



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **67735** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 07096	(72) Винахідник(и): Колісник Надія Василівна (UA), Новосад Наталя Василівна (UA), Новікова Ксенія В'ячеславівна (UA), Кузьменко Віра Анатоліївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 06.06.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.03.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.03.2012, Бюл.№ 5	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ" МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ, вул. Жуковського, 66, м. Запоріжжя, МСП - 41, 69600 (UA)

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЗАГРОЗИ ПЕРЕРИВАННЯ ВАГІТНОСТІ У ДРУГОМУ ТРИМЕСТРІ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування загрози переривання вагітності в другому триместрі включає визначення строку вагітності жінки в триместрах, взяття крові; дослідження показників крові, які відображують ступень активації імунної системи; прогнозування загрози переривання вагітності за цими показниками. Здійснюють забір капілярної або венозної крові; визначають цитохімічним методом активність кислої фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів.

U
UA 67735

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до клінічної лабораторної діагностики та акушерства і гінекології, і може знайти застосування в роботі жіночих консультацій, поліклінічних відділень перинатальних центрів, акушерсько-гінекологічних стаціонарів, і належить до способу прогнозування загрози переривання вагітності при перебігу гестації.

Використання способу дозволяє виявити ознаки гестаційного ускладнення у жінок до їхнього клінічного прояву навіть в умовах фельдшерсько-акушерських пунктів, що дозволить своєчасно провести індивідуальні лікувальні заходи, сформувати групи ризику і знизити частоту репродуктивних втрат.

Відомий спосіб прогнозування загрози переривання вагітності в другому триместрі [Пат. 2407015 Российской Федерации, МПК G01N 33/53. Способ прогнозирования угрозы прерывания беременности // Боташева Т.Л., Авруцкая В.В., Друккер Н.А., Погорелова Т.Н., Крукиер И.И., Волошина А.В., Заяв. 27.08.2009. Опубл. 20.12.2010.], який включає визначення строку вагітності; ультразвукове обстеження в другому триместрі для визначення статі плоду; якщо плід чоловічої статі, взяття венозної крові; отримання сироватки крові; визначення в сироватці вмісту епідермального фактору росту (ЕФР) за допомогою імуноферментного аналізу, за вмістом якого прогнозують загрозу переривання вагітності. При величині ЕФР, рівної 463 пг/мл і вище в жінок з плодом чоловічої статі, прогнозують загрозу переривання вагітності.

Недоліками способу є:

- необхідність взяття крові з вени для аналізу;
- прогнозування загрози переривання вагітності за станом інформаційної, а не ефекторної ланки імунної системи вагітної жінки;
- потреба у проведенні ультразвукового обстеження для визначення статі плоду, прогнозування можливе тільки у випадку, якщо плід чоловічої статі,
- необхідність забезпечення лікувального закладу імуноферментним аналізатором та імпортованими тест-системами для визначення вмісту ЕФР.

Ознаками, спільними з рішенням, що заявляється, є:

- визначення строку вагітності, прогнозування можливе в другому триместрі;
- взяття крові;
- дослідження показників крові, які відображують ступень активації імунної системи;
- прогнозування загрози переривання вагітності за показниками, що відображують стан імунної системи жінки.

Відомий спосіб прогнозування загрози переривання вагітності в другому триместрі [Пат. 2340899 Российской Федерации, МПК G01N 33/68 (2006.01). Способ прогнозирования невынашивания во втором триместре беременности / Левченко М.В., Орлов В.И. Заяв. 26.07.2007 Опубл. 10.12.2008, Бюл. № 34], який включає взяття венозної крові, отримання сироватки, визначення за допомогою імуноферментного методу вмісту трансформуючого фактора росту - $\beta 2$ (ТФР-Р2) за вмістом якого прогнозують загрозу переривання вагітності. При вмісті ТФР- $\beta 2$ пг/мл менш за 1806,8 діагностують загрозу переривання вагітності. Якщо вміст ТФР- $\beta 2$ пг/мл перевищує 1806,8, то додатково визначають рівень субстанції Р (PS), якщо він більший за 0,274 - прогнозують ризик переривання вагітності.

