



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **67901**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/50** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 09577**

(22) Дата подання заявки: **01.08.2011**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **12.03.2012**

(46) Публікація відомостей **12.03.2012, Бюл.№ 5**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Чайка Володимир Кирилович (UA),  
Дьоміна Тетяна Миколаївна (UA),  
Воронова Ірина Іванівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ.  
М.ГОРЬКОГО,  
пр.Ілліча, буд.16, м.Донецьк-3, 83003,  
Україна, UA (UA)**

(74) Представник:

**Короткіх Ліна Михайлівна, реєстр. №43**

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЗАГРОЗИ НЕВИНОШУВАННЯ ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК

(57) Реферат:

Спосіб діагностики загрози не виношування вагітності у жінок, при якому кров аналізують в строк 6-7 тижнів вагітності, додатково в крові вагітної визначають концентрації Т-лімфоцитів CD4+ і CD8+, розраховують відношення величин цих концентрацій, і в разі одержання числового значення відношення більше 1,8 одночасно зі значенням відношення концентрацій γ-інтерферону й інтерлейкіну-10 більше 0,5 діагностують загрозу не виношування вагітності.

**UA 67901 U**



Корисна модель належить до медицини, точніше до акушерства, і може бути використана для ранньої діагностики загрози невиношування вагітності (ЗНВ) у жінок.

Невиношування вагітності, незважаючи на значні досягнення в медицині, є однією з основних проблем сучасної репродуктології. Згідно з узагальненими даними літератури 15-20 % клінічно діагностованих вагітностей закінчуються спонтанним перериванням, при цьому на частку I триместру припадає до 75-80 %.

Останнім часом все більший інтерес викликає імунна теорія невиношування вагітності, яка проявляється у відсутності толерантності материнської імунної системи до напівалогенного ембріона (плода), що в результаті призводить до самовільного абортів. Вважають, що вищезгадана толерантність в значній мірі залежить від взаємодії різних цитокінів, які виділяються імунокомпетентними клітинами матері.

Відомий вибраний за прототип спосіб діагностики ЗНВ у жінок (Радж Ра-фупати. Значение иммуномодуляции в поддержании успешной беременности (II): смещения функционального баланса Т-хелперов в сторону клеток 2-го типа (Th2) // Gynecological Endocrinology. - 1999. - V.196. - P.122-130), який включає аналізування крові вагітної на предмет визначення концентрацій  $\gamma$ -інтерферону ( $\gamma$ -IFN) й інтерлейкіну-10 (IL-10) в строк 9-10 тижнів вагітності, вирахування відношення величин цих концентрацій ( $\gamma$ -IFN/IL-10) і в разі одержання числового значення відношення більше 0,5 діагностування ЗНВ.

Недоліком відомого способу-прототипу є недостатня точність діагностики ЗНВ у жінок і пізні строки встановлення діагнозу.

Причиною недоліку є недостатня діагностична чутливість показника  $\gamma$ -IFN/IL-10 в ранніх строках вагітності.

В основу корисної моделі поставлено задачу в способі діагностики ЗНВ у жінок шляхом додаткового визначення в крові вагітної концентрації Т-лімфоцитів в ранніх строках вагітності, вирахування нового діагностичного індексу, залучення до діагностичного аналізування концентрацій інтерферонів, інтерлейкінів і Т-лімфоцитів забезпечити підвищення точності більш ранньої діагностики ЗНВ у жінок. Діагностика за способом, що заявляється, дозволяє підвищити її точність з 70,0 % (прототип) до 93,3 % і скоротити термін початку діагностування на 3 тижні. Діагностика за способом, що заявляється, дозволяє поставити діагноз ЗНВ за 2 тижні до появи клінічних ознак, виконується швидко, проста (в крові аналізують 4 показника), малоінвазивна, дешева, з використанням традиційних методик аналізу крові.

Поставлена задача вирішується тим, що створено спосіб діагностики ЗНВ у жінок шляхом аналізування крові вагітної для визначення концентрацій  $\gamma$ -IFN й IL-10, вирахування відношення величин цих концентрацій і в разі одержання числового значення відношення більше 0,5 діагностування ЗНВ.

