

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290843** (13) **A2**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки
2022.09.30(51) Int. Cl. **G01N 33/48 (2006.01)**(22) Дата подачи заявки
2021.03.09(54) **СПОСОБ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ I ТРИМЕСТРА ГЕСТАЦИИ**(96) **2022/EA/0014 (BY) 2021.03.09**

(74) Представитель:

(71)(72) Заявитель и изобретатель:

Косцова Л.В. (BY)

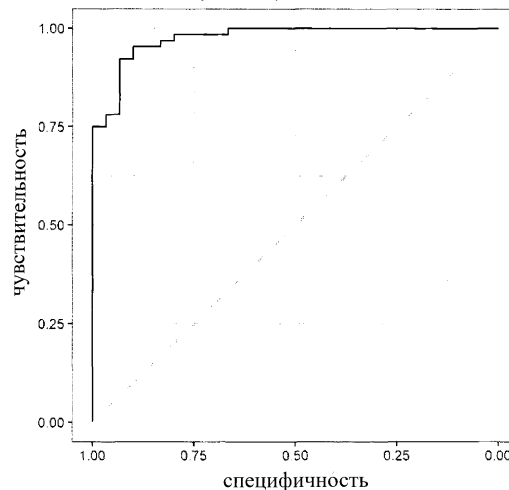
**КОСЦОВА ЛЮБОВЬ
ВЛАДИМИРОВНА; ГУТИКОВА
ЛЮДМИЛА ВИТОЛЬДОВНА (BY)**

(57) Изобретение относится к области медицины, а именно к акушерству и гинекологии, и может использоваться для диагностики или прогнозирования невынашивания беременности до 12 недель, что позволит своевременно проводить лечебные мероприятия и уменьшить риски развития осложнений в случае погибшего плодного яйца. Сущность изобретения заключается в том, что при исследовании венозной крови определяют в сыворотке крови гликоделин, в плазме крови фибронектин, в цельной крови уровень лейкоцитов, моноцитов и СОЭ, полученные значения подставляют в регрессионное уравнение:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot X1 + 0,0347 \cdot X2 + 1,49 \cdot X3 + 0,1381 \cdot X4 + 0,788 \cdot X5,$$

где LP - линейный предиктор; X1 - гликоделин, нг/мл; X2 - фибронектин, нг/мл; X3 - количество лейкоцитов $\times 10^9/\text{л}$; X4 - СОЭ, мм/час; X5 - моноциты, %, и в случае, если LP равен 0,4164 или более, диагностируют невынашивание беременности.

AUC = 0.976 (0.95 - 1)

**A2****202290843****202290843****A2**

СПОСОБ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ I ТРИМЕСТРА ГЕСТАЦИИ

Изобретение относится к области медицины, а именно акушерству и гинекологии, и может использоваться для диагностики или прогнозирования невынашивания беременности до 12 недель, что позволит своевременно проводить лечебные мероприятия и уменьшить риски развития осложнений в случае погибшего плодного яйца.

На сегодняшний день способам диагностики и прогнозирования невынашивания беременности посвящено значительное количество работ. При этом просматриваются два основных направления разрабатываемых методик: биохимические, гормональные и иммунологические, с одной стороны, и инструментальные (ультразвуковое и доплерометрическое исследование) - с другой.

Из первой группы методов известен способ прогнозирования невынашивания беременности в ранние сроки путем определения в периферической крови концентрации фактора угнетающего миграцию лейкоцитов до и после однократной иммунизации донорскими лейкоцитами [1].

Недостатками способа являются техническая сложность выполнения, а также невозможность динамического наблюдения за состоянием беременности с помощью этого метода.

Известен способ ранней диагностики невынашивания беременности путем определения в периферической крови относительного содержания нейтрофилов, имеющих на своей поверхности структуры, реагирующие с трофобластическим X-гликопротеидом [2].

Недостатками приведенного способа являются трудоемкость и неспецифичность.

Известен способ прогнозирования невынашивания беременности путем ультразвукового исследования органов малого таза и определения в сыворотке крови прогестерона, хорионического гонадотропина и уровня альфа-2-микроглобулина в сыворотке крови [3].

Недостатком данного способа является его неспецифичность.

Наиболее близким к предлагаемому является способ прогнозирования угрозы прерывания беременности путем определения содержания периферических Т-лимфоцитов до и после инкубации с гликоделином [4].

Данный способ имеет главный недостаток – трудоемкость, что ограничивает его применение ввиду сложности выполнения.

Задача изобретения – расширение арсенала способов ранней диагностики невынашивания беременности I триместра гестации.

