



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **95120** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61B 10/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 07297	(72) Винахідник(и): Запорожан Валерій Миколайович (UA), Анчева Ірина Анатоліївна (UA), Задорожна Тамара Данилівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 01.07.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.12.2014	(73) Власник(и): ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пров. Валіховський, 2, м. Одеса, 65082 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.12.2014, Бюл.№ 23	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ДИСФУНКЦІЇ ПЛАЦЕНТИ У ВАГІТНИХ З ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування дисфункції плаценти у вагітних з залізодефіцитною анемією шляхом проведення імуногістохімічного її дослідження, причому визначають експресію ендотеліальної нітроксидсинтази плаценти і при наявності парадоксальної, негативної або різко знижених показників такої у жінок з неускладненим перебігом вагітності визначають високий ризик розвитку дисфункції плаценти при наступних вагітностях.

UA 95120 U

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до акушерства, і може використовуватися для прогнозування дисфункції плаценти у вагітних з залізодефіцитною анемією.

Одною з найбільш важливих проблем сучасного акушерства залишається дисфункція плаценти, яка спостерігається у 17-35 % вагітних жінок. У механізмі розвитку дисфункції плаценти лежить спазм судин фетоплацентарного комплексу, що приводить до зниження, а згодом і до порушення матково-плацентарного кровотоку. Дисфункція плаценти призводить до розвитку гіпоксії, затримки розвитку і зростання плоду і надалі впливає на результат вагітності і пологів. У даний час це ускладнення є основною причиною антенатальної загибелі плоду або розвитку дистресу плоду в пологах. Доведено, що дисфункція плаценти найчастіше розвивається на тлі ускладнень вагітності або при наявності у жінки різних екстрагенітальних захворювань, таких як залізодефіцитна анемія [1].

На сьогоднішній день загальновідомо, що оксид азоту, визначений як ендотеліальний фактор релаксації, і є важливим компонентом регуляції тону кровеносних і тону лімфатичних судин, а також попередження тромбоутворення. У процесі вагітності відбувається зростання ендотеліальної вазодилатації. Втім, вже відомо, що найбільш виражені зміни експресії eNOS спостерігаються при наявності сполучення дисфункції плаценти та залізодефіцитної анемії [2].

Найбільш близьким до заявленого технічного рішення є розробка, яка передбачає морфологічне, імуногістохімічне дослідження базальної децидуальної оболонки і ворсинчастого хоріону плаценти визначення індексу експресії маркерів апоптозу p53 і bcl-2 [3].

Недоліком методу є те, що він не враховує стан ендотеліальної дисфункції та є не специфічним для прогнозування дисфункції плаценти у вагітних із залізо-дефіцитною анемією в анамнезі.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищення ефективності прогнозування дисфункції плаценти у вагітних з залізодефіцитною анемією шляхом проведення імуногістохімічного дослідження експресії eNOS плаценти, що дозволить з високим ступенем вірогідності визначати ризик розвитку дисфункції плаценти при наступних вагітностях.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з корисною моделлю, визначають експресію ендотеліальної нітроксидсинтази плаценти і при наявності парадоксальної, негативної або різко знижених показників такої у жінок з неускладненим перебігом вагітності визначають високий ризик розвитку дисфункції плаценти при наступних вагітностях.

Спосіб виконується наступним чином.

Поліклональні антитіла (135 кДа) використовують у розведенні 1:50. Фіксовані у формаліні мікропрепарати зразків плацентарної тканини підлягають витримуванню у 10 мМ цитратного буфера при рН 6,0 протягом 10-20 хвилин, після чого препарати витримували при кімнатній температурі протягом 20 хвилин. Як контрольні зразки використовують ендотелій капілярів.

Реакція візуалізується за допомогою набору UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific). Мікропрепарати вивчали під мікроскопом "Olympus BX-51" з подальшою обробкою за допомогою програми "Olympus DP-soft v.3.2". При інтерпретації даних зважають на локалізацію експресії за структурами синцитію та його судинних елементів. Інтенсивність експресії оцінювали напівкількісним методом: при відсутності експресії - «-», при сумнівній або парадоксальній експресії - «±», при нормальному рівні експресії «+» (відповідає контрольним значенням), при підвищеній експресії (збільшення щільності позитивних ділянок на 30-50 %) - «++», при гіперекспресії (збільшення позитивних ділянок удвічі) - «+++». При наявності парадоксальної, негативної або різко зниженої експресії у порівнянні з нормою визначається високий ризик розвитку дисфункції плаценти при наступних вагітностях.

