



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/6863 (2022.02); G01N 33/6896 (2022.02); G01N 33/689 (2022.02); G01N 33/49 (2022.02); G01N 2800/38 (2022.02); G01N 2800/2871 (2022.02); G01N 2800/50 (2022.02)

(21)(22) Заявка: 2021128264, 28.09.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.09.2021

Дата регистрации:
18.04.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.09.2021

(45) Опубликовано: 18.04.2022 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

153045, Ивановская обл., г. Иваново, ул.
Победы, 20, ФГБУ ИНИИМД МЗРФ,
Малышкина Анна Ивановна

(72) Автор(ы):

Попова Ирина Геннадьевна (RU),
Харламова Наталья Валерьевна (RU),
Назаров Сергей Борисович (RU),
Кузьменко Галина Николаевна (RU),
Ситникова Ольга Григорьевна (RU),
Клычева Майя Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Ивановский
научно-исследовательский институт
материнства и детства имени В.Н.
Городкова" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2487360 C1, 10.07.2013. RU
2753820 C1, 23.08.2021. RU 2440576 C1,
20.01.2012. RU 2568915 C1, 20.11.2015. WO
2011040874 A1, 07.04.2011. US 20100286053 A1,
11.11.2010. NEGRO S. et al. Early prediction of
hypoxic-ischemic brain injury by a new panel of
biomarkers in a population of term newborns.
Oxid Med Cell Longev. 2018, p.2018:7608108.

(54) Способ прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к неонатологии, и может быть использовано для прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных. В пуповинной крови определяют содержание ангиопоэтина-1. При его значении равном 2721 пг/мл или более прогнозируют развитие церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией. Способ

обеспечивает возможность повышения точности прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, за счет неинвазивного определения в пуповинной крови содержания ангиопоэтина-1 – ангиопоэтинового фактора роста, выделяющегося эндотелием и регулирующего рост и созревание кровеносных сосудов. 1 табл., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/6863 (2022.02); *G01N 33/6896* (2022.02); *G01N 33/689* (2022.02); *G01N 33/49* (2022.02); *G01N 2800/38* (2022.02); *G01N 2800/2871* (2022.02); *G01N 2800/50* (2022.02)

(21)(22) Application: **2021128264**, **28.09.2021**(24) Effective date for property rights:
28.09.2021Registration date:
18.04.2022

Priority:

(22) Date of filing: **28.09.2021**(45) Date of publication: **18.04.2022** Bull. № 11

Mail address:

**153045, Ivanovskaya obl., g. Ivanovo, ul. Pobedy,
20, FGBU INIIMD MZRF, Malysheva Anna
Ivanovna**

(72) Inventor(s):

**Popova Irina Gennadevna (RU),
Kharlamova Natalia Valerevna (RU),
Nazarov Sergei Borisovich (RU),
Kuzmenko Galina Nikolaevna (RU),
Sitnikova Olga Grigorevna (RU),
Klycheva Mariia Mikhailovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
uchrezhdenie "Ivanovskii
nauchno-issledovatel'skii institut materinstva i
detstva imeni V.N. Gorodkova" Ministerstva
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING CEREBRAL ISCHEMIA IN NEWBORNS BORN TO MOTHERS WITH PREECLAMPSIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to neonatology, and can be used to predict cerebral ischemia in newborns. In cord blood, the content of angiopoietin-1 is determined. With its value equal to 2721 pg/ml or more, the development of cerebral ischemia in the early neonatal period in newborns born to mothers with preeclampsia is predicted.

EFFECT: method makes it possible to increase the accuracy of predicting cerebral ischemia in newborns born to mothers with preeclampsia, due to non-invasive determination of the content of angiopoietin-1 in umbilical cord blood, an angiopoietin growth factor secreted by the endothelium and regulating the growth and maturation of blood vessels.

1 cl, 1 tbl, 4 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к неонатологии, и может быть использовано для прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Актуальность определяется тем, что в структуре перинатальной заболеваемости одно из важных мест по частоте и значимости для дальнейшей жизни человека занимают перинатальные поражения центральной нервной системы (ЦНС), составляющие до 80 % всех заболеваний нервной системы в детском возрасте. Среди перинатальных поражений ЦНС церебральная ишемия (код Р91.0 по Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра) встречается до 50 % случаев [Неврологические проявления церебральной ишемии у детей первого года жизни / И.Е. Смирнов, А.А. Степанов, Л.Д. Шакина и др. // Российский педиатрический журнал. – 2016. – Т. 19, № 5. – С. 274–282].