Указанная задача решается путем исследования венозной крови беременной в I триместре, при этом определяют в сыворотке крови гликоделин, в плазме крови фибронектин, в цельной крови уровень лейкоцитов, моноцитов и СОЭ, после чего полученные значения подставляют в регрессионное уравнение:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot X_1 + 0,0347 \cdot X_2 + 1,49 \cdot X_3 + 0,1381 \cdot X_4 + 0,788 \cdot X_5,$$

где LP – линейный предиктор,

X1 – гликоделин, нг/мл;

X2 – фибронектин, нг/мл;

X3 - количество лейкоцитов $\times 10^9/\text{л}$;

X4 – СОЭ, мм/час;

X5 – моноциты, %,

и в случае, если LP равен 0,4164 или более, диагностируют невынашивание беременности.

Способ осуществляют следующим образом. У беременной женщины в I триместре утром натощак из локтевой вены забирают кровь для определения концентрации гликоделина, фибронектина, лейкоцитов, моноцитов и СОЭ. Полученные значения подставляют в регрессионное уравнение:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot X_1 + 0,0347 \cdot X_2 + 1,49 \cdot X_3 + 0,1381 \cdot X_4 + 0,788 \cdot X_5,$$

где LP – линейный предиктор; X1 – гликоделин, нг/мл; X2 – фибронектин, нг/мл; X3 - количество лейкоцитов $\times 10^9/\text{л}$; X4 – СОЭ, мм/час; X5 – моноциты, %, и в случае, если LP равен 0,4164 или более, диагностируют невынашивание беременности.

Исследование гликоделина и фибронектина проводили с помощью иммуноферментного анализа. Уровень лейкоцитов, моноцитов и СОЭ определяли общеклиническими рутинными методами.

Приводим доказательства возможности осуществления заявляемого способа. В исследовании приняло участие 94 женщины. Проведено определение концентрации гликоделина, фибронектина, лейкоцитов, моноцитов, СОЭ в крови у 30 здоровых беременных (контрольная группа), состоящих на учете по беременности в женской консультации и 64 женщин (основная группа) с невынашиванием беременности ранних сроков до инструментального и медикаментозного опорожнения полости матки, находящихся на стационарном лечении в гинекологическом отделении. Из анамнеза нарушения менструальной функции, тяжелой соматической и гинекологической патологии не наблюдалось.

Срок беременности исследуемых в двух группах составил 9,9 (8,7;11,1) и 10,6 (9,9;11,4) недель соответственно. В первые сутки после поступления в стационар у всех обследуемых женщин оценивали показатели гликоделина, фибронектина, лейкоцитов,

моноцитов, СОЭ в крови и проводили сопоставление данных для каждой женщины индивидуально.

Результаты исследования обработаны на персональном компьютере с использованием стандартных компьютерных программ. Для проведения статистического анализа использовался пакет программ «Statistica 10» и язык программирования «R» версии 4.1. Описательные статистики численных показателей представлены в виде $Me(Q1;Q3)$, где Me – медиана показателя, $Q1$, $Q3$ – первый и третий квартили. Мы выявили, что различия между группами по частоте изучаемых показателей присутствует при $P < 0,05$.

В таблице 1 представлены концентрации гликоделина, фибронектина, лейкоцитов, моноцитов, СОЭ у женщин сравниваемых групп в I триместре беременности.

Таблица 1.

Концентрации гликоделина, фибронектина, лейкоцитов, моноцитов, СОЭ у женщин сравниваемых групп в I триместре беременности

	Контрольная группа Me (Q1;Q2)	Основная группа Me (Q1;Q2)	Статистика теста
Гликоделин, нг/мл	11,99 (2,62;54,23)	0,686 (0,412;15,96)	$p < 0,05$
Фибронектин, нг/мл	295,41 (268,23;325,62)	332,98 (305,91;358,03)	$p < 0,05$
Лейкоциты $\times 10^9/л$	6,4 (5,6;7,2)	8,7 (7,47;10,46)	$p < 0,05$
Моноциты %	4(3;4)	6 (5;7)	$p < 0,05$
СОЭ, мм/ч	6 (4;14)	8 (5;13)	$p < 0,05$

Примечание: Me – медиана показателя;

$Q1$, $Q3$ – первый и третий квартили;

p – величина, используемая при тестировании статистических гипотез

Из приведенных в таблице 1 данных следует, что у беременных с невынашиванием беременности отмечается снижение уровня гликоделина и повышение уровней фибронектина, лейкоцитов, моноцитов и СОЭ по сравнению с группой контроля.

