



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **110329**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 02186**

(22) Дата подання заявки: **09.03.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.10.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.10.2016, Бюл.№ 19**

(72) Винахідник(и):

**Булавенко Ольга Василівна (UA),
Коньков Дмитро Геннадійович (UA),
Коцюбська Ірина Юрївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І.
ПИРОГОВА,
вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)**

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ НЕДОСТАТНОСТІ ЛЮТЕЇНОВОЇ ФАЗИ ОВАРІАЛЬНОГО ЦИКЛУ ПРИ БЕЗПЛІДДІ ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ҐЕНЕЗУ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу при безплідді трубно-перитонеального ґенезу включає визначення в менструальній крові вмісту альфа-2-мікроглобуліну фертильності та при показниках альфа-2-мікроглобуліну фертильності від 4000 нг/мл до 12000 нг/мл діагностують недостатність лютеїнової фази менструального циклу.

UA 110329 U

Корисна модель належить до галузі клінічної медицини, а саме до акушерства і перинатології, та може бути застосована з метою діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу при безплідді трубно-перитонеального ґенезу. Суть способу полягає в тому, що у жінок трубно-перитонеальною формою безпліддя для діагностики недостатності лютеїнової фази поряд з визначенням прогестерону у сироватці крові (на добу +7 після овуляції або на добу +8 після піку лютеїнізуючого гормону) додатково проводять аналіз вмісту альфа-2-мікроглобуліну фертильності (АМГФ) в менструальній крові (на 2-3 добу менструального циклу). При величинах АМГФ, від 4000 нг/мл до 12000 нг/мл діагностують недостатність лютеїнової фази менструального циклу. Спосіб забезпечує високу точність діагностики, дозволяє не тільки діагностувати недостатність лютеїнової фази, як важливу ознаку оваріальної дисфункції, проте й прогнозувати додаткові фактори інфертильності при безплідді трубно-перитонеального ґенезу, що надає можливість в проведенні своєчасних та оптимальних лікувально-профілактичних заходів.

Актуальність проблеми корисної моделі пов'язана з тим, що недостатність лютеїнової фази (НЛФ) менструального циклу - одне з серйозних порушень репродуктивного здоров'я жінок. Випадки НЛФ як причини безплідності зустрічаються у 15-32 % пацієнтів клінік з ДРТ, а у жінок із звичним невиношуванням - діагностується в 85 % випадків [Булавенко О.В. Недостатність лютеїнової фази: клініка, діагностика та лікування: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.01. /О.В. Булавенко, 2008. - 34 с.] Отже, рання діагностика недостатності лютеїнової фази менструального циклу, особливо при безплідді трубно-перитонеального ґенезу, при допомозі визначення прогестерону у сироватці крові у лютеїнові фазу та додаткового дослідження альфа-2-мікроглобуліну фертильності (АМГФ) в менструальній крові потенційно дозволить покращити клінічні наслідки клінічного менеджменту інфертильності.

