

# РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2726971

### Способ неинвазивной ранней диагностики эндометриоза

Патентообладатель: *федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский университет ИТМО" (Университет ИТМО) (RU)*

Авторы: *Бараненко Денис Александрович (RU), Москвин Алексей Леонидович (RU), Поваров Владимир Глебович (RU), Соколова Ольга Борисовна (RU), Мельчаков Роман Максимович (RU), Говоров Игорь Евгеньевич (RU), Ситкин Станислав Игоревич (RU), Комличенко Эдуард Владимирович (RU)*

Заявка № 2019139917

Приоритет изобретения 05 декабря 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 17 июля 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 05 декабря 2039 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





(51) МПК  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*G01N 33/52* (2006.01)  
*G01N 33/68* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*G01N 33/48* (2020.02); *G01N 33/49* (2020.02); *G01N 33/52* (2020.02); *G01N 33/68* (2020.02); *G01N 33/6806* (2020.02); *G01N 33/6812* (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2019139917, 05.12.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
05.12.2019

Дата регистрации:  
17.07.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 05.12.2019

(45) Опубликовано: 17.07.2020 Бюл. № 20

Адрес для переписки:

197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр.,  
49, лит. А, Университет ИТМО, ОИС и НТИ

(72) Автор(ы):

Бараненко Денис Александрович (RU),  
 Москвин Алексей Леонидович (RU),  
 Поваров Владимир Глебович (RU),  
 Соколова Ольга Борисовна (RU),  
 Мельчаков Роман Максимович (RU),  
 Говоров Игорь Евгеньевич (RU),  
 Ситкин Станислав Игоревич (RU),  
 Комличенко Эдуард Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное  
 образовательное учреждение высшего  
 образования "Национальный  
 исследовательский университет ИТМО"  
 (Университет ИТМО) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: RU 2526823 C1, 27.08.2014. RU  
 2265223 C1, 27.11.2005. WO 2018134329 A1,  
 26.07.2018. US 2008318237 A1, 25.12.2008.  
 КАЛИНИНА Е.А. и др. Молекулярные  
 методы диагностики гинекологических  
 заболеваний. Лечение и профилактика, 2014,  
 2(10), с.44-53. DUTTA M et al. Metabolomics  
 reveals perturbations in endometrium and serum  
 of minimal and mild (см. прод.)

(54) Способ неинвазивной ранней диагностики эндометриоза

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к гинекологии, и предназначено для неинвазивной ранней диагностики эндометриоза. Для диагностики эндометриоза проводят химический анализ шести аминокислот в сыворотке крови - глицина, аланина, валина, пролина, серина и триптофана в диапазоне концентраций от 0,5 до 10,0 мкг/мл. Осуществляют нормировку полученных значений аналитического сигнала на аналитический сигнал валина. Выполняют сравнение нормированных

значений концентраций пяти аминокислот со средними нормированными значениями для групп больных и здоровых. Если полученные значения нормированных значений концентраций для глицина меньше 1,85, для аланина меньше 1,14, для пролина меньше 1,07 и серина меньше 1,93, а для триптофана больше 1,79, то диагностируют эндометриоз. Если полученные значения для глицина больше 1,85, для аланина больше 1,14, для пролина больше 1,07 и серина больше 1,93, а для триптофана меньше 1,79, заболевание не

диагностируют. При невыполнении указанных зависимостей требуется дополнительное исследование для уточнения диагноза. Использование изобретения обеспечивает повышение точности и специфичности

неинвазивной ранней диагностики эндометриоза у женщин, что позволит своевременно назначать соответствующую адекватную патогенетическую терапию. 1 з.п. ф-лы, 2 табл., 1 ил.

(56) (продолжение):

**endometriosis. Sci Rep., 2018, 8(1):6466.**

R U 2 7 2 6 9 7 1 C 1

R U 2 7 2 6 9 7 1 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

G01N 33/49 (2006.01)

G01N 33/52 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

G01N 33/48 (2020.02); G01N 33/49 (2020.02); G01N 33/52 (2020.02); G01N 33/68 (2020.02); G01N 33/6806 (2020.02); G01N 33/6812 (2020.02)

(21)(22) Application: 2019139917, 05.12.2019

(24) Effective date for property rights:  
05.12.2019Registration date:  
17.07.2020

Priority:

(22) Date of filing: 05.12.2019

(45) Date of publication: 17.07.2020 Bull. № 20

Mail address:

197101, Sankt-Peterburg, Kronverkskij pr., 49, lit.  
A, Universitet ITMO, OIS i NTI