Известно, что клинические проявления церебральной ишемии при рождении детей выражены нечетко, так как в первые дни жизни ребенка имеется физиологический отек мозга с повышением гидрофильности церебральной ткани, вследствие чего возможно нивелирование как очаговых, так и общемозговых симптомов заболевания ЦНС, а последствия этих нарушений могут быть тяжелыми, приводящими к инвалидизации детей, нарушению их социальной адаптации [Перинатальные поражения нервной системы и их последствия у детей / О.М. Филькина, Т.В. Чаша, Т.В. Самсонова и др. – Иваново, 2007. – 238 с.].

По данным литературы у 25% новорожденных, перенесших церебральную ишемию в перинатальном периоде, формируются устойчивые расстройства в виде задержки умственного и двигательного развития, детского церебрального паралича, эпилепсии и других состояний с последующей инвалидностью с детства [Клиточенко Г.В., Малюжинская Н.В. Этиология, патогенез и диагностика перинатального поражения нервной системы у детей // Лекарственный вестник. – 2019. – Т. 13, № 1(73). – С. 38–41].

Известно, что преэклампсия является фактором риска развития перинатальных поражений ЦНС у новорожденных [Состояние здоровья новорожденных, родившихся от матерей с гипертензивными расстройствами при беременности / Н.В. Харламова, Т.В. Чаша, И.А. Панова и др. // Вестник ИвГМА. – 2017. – Т. 22, № 3. – С. 19–23].

Разработка способа прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, обеспечит персонифицированный подход к ведению данной категории пациентов, а также своевременность начала проведения профилактических и лечебных мероприятий с целью предотвращения формирования инвалидизирующей неврологической патологии, что улучшит показатели здоровья и качества жизни детей.

Известен способ прогнозирования перинатальных гипоксических поражений центральной нервной системы у новорожденных путем иммунологического исследования периферической венозной крови беременной, отличающийся тем, что в 22 - 27 недель беременности, осложненной угрожающими преждевременными родами, определяют содержание sRAGE и при его значении, равном 659,5 пг/л или менее, прогнозируют развитие перинатальных гипоксических поражений центральной нервной системы. [Патент № 2542463 Российская Федерация. Способ прогнозирования перинатальных гипоксических поражений центральной нервной системы у новорожденных / Борзова Н.Ю., Сотникова Н.Ю., Колобова А.В. // Изобретения. Полезные модели. – 2015. – № 5].

Недостатки способа:

1. Способ позволяет прогнозировать перинатальные гипоксические поражения ЦНС

только у детей, родившихся у матерей с угрожающими преждевременными родами в сроки гестации 22 – 27 недель, что ограничивает возможность его применения у женщин без данного осложнения беременности.

2. Более низкая точность способа по сравнению с заявляемым.

5 Известен способ прогнозирования перинатального поражения ЦНС у недоношенных новорожденных, включающий исследование биологического материала, отличающийся тем, что в 10% гомогенате плаценты, взятой сразу после преждевременных родов, методом капиллярного электрофореза определяют содержание глутамата и агматина, рассчитывают их соотношение и при величине коэффициента, равного 1,70 и ниже,
10 прогнозируют перинатальное поражение ЦНС у недоношенных новорожденных [Патент № 2568914 Российская Федерация. Способ прогнозирования перинатального поражения ЦНС у недоношенных новорожденных / Крукиер И.И., Дегтярева А.С., Нарезная Е.В., Погорелова Т.Н., Кравченко Л.В., Кухта О.И. // Изобретения. Полезные модели. – 2015. – № 32].

15 Недостатки способа:

1. Способ позволяет прогнозировать перинатальные поражения ЦНС только у недоношенных новорожденных, что ограничивает возможность его применения у доношенных новорожденных.

2. Способ трудоемкий и сложный в исполнении.

20 Наиболее близким к заявляемому способу является способ прогнозирования риска развития церебральной ишемии у новорожденных, включающий выявление факторов риска и их анализ, отличающийся тем, что в третьем триместре беременности оценивают факторы риска и присваивают им баллы: угроза выкидыша у матери - 1 балл; анемия у беременной - 2 балла; мочеполая инфекция у матери - 1 балл; хроническая
25 внутриутробная гипоксия плода - 2 балла, суммируют полученные баллы, определяя тем самым значение индекса риска церебральной ишемии новорожденных (ИРЦИН), и при величине ИРЦИН равной или более 4 баллов прогнозируют высокий риск развития церебральной ишемии у новорожденных, а при величине ИРЦИН менее 4 баллов - низкий риск развития церебральной ишемии у новорожденных. [Патент № 2486869
30 Российская Федерация. Способ прогнозирования риска развития церебральной ишемии у новорожденных / Терещенко С.Ю., Новицкий И.А., Даваа Я.Х. // Изобретения. Полезные модели. – 2013. – № 19].

