

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043444**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.25

(51) Int. Cl. **G01N 33/50** (2006.01)

(21) Номер заявки
202291924

(22) Дата подачи заявки
2022.06.13

**(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ РИСКА РАЗВИТИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ПОТЕРИ У
БЕРЕМЕННЫХ В I ТРИМЕСТРЕ**

(43) **2023.05.04**

(56) RU-C1-2611358

(96) **2022/ЕА/0034 (ВУ) 2022.06.13**

RU-C1-2465589

WO-A1-2005031364

(71)(72)(73) Заявитель, изобретатель и
патентовладелец:

PRINS JR ET AL.: Interleukin-6 in pregnancy
and gestational disorders. J REPROD IMMUNOL.
2012 Sep, vol. 95, no. 1-2, pp. 1-14 doi: 10.1016/
j.jri.2012.05.004. Epub 2012 Jul 21. PMID: 22819759
реферат, пар. 3.8, пар. 4

**КОСЦОВА ЛЮБОВЬ
ВЛАДИМИРОВНА (ВУ)**

(57) Изобретение относится к области медицины, а именно акушерству и гинекологии, и может использоваться для ранней диагностики самопроизвольного аборта или погибшего плодного яйца и непустырного заноса у беременных в I триместре, а также для своевременного проведения лечебных мероприятий и уменьшения риска развития осложнений у данной категории пациентов. Сущность изобретения заключается в том, что при исследовании венозной крови в сыворотке крови определяют интерлейкин-6, в цельной крови - уровень лейкоцитов и моноцитов, после чего полученные значения подставляют в регрессионное уравнение для нахождения линейного предиктора Z:

$$Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot X_1 + 0,8053 \cdot X_2 + 1,266 \cdot X_3 + 0,6962 \cdot X_4,$$

$X_1=1$ в случае первой беременности, $X_1=0$, если беременность повторная; X_2 - ИЛ-6, пг/мл; X_3 - количество лейкоцитов $\times 10^9/л$; X_4 - моноциты, %, и в случае, если линейный предиктор Z более -0,4519, у беременной определяют высокий риск развития репродуктивной потери в I триместре, в случае, если линейный предиктор Z равен -0,4519 или менее, риск оценивают как низкий. Чувствительность данного способа равна $Se=87,5\%$, специфичность $Sp=83,33\%$, точность $Acc=86,17\%$.

B1

043444

**043444
B1**

Изобретение относится к области медицины, а именно акушерству и гинекологии, и может использоваться для ранней диагностики самопроизвольного аборта или погибшего плодного яйца и непустырного заноса у беременных в I триместре, а также для своевременного проведения лечебных мероприятий и уменьшения риска развития осложнений у данной категории пациентов.

На сегодняшний день способам диагностики невынашивания беременности ранних сроков посвящено значительное количество работ.

Известен способ прогнозирования высокого риска репродуктивных потерь в первом триместре беременности, при котором из периферической венозной крови женщин выделяют ДНК с последующей амплификацией полиморфных вариантов A66G гена MTRR, -31C-T (rs 1143627) IL-1(3/-174G-C (rs 1800795)) IL-6 и C677T (rs 1801133) MTHFR. При выявлении одного из четырех генотипов: -31CT IL-1(3/-174GG IL-6/677CT MTHFR/66GG MTRR; -31 CT IL-1(3/-174CC IL-6/677CC MTHFR/66AG MTRR; -31CC IL-1(3/-174CC IL-6/677CC MTHFR/66AG MTRR; -31CC IL-1(3/-174GC IL-6/677CT MTHFR/66AG MTRR прогнозируют высокий риск репродуктивных потерь в первом триместре беременности [1].

Недостатками способа являются трудоемкость, трудновоспроизводимость. Кроме того, осуществление способа требует большого количества времени для его проведения и больших материальных затрат. Авторы не указывают точность, чувствительность и специфичность способа.

Известен способ прогнозирования исхода беременности у женщин с угрожающим выкидышем, при котором определяют продукцию фактора, угнетающего миграцию лейкоцитов, до и после проведения сохраняющей терапии и при его снижении на 25% и более по сравнению с исходным уровнем прогнозируют досрочное прерывание беременности [2].

Данный способ имеет ряд недостатков: не указаны сроки беременности, в которых возможно применение данного способа, имеется необходимость обследовать пациентку дважды - до и после проведения сохраняющей терапии, определение прогноза исхода беременности осуществляется только после проведения сохраняющей терапии, кроме того, в приведенном способе не указаны точность, чувствительность и специфичность.