Відомо, що для діагностики недостатності лютеїнової фази використовують ультразвукові та гістологічні методи дослідження дослідження [Патент на корисну модель Патент на винахід № 52399 U UA, МПК А61В 8/00. /Абдулаєв Р.А. (UA), Грищенко О.В. (UA), Де Джо Віктор Дункан (UA). № u20101913; Заявл. 22.02.2010; Опубл. 25.08.2010; Спосіб діагностики недостатності лютеїнової фази; Хмельницький О.К. "Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний". - СПб.: "Сотис", 1994. - С. 115-151]. Проте, неоліком сонографічного дослідження є його низька діагностична цінність, а гістологічне дослідження вимагає спеціальних умов та є інвазивним. Інший спосіб діагностики недостатності лютеїнової фази, полягає у тому, що проводиться дослідження вмісту лімфоцитів з антигенним маркером CD4 та CD8 та обчислення їхнього коефіцієнта та вмісту в крові фактора MIP 1b. При цьому прогностичне значення розвитку недостатності лютеїнової фази має зниження коефіцієнта CD4/CD8 лімфоцитів від нижче 0,8 до 0,5 включно (норма 1,0), MIP 1b від нижче ПО пг/мл до 75 пг/мл включно (норма 130 пг/мл); при розвитку ановуляції - зниження коефіцієнта CD4/CD8 нижче 0,5 (норма 1,0), MIP 1b від нижче ПО пг/мл (норма 130 пг/ мл). [Патент на винахід № 89458 С2 UA, МПК А61В 10/00. /Подольський В.В. (UA), Дронова В.Л. (UA), Чернишов В.П. (UA), та ін. № a200813409; Заявл. 20.11.2008; Опубл. 25.01.2010; Спосіб прогнозування розвитку недостатності лютеїнової фази менструального циклу та ановуляції у ВІЛ-інфікованих жінок репродуктивного віку]. Суттєвим неоліком даного способу є те, що він дозволяє отримати наближену характеристику, оскільки показники трансмембранних глікопротеїнів та фактора, який визначає здатність лімфоцитів протистояти проникненню та їх руйнації вірусом імунодефіциту, більше специфічні для ВІЛ-інфікованих жінок. Тобто, динамічні зміни отриманих показників не можуть бути відповідальними суто за порушення, що пов'язані з оваріальної дисфункцією, на відміну від АМГФ [Glycodelin in endometrial flushing fluid and endometrial biopsies from infertile and fertile women /U. Bentin-Ley, A. Lindhard, V. Ravn, et al. //Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol-2011. - Vol. 156 (1). - P. 60-66].

Найбільш близьким та вибраним за прототип є спосіб прогнозування фертильної функції жінок з єдиною матковою трубою після позаматкової вагітності. Спосіб полягає у тому, що в перитонеальній рідині, взятій під час лапароскопічної операції, визначають концентрацію АМГФ і при його кількісних значеннях, рівних 2,7 нг/мл і більше, прогнозують відновлення фертильності у вигляді можливості настання вагітності [Патент на винахід № 2219552 RU, МПК G01N 33/573. /Посисеева Л.В. (RU), Воронцов Д.М. (RU), Герасимов А.М. (RU). № 2002103746; Заявл. 18.02.2002; Опубл. 25.01.2010; Спосіб прогнозування фертильності женщин с единственной маточной трубой после внематочной беременности]. Неоліками відомого способу є інвазивний метод виконання, що вимагає достатнього інструментального та методичного забезпечення, значна тривалість процедури, потреба у додатковому знеболенні.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу при безплідді трубно-перитонеального

ґенезу, шляхом визначення вмісту АМГФ в менструальній крові, що дозволить підвищити достовірність та точність результатів дослідження. Підставою для цієї пропозиції була вперше встановлена авторами корисної моделі закономірність, яка полягає в тому, що зниження рівня АМГФ в менструальній крові є одним з найбільш надійних маркерів недостатності лютеїнової фази менструального циклу при трубно-перитонеальній формі безпліддя.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу при безплідді трубно-перитонеального ґенезу, шляхом визначення концентрації АМГФ, в менструальній крові, від 4000 нг/мл до 12000 нг/мл діагностують недостатність лютеїнової фази менструального циклу.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у наступному - лабораторні методи дослідження, на які спираються при прогнозуванні гінекологічної патології, базуються на визначенні рівня окремих субстанцій у менструальній крові. При цьому достовірність та точність оцінки діагностики НЛФ залежить від характеристики критеріальних показників, рівень яких визначають у біологічній рідині.

Спосіб здійснюється таким чином

При розробці запропонованого способу діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу при безплідді трубно-перитонеального ґенезу були обстежені 50 жінок з трубно-перитонеальною формою безпліддя, які були рандомізовані за віком та особливостями акушерсько-гінекологічного і соматичного анамнезу. Група порівняння складалась з 20 жінок репродуктивного віку на тлі соматичного здоров'я (табл.).

Проводилося визначення прогестерону у сироватці крові (на добу +7 після овуляції або на добу +8 після піку лютеїнізуючого гормону) та концентрації АМГФ в менструальній крові (на 2-3 добу менструального циклу).