Приклад застосування

Дослідження виконано на клінічних базах кафедри акушерства та гінекології № 1 ОНМедУ (м. Одеса) та патоморфологічного відділення ДУ "ІПАГ НАМНУ" (м. Київ).

Було досліджено плаценти від 30 жінок, які розподілено на 3 групи:

1 - плаценти від жінок з фізіологічним перебігом вагітності та пологів - 10 спостережень;

2 - плаценти від жінок з анемією вагітних в анамнезі - 10 спостережень;

3 - плаценти від жінок з дисфункцією плаценти і анемією в анамнезі - 10 спостережень.

Пацієнтки були відібрані залежно від показників кардіотокографії, доплерометрії матково-плацентарного кровотоку. Критеріями виключення були: багатопліддя, прееклампсія, важка екстрагенітальна патологія пацієнток (цукровий діабет, системні захворювання серцево-судинної, дихальної і травної систем), природжені і спадкові захворювання плоду.

Аналіз імуногістохімічного дослідження NOS у порівняльному аспекті показав наступне: експресія MKAT NOS була виявлена у всіх спостереженнях контрольної групи в цитоплазмі

синцитію ворсинок усіх типів, а також нерівномірно в ендотелії фетальних капілярів і в цитоплазмі ендотелію судин децидуальної оболонки.

У другій групі експресія в структурах плаценти була ідентичною до показників, одержаних у групі контролю (у 70 % випадків - «+», у 10 % - «++»), однак у частині ворсинок відзначалося нерівномірне зниження експресії в синцитії, яка також майже не визначалася в ендотелії капілярів фетальних судин, особливо термінальних та ворсинок середнього калібру.

Являють інтерес зміни експресії NOS в 3 групі спостережень, де експресія MKAT NOS була різко підвищена (у 60 % - «+++») фокально в синцитії ворсинок, була відсутня (10 % випадків) чи різко знижена (20 %).

Таким чином, eNOS відіграє важливу роль у функціонуванні плацентарного бар'єру при фізіологічному перебігу вагітності та пологів, оскільки експресується (як показали дослідження) в цитоплазмі синцитію ворсинок і ендотелію фетальних капілярів, а також судин децидуальної оболонки, тобто в найбільш значущих структурах, які приймають участь в обміні речовин між матір'ю і плодом.

Виявлено структурні зміни з нерівномірною експресією eNOS у фетальних капілярах і синцитію, які виражені в II і, особливо, в III групах, що вказує на наявність структурно-функціональних порушень при дисфункції плаценти на тлі анемії, які ведуть до зміни внутрішньоутробного розвитку плоду. У II групі експресія eNOS мала відмінні особливості у порівнянні з III групою, які проявлялися в більш вираженій інтенсивності експресії, що, очевидно, пов'язано з вираженою компенсаторною реакцією на синтропію залізодефіцитної анемії та дисфункції плаценти.

У порівнянні з прототипом, запропонований спосіб, за рахунок оригінального підходу до визначення експресії антитіл к eNOS плаценти у вагітної, дозволяє підвищити точність прогнозування розвитку дисфункції плаценти і призначити своєчасні лікувально-профілактичні заходи.

Джерела інформації:

1. Tzung K. Hemodynamics and Mechanobiology of Endothelium / K. Tzung K.N.Y. World Scientific Publishing Company; 1 ed. 2010-380 p.
2. Funzione endoteliale quale marker di aterosclerosi subclinica: metodiche di valutazione ed applicazioni cliniche. / Ruggiero D., Paolillo S., Ratta G.D. [et al.] // Monaldi Arch Chest Dis.-2013-Vol. 80(3) - P. 106-110.
3. Патент RU 2407008 МПК G01N 33/48 Способ морфологической диагностики степени тяжести гестоза / Сарыева Ольга Павловна (RU), Мальгина Любовь Юрьевна (RU), Перетятко Любовь Петровна (RU), Панова Ирина Александровна (RU).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування дисфункції плаценти у вагітних з залізодефіцитною анемією шляхом проведення імуногістохімічного її дослідження, який **відрізняється** тим, що визначають експресію ендотеліальної нітроксидсинтази плаценти і при наявності парадоксальної, негативної або різко знижених показників такої у жінок з неускладненим перебігом вагітності визначають високий ризик розвитку дисфункції плаценти при наступних вагітностях.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601