



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016125174, 24.06.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.06.2016

Дата регистрации:
19.12.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 24.06.2016

(45) Опубликовано: 19.12.2017 Бюл. № 35

Адрес для переписки:
153045, г. Иваново, ул. Победы, 20, ФГБУ
"Ивановский НИИ материнства и детства им.
В. Н. Городкова", патентный отдел

(72) Автор(ы):

Филькина Ольга Михайловна (RU),
Пыхтина Людмила Артемьевна (RU),
Гаджимурадова Надежда Джабраиловна
(RU),
Долотова Наталья Васильевна (RU),
Харламова Наталья Валерьевна (RU),
Кузьменко Галина Николаевна (RU),
Назаров Сергей Борисович (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 2484762 C1, 20.06.2013. WO
2013014112 A1, 31.03.2013. БАЙБАРИНА
Г.В. Индуцированная беременность:
особенности течения и значение
генетических факторов в невынашивании.
Автореферат на соиск.уч.ст. канд.мед.наук/
/М., 2004, 23с. GRABAR W. Interconnection
between assisted reproductive technologies,
pregnancy complications and risk of birth
(см. прод.)

(54) Способ прогнозирования хронической гипоксии плода у женщин, забеременевших с помощью
экстракорпорального оплодотворения

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно
к перинатологии, акушерству и гинекологии, и
может быть использовано для прогнозирования
хронической гипоксии плода (ХГП) у женщин,
забеременевших с помощью ЭКО. Для этого у
женщин перед процедурой ЭКО в венозной крови
определяют содержание тиреотропного гормона
и при его значении более 1,92 мМЕ/л

прогнозируют развитие ХГП. Способ позволяет
повысить точность и специфичность
прогнозирования ХГП у женщин,
забеременевших с помощью метода ЭКО, при
простоте его выполнения с выделением группы
риска формирования ХГП для своевременного
проведения профилактических мероприятий. 1
табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

defects// Georgian Med News. 2014 Feb;(227):7-1.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2016125174, 24.06.2016**(24) Effective date for property rights:
24.06.2016Registration date:
19.12.2017

Priority:

(22) Date of filing: **24.06.2016**(45) Date of publication: **19.12.2017** Bull. № 35

Mail address:

153045, g. Ivanovo, ul. Pobedy, 20, FGBU
"Ivanovskij NII materinstva i detstva im. V. N.
Gorodkova", patentnyj otdel

(72) Inventor(s):

**Filkina Olga Mikhajlovna (RU),
Pykhtina Lyudmila Artemevna (RU),
Gadzhimuradova Nadezhda Dzhabrailovna
(RU),
Dolotova Natalya Vasilevna (RU),
Kharlamova Natalya Valerevna (RU),
Kuzmenko Galina Nikolaevna (RU),
Nazarov Sergej Borisovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie "Ivanovskij
nauchno-issledovatel'skij institut materinstva i
detstva imeni V.N. Gorodkova" Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTION OF CHRONIC FETAL HYPOXIA IN WOMEN PREGNANT DUE TO IN VITRO FERTILISATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention can be used to predict chronic fetal hypoxia (CFH) in women pregnant using IVF. For this purpose, before the IVF procedure, the content of thyroid-stimulating hormone is determined in venous blood and with a value of more than 1.92 mIU/l, CFH development is predicted.

EFFECT: method allows to increase the accuracy and specificity of chronic fetal hypoxia prediction in women pregnant through in vitro fertilisation method, with simplicity of execution to allocate risk groups in terms of chronic fetal hypoxia development for timely preventive measures.

1 tbl, 4 ex

Изобретение относится к области медицины, а именно к перинатологии, акушерству и гинекологии, и может быть использовано для прогнозирования хронической гипоксии плода (ХГП) у женщин, забеременевших с помощью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

