

**ОПИСАНИЕ  
ИЗОБРЕТЕНИЯ  
К ПАТЕНТУ**  
(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **23085**

(13) **С1**

(46) **2020.08.30**

(51) МПК

**A 61B 10/00** (2006.01)

**G 01N 33/50** (2006.01)

(54) **СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННЫХ АНОМАЛИЙ  
РАЗВИТИЯ ПЛОДА**

(21) Номер заявки: а 20180290

(22) 2018.06.25

(43) 2020.02.28

(71) Заявители: Кеда Людмила Николаевна; Гутикова Людмила Витольдовна; Наумов Александр Васильевич; Смирнов Виталий Юрьевич (ВУ)

(72) Авторы: Кеда Людмила Николаевна; Гутикова Людмила Витольдовна; Наумов Александр Васильевич; Смирнов Виталий Юрьевич (ВУ)

(73) Патентообладатели: Кеда Людмила Николаевна; Гутикова Людмила Витольдовна; Наумов Александр Васильевич; Смирнов Виталий Юрьевич (ВУ)

(56) ВУ 12891 С1, 2010.

Метод комбинированного пренатального скрининга на ранних сроках беременности для диагностики врожденных пороков развития и хромосомных болезней плода и прогнозирования поздних метаболических и сосудистых осложнений беременности. Инструкция по применению. Регистрационный № 201-1213, 2013.

ПЛОЦКИЙ А.Р. и др. Журнал ГрГМУ. - 2009. - № 1. - С. 56-58.

ВУ 12750 С1, 2009.

МАРАПОВ Д.И. и др. Вестник РУДН, серия Медицина. - 2013. - № 5. - С. 73-78.

RU 2449283 С1, 2012.

RU 2517051 С1, 2014.

(57)

Способ прогнозирования врожденных аномалий развития плода, включающий исследование плазмы крови беременной, **отличающийся** тем, что в плазме крови определяют концентрации 5-гидрокситриптофана, глицина, аспарагина и серина, рассчитывают значение прогностической функции  $Z$  по формуле:

$$Z = -132,5 \times 5НТР + 0,019 \times Gly + 0,05 \times Asn - 0,037 \times Ser,$$

где 5НТР - концентрация 5 гидрокситриптофана, мкмоль/л,

Gly - концентрация глицина, мкмоль/л,

Asn - концентрация аспарагина, мкмоль/л,

Ser - концентрация серина, мкмоль/л,

и при значении  $Z$ , равном 0,26 или более, прогнозируют высокую вероятность врожденных аномалий у плода.

Изобретение относится к медицине, а именно к акушерству, гинекологии и пренатальной диагностике, и может использоваться для прогнозирования аномалий развития плода.

Врожденные пороки развития занимают одно из ведущих мест в структуре причин перинатальной, неонатальной и младенческой заболеваемости, инвалидности и смертности. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения врожденные пороки развития плода отмечают у 4-6 % детей. В Республике Беларусь ежегодно регистрируется более 3500 случаев пороков, выявленных у плодов и детей 1 года жизни. [1]. Высокие затраты

**ВУ 23085 С1 2020.08.30**

на лечение, уход и реабилитацию детей с ВПР обуславливают необходимость разработки и совершенствования методов контроля, диагностики и профилактики ВПР у детей.

Особое значение приобретает пренатальная диагностика, одним из основных направлений которой является разработка методов выявления врожденных аномалий и наследственных заболеваний плода на ранних этапах беременности, позволяющих предотвратить рождение детей с тяжелыми, не корригируемыми пороками развития, с социально значимыми и смертельными генными и хромосомными болезнями.

Известен способ определения вероятности возникновения врожденных пороков развития плода у беременных женщин, включающий забор крови, определение путем молекулярно-генетического анализа полиморфизма гена фермента детоксикации GSTT1 в лимфоцитарной ДНК и путем иммуноферментного анализа антител классов А и G - IgA, IgG, специфичных к бензопирену Bp, эстрадиолу Es и прогестерону Pg в сыворотке крови, служащих показателями иммунной реакции организма на воздействие тератогенных факторов, и при определении повышенных значений соотношений уровней антител IgA Bp/Es>2, IgA Bp/Pg>2, IgG Bp/Es>2, IgG Bp/Pg>3 у носителей генотипа GSTT1 "0/0" делают вывод о высокой индивидуальной чувствительности беременной женщины к действию тератогенных факторов и, как следствие, о высокой вероятности возникновения врожденных пороков развития плода, и при определении пониженных значений соотношений уровней антител IgA Bp/Es≤2, IgA Bp/Pg≤2, IgG Bp/Es≤2, IgG Bp/Pg≤3 у носителей генотипа GSTT1 "+" делают вывод о высокой индивидуальной устойчивости беременной женщины к действию тератогенных факторов и, следовательно, о низкой вероятности возникновения врожденных пороков развития плода [2].

Недостатком данного способа является возможность определения высокой индивидуальной чувствительности к действию тератогенных факторов только у беременных носителей генотипа GSTT1 "0/0".

Известен способ прогнозирования формирования врожденных пороков развития плода у беременных в первом триместре беременности с помощью анализа крови, где у беременной в первом триместре беременности рассчитывают лейкоцитарный индекс интоксикации и при его значении выше 3,0 прогнозируют формирование врожденного порока развития плода. Данный способ обеспечивает упрощенное прогнозирование формирования врожденных пороков развития плода у беременной в первом триместре беременности при высокой достоверности получаемых результатов, обеспечивающее обоснованное назначение своевременного лечения, направленного на коррекцию патологического состояния [3].

Недостатком способа является то, что лейкоцитарный индекс интоксикации представляет собой показатель остроты воспаления и степени интоксикации, кроме того, сама беременность оказывает влияние на результат. Инфекции являются лишь одной из многих причин развития пороков у плода.

Наиболее близким к заявляемому является способ прогнозирования врожденных пороков развития плода, представляющих собой патологию передней брюшной стенки, атрезию пищевода, хромосомные аномалии, диафрагмальную грыжу, шейную гигрому, патологию почек или множественные пороки развития, отличающийся тем, что в плазме крови беременной женщины определяют уровень общего гомоцистеина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и при уровне гомоцистеина, превышающем 7,91 мкмоль/л, прогнозируют вероятность врожденного порока развития плода [4].

Недостатком данного метода является прогнозирование только определенных пороков развития.

Задача изобретения - расширение арсенала способов прогнозирования врожденных аномалий плода.

Поставленная задача решается путем исследования плазмы крови беременной, при этом отличие состоит в том, что в плазме крови определяют концентрации 5-гидрокситриптофана, глицина, аспарагина и серина, рассчитывают значение прогностической функции Z по формуле:

$$Z = -132,5 \times 5\text{HTP} + 0,019 \times \text{Gly} + 0,05 \times \text{Asn} - 0,037 \times \text{Ser},$$

где 5НТР - концентрация 5-гидрокситриптофан, мкмоль/л,

Gly- концентрация глицина, мкмоль/л,

Asn - концентрация аспарагина, мкмоль/л,

Ser - концентрация серина, мкмоль/л,

и при значении Z, равном 0,26 или более, прогнозируют высокую вероятность врожденных аномалий у плода.

Способ осуществляют следующим образом. У беременных женщин во втором триместре беременности утром натощак забирают кровь из локтевой вены, помещают в пробирки с гепарином и сразу же центрифугируют. Полученную плазму (в количестве 1 мл) замораживают при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  и хранят при температуре  $-78^{\circ}\text{C}$  до момента проведения анализа. В плазме определяют уровни глицина, аспарагина, серина и 5-гидрокситриптофана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC - high-performance liquid chromatography) по природной флуоресценции для 5-гидрокситриптофана и с использованием ортофталдигидроксибензойной кислоты для аминокислот на хроматографической системе Agilent 1100, содержащей 4-канальный градиентный насос, термостат колонок, автосамплер и детектор флуоресценции. Уровни глицина, аспарагина, серина и 5-гидрокситриптофана выражают в мкмоль/л. Затем находят значение прогностической функции Z по формуле:

$$Z = -132,5 \times 5\text{НТР} + 0,019 \times \text{Gly} + 0,05 \times \text{Asn} - 0,037 \times \text{Ser},$$

где 5НТР - 5-гидрокситриптофан (мкмоль/л), Gly - глицин (мкмоль/л), Asn - аспарагин (мкмоль/л), Ser - серин (мкмоль/л), и при значении Z, равном 0,26 и более, прогнозируют высокую вероятность врожденных аномалий у плода. Исследование проводят однократно.

Данная прогностическая модель выбрана на основании выполнения нескольких условий: минимальности значения АИС (информационного критерия Акаике), достоверности регрессионных коэффициентов, значение коэффициента детерминации  $>50\%$ , воспроизводимости результатов при перестановочных тестах.

Для выбранной нами модели проведен ROC-анализ, выполнен расчет оптимальной точки разделения  $P \geq 0,565$ , и соответственно,  $Z = \ln(p/(1-p)) \geq 0,264$ , для которой рассчитаны основные характеристики диагностического теста: чувствительность  $90\%$ , специфичность  $72\%$ , прогностическая ценность положительного результата (PPV)  $88,5\%$ , прогностическая ценность отрицательного результата (NPV)  $75\%$ .

Построена ROC характеристическая кривая (фиг. 1), и рассчитана площадь под ней, равная  $0,898$ ,  $95\%$  ДИ =  $0,833; 0,963$  ( $95\%$  доверительный интервал AUC высчитывался по методу DeLong). Высокое значение AUC  $0,898$  обеспечивает хорошее качество модели, таким образом, значение Z может служить прогностическим индексом.

Для доказательства заявленного способа проведено исследование уровней глицина, аспарагина, серина, 5-гидрокситриптофана у 85 пациенток, которые были разделены на 2 группы. Основную группу составили 60 пациенток в сроке беременности 13-22 недели, у которых проведено медикаментозное прерывание беременности по медицинским показаниям со стороны плода (наличие различных видов врожденных аномалий у плода, подтвержденных при патологоанатомическом исследовании). Группу контроля составили 25 пациенток в сроке беременности 13-22 недели, которые родили детей без врожденных аномалий. Распределение пациенток обеих групп в зависимости от значения прогностической функции представлено графически (фиг. 2).

На фиг. 1 изображена ROC-кривая.

На фиг. 2 показано распределение пациентов в зависимости от значения P прогностической функции.

Приводим примеры, подтверждающие возможность осуществления изобретения.

### Пример 1.

Пациентка Д., 35 лет. Беременность 19 недель. Данная беременность первая. Менструации с 13 лет регулярные через 28 дней по 4 дня. Из перенесенных заболеваний в анамнезе отмечает простудные. Гинекологический анамнез не отягощен.

Концентрация 5-гидрокситриптофана (5-НТФ) 0,01416 мкмоль/л, аспарагина 122,6963 мкмоль/л, глицина 234,3205 мкмоль/л, серина 147,7316 мкмоль/л.

Проведен расчет по заявленной формуле, получено значение  $Z = 3,260859$ , что соответствует высокой вероятности врожденных аномалий у плода. Проведено углубленное обследование: результатом выполненного амниоцентеза подтверждено наличие синдрома Дауна у плода.

У данной пациентки беременность прервана по медицинским показаниям со стороны плода (синдром Дауна).

## Пример 2.

Пациентка В., 30 лет. Беременность 15 недель.

Данная беременность 4, в анамнезе 3 родов. Месячные с 13 лет регулярные через 28 дней по 4 дня. Из перенесенных заболеваний отмечает простудные.

Концентрация 5-гидрокситриптофана 0,0240440 мкмоль/л, глицина 164,9417 мкмоль/л, аспарагина 70,6619 мкмоль/л, серина 119,1427 мкмоль/л.

Проведен расчет по заявленной формуле, получено значение  $Z = -0,92712$ . Врожденные аномалии у плода не прогнозируются. Данная пациентка родила здорового доношенного ребенка.

Приведенные примеры подтверждают высокую эффективность предлагаемого способа. Преимуществом предлагаемого способа по сравнению с прототипом является возможность прогнозирования большего количества врожденных пороков развития (множественных врожденных пороков развития, врожденных пороков развития сердечно-сосудистой системы, центральной нервной системы, мочеполовой системы, скелетно-мышечной системы) и хромосомных заболеваний плода.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет прогнозировать вероятность врожденных аномалий у плода с целью дальнейшего углубленного обследования пациенток с высоким риском врожденных аномалий у плода.

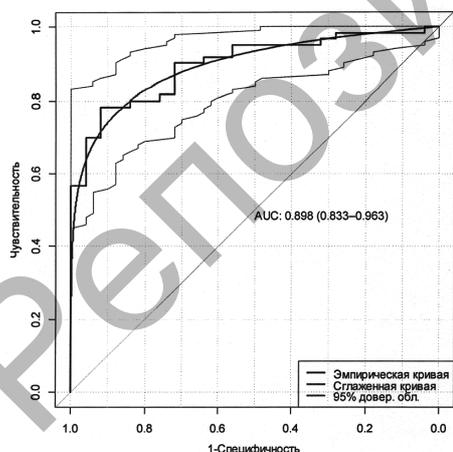
Источники информации:

1. Вильчук К.У., Курлович И.В. Научные исследования в области охраны здоровья матери и ребенка в Республике Беларусь: Перспективы и пути совершенствования // Медицинские новости.- 2018. - № 4. - С. 6-7.

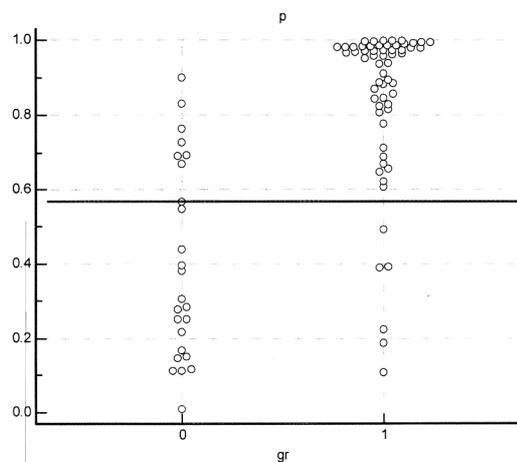
2. Патент RU 2517051, 2014.

3. Патент RU 2 449 283, 2012.

4. Патент BY 12891, 2010.



Фиг. 1



Фиг. 2