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

Недостатком данного способа является его неспецифичность.

Задача изобретения - расширение арсенала способов оценки риска развития репродуктивной потери у беременных в I триместре.

Указанная задача решается путем исследования венозной крови беременной в I триместре, при этом в сыворотке крови определяют интерлейкин-6 (ИЛ-6), в цельной крови - уровень лейкоцитов и моноцитов, после чего полученные значения подставляют в регрессионное уравнение для нахождения линейного предиктора Z:

$$Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot X_1 + 0,8053 \cdot X_2 + 1,266 \cdot X_3 + 0,6962 \cdot X_4,$$

где Z - линейный предиктор,

$X_1=1$ в случае первой беременности, $X_1=0$, если беременность повторная;

X_2 - ИЛ-6, пг/мл;

X_3 - количество лейкоцитов $\times 10^9$ /л;

X_4 - моноциты, %,

и в случае, если линейный предиктор Z более -0,4519, у беременной определяют высокий риск развития репродуктивной потери в I триместре, в случае, если линейный предиктор Z равен -0,4519 или менее - риск оценивают как низкий.

Способ осуществляют следующим образом. У беременной женщины в I триместре утром натощак из локтевой вены забирают кровь для определения концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови, лейкоцитов и моноцитов в цельной крови. Полученные значения подставляют в регрессионное уравнение:

$$Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot X_1 + 0,8053 \cdot X_2 + 1,266 \cdot X_3 + 0,6962 \cdot X_4,$$

где Z - линейный предиктор, $X_1=1$ в случае первой беременности, $X_1=0$, если беременность повторная; X_2 - ИЛ-6, пг/мл; X_3 - количество лейкоцитов $\times 10^9$ /л; X_4 - моноциты, %.

Если линейный предиктор Z более -0,4519, у беременной определяют высокий риск развития репродуктивной потери в I триместре. Если линейный предиктор Z равен -0,4519 или менее - риск оценивают как низкий.

Исследование ИЛ-6 проводили с помощью иммуноферментного анализа. Уровень лейкоцитов и моноцитов определяли общеклиническими рутинными методами на гематологическом анализаторе.

Приводим доказательства возможности осуществления заявляемого способа. В исследовании приняло участие 94 женщины. Проведено определение концентрации ИЛ-6, лейкоцитов и моноцитов в крови у 30 женщин с физиологическим течением беременности (контрольная группа), состоящих на учете по беременности в женской консультации и 64 женщин (основная группа) с угрозой невынашивания беременности ранних сроков, находящихся на стационарном лечении в гинекологическом отделении с последующим подтверждением диагноза самопроизвольный аборт или погибшее плодное яйцо и непустырный

занос. Критерии включения: срок беременности 6-12 недель, одноплодная беременность, первичный эпизод невынашивания беременности, отсутствие анатомической, а также тяжелой соматической и гинекологической патологии.

Результаты исследования обработаны на персональном компьютере с использованием стандартных компьютерных программ. Для проведения статистического анализа использовался пакет программ "Statistica 10.0" 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 ходе проведенного исследования установлено, что возраст женщин основной группы составил 28 (25; 34) лет, у женщин группы контроля - 28 (25; 30) лет. Различия по возрасту между группами не выявлены ($p > 0,05$).

Сроки беременности в обеих группах значимо не различались ($p > 0,05$): 9,9 (8,7; 11,1) и 10,6 (9,9; 11,4) недель соответственно.

В табл. 1 представлены концентрации ИЛ-6, лейкоцитов, моноцитов у беременных сравниваемых групп в I триместре.

Таблица 1. Концентрации ИЛ-6, лейкоцитов, моноцитов у беременных сравниваемых групп в I триместре

	Контрольная группа Me (Q1;Q2)	Основная группа Me (Q1;Q2)	Статистика теста
ИЛ-6, пг/мл	0,25 (0,226;0,795)	0,774 (0,426;1,58)	$p < 0,05$
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)	$p < 0,05$

Примечание:

Me - медиана показателя;

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

p - величина, используемая при тестировании статистических гипотез.

Из приведенных в табл. 1 данных следует, что сдвиг в сторону провоспалительного цитокина - ИЛ-6, а также тенденция к лейкоцитозу и увеличению количества моноцитов характерны для беременных с угрозой невынашивания беременности.

Имеющиеся результаты измерений показателей в обеих группах, общим объемом в 94 беременных, позволили построить уравнение бинарной регрессии с логит-функцией связи.

В табл. 2 представлены оценки параметров модели.

Таблица 2. Оценки коэффициентов регрессионной модели

Переменная	Оценка коэффициента	Ст. ошибка коэффициента	z-значение	p
Своб. член	-12,7628	2,4971	-5,1111	0
X_1	-1,1792	0,6069	-1,9428	0,05
X_2	0,8053	0,2763	2,9149	0,0036
X_3	1,266	0,2778	4,5575	0
X_4	0,6962	0,1791	3,8876	0,0001

Примечание:

X_1 - первобеременные;

X_2 - ИЛ-6 пг/мл;

X_3 - количество лейкоцитов $\times 10^9/л$;

X_4 - моноциты, %.

Линейный предиктор Z уравнения логистической регрессии, согласно данной модели будет иметь вид: $Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot X_1 + 0,8053 \cdot X_2 + 1,266 \cdot X_3 + 0,6962 \cdot X_4$, а вероятность развития репродуктивной потери у беременных в I триместре определяется по формуле: $P = 1/[1 + e^{-Z}]$, где $e \approx 2,7182$.

Так как предполагается бинарная классификация пациентов, то необходимо выбрать порог отсечения по данной вероятности, превышение которого позволит отнести беременную к группе высокого риска по развитию репродуктивной потери в I триместре. Для выбора порога отсечения был выполнен ROC-анализ.

На фиг. 1 приведена ROC-кривая модели.

Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,93 (0,879-0,981), что свидетельствует о хорошей предсказательной способности построенной модели. По результатам ROC-анализа в качестве порога отсечения была выбрана вероятность $p_0 = 0,3889$. При данном пороге отсечения чувствительность равна $Se = 87,5\%$, специфичность $Sp = 83,33\%$, точность $Acc = 86,17\%$; прогностические значимости: положительная (PPV) и отрицательная (NPV) равны, соответственно, 91,8%, 75,76%

Приведём матрицу ошибок модели.

Таблица 3. Матрица ошибок модели

Действительное значение	Предсказанное значение	
	Патологии нет	Патология есть
Патологии нет	25	5
Патология есть	8	56

В практической деятельности для упрощения классификации можно использовать порог отсечения по линейному предиктору $Z_0 = -0,4519$, который является решением уравнения $P_0 = 1/[1+e^{-Z_0}]$. Превышение линейным предиктором Z для данной пациентки порогового значения Z_0 позволяет отнести беременную к группе высокого риска по развитию репродуктивной потери в I триместре.

На фиг. 2 представлена схема бинарной классификации моделью (сигмоидная функция). Здесь указаны также порог отсечения по линейному предиктору $Z_0 = LP_0 = -0,4519$ и соответствующая пороговая вероятность $p_0 = 0,3889$.

С точки зрения математических допущений полученная модель является адекватной, так как, как было указано выше, оценки коэффициентов являются статистически значимыми; остаточный девианс модели равен 80,9 в то время как для нуль-модели он составляет 171,77; значение информационного критерия Акаике равно 90,9, для нуль-модели - 119,73; также была выполнена кросс-валидация модели методом скользящего контроля с точностью в качестве функции цены: средняя точность составила 82,3%.

Приведём таблицу отношения шансов (ОШ) для независимых переменных в модели; укажем также 95%-е доверительные интервалы (ДИ) для каждого ОШ.

Таблица 4. ОШ (с 95%-ми ДИ) для независимых переменных в модели

Переменная	ОШ	нижняя граница 95% ДИ для ОШ	верхняя граница 95% ДИ для ОШ	p-значение оценки коэффициента
X ₁	0,3075	0,0866	0,9622	0,05
X ₂	2,2373	1,3123	3,9516	0,004
X ₃	3,5465	2,2078	6,6189	0,0001
X ₄	2,0061	1,4567	2,9715	0,0001

Примечание:

X₁ - первобеременные;

X₂ - ИЛ-6 пг/мл;

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

X₄ - моноциты, %.

Приводим примеры конкретного использования заявляемого способа.

Пример 1.

Беременная К., 29 лет. Беременность первая. На учет в женской консультации встала в 7 недель беременности. Обследована при взятии на учет. Жалоб не предъявляла. Установлено отсутствие нарушений менструальной функции, гинекологических и соматических заболеваний. При наружном осмотре - тело матки увеличено до 7 недель беременности, мягковатой консистенции, безболезненное при пальпации, тонус нормальный, возбудимость не повышена. Придатки не определяются. Выделения слизистые, умеренные. Наружный зев сомкнут. Беременная обследована по заявляемому способу: у женщины данная беременность первая - 1, уровень ИЛ-6 равен 11,0 пг/мл, лейкоцитов - $9,0 \times 10^9$ /л, моноцитов - 6%. Полученные значения подставлялись в регрессионное уравнение:

$$Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot 1 + 0,8053 \cdot 11 + 1,266 \cdot 9,0 + 0,6962 \cdot 6$$

$$Z = 10,49, Z \text{ больше } -0,4519.$$

Заключение: у беременной определяется высокий риск развития репродуктивной потери в I триместре.

