визначають функціональний стан антигенпрезентуючих клітин та стан апоптозу з розрахунку індексу активності проліферації (ІАП) за заявленою формулою:

$$IAП = \frac{CD(16+56+) \times CD(3+4+)}{CD(3+8+)} \times \frac{H-score(CD1a)}{H-score(CD56+)} \times \frac{H-score(bcl-2)}{H-score(BAX)};$$

де: CD(16+56+) - кількість НК-клітин; CD(3+4+) - кількість Т-супресорів; CD(3+8+) - кількість Т-хелперів; H-score(CD1a) - рівень експресії незрілих ДК; H-score(56+) - рівень експресії зрілих ДК; H-score(bcl-2) - рівень експресії bcl; H-score(BAX) - рівень експресії BAX і при значенні індексу $\geq 10,0$ визначають високий ризик рецидивування гіперпластичного процесу ендометрія.