Новим у заявленому способі є те, що кров аналізують в строк 6-7 тижнів вагітності, додатково в крові вагітної визначають концентрації Т-лімфоцитів CD4+ і CD8+, розраховують відношення величин цих концентрацій, і в разі одержання числового значення відношення більше 1,8 одночасно зі значенням відношення концентрацій  $\gamma$ -IFN й IL-10 більше 0,5 діагностують ЗНВ.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Цитокіни є важливими інформаційними молекулами, дія яких не обмежується тільки імунною системою, але проявляється також у ряді інших систем організму. Відомо, що під час вагітності прозапальні цитокіни Т-хелперів-1, такі як  $\gamma$ -IFN та ін., забезпечують, головним чином, клітинну імунну відповідь, сприяючи тим самим перериванню вагітності. Гуморальна активність при цьому залишається невисокою. При активації клітин Т-хелперів-2 посилюється вироблення протизапальних цитокінів (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 і IL-13), які стимулюють гуморальну імунну відповідь. При цьому клітинно-опосередковані процеси перебігають слабо, що сприяє нормальному розвитку вагітності. Саме спираючись на результати цих досліджень, розроблено відомий спосіб-прототип, коли як діагностичний показник пропонують відношення  $\gamma$ -IFN/IL-10 > 0,5, який визначають в строку 9-10 тижнів вагітності.

Проте акушерів не задовольняють ні точність діагнозу за відомим способом-прототипом, яка складає 70 %, ні строк вагітності, коли можлива постановка діагнозу, оскільки патогенетичне лікування ЗНВ в 9-10 тижнів не завжди матиме позитивний результат.

Автори корисної моделі встановили дослідним шляхом, що при визначенні діагностичного показника  $\gamma$ -IFN/IL-10 > 0,5 на 6-7 тижні гестації, тобто на 3 тижні раніше, ніж передбачено умовами відомого способу-прототипу, точність діагностики різко знижується та стає діагностично нікчемною.

Слід зазначити, що впродовж вагітності спостерігаються зміни у вмісті Т-клітин і їх субпопуляцій, вже починаючи з I триместру. Численні дослідження клітинної ланки імунітету показали, що при вагітності, перш за все, відбувається зміна в співвідношенні регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів у бік супресії: спостерігається збільшення відсотка Т-лімфоцитів з фенотипом супресорів (CD8+) і зменшення кількості Т-лімфоцитів з фенотипом хелперів (CD4+). Значне зменшення кількості Т-лімфоцитів у відносному вмісті спостерігається у I триместрі вагітності, що свідчить про істотну імуносупресію матері в ранній період вагітності. При цьому імунорегуляторний індекс (IPI) CD4+/CD8+ має тенденцію до зниження у жінок із фізіологічним перебігом вагітності. Тому автори корисної моделі вирішили залучити до діагностики дослідження додаткової ланки імунітету - Т-клітинної, що є патогенетично обґрунтованим і дало змогу підвищити точність діагностики ЗНВ, починаючи з ранішніх строків вагітності.

Ефективність способу діагностики, що заявляється, підтвердили клінічними дослідженнями. В акушерській клініці були обстежені 298 вагітних в строку 6-7 та 9-10 тижнів, які не мали жодних клінічних симптомів ЗНВ. Кожній вагітній проаналізували кров з метою визначення концентрації CD8+, CD4+ за допомогою відомого методу реакції розеткоутворення («Діагностикум еритроцитарний для субпопуляції Т- і В-лімфоцитів», ТОВ «Гранум» - м. Харків). Визначення цитокінів  $\gamma$ -IFN і IL-10 проводили за допомогою імуноферментного аналізу відомим методом з використанням тест-систем «Europe SA» (Бельгія) та «Diaklone» (Франція). З обстежених пацієнток сформували 5 груп вагітних, результати тестувань котрих занесли в таблицю.