- 5 Актуальность разработки способа определяется тем, что ХГП ведет к формированию полиорганной патологии, нарушению развития или повреждению ЦНС у ребенка в 60-80% случаев, способствует увеличению частоты соматической и инфекционной патологии, задержке нервно-психического и физического развития в более поздние возрастные периоды [Видеркер Т.В., Ремнева О.В., Фадеева Н.И. Клинические, 10 инструментальные и биохимические маркеры гипоксии плода в прогнозировании поражений центральной нервной системы у новорожденного // Рос. вестник акушера-гинеколога. - 2008. - №6. - С. 4-8]. Известно, что перинатальная гипоксия инициирует процессы, приводящие к повышению проницаемости клеточных мембран, гибели нейронов и глиальных клеток вследствие некроза и/или апоптоза, нарушению функции 15 гематоэнцефалического барьера, попаданию в системный кровоток мозговых антигенов, стимулирующих иммунную систему на выработку аутомозговых антител [Шниткова Е.В. Формирование здоровья, прогноз, диагностика и профилактика его нарушений в онтогенезе у детей и подростков, перенесших перинатальную гипоксию: автореф. дис. ...д-ра мед. наук. - Иваново, 1999. - 59 с.]. Доказано, что наиболее чувствительна к 20 кислородной недостаточности нервная ткань плода [Косолапова О.И., Малыгина Е.Н. Кислотно-основное состояние крови новорожденных детей с признаками гипоксии при рождении // Здоровье человека на Севере. - №2. - 2008. - С. 38-40]. При гипоксических повреждениях головного мозга патологический процесс не ограничивается первичным очагом, возникают вторичные изменения с вовлечением ранее не поврежденных 25 нейронов, формируя прогрессивное течение энцефалопатии. Поэтому исход этого заболевания становится очевидным лишь тогда, когда возраст ребенка приближается к году жизни [Роль гипоксически-травматических повреждений головного мозга в формировании инвалидности с детства / Ю.И. Барашнев [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2006. - №4. - С. 41-46; Изменения адаптации и их коррекция 30 у детей грудного возраста с постгипоксическими изменениями ЦНС / Т.Д. Измайлова [и др.] // Педиатрия. - 2002. - №1. - С. 27-30]. Поэтому необходимо разработать объективные критерии прогнозирования развития ХГП, что позволит предотвратить развитие нарушений здоровья гипоксического генеза у детей, родившихся после ЭКО, и тем самым снизить у них формирование инвалидности и перинатальной смертности. 35 Известны различные способы прогнозирования и доклинической диагностики развития внутриутробной гипоксии плода.

- Известен способ прогнозирования плацентарной недостаточности и внутриутробной гипоксии по определению содержания молекул средней массы (МСМ) в биосубстратах (сыворотка крови и моча) при нормальной и осложненной беременности у женщин и 40 их новорожденных. Считается, что МСМ могут проникать через плацентарный барьер, оказывая непосредственное токсическое воздействие на плод и вызывая патологические нарушения, приводят к синдрому полиорганной недостаточности.

- Однако данный способ прогнозирования не специфичен, не обладает достаточной степенью точности, трудоемкий в исполнении, требует дорогостоящего оборудования, 45 нет разработанных стандартов для получения точных количественных показателей, поэтому результаты реакции выражаются в единицах оптической плотности [Патент №2148256 Российская Федерация. Способ доклинического прогнозирования плацентарной недостаточности / Смиренина И.В., Пестрикова Т.Ю. // Изобретения.

Полезные модели. - 2000. - №12].

Известен способ доклинической диагностики гипоксии плода, проводимый по крови беременной с определением малонового диальдегида (МДА), антиокислительной активности (АОА) и антиокислительной защиты организма (АОЗ), как отношение
 5 АОО/МДА в эритроцитах, при снижении АОЗ до 1,90-0,82 диагностируют гипоксию плода.

Однако у предлагаемого способа доклинической диагностики гипоксии плода не известна точность, для объективного анализа необходимо учитывать концентрацию одновременно нескольких показателей (гидроперекисей липидов и активность каталазы).
 10 Методика определения МДА и АОА, на которую ссылаются авторы, не является корректной, а следовательно, достоверной для прогнозирования гипоксии плода [Патент №1752185 СССР, Способ диагностики гипоксии плода / Мусаев А.Т., Банкова В.В. // Изобретение. - 1992. - №28. - С. 242-243].

Ближайшим аналогом заявляемого способа является способ прогнозирования
 15 развития внутриутробной гипоксии плода по определению фонда свободных аминокислот в венозной крови беременных в третьем триместре беременности и перед родами. При условии установления гипераминоацидемии рассчитывают коэффициент отношения незаменимых аминокислот к заменимым. При величине коэффициента 0,5 и менее прогнозируют развитие внутриутробной гипоксии в системе «мать-плацента-
 20 плод» на фоне метаболических нарушений беременной.

Недостатком предлагаемого способа является двукратное определение нескольких биохимических показателей; трудоемкость метода; использование дорогостоящего оборудования; отсутствие точности прогноза [Патент №2334985 Российская Федерация. Способ прогнозирования развития внутриутробной гипоксии плода / Тарханова А.Э.,
 25 Ковальчук Л.А., Прохоров В.Н. // Изобретения. Полезные модели. - 2008. - №27].