Беременность закончилась ранней репродуктивной потерей.

Пример 2.

Беременная Ц., 28 лет, беременность первая. На учет в женскую консультацию встала в 8 недель беременности. Жалоб не предъявляла. Установлено отсутствие нарушений менструальной функции, гинекологических и соматических заболеваний. 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: у женщины данная беременность первая - 1, уровень ИЛ-6 - 0,676 пг/мл, лейкоцитов - $4,3 \times 10^9$, моноцитов - 5%. Полученные значения подставлялись в регрессионное уравнение:

$$Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot 1 + 0,8053 \cdot 0,676 + 1,266 \cdot 4,3 + 0,6962 \cdot 5$$

$$Z = -4,47, Z \text{ меньше } -0,4519$$

Заключение: у беременной риск развития репродуктивной потери в I триместре - низкий.

В настоящее время беременность в сроке 24 недели 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 своевременно формировать группы риска, проводить лечебные мероприятия, уменьшая риски развития осложнений у данной категории пациентов. Способ может быть использован в условиях стационара и в амбулаторных условиях. Противопоказаний к применению предлагаемого способа не выявлено.

Литература

1. Патент RU № 2611358, 2017 г.
2. Патент № 2033607, 1995 г.
3. Патент RU № 2004135161, 2006 г.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ оценки риска развития репродуктивной потери у беременных в I триместре, включающий исследование венозной крови, отличающийся тем, что в сыворотке крови определяют интерлейкин-6, в цельной крови - уровень лейкоцитов и моноцитов, после чего полученные значения подставляют в регрессионное уравнение для нахождения линейного предиктора Z:

$$Z = -12,7628 - 1,1792 \cdot X_1 + 0,8053 \cdot X_2 + 1,266 \cdot X_3 + 0,6962 \cdot X_4,$$

где Z - линейный предиктор,

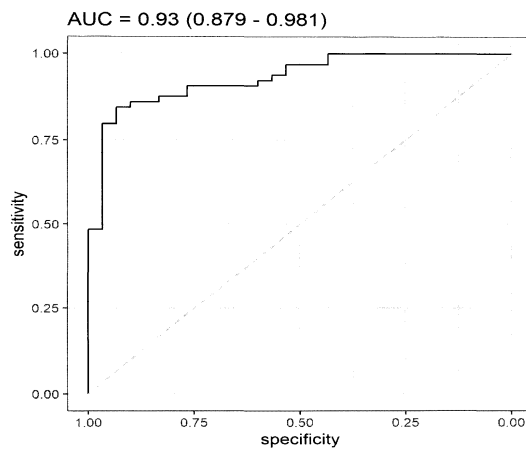
$X_1=1$ в случае первой беременности, $X_1=0$, если беременность повторная;

X_2 - ИЛ-6, пг/мл;

X_3 - количество лейкоцитов $\times 10^9$ /л;

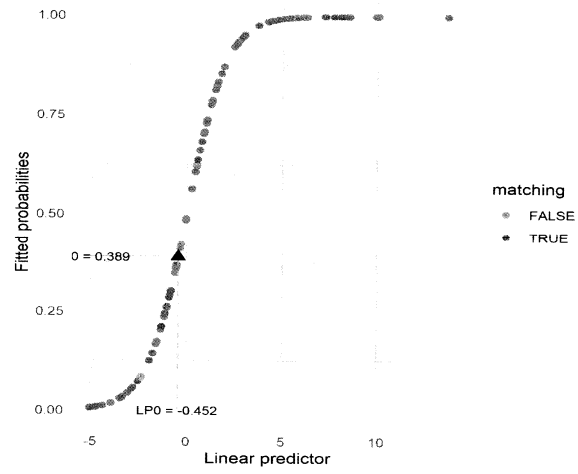
X_4 - моноциты, %;

и в случае, если линейный предиктор Z более -0,4519, у беременной определяют высокий риск развития репродуктивной потери в I триместре, в случае, если линейный предиктор Z равен -0,4519 или менее, риск оценивают как низкий.



Фиг. 1

043444



Фиг. 2