Таблиця

Порівняння точності діагнозу ЗНВ у жінок за відомим способом-прототипом, способом, що заявляється, та в двох дослідних групах

Рівень досліджуваних показників	Спосіб діагностики				
	Прототип	Дослід 1	Дослід 2	Спосіб, що заявляється	
	Гр. I, n=30, 9-10тиж.	Гр. II, n=30, 6-7 тиж.	Гр. III, n=30, 6-7 тиж.	Гр. IV, n=30, 6-7 тиж.	Гр. V, n=30, 6-7 тиж.,
$\gamma$ -IFN, пг/мл	5,83±0,35	5,79±0,31		6,52±0,42	4,09±0,17
IL-10, пг/мл	7,92±0,23	8,03±0,22		7,45±0,23	8,10±0,31
$\gamma$ -IFN/IL-10	0,74±0,17	0,72±0,11		0,87±0,18	0,50±0,05
CD 4+, %			35,8±0,4	37,01±0,82	27,56±1,02
CD 8+, %			14,1±0,24	13,6±0,35	15,63±0,49
IPI			2,54±0,07	2,72±0,07	1,79±0,08
Діагноз ЗНВ підтверджено					
n	21	16	20	28	30
Точність методу, %	70	53,3	66,7	93,3	100
Прогестерон (норма), нмоль/л	102,1±4,1 (104,5-113,0)	80,0±2,0 (82,0-89,0)	79,5±2,1 (82,0-89,0)	80,4±2,0 (82,0-89,0)	83,9±2,2 (82,0-89,0)
Прогестерон через 2 тижні (норма), нмоль/л	113,0±4,6 (113,0-137,0)	92,4±3,6 (92,5-104,5)	92,5±3,5 (92,5-104,5)	92,6±3,6 (92,5-104,5)	95,0±3,4 (92,5-104,5)

До групи I віднесли 30 вагітних, яким діагностували ЗНВ за відомим способом-прототипом в 9-10 тижнів гестації. Діагностичний показник  $\gamma$ -IFN/IL-10 дорівнював 0,74±0,17 (більше 0,5). В подальшому діагноз підтвердився у 21 вагітної (70 %). До групи II віднесли 30 вагітних, яким діагностували ЗНВ за відомим способом-прототипом, проте на 2 тижні раніше - в 6-7 тижнів (дослід 1). Діагностичний показник  $\gamma$ -IFN/IL-10 дорівнював 0,72±0,11 (більше 0,5). В подальшому діагноз підтвердився у 16 вагітних (53,3%). До групи III віднесли 30 вагітних, яким в 6-7 тижнів вагітності діагностували ЗНВ (дослід 2) тільки за показником ГРІ, який дорівнював 2,54±0,07 (більше 1,8). В подальшому діагноз підтвердився у 20 вагітних (66,7%). До групи IV віднесли 30 вагітних, яким в 6-7 тижнів вагітності діагностували ЗНВ за способом, що заявляється, за показниками:  $\gamma$ -IFN/IL-10, який дорівнював 0,87±0,18 (більше 0,5), та IPI - 2,72±0,07 (більше 1,8). В подальшому діагноз підтвердився у 28 вагітних з 30 (93,3 %). Контрольну групу V обстежили також за способом, що заявляється. У всіх 30 вагітних цієї групи результати обстежень не відповідали ЗНВ:  $\gamma$ -IFN/IL-10 = 0,50±0,05, а IPI = 1,79±0,08. Отже, вагітні контрольної групи V мали фізіологічний перебіг вагітності.

Точність діагнозу для кожної вагітної з 5 досліджуваних груп перевіряли за рівнем прогестерону (гормон вагітності) в крові вагітної двічі: в день діагностування та через 2 тижні - після проведення патогенетичного лікування діагностованого ЗНВ. З таблиці видно, що рівень прогестерону відповідав нормі в обох тестуваннях лише у вагітних з фізіологічним (неускладненим) перебігом вагітності (група V). У вагітних груп I-IV з діагностованою ЗНВ рівень прогестерону в день тестування був нижчим за норму. Навіть після проведеного двотижневого патогенетичного лікування діагностованого ЗНВ рівень прогестерону в крові вагітних відповідав лише нижній межі норми.

Як видно з таблиці, точність діагностики за способом, що заявляється, перевищує таку за відомим способом-прототипом на 23,3 %. Досліди 1 і 2 (групи II і III) показали, що суттєвою ознакою способу, що заявляється, є обов'язкове визначення двох діагностичних показників -  $\gamma$ -IFN/IL-10 та IPI, які повинні перевищувати значення 0,5 та 1,8 відповідно. Причому, кожен з них окремо за точністю поступається відомому способу-прототипу (53,3 % і 66,7 % проти 70 %).