Недоліками способу є:

- взяття венозної крові для аналізу;
- прогнозування загрози переривання вагітності за станом інформаційної, а не ефекторної ланки імунної системи вагітної жінки;
- необхідність наявності в лікувальному закладі імуноферментного аналізатора, імпортованих тест-систем, підготовленого персоналу для визначення рівня ТФР-02 у зразках сироватки;
- можливість невизначеності прогнозування за даними аналізу, що потребує повторного обстеження з використанням імуноферментного аналізу та відповідної тест-системи для субстанції Р (PS);

Спільними з рішенням, що заявляється, ознаками є:

- визначення строку вагітності жінки в триместрах, прогнозування переривання вагітності за цим способом можливе в другому триместрі;
- взяття крові;
- дослідження показників крові, які відображують ступень активації імунної системи;
- прогнозування загрози переривання вагітності за показниками, що відображують стан імунної системи жінки.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб прогнозування загрози переривання вагітності в другому триместрі, який шляхом визначення строку вагітності та показників крові, якими є стан активності кислій фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів і розрахунку діагностичного показника, за значенням якого прогнозують загрозу переривання

вагітності, дозволяє здійснити експрес-діагностику загрози переривання вагітності, підвищити точність способу, знизити його вартість, забезпечити виконання його в лікувальних закладах будь-якого рівня акредитації.

Суттєвими ознаками способу є:

- 5 - визначення строку вагітності в триместрах, прогнозування переривання вагітності за цим способом можливе в другому триместрі;
- забір капілярної або венозної крові;
- визначення цитохімічним методом активності кислої фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів в одному мазку;

- 10 - розрахунок діагностичного показника за формулою:

$$Дп = 0,35 \times КФн - 0,22 \times КФлф - 1,85, (1)$$

де:

Дп - діагностичний показник загрози переривання вагітності, у.о.;

КФн - показник активності кислої фосфатази нейтрофілів крові вагітної жінки, у.о.;

- 15 КФлф - показник активності кислої фосфатази лімфоцитів крові вагітної жінки, у.о.;

0,22; 0,35; 1,85 - постійні коефіцієнти рівняння регресії, за значенням якого прогнозують загрозу переривання вагітності.

При значеннях Дп вагітної жінки в другому триместрі 13,4 у.о. і вище прогнозують загрозу переривання вагітності.

- 20 Відмінними від прототипу ознаками є:

- забір капілярної крові;
- визначення цитохімічним методом активності кислої фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів в одному мазку;
- розрахунок діагностичного показника, за формулою 1, за значенням якого прогнозують загрозу переривання вагітності.

- 25 Спосіб обґрунтовано:

1. Сучасними теоретичними положення про вагітність як стан, при якому підвищено баланс прозапальних/антизапальних цитокінів, тобто змінено порівняно з невагітними жінками стан інформаційної цитокінової системи.

- 30 Тому що:

- стан ефекторних клітин імунної системи визначає можливість переривання вагітності;
- в умовах патології спостерігається неоднозначна відповідь ефекторних клітин імунної системи на однакові цитокіни в однаковій концентрації;
- активність ферментів гранулярного апарату нейтрофілів та лімфоцитів крові відображує відповідь ефекторної ланки імунної системи на наявний цитокіновий фон;
- стан ефекторної ланки вродженого імунітету відображує активність кислої фосфатази нейтрофілів крові, а стан ефекторної ланки адаптивного імунітету - активність кислої фосфатази лімфоцитів.