Для визначення вмісту АМГФ в менструальній крові використовувався імуноферментний аналіз на тест-системах з використанням моноклональних антитіл до АМГФ, з використанням діагностичних наборів "АМГФ-Фертитест-М" (виробник ТОВ "Діатех-ЕМ", Росія).

Для імуно-гістохімічного дослідження матеріал (менструальну кров, отриману на 2-3 добу менструації) заливали у середовище для заморожування Tissue-Tek (Miles Inc., USA). У подальшому проводили виготовлення кріостатних зрізів товщиною до 5 мкм, які потім фіксували у 4 % параформальдегіду (10 хв) з дофіксацією метанолом (10 хв).

Визначення АМГФ проводили методом непрямого імуно-пероксидазного фарбування за допомогою моноклональних антитіл. Як хромоген ми використовували 3,3'-діамінобензол.

Статистичну обробку даних проводили методами описової статистики і одновимірного однофакторного аналізу (критерій Ст'юдента) з використанням статистичного пакета AnalystSoft Inc., BioStat - Версія 2009. Критична величина рівня значимості для оцінки статистичної значущості прийнята рівною 0,05.

При недостатності лютеїнової фази менструального циклу відзначалось прогресивне зменшення як показників АМГФ в менструальній крові, так й сироваткового рівня прогестерону у жінок з безпліддям трубно-перитонеального ґенезу. Середній рівень вмісту в менструальній крові АМГФ був статистично-достовірно нижчим у жінок з безпліддям, проти жінок з групи порівняння ($4026,5 \pm 624,2$ нг/мл проти $34\ 648,2 \pm 4774,6$ нг/мл). Подібна статистично-вірогідна тенденція відзначалась й відносно сироваткової концентрації прогестерону у групах дослідження ($10,2 \pm 2,8$ нмоль/л проти $24,6 \pm 3,1$ нмоль/л (табл.).

Приклад 1: Жінка Л., 35 років. Звернулася до медичного центру "Медівін" з діагнозом: Вторинне безпліддя трубно-перитонеального ґенезу. При зверненні рівень прогестерону у сироватці крові 8,4 нмоль/л., АМГФ в менструальній крові на 2 добу менструального циклу склав 5060,4 нг/мл.

Діагностовано недостатність лютеїнової фази менструального циклу.

Приклад 2: Жінка А., 32 роки. Звернулася до медичного центру "РемедіВін" з діагнозом: Вторинне безпліддя трубно-перитонеального ґенезу. При зверненні рівень прогестерону у сироватці крові 16,2 нмоль/л., АМГФ в менструальній крові на 2 добу менструального циклу склав 3672,2 нг/мл.

Діагностовано недостатність лютеїнової фази менструального циклу.

Таким чином, отримані в ході нашого дослідження результати по вмісту АМГФ у менструальній крові можуть відображати формування патологічних ланок недостатності лютеїнової фази, а саме повноцінності функції ендометрію у жінок з трубно-перитонеальною формою безпліддя.

Це дозволяє рекомендувати запропонований спосіб діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу для жінок з безпліддям трубно-перитонеального ґенезу до

використання задля визначення важливого критерію прогнозування стану репродуктивної функції.

Таблиця

Результати дослідження АМГФ у менструальній крові та прогестерону у сироватці крові (проспективне дослідження), n=70, M+m

Групи	АМГФ, нг/мл	Прогестерон, нмоль/л
Основна клінічна група, (n=50)	4026,5±624,2*	10,2±2,8*
Група порівняння, (n=20)	34 648,2±4774,6	24,6±3,1

Примітка - *різниця достовірна відносно групи порівняння (p <0,05).

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики недостатності лютеїнової фази менструального циклу при безплідді трубно-перитонеального ґенезу, що включає визначення в менструальній крові вмісту альфа-2-мікроглобуліну фертильності та при показниках альфа-2-мікроглобуліну фертильності від 4000 нг/мл до 12000 нг/мл діагностують недостатність лютеїнової фази менструального циклу.

10

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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

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