В результаті дослідження виявлено достовірні діагностичні критерії, що дозволяють діагностувати ЗНВ порівняно з відомим способом на 3 тижні раніше та точніше на 23,3 % за 2 тижні до появи клінічних симптомів цієї патології. Отримані результати, що свідчать про порушення толерантності імунної системи до ембріона (плода), дозволяють своєчасно призначати вагітним жінкам обґрунтоване патогенетичне лікування, спрямоване на зміну в роботі імунної системи вагітної у бік «імуносупресії», що сприятиме збереженню та пролонгації вагітності.

Спосіб діагностики ЗНВ у жінок, що заявляється, реалізують таким чином.

Вагітній жінці в 6-7 тижнів вагітності натщесерце з кубітальної вени беруть пробу крові та тестують її за відомими методиками для визначення концентрацій  $\gamma$ -IFN, IL-10, CD 4+ та CD 8+. Одержавши результати тестувань, вираховують відношення числових значень  $\gamma$ -IFN / IL-10 і CD 4+ / CD 8+. Останнє позначили показником IPI. Якщо відношення  $\gamma$ -IFN/IL-10 більше 0,5 одночасно зі значенням показника IPI більше 1,8, то у вагітної діагностують ЗНВ.

Конкретні приклади реалізації способу, що заявляється.

Приклад 1. Вагітна Д., 18 років. В анамнезі - 1 медичний аборт, без ускладнень. Нинішня вагітність - друга. Скарг не пред'являє. Діагноз: вагітність друга, 6 тижнів.

При піхвовому дослідженні: шийка матки відхилена дозаду, чиста, піхвова частина шийки матки довжиною 2,5-3 см, щільна, зовнішній зів закритий, виділення слизові. Результати піхвового дослідження відповідають терміну вагітності. За даними УЗД: в порожнині матки є плодове яйце, середній діаметр 25 мм, в ньому - ембріон, куприко-тім'яний розмір (КТР) ембріона 7 мм, що відповідає 6 тижням вагітності. Число серцевих скорочень (ЧСС (+)) 154 за хвилину, ритмічне. Хоріон перебуває на дні матки, товщина 5,6 мм. Ознак загрози не виношування вагітності немає.

Загальний аналіз крові: гемоглобін 122 г/л, еритроцити  $3,7 \cdot 10^{12}$ /л, гематокрит 0,36, лейкоцити  $8,8 \cdot 10^9$ /л, лімфоцити 23%, ШОЕ 10 мм/год. За наведеними вище даними обстеження вагітної Д. патології не виявило.

З метою діагностики ЗНВ за відомим способом-прототипом вагітній Д. провели дослідження концентрації  $\gamma$ -IFN і IL-10 і вираховували співвідношення одержаних числових значень  $\gamma$ -IFN / IL-10. Отримано такі результати: концентрація  $\gamma$ -IFN 4,0 пг/мл; IL-10 8,1 пг/мл;  $\gamma$ -IFN / IL-10 = 0,49, що відповідало показникам в групі з фізіологічним перебігом вагітності.

Хоча в 6 тижнів вагітності ЗНВ не діагностували, проте через 2 тижні вагітна Д. надійшла у відділення патології вагітних зі скаргами на ниючий біль у попереку та внизу живота, мажучі кров'янисті виділення зі статевих шляхів. Проведено клініко-лабораторне обстеження.

За даними УЗД: в порожнині матки є плідне яйце, середній діаметр 26 мм, в ньому - ембріон, ЧСС (+) 156 за хвилину, ритмічне, КТР ембріона 13 мм, що відповідає 8 тижням вагітності. Хоріон перебуває в дні матки, товщина його 7 мм, по нижньому полюсу хоріона ділянка відшарування складає 4 мм, є гіпертонус по передній стінці матки. Дані УЗД характерні для ЗНВ.

При піхвовому дослідженні: шийка матки відхилена дозаду, піхвова частина шийки матки довжиною до 2,5 см, щільна, цервікальний канал закритий, виділення кров'янисті, помірні. Отримані дані піхвового дослідження відповідають клінічній картині ЗНВ. За результатами клініко-лабораторного обстеження виставлено діагноз: вагітність друга, 8 тижнів, ЗНВ. Хворій призначено лікування, спрямоване на подовження вагітності.

Вагітність закінчилася терміновими нормальними пологамі. Народився живий доношений плід чоловічої статі масою 3100,0 г, зріст 52 см, з оцінкою за шкалою Апгар 7/8 балів.

Приклад 2. Вагітна А., 20 років, першовагітна. Скарг не пред'являє. Діагноз: вагітність перша, 7 тижнів. При піхвовому дослідженні: шийка матки відхилена дозаду, чиста, піхвова частина шийки матки довжиною 3 см, щільна, зовнішній зів закритий, виділення слизові. Результати

півхвостового дослідження відповідають терміну вагітності. За даними УЗД: в порожнині матки є плодове яйце, середній діаметр 27 мм, в ньому - ембріон, КТР 12 мм, що відповідає 7 тижням вагітності. ЧСС (+) 160 за хвилину, ритмічне. Хоріон перебуває в дні матки, товщина 7 мм. Ознак ЗНВ немає.

5 Загальний аналіз крові: гемоглобін 125 г/л, еритроцити  $3,6 \cdot 10^{12}$ /л, гематокрит 0,35, лейкоцити  $7,8 \cdot 10^9$ /л, лімфоцити 24%, ШОЕ 12 мм/год. За наведеними даними обстеження патології у вагітної А. не виявило.

З метою діагностики ЗНВ за способом, що заявляється, вагітній А. провели дослідження концентрації  $\gamma$ -IFN і IL-10 і вираховували співвідношення одержаних числових значень  $\gamma$ IFN / IL-10.

10 Отримано такі результати: концентрація  $\gamma$ -IFN 5,83 пг/мл; IL-10 7,2 пг/мл;  $\gamma$ -IFN/IL-10 = 0,81. Також для даної вагітної визначили концентрацію Т-лімфоцитів: CD4+ і CD8+ і вираховували показник IPI. Концентрація CD4+ склала 36,3%, CD8+ - 14,3%.  $IPI = CD4+ / CD8+ = 36,3 / 14,3 = 2,54$ . Оскільки відношення  $\gamma$ -IFN/IL-10 більше 0,5, а значення IPI більше 1,8, то згідно з корисною моделлю, у вагітної А. діагностували ЗНВ на 7 тижні вагітності. Для перевірки правильності

15 діагнозу проаналізували кров вагітної А. на визначення рівня прогестерону, який виявився нижче норми: 80,3 нмоль/л (норма 82,0-89,0). Їй призначили відповідну патогенетичну терапію. Через 14 днів від початку лікування проведено повторне імунологічне дослідження й отримано наступні результати:  $\gamma$ -IFN 3,8 пг/мл; IL-10 8,2 пг/мл;  $\gamma$ -IFN/IL-10 = 0,46. CD4+ склав 25,6%, CD8+ - 15,7%. IPI склав 1,63. Отримані дані відповідали показникам в групі вагітних з фізіологічним

20 перебігом вагітності, що підтверджено рівнем прогестерону: 92,4 нмоль/л (92,5-104,5). Вагітність у пацієнтки А. закінчилася терміновими нормальними пологами. Народився живий доношений плід жіночої статі масою 3150,9 г, зростом 54 см, з оцінкою за шкалою Апгар 7/8 балів.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

25 Спосіб діагностики загрози невиношування вагітності у жінок шляхом аналізування крові вагітної для визначення концентрацій  $\gamma$ -інтерферону й інтерлейкіну-10, вирахування відношення величин цих концентрацій, і в разі одержання числового значення відношення більше 0,5

30 діагностування загрози не виношування вагітності, який **відрізняється** тим, що кров аналізують в строк 6-7 тижнів вагітності, додатково в крові вагітної визначають концентрації Т-лімфоцитів CD4+ і CD8+, розраховують відношення величин цих концентрацій, і в разі одержання числового значення відношення більше 1,8 одночасно зі значенням відношення концентрацій  $\gamma$ -інтерферону й інтерлейкіну-10 більше 0,5 діагностують загрозу невиношування вагітності.

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

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