Недостатки способа:

1. В данном способе в качестве факторов риска развития церебральной ишемии у
35 новорожденных рассматриваются только осложнения беременности (угроза прерывания, анемия у беременной, мочеполая инфекция у матери, хроническая внутриутробная гипоксия плода). Однако, на развитие церебральной ишемии у новорожденных оказывают влияние целый комплекс факторов: демографические, социально-экономические, материнские, плодоматеринские, плацентарные, родовые, неонатальные
40 [Хетагурова Ю.Ю. Факторы риска церебральной ишемии у новорожденных детей // Вестник новых медицинских технологий. – 2009. – № 4. – С. 128–130], прогностическая ценность которых не отражена в данном способе.

2. Не известна точность способа.

Техническим решением заявляемого способа является расширение арсенала
45 прогностических средств и повышение точности прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Технический результат достигается путем определения в пуповинной крови содержания ангиопоэтина-1 и при его значении равном 2721 пг/мл или более

прогнозируют развитие церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, с точностью 90,52%.

Способ осуществляется следующим образом.

При рождении ребенка производят забор 1,5 мл пуповинной крови в пробирки с наполнителем цитрат натрия. Кровь центрифугируют в течение 15 минут при скорости 3000 об/мин для получения плазмы крови. Определение содержания ангиопоэтина-1 (Ang-1) осуществляется иммуноферментным методом на анализаторе «EL-808» (США) реагентами фирмы «RayBiotech» (США) согласно методике к набору. Результат выражается в пг/мл. При значении ангиопоэтина-1 равном 2721 пг/мл или более прогнозируют развитие церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Новизна заявляемого способа заключается в том, что впервые предлагается прогнозировать развитие церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, по определению в пуповинной крови содержания ангиопоэтина-1.

Ранее Ang-1 использовался в качестве маркера при диабетическом поражении почек [Роль циркулирующих ангиогенных факторов в поражении почек при сахарном диабете / С.А. Мартынов, М.В. Шестакова, И.М. Кутырина и др. // Вестник РАМН. – 2013. – № 2. – С. 35–42]. Высокие концентрации циркулирующего Ang-1 ассоциированы с гипертензией [Angiopoietin-1 prevents hypertension and target organ damage through its interaction with endothelial Tie2 receptor / Jung-Sun Lee, Sun-Hwa Song, Jeong-Min Kim et al. // Cardiovasc Res. – 2008. – Vol. 78, № 3. – P. 572–580. doi: 10.1093/cvr/cvn048]. В неонатологии Ang-1 используется в качестве маркера раннего начала сепсиса у новорожденных [Low Serum Angiopoietin-1, High Serum Angiopoietin-2, and High Ang-2/Ang-1 Protein Ratio are Associated with Early Onset Sepsis in Surinamese Newborns / R. Zonneveld, R. Jongman, A. Juliana et al. // Shock. – 2017. – Vol. 48, № 6. – P. 638–643. doi: 10.1097/SHK.0000000000000903]. У недоношенных новорожденных низкие уровни Ang-1 в плазме пуповины при рождении ассоциируются с последующим развитием бронхолегочной дисплазии [Mohamed W., Niyazy W.H., Mahfouz A. Angiopoietin-1 and endostatin levels in cord plasma predict the development of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants // J. Trop. Pediatr. – 2011. – Vol. 57, № 5. – P. 385–388. doi: 10.1093/tropej/fmq112].

Известно, что Ang-1 представляет собой олигомерный секретируемый гликопротеин, который является членом семейства ангиопоэтиновых факторов роста вместе с ангиопоэтином-2 и ангиопоэтином-3. Ang-1 выделяется эндотелием и регулирует рост и созревание кровеносных сосудов [Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning / S. Davis, T.H. Aldrich, P.F. Jones et al. // Cell. – 1996. – Vol. 87, № 7. – P. 1161–1169. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81812-7].