Нами было построено уравнение бинарной регрессии с логит-функцией связи. Данное уравнение составлено на основании данных наблюдений за выборкой из 94 пациентов.

В таблице 2 представлены оценки параметров модели.

Таблица 2.

Оценки коэффициентов регрессионной модели

Coef.name	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-25,0529	5,4693	-4,5806	0
X1	-0,0724	0,0215	-3,3732	0,0007
X2	0,0347	0,0105	3,3184	0,0009
X3	1,49	0,3648	4,0842	0
X4	0,1381	0,0646	2,1382	0,0325
X5	0,788	0,2255	3,4935	0,0005

Примечание:

X1 – гликоделин, нг/мл; X2 – фибронектин, нг/мл; X3 – кол-во лейкоцитов $\times 10^9/\text{л}$; X4 – СОЭ, мм/час; X5 – моноциты, %.

Как видно из таблицы 2, оценки коэффициентов предикторов статистически значимы (при пороговом значении $=0.05$), поэтому все предикторы включены в модель. Линейный предиктор LP уравнения логистической регрессии, согласно данной модели будет иметь вид:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot X1 + 0,0347 \cdot X2 + 1,49 \cdot X3 + 0,1381 \cdot X4 + 0,788 \cdot X5.$$

При $LP \geq 0,4164$ принимается решение об отнесении исследуемых к группе беременных с невынашиванием беременности ранних сроков.

На фиг.1 приведена ROC-кривая модели.

Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,976(0,95 - 1), что свидетельствует об удовлетворительной предсказательной способности построенной модели. В качестве порога отсечения была выбрана вероятность $p_0 = 0,4164$. При данном пороге отсечения чувствительность равна $Se = 95,31\%$, специфичность $Sp = 90\%$, точность $Acc = 93,62\%$. При данном пороге отсечения также определим прогностические значимости: положительную (PPV) и отрицательную (NPV). $PPV = 95,31\%$.

Приводим примеры конкретного использования заявляемого способа.

Пример 1. Беременная Р., 29 лет. Беременность первая. Срок беременности 8 недель. Жалоб не предъявляла. Из анамнеза нарушений менструальной функции, гинекологических и соматических заболеваний не выявлено. При осмотре – матка не соответствует сроку гестации, отмечается повышенный тонус матки, наружный зев пропускает кончик пальца.

Обследование по заявляемому способу: уровень гликоделина равен 0,713 нг/мл, фибронектина – 330,822 нг/мл, лейкоцитов – $9,0 \times 10^9/\text{л}$, моноцитов – 7,0 % и СОЭ – 12,0 мм/ч. Полученные значения подставлялись в регрессионное уравнение:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot 0,713 + 0,0347 \cdot 330,822 + 1,49 \cdot 9,0 + 0,1381 \cdot 12,0 + 0,788 \cdot 7,$$

$$LP = 6,96, LP \geq 0,4164.$$

Заключение: невынашивание беременности.

Беременность закончилась репродуктивной потерей.

Пример № 2. Беременная Ц. 28 лет, беременность вторая. Первая беременность закончилась родами в срок и рождением здорового ребенка женского пола весом 3150 г. Из анамнеза нарушений менструальной функции, гинекологических и соматических заболеваний не выявлено. На учет в женскую консультацию встала в 8 недель беременности. Жалоб не предъявляла. При наружном осмотре: шейка матки без дефектов, наружный зев

сомкнут. Тело матки увеличено до 8-недельного срока беременности (что соответствует периоду аменореи), мягковатой консистенции, безболезненное при пальпации, тонус нормальный, возбудимость не повышена. Придатки не определяются. Выделения слизистые, умеренные. Диагноз: беременность 8 недель.

Обследована по заявляемому способу: уровень гликоделина равен 13,27 нг/мл, фибронектина – 261,31 нг/мл, лейкоцитов – $4,3 \times 10^9/\text{л}$, моноцитов – 3% и СОЭ – 3 мм/ч.

Полученные значения подставлялись в регрессионное уравнение:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot 13,27 + 0,0347 \cdot 261,31 + 1,49 \cdot 4,3 + 0,1381 \cdot 3 + 0,788 \cdot 3,$$

$$LP = -7,75, \quad LP < 0,4164.$$

Заключение: физиологическое течение беременности.

В настоящее время беременность в сроке 35 недель протекает без осложнений.