2. Нашими експериментальними даними:

- 40 - результатами паралельного дослідження в різні строки вагітності складу лейкограми та активності ферментів гранулярного апарату в циркулюючих нейтрофілах та лімфоцитах 86 жінок із загрозою невиношування вагітності (9 пологовий будинок м. Запоріжжя) та 30 осіб з фізіологічним її перебігом у різні строки гестації (жіноча консультація 9 пологового будинку м. Запоріжжя). Поряд з відносним вмістом складових лейкограми з використанням методів цитохімії досліджували стан активності кислої фосфатази (КФн), лужної фосфатази (ЛФн), мієлопероксидази (МПОн) та вміст катіонних білків (Кбн) у циркулюючих нейтрофілах, і кислої фосфатази у циркулюючих лімфоцитах. За допомогою множинної регресії (модуль ППП Statistika) визначали показники, що входять до складу рівняння регресії із статистичною значимістю від $p < 0,01$ до $p < 0,05$. Із всіх показників, що ми вивчали, у рівняння регресії на заданих умовах було включено активність кислої фосфатази нейтрофілів і лімфоцитів та значення триместру гестації.

Визначення показників описової статистики та достовірність відмінностей значень діагностичних показників у триместрах жінок із загрозою переривання вагітності та з фізіологічним перебігом її оцінювали з використанням тесту Фішера (множинні апостеріорні порівняння, ППП SPSS, v.13). Достовірними вважали відмінності між значеннями Дп при $P < 0,05$.

3. Клінічними спостереженнями акушерів-гінекологів.

На відміну від прототипу спосіб доступний у будь-якій клінічній лабораторії.

Спосіб здійснюють таким чином:

- 60 У вагітної жінки визначають строк вагітності в триместрах, прогнозування переривання вагітності за цим способом можливе в другому триместрі. Здійснюють забір 0,15 мл капілярної

або венозної крові, готують мазок на предметному склі. За допомогою цитохімічного методу визначають активність кислої фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів в одному мазку, для чого на нефіксований мазок наносять 3 мл інкубаційної суміші, що містить 10 мг нафтол-Аз-фосфату, розчиненого в 5 мл діметілформаміда; 15 мл 0,1 М цитратного буфера рН 5,2; 45 мл дистильованої води, 5 мл розчину 0,1 М хлориду магнію, 50 мг діазолу синього (суміш готували і фільтрували перед використанням), інкубують мазок в термостаті при 37 °С протягом 2 годин, промивають ізотонічним розчином хлориду натрію, дофарбовують 15 хв фарбником Романовського-Гімзи, промивають у проточній воді протягом 10 с, висушують на повітрі та мікроскопують його. Здійснюють кількісне визначення активності кислої фосфатази за інтенсивністю дифузно-гранулярного синього фарбування цитоплазми у 100 нейтрофілах та 100 лімфоцитах, яку виражають в умовних одиницях залежно від ступеня забарвлення цитоплазми, для чого досліджувані нейтрофіли та лімфоцити розподіляють на 4 групи: з негативною реакцією (—), слабо позитивною (+), позитивною (++) і різко позитивною (+++). Далі число нейтрофілів або лімфоцитів з однаковою інтенсивністю забарвлення помножують на відповідне даній групі число плюсів, сума цих добутків складає умовні одиниці (у.о.) [Astaldi G., Verga L. Acta haematol., 1957, vol. 17, p. 129-136; Kaplow L. Blood, 1955, vol. 10 № 10, p. 1023-1029].

Здійснюють розрахунок діагностичного показника за формулою 1, за значенням якого у вагітної жінки у другому триместрі 13,4 у.о. і вище прогнозують загрозу переривання вагітності.

Приклади конкретного виконання:

Приклад 1.

Жінка Д., 19 років. Діагноз: вагітність 27 тижнів (другий триместр).

У жінки здійснювали забір 0,15 мл капілярної крові; готували мазок; за допомогою цитохімічного методу визначали активність кислої фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів в одному мазку, для чого швидко висушували його на повітрі, наносили на нефіксований мазок 3 мл інкубаційної суміші, що містила 10 мг нафтол-Аз-фосфату, розчиненого в 5 мл діметилформаміду, 15 мл 0,1 М цитратного буфера рН 5,2; 45 мл дистильованої води, 5 мл розчину 0,1 М хлориду магнію, 50 мг діазолу синього (суміш готували і фільтрували перед використанням), інкубували мазок у термостаті при 37 °С протягом 2 годин, промивали ізотонічним розчином хлориду натрію, дофарбовували протягом 15 хв. фарбником Романовського-Гімзи, промивали в проточній воді протягом 10 с, висушували на повітрі, мікроскопували, кількісно визначали активність кислої фосфатази за інтенсивністю дифузно-гранулярного синього фарбування цитоплазми у 100 нейтрофілах та у 100 лімфоцитах, виражали активність ферментів в умовних одиницях (у.о) залежно від ступеня забарвлення цитоплазми, для чого досліджувані нейтрофіли та лімфоцити розподіляли на 4 групи: з негативною реакцією (-), слабопозитивною (+), позитивною (++) і різко позитивною (+++), число нейтрофілів з однаковою інтенсивністю забарвлення помножували на відповідне даній групі число плюсів, сума цих добутків складає умовні одиниці (у.о.); за отриманими даними здійснювали розрахунок діагностичного показника за формулою 1, за значенням якого визначали загрозу переривання вагітності.

Визначена активність ферментів у вагітної Д. дорівнювала:

КФн - 100 у.о.; КФлф - 79 у.о.

$D_p = 0,35 \times 100 - 0,22 \times 79 - 1,85$

$D_p = 15,77$.

Отже, в жінки Д. прогнозували загрозу переривання вагітності.

Приклад 2.

Жінка К. 27 років. Діагноз: вагітність 25 тижнів (другий триместр). Дослідження здійснювали як у прикладі 1.

Визначена активність ферментів у вагітної К дорівнювала:

КФн - 68 у.о., КФлф - 50 у.о.

$D_p = 0,35 \times 68 - 0,22 \times 50 - 1,85$

$D_p = 0,95$.

Отже, в жінки К. прогнозували відсутність загрози переривання вагітності.

Приклад 3.

Жінка О., 30 років. Діагноз: вагітність 14 тижнів (другий триместр). Дослідження здійснювали як у прикладі 1.

Активність КФн - 60 у.о., КФлф - 64 у.о.

$D_p = 0,35 \times 60 - 0,22 \times 64 - 1,85$

$D_p = 6,07$

У жінки О. прогнозували відсутність загрози переривання вагітності.

Приклад 4.

Жінка М., 27 років. Діагноз: вагітність 19 тижнів. Дослідження здійснювали як у прикладі 1.

Активність КФн - 108 у.о., Кфлф - 80 у.о.

$Dп = 0,35 \times КФн - 0,22 \times Кфлф - 1,85$

$Dп = 0,35 \times 100 - 0,22 \times 80 - 1,85$

$Dп = 22,75$.

У жінки М. прогнозували загрозу переривання вагітності.

Запропонований спосіб дозволяє здійснити експрес-діагностику загрози переривання вагітності, що дає можливість своєчасно провести відповідну терапію та попередити втрату вагітності.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування загрози переривання вагітності в другому триместрі, що включає визначення строку вагітності жінки в триместрах, взяття крові; дослідження показників крові, які відображують ступінь активації імунної системи; прогнозування загрози переривання вагітності за цими показниками, який **відрізняється** тим, що здійснюють забір капілярної або венозної крові; визначають цитохімічним методом активність кислої фосфатази нейтрофілів та лімфоцитів; розраховують діагностичний показник за формулою:

$Dп = 0,35 \times КФн - 0,22 \times Кфлф - 1,85, (1)$

де:

$Dп$ - діагностичний показник загрози переривання вагітності, у.о.;

0,35; 0,22; 1,85 - постійні коефіцієнти рівняння регресії;

КФн - активність кислої фосфатази у нейтрофілах мазка крові вагітних жінок, у.о.;

Кфлф - активність кислої фосфатази лімфоцитів мазка крові вагітних жінок, у.о., за значенням якого прогнозують загрозу переривання вагітності.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

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