Известно, что Ang-1 обладает мощным вазопротекторным действием, снижает проницаемость сосудов, обладает противовоспалительным действием и предотвращает гибель эндотелия. Эти функции Ang-1 реализует через стимуляцию рецепторной тирозинкиназы Tie2, которая локализуется на поверхности эндотелиальных клеток [Brindle N.P.J., Saharinen P., Alitalo K. Signalling and functions of angiopoietin-1 in vascular protection // Circ. Res. – 2006. – Vol. 98, № 8. – P. 1014–1023. doi: 10.1161/01.RES.0000218275.54089.12].

Известно, что в головном мозге Ang-1 вызывает рост и повышает выживаемость нервных клеток, регулирует организацию дендритных клеток [Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning / S. Davis, T.H. Aldrich, P.F. Jones et al. // Cell. – 1996. – Vol. 87, № 7. – P. 1161–1169. doi: 10.1016/s0092-8674(00)

81812-7.]. В экспериментальных работах показано, что повышение уровня Ang-1 снижает проницаемость гематоэнцефалического барьера в ишемическом мозге и, следовательно, уменьшает объем ишемического поражения [Angiopoietin-1 reduces cerebral blood vessel leakage and ischemic lesion volume after focal cerebral embolic ischemia in mice / Z.G. Zhang, L. Zhang, S.D. Croll, M. Chopp // Neuroscience. – 2002. – Vol. 113, № 3. – P. 683–687. doi: 10.1016/s0306-4522(02)00175-6].

Известно, что при преэклампсии у женщины происходит нарушение маточно-плацентарного кровообращения, что приводит к развитию гипоксии [Клинико-лабораторная оценка эндотелиальной дисфункции в сосудах пупочного канатика при гестозе / Е.В. Филькина, Л.В. Посисеева, С.Б. Назаров и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2009. – Т. 8, № 3(31). – С. 73–75].

При воздействии длительной гипоксии происходит повышение уровня Ang-1 [Expression Of Angiopoietin-1, Angiopoietin-2, And Tie Receptors After Middle Cerebral Artery Occlusion In The Rat / H. Beck, T. Acker, C. Wiessner et al. // The American Journal of Pathology. – 2000. – Vol. 157, № 5. – P. 1473–1483. DOI: 10.1016 / S0002-9440 (10) 64786-4].

Выявлено, что у новорожденных от матерей с преэклампсией, при развитии у них перинатальных поражений ЦНС отмечается повышение в крови десквамированных эндотелиоцитов, что свидетельствует о повреждении эндотелия. [Клинико-лабораторная оценка функции эндотелия при развитии перинатальных поражений ЦНС у новорожденных от матерей с гестозом / И.Г. Попова, Т.В. Чаша, Г.Н. Кузьменко и др. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – Т. 55, № 4. – С. 18–22].

Возможно, повышение содержания Ang-1 в пуповинной крови, у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией, вызвано не только влиянием длительной внутриутробной гипоксии, что носит компенсаторный характер и направлено на минимизацию ишемического воздействия на центральную нервную систему плода, но и нарушением связывания Ang-1 с рецептором Tie2 вследствие повреждения эндотелия, что препятствует реализации его вазопротекторных и нейропротекторных функций с последующим развитием церебральной ишемии.

Отличительные признаки способа:

в пуповинной крови определяют содержание ангиопоэтина-1 и при его значении равном 2721 пг/мл или более прогнозируют развитие церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.

Сущность заявляемого способа поясняется следующими примерами.

Пример 1. Ребенок П. родился от III беременности, III своевременных родов в 38 недель. Беременность протекала на фоне нейроциркуляторной дистонии по гипертоническому типу, умеренной преэклампсии и фетоплацентарной недостаточности. При рождении: масса тела – 3824 г, длина – 53 см, окружность головы – 36 см, окружность груди – 35 см. Оценка по шкале Апгар 6 - 7 баллов. Состояние с рождения средней тяжести, крик громкий, двигательная активность снижена. Отмечается мышечная гипотония, акроцианоз, тремор конечностей, физиологические рефлексы вялые.

Сразу после рождения по заявляемому способу определено содержание Ang-1 в пуповинной крови, которое составило 2721 пг/мл, что указывает на вероятное развитие церебральной ишемии.

На третьи сутки жизни ребенку проводилась нейросонография для контроля динамики состояния центральной нервной системы, по результатам которой выявлена церебральная ишемия I степени.

Прогноз по заявленному способу подтвердился.