Техническим решением заявляемого способа является прогнозирование развития ХГП у женщин, забеременевших с помощью ЭКО, а также упрощение и повышение точности способа до 87,0%. Прогноз осуществляется до наступления беременности. Техническое решение осуществляется путем определения содержания тиреотропного
 30 гормона (ТТГ) в венозной крови у женщины перед процедурой ЭКО. При значении данного показателя более 1,92 мМЕ/л прогнозируют развитие хронической гипоксии плода.

Новизна способа заключается в том, что впервые прогнозирование развития ХГП у женщин, забеременевших с помощью ЭКО, проводят перед процедурой ЭКО по
 35 определению содержания ТТГ в венозной крови.

Функция щитовидной железы (ЩЖ) и репродуктивная функция женщины тесно взаимосвязаны [Перминова С.Т., Фадеев В.В., Корнеева И.Е. Репродуктивная функция женщин с патологией щитовидной железы // Проблемы репродукции. - 2006. - Т. 12, №1. - С. 70-77]. Эта взаимосвязь обусловлена общими центральными механизмами
 40 регуляции и наиболее отчетливо проявляется во время беременности. Известно, что беременности, индуцированные с помощью метода ЭКО, представляют собой группу риска по развитию осложнений: высокой частоты ранних репродуктивных потерь, многоплодия, раннего гестоза, тяжелого синдрома гиперстимуляции яичников, фетоплацентарной недостаточности, угрозы преждевременных родов, развития
 45 патологических состояний у плода [Назаренко Т.А., Дуринян Э.Р., Чечурова Т.Н. Эндокринное бесплодие у женщин. Диагностика и лечение. - М., 2004. - 72 с.]. Высокая стероидная нагрузка вследствие гиперстимуляции яичников, а также прием большого числа гормональных препаратов влияют на метаболизм гормонов гипофизарно-

тиреоидной системы. Так, A. Muller и соавт. при исследовании функции ЩЖ у женщин в программе ЭКО в период непосредственно после завершения стимуляции суперовуляции обнаружили значительное повышение уровня сывороточного тиреотропного гормона (ТТГ) и снижение связанного Т₄ (тироксина) по сравнению с их исходными уровнями [A.F. Muller [et al.] Decrease of free thyroxine levels after controlled ovarian hyperstimulation. - 2000. - Vol. 85 (2) / - P. 545-548]. Сходные результаты получены Л.Л. Бостанджян, которая выявила повышение уровня ТТГ и снижение уровня связанного Т₄ в сыворотке крови пациенток ко дню переноса эмбрионов и через 14 дней после переноса эмбрионов, что свидетельствует о напряжении гипофизарно-тиреоидной системы на фоне стимуляции суперовуляции в программе ЭКО [Бостанджян Л.Л. Влияние контролируемой стимуляции суперовуляции у пациенток программы ЭКО на функциональное состояние тиреоидной системы // Проблемы репродукции. - 2004. - №5. - С. 22-4]. Многие авторы полагают, что гормоны тиреоидной системы действуют однонаправленно с фолликулостимулирующим гормоном, оказывая прямое стимулирующее действие на функции гранулезных клеток, включая их морфологическую дифференциацию, стимулируют секрецию прогестерона и эстрадиола желтым телом, влияют на способность ооцитов к оплодотворению, качество и жизнеспособность эмбрионов [Wakim A.N., Polizotto S.L., Burholt D.R. Influence of thyroxine on human granulosa cell steroidogenesis in vitro // J Assist Reprod Genet. - 1995. - Vol. 12 (4). - P. 274-27]. Ранее проводимые исследования показали, что уровень ТТГ значительно выше у женщин с низким качеством ооцитов и неудачными попытками программ ЭКО и переноса эмбриона (ПЭ) [Poppe K., Velkeniers B. Female infertility and the thyroid // Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. - 2004. - Vol. 18 (2) - P. 153-165]. Некоторые исследователи акцентируют внимание на то, что уровень ТТГ является одним из показателей прогноза эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и свидетельствует о важной роли ТТГ в физиологии ооцитов [Serum prolactin and TSH in an in vitro fertilization population: is there a link between fertilization and thyroid function? / D.W. Cramer et al. // J Assisted Reprod Genet. - 2003. - Vol. 20 (6). - P. 210-215].

Кроме того, потребность в тиреоидных гормонах (ТГ) во время беременности увеличивается на 40-50%, а гипотироксинемия любого происхождения имеет самые неблагоприятные последствия именно на ранних сроках беременности. Это обусловлено, с одной стороны, высоким уровнем обменных процессов во время беременности, с другой - трансплацентарным транспортом ТГ от матери к плоду, которые необходимы для процессов эмбриогенеза, созревания всех органов и систем и в первую очередь для формирования и созревания ЦНС будущего ребенка [Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes/ B.M. Casey et al. // Obstet. Gynecol. - 2006. - Vol. 107, №2 (Pt. 1). - P. 337-341]. Как отдельный орган щитовидная железа у плода начинает функционировать с 12-й недели внутриутробного развития, до этого срока потребность плода в ТГ полностью компенсируется гормонами матери [Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum / A. Stagnaro-Green et al. // Thyroid. - 2011. - Vol. 21, №10. - P. 1081-1125]. В то же время во время беременности за счет увеличивающейся потребности и повышенной почечной экскреции снижается в циркуляции содержание йода - структурного компонента ТГ [Нестеренко О.С. Особенности развития детей от женщин с тиреоидной патологией // Российский педиатрический журнал. - 2001. - №6. - С. 29-30]. По нашему мнению, у женщин во время индуцированной беременности увеличивается риск развития дисбаланса гормонов гипофизарно-тиреоидной системы, что обуславливает нарушение

физиологического течения беременности и способствует формированию ХГП.

Отличительные признаки способа: установлен новый прогностический параметр содержания ТТГ перед процедурой ЭКО, при количественном значении которого более 1,92 мМЕ/л прогнозируют развитие хронической гипоксии плода у женщин,

забеременевших с помощью экстракорпорального оплодотворения.

Способ осуществляется стандартно следующим образом.

У женщин с бесплодием в анамнезе перед проведением процедуры ЭКО забирают венозную кровь в количестве 2 мл, после образования сгустка центрифугируют при 1500 об/мин в течение 10 минут и определяют уровень тиреотропного гормона (ТТГ) в 50 мКл сыворотки крови методом твердофазного хемилюминесцентного иммунометрического анализа с использованием двойных антител набором реагентов Rapid TSN (IMMULITE Rapid TSH, производитель: Siemens Healthcare Diagnostics, USA) согласно инструкции. Результат получают через 2 часа 30 мин в мМЕ/л.

Сущность заявляемого способа поясняется следующими примерами.

Пример 1.

Семья Б. наблюдалась в центре планирования семьи и репродукции с диагнозом вторичное бесплодие, обусловленное отсутствием овуляции. Эндометриоз тазовой брюшины. Продолжительность бесплодия 4 года. Брак первый, зарегистрированный. Возраст отца 35 лет, в анамнезе - остеохондроз. Заключение по спермограмме:

астенозооспермия. Возраст матери 32 года. В анамнезе: медицинский аборт, перенесенные операции - лапароскопия. Содержание тиреотропного гормона перед процедурой ЭКО составило 3,18 мМЕ/л. В случае наступления беременности прогнозируется ХГП. Беременность наступила после ЭКО с первой попытки при использовании длинного протокола, протекала на фоне угрозы прерывания в I, II триместрах беременности. По данным УЗИ - раннее старение плаценты, взвесь в околоплодных водах, синдром задержки роста плода (СЗРП). Кардиотокография - 1,41. Диагноз: хроническая гипоксия плода. Произошли первые своевременные роды в 38,6 недель. Кесарево сечение в нижнем сегменте матки. Родилась живая доношенная девочка массой тела 2650 г, длиной тела 52 см, оценка по шкале Апгар 6-7 баллов.

Диагноз при рождении: умеренная асфиксия на фоне хронической гипоксии плода, синдрома задержки внутриутробного развития 1 ст. асимметричного варианта. Проконсультирована неврологом, проведена нейросонография: перинатальное поражение центральной нервной системы (ПП ЦНС) гипоксического генеза, церебральная ишемия 1 степени, ВЖК 1 степени, синдром возбуждения. Таким образом, прогноз ХГП по предлагаемому способу подтвердился.

Пример 2.

Семья П. наблюдалась в ЦПС с диагнозом вторичное бесплодие. Брак второй, зарегистрированный. Продолжительность бесплодия 5 лет. Возраст отца 33 года. Заключение по спермограмме: астенозооспермия. Возраст матери 33 года. В анамнезе:

хронический сальпингит, хронический эндометрит; две внематочные беременности; перенесенные операции - тубэктомия. Содержание тиреотропного гормона перед процедурой ЭКО составило 2,0 мМЕ/л. В случае наступления беременности прогнозируется ХГП. Беременность наступила после ЭКО со второй попытки при использовании длинного протокола, протекала на фоне угрозы прерывания в III триместре беременности. УЗИ - взвесь в околоплодных водах. Кардиотокография - 1,37. Диагноз: хроническая гипоксия плода. Произошли первые своевременные роды при беременности 38,5 недель. Кесарево сечение в нижнем сегменте матки. Родилась живая доношенная девочка с массой тела 2850 г, длиной тела 49 см, оценка по шкале

Апгар 7-8 баллов. Конъюгационная желтуха. Таким образом, прогноз ХГП по предлагаемому способу подтвердился.

Пример 3.

Семья Е. наблюдалась в ЦПС с диагнозом вторичное бесплодие, обусловленное отсутствием овуляции. Синдром поликистозных яичников. Брак первый, зарегистрированный. Продолжительность бесплодия 3 года. Возраст отца 25 лет. Заключение по спермограмме: астенозооспермия. Возраст матери 26 лет. В анамнезе: уреоплазмоз; перенесенные операции - лапароскопия. Содержание тиреотропного гормона перед процедурой ЭКО составило 1,79 мМЕ/л. В случае наступления беременности прогноз - отсутствие ХГП. Беременность наступила после ЭКО с первой попытки при использовании короткого протокола, протекала без особенностей (по данным УЗИ и доплерометрии). Кардиотокография - 0,87. Произошли первые своевременные роды при беременности 38,5 недель. Кесарево сечение в нижнем сегменте матки. Родился доношенный мальчик с массой тела 3400 г, длиной тела 52 см, оценка по шкале Апгар 8-9 баллов. Диагноз при выписке: доношенный новорожденный. Таким образом, прогноз по предлагаемому способу подтвердился.

Пример 4.

Семья П. наблюдалась в ЦПС с диагнозом первичное бесплодие, трубный фактор. Брак второй, незарегистрированный. Продолжительность бесплодия два года. Возраст отца 27 лет. Заключение по спермограмме: астенозооспермия, олигоспермия, тератозооспермия. Проводилось лечение. Возраст матери 28 лет. В анамнезе: хронический сальпингит, эктопия шейки матки, миома матки; перенесенные операции: тубэктомия. Содержание тиреотропного гормона перед процедурой ЭКО составило 0,7 мМЕ/л. В случае наступления беременности прогноз - отсутствие ХГП. Беременность наступила после ЭКО с первой попытки при использовании длинного протокола, протекала без особенностей (по данным УЗИ и доплерометрии). Кардиотокография - 0,71. Произошли первые своевременные роды при беременности 38,0 недель. Кесарево сечение в нижнем сегменте матки. Родилась доношенная девочка с массой тела 3550 г, длиной тела 53 см, оценка по шкале Апгар 8-9 баллов. Диагноз при выписке: доношенный новорожденный. Таким образом, прогноз по предлагаемому способу подтвердился.

Указанным способом обследовано 77 женщин с бесплодием в анамнезе.

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатель	Количество обследованных
Всего обследовано женщин	77
Истинно-положительный результат	23
Ложно-положительный результат	1
Истинно-отрицательный результат	44
Ложно-отрицательный результат	9
Итого: точность заявляемого способа – 87,0%	
Чувствительность заявляемого способа – 71,9%	
Специфичность заявляемого способа – 97,8%	

Преимущества способа

1. Исследование проводится женщине перед процедурой ЭКО, что позволяет своевременно сформировать группы риска по развитию ХГП для проведения

профилактических мероприятий.

2. Предлагаемый способ имеет высокую точность - 87,0%, чувствительность - 71,9%, специфичность - 97,8%.

3. Данный способ является неинвазивным для ребенка.

4. Дешевизна способа.

5. Метод является скрининговым, т.е. позволяет обследовать большое количество женщин.

Таким образом, заявленный способ прост в исполнении и позволяет с высокой точностью прогнозировать развитие ХГП у женщин, забеременевших с помощью ЭКО, своевременно профилактировать у них нарушение функции щитовидной железы, начиная с этапа ЭКО. Своевременно принятые профилактические мероприятия будут способствовать снижению частоты ХГП у женщин, забеременевших с помощью ЭКО, и одновременно позволят снизить экономические затраты на их лечение.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования хронической гипоксии плода путем биохимического исследования периферической венозной крови, отличающийся тем, что перед процедурой экстракорпорального оплодотворения определяют содержание тиреотропного гормона и при его значении более 1,92 мМЕ/л прогнозируют развитие хронической гипоксии плода у женщин, забеременевших с помощью экстракорпорального оплодотворения.