Из приведенных примеров видно, что заявляемый способ имеет следующие преимущества:

- применение в ранние сроки беременности (до 12 недель);
- доступность способа;
- возможность использования способа независимо от причины невынашивания беременности;
- предлагаемые показатели могут быть использованы в качестве скрининговых тестов в диагностике ранних репродуктивных потерь;
- безопасен для здоровья беременной и плода;
- высокая точность, чувствительность и специфичность.

Таким образом, заявляемый способ позволяет осуществлять раннюю диагностику невынашивания в I триместре до появления клинической картины данной патологии, что позволяет своевременно провести лечебные мероприятия и уменьшить риски развития осложнений в случае погибшего плодного яйца. Способ может быть использован в стационарных и амбулаторных условиях. Противопоказаний к применению предлагаемого способа не выявлено.

Литература.

1. Патент RU №2014598, 1994г.
2. Патент RU №2077729, 1997 г.
3. Патент RU №2004135161, 2006 г.
4. Патент RU №2077727, 1997 г.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ ранней диагностики невынашивания беременности I триместра гестации, включающий исследование венозной крови, *отличающийся* тем, что определяют в сыворотке крови гликоделин, в плазме крови фибронектин, в цельной крови уровень лейкоцитов, моноцитов и СОЭ, полученные значения подставляют в регрессионное уравнение:

$$LP = -25,0529 - 0,0724 \cdot X1 + 0,0347 \cdot X2 + 1,49 \cdot X3 + 0,1381 \cdot X4 + 0,788 \cdot X5,$$

где LP – линейный предиктор,

X1 – гликоделин, нг/мл;

X2 – фибронектин, нг/мл;

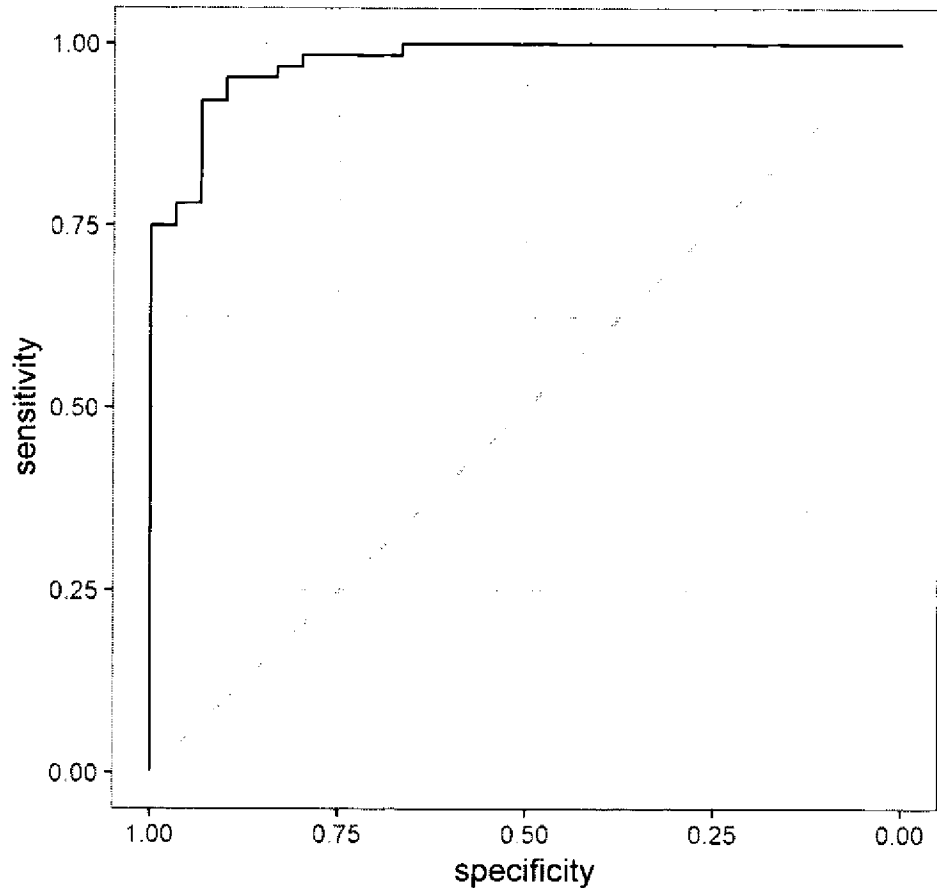
X3 - количество лейкоцитов $\times 10^9/\text{л}$;

X4 – СОЭ, мм/час;

X5 – моноциты, %,

и в случае, если LP равен 0,4164 или более, диагностируют невынашивание беременности.

AUC = 0.976 (0.95 - 1)



Фиг.1