Пример 2. Ребенок Б. родился от II беременности (I беременность – самопроизвольный

выкидыш), I преждевременных родов в 35 недель. Беременность протекала на фоне хронического пиелонефрита вне обострения, тяжелой преэклампсии. При рождении: масса тела 2450 г, рост 46 см, окружность головы 32 см, окружность груди 30 см. Оценка по шкале Апгар 5 - 6 баллов. Состояние с рождения средней тяжести, крик громкий, 5 кожные покровы бледно-розовые, акроцианоз, цианоз носогубного треугольника, мышечный тонус снижен, тремор конечностей, физиологические рефлексы снижены.

Сразу после рождения по заявляемому способу определено содержание Ang-1 в пуповинной крови, которое составило 4456 пг/мл, что указывает на вероятное развитие церебральной ишемии.

10 На четвертые сутки жизни ребенку проводилась нейросонография для контроля динамики состояния центральной нервной системы, по результатам которой выявлена церебральная ишемия II степени.

Прогноз по заявленному способу подтвердился.

Пример 3. Ребенок С. родился от III беременности (I беременность – медицинский 15 аборт, II – своевременные роды), II своевременных родов в 37 недель. Беременность протекала на фоне хронического пиелонефрита вне обострения, умеренной преэклампсии. При рождении: масса тела – 3300 г, длина – 50 см, окружность головы – 34 см, окружность груди – 32 см. Оценка по шкале Апгар 7 - 8 баллов. Состояние с рождения средней степени тяжести, крик громкий, двигательная активность снижена.

20 Отмечается мышечная гипотония, акроцианоз, тремор конечностей, физиологические рефлексы вялые.

Сразу после рождения по заявляемому способу определено содержание Ang-1 в пуповинной крови, которое составило 1324 пг/мл, что соответствует вероятному отсутствию церебральной ишемии.

25 На третьи сутки жизни ребенку проводилась нейросонография для контроля динамики состояния центральной нервной системы, по результатам которой отсутствовали признаки церебральной ишемии.

Прогноз по заявленному способу подтвердился.

Пример 4. Ребенок Д. от III беременности (в анамнезе I медицинский аборт, I 30 преждевременные роды) II преждевременных родов в 35 недель. Беременность протекала на фоне анемии, ожирения, кольпита, угрозы прерывания в I триместре, преэклампсии, фетоплацентарной недостаточности, хронической внутриутробной гипоксии плода. В связи с развитием тяжелой преэклампсии в 33 недели было проведено экстренное досрочное оперативное родоразрешение - кесарево сечение. Масса тела ребенка при 35 рождении 2370 г, длина 38 см, окружность головы 31 см, окружность груди 29 см. Оценка по шкале Апгар 6 - 7 баллов. Состояние средней тяжести, крик слабый, кожные покровы бледно-розовые, физиологические рефлексы снижены.

40 Сразу после рождения по заявляемому способу определено содержание Ang-1 в пуповинной крови, которое составило 1764 пг/мл, что соответствует вероятному отсутствию церебральной ишемии.

На четвертые сутки жизни ребенку проводилась нейросонография для контроля динамики состояния центральной нервной системы, по результатам которой признаки церебральной ишемии не выявлены.

Прогноз по заявленному способу подтвердился.

45 Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатель	Количество обследованных
Всего обследовано новорожденных	95

	Истинно - положительный результат	46
	Ложно - положительный результат	5
	Истинно - отрицательный результат	40
	Ложно - отрицательный результат	4
5	Точность заявляемого способа	90,52%,
	Специфичность заявляемого способа	92%.
	Чувствительность заявляемого способа	88,9%,

Преимущества заявляемого способа:

1. Неинвазивность для ребенка.

2. Заявляемый способ прост в выполнении: основывается на определении одного показателя и не требует сложных математических расчетов.

3. Способ быстр в исполнении: продолжительность 30 минут.

4. Способ может использоваться как скрининговый.

5. Способ позволяет прогнозировать развитие церебральной ишемии как у доношенных, так и у недоношенных новорожденных.

6. Способ обеспечивает персонифицированный подход к ведению новорожденных от матерей с преэклампсией, а также своевременность начала проведения профилактических и лечебных мероприятий.

7. Предлагаемый способ имеет высокую точность – 90,52%, чувствительность 92% и специфичность 88,9%.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования церебральной ишемии у новорожденных, отличающийся тем, что в пуповинной крови определяют содержание ангиопоэтина-1 и при его значении равном 2721 пг/мл или более прогнозируют развитие церебральной ишемии в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией.