



УКРАЇНА

(19) UA (11) 67366 (13) U
(51) МПК (2012.01)
G01N 33/00ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ ПРИ ВАГІТНОСТІ ПІСЛЯ ЗАПЛІДНЕННЯ IN VITRO ТА ПЕРЕНОСУ ЕМБРІОНІВ В ПОРОЖНИНУ МАТКИ

1

2

(21) u201115209

(22) 22.12.2011

(24) 10.02.2012

(46) 10.02.2012, Бюл.№ 3, 2012 р.

(72) СЕГЕДІЙ ЛІДІЯ ІГОРІВНА, КАМІНСЬКИЙ В'ЯЧЕСЛАВ ВОЛОДИМИРОВИЧ, ПРОКОПІВ ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ

(73) СЕГЕДІЙ ЛІДІЯ ІГОРІВНА, КАМІНСЬКИЙ В'ЯЧЕСЛАВ ВОЛОДИМИРОВИЧ, ПРОКОПІВ ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ

(57) Спосіб прогнозування передчасних пологів при вагітності після запліднення in vitro та переносу ембріонів в порожнину матки, що включає ви-

значення вмісту в сироватці крові протизапальних цитокінів на доклінічній стадії передчасних пологів, який **відрізняється** тим, що в терміни передчасних пологів визначають вміст протизапальних цитокінів інтерлейкіну-10 та бета-трансформувального фактора росту і при одночасному зниженні їх вмісту, що свідчить про недостатній рівень імуносупресії щодо забезпечення толерантності між організмом матері та плодом, прогнозують передчасні пологи протягом найближчих 14 днів.

Корисна модель належить до медицини, зокрема до акушерства та гінекології, і може використовуватися в прогнозуванні передчасних пологів (ПП) при вагітності після запліднення in vitro та переносу ембріонів в порожнину матки - in vitro fertilization and embryo transfer (IVF & ET). Запропонований спосіб стосується пацієнток, у яких при вагітності після IVF & ET істотно більший ризик настання ПП, що визначає необхідність їх прогнозування і своєчасного застосування комплексу адекватних корекційних заходів, спрямованих на пролонгування вагітності та покращення перинатальних наслідків.

Проблема ПП та пов'язаних з ними несприятливих перинатальних наслідків набуває дедалі більшої вагомості на тлі втілення в практику IVF & ET, особливо при багатоплідній вагітності.

Оскільки визначити імовірність настання ПП за клінічними ознаками надто проблематично, суттєве значення надається пошукам інформативних параклінічних тестів їх прогнозування. Підвищення вмісту фібронектину в слизу цервікального каналу після 20 тижнів вагітності вважають параклінічним провісником підвищеного ризику настання ПП в найближчі 7-14 днів [1]. Про значну імовірність ПП свідчить поява в цервікальному слизу фосфорильованого протеїну-1, що зв'язує інсуліноподібний фактор росту [2]. Підвищений рівень кортикотропін-релізінг-гормону в терміні 26 тижнів вагітності - інформативний параклінічний тест прогнозування ПП [3]. В.П. Чернишов, О.М. Мозгова [4] наявність АФАТ та/або антитіл до ХГЛ у поєднанні з відхи-

леннями показників розгорнутих імуограм та гормональних досліджень розцінюють як несприятливі чинники перебігу гестаційного процесу при вагітності після екстракорпорального запліднення - доклінічну стадію загрози переривання вагітності.

Відомий спосіб прогнозування загрози переривання вагітності, який є найближчим аналогом, базується на визначенні на доклінічній стадії передчасних пологів показників, що відображають процеси міжклітинних взаємозв'язків за вмістом цитокінів з супресорно-цитотоксичною активністю (CD8+, CD69+, CD71+, HLA-DR+, CD11b+, CD54+, CD25+ на поверхні NK клітин), а також прозапальних цитокінів (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF-α) в сироватці крові та слизу цервікального каналу [5]. Неподолімо цього способу є необхідність визначення численних параметрів цитокінового профілю різновекторного спрямування.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу прогнозування ПП при вагітності після IVF & ET шляхом визначення, на відміну від прототипу, обмеженої кількості цитокінових тестів, а саме тих, що відображають стан імуносупресивної спроможності материнського організму - необхідної передумови нормального перебігу та завершення вагітності.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі прогнозування ПП при вагітності після IVF & ET, що включає визначення вмісту в сироватці крові протизапальних цитокінів на доклінічній стадії передчасних пологів, згідно з корисною моделлю, в терміни передчасних пологів визначають

(13) U
(11) 67366
(19) UA

вміст в сироватці крові протизапальних цитокінів інтерлейкіну-10 (IL-10) та бета-трансформувального фактора росту (Transforming Growth Factor beta TGF- β) і при одночасному зниженні їх вмісту, що свідчить про недостатній рівень імуносупресії щодо забезпечення толерантності між організмом матері та плодом, прогнозують ПП протягом найближчих 14 днів.

Переривання вагітності, за сучасним трактуванням, розглядається як імунodefіцитний стан, при якому знижені імунологічні реакції материнського організму не можуть забезпечити необхідний рівень імуносупресії для захисту зародка (плода) від імунної агресії матері, що віддзеркалюється порушеннями на рівні міжклітинних зв'язків, а саме змінами цитокінового профілю як на системному, так і локальному рівнях [6]. З-поміж цитокінів імуносупресивної дії, що сприяють нормальному перебігу вагітності, істотна роль належить IL-10 [7] та TGF- β [8]. Під час вагітності власне TGF- β інтенсивно продукується на рівні фетоплацентарного комплексу, завдяки чому забезпечується адекватний для нормального перебігу вагітності рівень цього імуносупресивного цитокіну.

Серед варіантів змін цитокінового профілю, що свідчать про недостатній рівень імуносупресії щодо забезпечення толерантності між організмом матері та плодом, найбільш інформативним цитокіновим тестом прогнозування ПП протягом найближчих 14 днів є одночасне зниження вмісту IL-10 та TGF- β в сироватці крові.

Запропонований спосіб здійснюють таким чином. На доклінічній стадії передчасних пологів, в терміни передчасних пологів (28-36 тижнів вагітності), визначають вміст в сироватці крові протизапальних цитокінів IL-10 та TGF- β . При одночасному зниженні їх вмісту прогнозують передчасні пологи протягом найближчих 14 днів.

Беручи до уваги теоретично аргументовану можливість прогнозування ПП на доклінічній стадії за змінами цитокінового профілю імуносупресивної спрямованості та перспективи корекційної цитокіноtherапії [9], нами проведені дослідження відповідної спрямованості.

Перший етап проведених досліджень базувався на результатах визначення вмісту IL-10 та TGF- β у 45 вагітних після IVF & ET, у яких клінічні ознаки ПП виникли на 28-36 тижнях вагітності. Контрольну групу склали 35 пацієнток, у яких вагітність після IVF & ET завершилася терміновими пологами. Можливість прогнозування ПП при вагітності після IVF & ET в терміни 28-36 тижнів вагітності вивчено у 52 вагітних.

В дослідження не були залучені вагітні, в анамнезі яких рецидивуючі урогенітальні інфекції та/або хронічні екстрагенітальні запальні захворювання, щоб у разі активізації їх проявів під час вагітності як на клінічному, так і субклінічному рівнях, уникнути імовірного модифікуючого впливу на досліджуваний цитокіновий профіль за рахунок закономірного підвищення в такій ситуації вмісту прозапальних цитокінів в сироватці крові.

При попередньому аналізі результатів проведених нами досліджень виявлено різні варіанти змін цитокінового профілю: одночасне зниження вмісту IL-10 та TGF- β , зниження вмісту лише IL-10 або TGF- β в сироватці крові. Інформативність кожного з наведених вище варіантів змін цитокінового профілю в плані прогнозування ПП встановлено шляхом визначення критеріїв χ^2 Пірсона. Кінцеві розрахунки здійснено з урахуванням критеріїв Романовського.

Запропонована корисна модель підтверджується даними, наведеними в таблицях, щодо інформативності різних варіантів змін вмісту IL-10 та TGF- β в сироватці крові в плані прогнозування ПП.

Таблиця 1

Відповідність фактичних та очікуваних величин щодо інформативності при одночасному зниженні в сироватці крові вмісту IL-10 та TGF- β

Варіант змін вмісту досліджуваних цитокінів в сироватці крові	Кількість вагітних	Передчасні пологи	
		Настали	Не настали
		Фактичні (очікувані) величини	
Одночасне зниження вмісту IL-10 та TGF- β	14	10 (6,4)	4 (7,6)
Контрольні показники*	23	7 (10,6)	16 (12,4)
Всього	37	17	20

$\chi^2=6,0$, що > від 3,84 - χ^2_{05} при df 1; критерій Романовського = 3,57 (>3,0).

Таблиця 2

Відповідність фактичних та очікуваних величин щодо інформативності при зниженні вмісту в сироватці крові лише IL-10

Варіант змін вмісту досліджуваних цитокінів в сироватці крові	Кількість вагітних	Передчасні пологи	
		Настали	Не настали
		Фактичні (очікувані) величини	
Зниження вмісту в сироватці крові лише IL-10	22	17 (13,3)	5 (8,7)
Контрольні показники*	21	9 (12,7)	12 (8,3)
Всього	43	26	17

$\chi^2 = 5,33$ що > від 3,84 - χ^2_{05} при df 1; критерій Романовського = 3,09 (>3,0).

Таблиця 3

Відповідність фактичних та очікуваних величин щодо інформативності при зниженні вмісту в сироватці крові лише TGF- β

Варіант змін вмісту досліджуваних цитокінів в сироватці крові	Кількість вагітних	Передчасні пологи	
		Настали	Не настали
		Фактичні (очікувані) величини	
Зниження вмісту в сироватці крові лише TGF- β	16	10 (7,1)	6 (8,9)
Контрольні показники*	18	5 (7,9)	13 (10,1)
Всього	34	15	19

$\chi^2=4,02$, що > від 3,84 - χ^2_{05} при df 1; критерій Романовського = 2,02 (<3,0).

Примітка: * сироваткові рівні IL-10 та TGF- β на 28-36 тижнях вагітності з наступними терміновими пологами.

Зниженими вважали показники вмісту IL-10 та TGF- β , числові значення яких менші за найнижчі показники відповідних варіаційних рядів вмісту досліджуваних цитокінів в сироватці крові при вагітності з настанням наступних термінових пологів.

Дані таблиць дають змогу стверджувати, з точністю до 95 %, що одночасне зниження вмісту IL-10 та TGF- β є інформативним параклінічним тестом прогнозування ПП (Табл. 1). У цій ситуації констатована невідповідність між фактичними та очікуваними величинами не є випадковою, оскільки критерій Романовського становить 3,57, що більше 3,0. При зниженні вмісту в сироватці крові лише IL-10 χ^2 становить 5,33, що більше від 3,84 - χ^2_{05} при df 1; критерій Романовського становить 3,09 (>3,0) (Табл. 2). Відтак, можна вважати, з точністю до 95 %, що зниження вмісту в сироватці крові лише IL-10 є також інформативним параклінічним тестом прогнозування ПП. При цьому критерій Романовського, що становить 3,09 (>3,0), дає змогу виключити імовірну випадковість результатів цього дослідження. У разі зниження в сироватці крові лише TGF- β імовірність настання ПП за критерієм χ^2 Пірсона хоч і досягає 95 %, однак числове значення критерію Романовського, що становить 2,02 (<3,0), не дає змогу виключити випадковість окремих результатів цього дослідження (Табл. 3).

Отже, найбільш інформативним цитокіновим провісником настання ПП є одночасне зниження вмісту в сироватці крові IL-10 та TGF- β .

Вищий ступінь інформативності одночасного зниження вмісту в сироватці крові IL-10 та TGF- β в плані прогнозування ПП порівняно з іншим варіантом змін цитокінового профілю, а саме зниженням вмісту в сироватці крові лише IL-10, підтверджується більш ранніми термінами появи перших клінічних симптомів ПП. Так, з часу констатації одночасного зниження вмісту IL-10 та TGF- β в сироватці крові перші клінічні симптоми ПП в терміни до 14 днів з'явилися у 80,0 % (8 із 10) вагітних, за умов зниження вмісту лише IL-10-у 58,8 % (10 із 17) вагітних.

Вищі показники частоти настання ПП у разі одночасного зниження вмісту IL-10 та TGF- β в сироватці крові, констатованих за умов зниження вмісту в сироватці крові лише IL-10 (80,0 % на противагу 58,8 %), віддзеркалюють більший ступінь інформативності змін цитокінового профілю щодо прогнозування ПП. Відтак, серед варіантів змін цитокінового профілю імуносупресивної спрямованості в плані прогнозування ПП чільне місце належить одночасному зниженню вмісту в сироватці крові IL-10 та TGF- β на доклінічній стадії загрози переривання вагітності після IVF & ET.

Джерела інформації:

1. Leitich H. Fetal fibronectin - How useful is it in the prediction of preterm birth? / H. Leitich, A. Kaider // BJOG. - 2003. - Vol. 110 (Suppl 20). - P. 66-70.
2. New rapid bed-side test to predict preterm delivery: phosphosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 in cervical secretions / Lembed A., Eroglu D., Ergin T. [et al.] // Acta Obstet. Gynec. Scand. - 2002. - Vol. 81, № 8. - P. 706-712.
3. The Utility of Plasma CRH as a Predictor of Preterm Delivery / Inder W.J., Prickett T.C.R., Ellis M.J. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 2001. - Vol. 86, № 12. - P. 5706-5710.
4. Чернишов В.П. Імунологічні предиктори невиношування вагітності після екстракорпорального запліднення / В.П. Чернишов, О.М. Мозгова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. - 2005. - № 3. - с. 101-105.
5. Патент РФ на изобретение № 2341799; МПК G01N 33/48 от 20.12.2008.
6. Гаврилюк А.М. Імунологічні причини жіночого непліддя / А.М. Гаврилюк // Медицинские аспекты здоровья женщины. - 2008. - № 5(14). - с. 5-9.
7. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor / Moore K., de Waal M., Coffman R. [et al.] // Ann. Rev. Immunol. - 2001. - Vol. 19. - P. 683-765.
8. Драннік Г.М. Імунологія репродукції // Клінічна імунологія та алергологія. - Київ: Здоров'я, 2006. - с. 552-582.
9. Чорний В.О. Використання інгібіторів фактора некрозу пухлин для корекції імунологічних показників у разі багаторазових невдалих спроб запліднення in vitro. / В.О. Чорний, В.П. Чернишов, І.О. Судомо // Здоров'я женщины. - 2010. - № 3 (49). - с. 93-96.