(72) Inventor(s):

Baranenko Denis Aleksandrovich (RU),  
Moskvin Aleksej Leonidovich (RU),  
Povarov Vladimir Glebovich (RU),  
Sokolova Olga Borisovna (RU),  
Melchakov Roman Maksimovich (RU),  
Govorov Igor Evgenevich (RU),  
Sitkin Stanislav Igorevich (RU),  
Komlichenko Eduard Vladimirovich (RU)

(73) Proprietor(s):

federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Natsionalnyj issledovatel'skij  
universitet ITMO" (Universitet ITMO) (RU)

## (54) METHOD OF NON-INVASIVE EARLY DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to gynecology, and aims at non-invasive early diagnosis of endometriosis. Diagnosing endometriosis involves chemical analysis of six amino acids in blood serum – glycine, alanine, valine, proline, serine and tryptophan in the range of concentrations from 0.5 to 10.0 mcg/ml. Obtained analytical signal values are normalized to the valine analytical signal. Comparison of normalized values of concentrations of five amino acids with average normalized values for groups of patients and healthy. If the obtained values of normalized concentration values for glycine are less than 1.85, for alanine less than 1.14, for proline is less than 1.07 and

serine is less than 1.93, and for tryptophan is more than 1.79, endometriosis is diagnosed. If the obtained values for glycine are more than 1.85, for alanine is more than 1.14, for proline is more than 1.07 and serine is more than 1.93, and for tryptophan is less than 1.79, the disease is not diagnosed. If these relationships are not complied with, further analysis is required to specify the diagnosis.

EFFECT: use of the invention provides higher accuracy and specificity of non-invasive early diagnosis of endometriosis in females, which enables timely prescribing the corresponding adequate pathogenetic therapy.

1 cl, 2 tbl, 1 dwg

Изобретение относится к области медицины, а именно к гинекологии, и найдет широкое применение для объективной ранней диагностики эндометриоза.

Внедрение в последние 20-30 лет в практику инструментальных, эндоскопических, генетических, иммунологических методов расширило диагностические возможности при обследовании больных с эндометриозом. Частота выявления эндометриоза у 5 больных репродуктивного возраста колеблется от 7 до 50%. Наиболее частыми недостатками в диагностике являются: нераспознавание эндометриоза, ошибочное установление диагноза у некоторых онкологических и неврологических больных при 10 отсутствии у них эндометриоза, поздняя диагностика. «Золотым» стандартом диагностики эндометриоза являются лапароскопия и гистероскопия с последующим гистологическим исследованием биопсированных тканей. Однако частота гистологического подтверждения диагноза колеблется от 70 до 85%. Положительный результат подтверждает диагноз эндометриоза, в то время как отрицательный 15 совершенно не исключает эндометриозную болезнь, так как на исследование могут попасть лишь отдельные кусочки тканей, лишенные характерных морфологических признаков эндометриоза (Баскаков В.П., Цвелев Ю.В., Кира Е.Ф. Эндометриозная болезнь. Санкт-Петербург, 2002, 448 с.). В настоящее время отсутствует надежная 20 неинвазивная диагностика малых форм эндометриоза (Kennedy S., Bergqvist A., Chapron C., D'Hooghe T., Dunselman G., Greb R. et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. Hum Reprod 2005, Vol. 20, P. 2698-704; Rogers P.A., D'Hooghe T.M., Fazeabas A., Garget C.E., Giudice L.C., Montgomery G.W., Rombauts L., Salamonsen L.A., Zondervan K.T. Priorities for endometriosis research: recommendations from an international consensus workshop. Reprod Sci 2009, Vol. 16, P. 335-346), что приводит к увеличению промежутка 25 времени между первым проявлением симптомов боли, бесплодия и хирургическим подтверждением диагноза (Чернуха Г.Е. Эндометриоз и хроническая тазовая боль: причины и последствия. Проблемы репродукции, 2011, №5, с. 83-89; Sinaii N., Plumb K., Cotton L., Lambert A., Kennedy S., Zondervan K. et al. Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease. Fertil Steril 2008, Vol. 89, P. 538-45; Gajbhiye R., Sonawani A., Khan S., Suryawanshi A., Kadam S., Warty N., Raut V., Khole V. 30 Выявление и оценка новых сывороточных маркеров для ранней диагностики эндометриоза. Human Reproduction репродукция человека 2012, №2(26), с. 35-45). Анализ патентной и научно-медицинской литературы позволил установить, что существующие способы диагностики эндометриоза относятся в основном к инвазивным.

Ультразвуковая диагностика прочно вошла в медицинскую практику как один из 35 объективных методов диагностики и динамического наблюдения гинекологических больных. Но трансвагинальное ультразвуковое сканирование, по данным ряда исследователей, не позволяет выявить поверхностные импланты на брюшине малого таза, крестцово-маточных связках (Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы: руководство врачей. М., Медицина, 2006, 416 с.; Ищенко А.И., Кудрина 40 Е.А. Эндометриоз: современные аспекты. М., Медицина, 2008, 176 с.; Steinkeler J.A., Woodfield C.A., Hillstrom M.M. Female Infertility: A Systematic Approach to Radiologic Imaging and Diagnosis. Radio Graphics 2009, Vol. 29, N. 5, P. 1353-1370).

В настоящее время применяется МРТ-диагностика для эндометриозных кист яичников, эндометриоза ректовагинального пространства, но с помощью этого метода 45 невозможно обнаружить очаги эндометриоза на тазовой брюшине (малые формы эндометриоза) (Кулаков В.И., Адамян Л.В., Волобуев А.И. и соавт.

Магнитнорезонансная томография в диагностике различных форм эндометриоза. Вестник рентгенологии и радиологии 2003, №4, с. 45-59; Труфанов Г.Е., Панов В.О.

Руководство по лучевой диагностике в гинекологии. 2008, с. 200-204; Seeber B, Sammel MD, Fan X. Panel of markers can accurately predict endometriosis in a subset of patients. *Fertil Steril*. 2008, Vol. 89, P. 1073-1081; Al-Jefout M, Dezamaulds G, Cooper M, et al. Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Hum Reprod*. 2009, Vol. 24; P. 3019-3024).

Настоящее изобретение относится к практической медицине, а именно к гинекологии, и может быть использовано для диагностики эндометриоза у пациенток. Наружный генитальный эндометриоз является одним из наиболее распространенных заболеваний, ассоциируемых с бесплодием. Однако при малых его формах и на ранней стадии

диагностика неинвазивными методами крайне затруднительна. Эндометриоидные кисты, ретроцервикальный эндометриоз можно верифицировать с помощью бимануального, ультразвукового исследования, магнитно-резонансной томографии, однако наружный эндометриоз тазовой брюшины (малые формы наружного генитального эндометриоза) можно диагностировать только при проведении

лапароскопии и последующего гистологического исследования. Проблема наружного генитального эндометриоза, особенно у женщин с бесплодием, является чрезвычайно важной, поскольку он является весьма распространенным заболеванием женщин репродуктивного возраста, частота которого достигает 10% в популяции (Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы: Руководство для врачей. - М.: Медицина, 2006. - 416 с.; Giudice L.C. Endometriosis. // *N. Engl. J. Med.* - 2010. - Vol. 362. - P. 2389-2398). В свою очередь, бесплодие, которое в значительной степени (до 39%) обусловлено эндометриозом (Кулаков В.И., Овсянникова Т.В. Проблемы и перспективы лечения бесплодия в браке // *Акушерство и гинекология*. - 1997. - №3. - С. 5-8, Устинкина Т.И. Этиологическая и патогенетическая структура бесплодия в семье: Автореф. дис. д-ра мед. наук. - Л., 1990. - 36 с.), имеет не только

медицинское, но и социальное значение. При отсутствии диагностических маркеров задержка инвазивного инструментального исследования (лапароскопии или лапаротомии) подтверждения эндометриоза от начала болевого синдрома может составлять до 8 лет. Однако даже в этих случаях частота гистологического подтверждения диагноза колеблется от 70 до 85%, причем зачастую только в поздние стадии заболевания (Sinaii N., Plumb K., Cotton L., Lambert A., Kennedy S., Zondervan K. et al. Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease // *Fertil Steril*. - 2008. - Vol. 89. - P. 538-545).

Среди известных в научно-медицинской и патентной литературе методов диагностики наружного генитального эндометриоза можно отметить следующие.

Известен способ диагностики наружного генитального эндометриоза (патент RU №2164687, G01N 33/53, G01N 33/48, дата приоритета 20.02.2001, дата публикации 27.03.2001) путем исследования периферической крови, отличающийся тем, что в крови определяют спонтанную НСТ-активность нейтрофилов после их инкубации с ПАМГ-2 и при показателях ее 24% и более диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Недостатками данного способа являются: субъективность метода оценки спонтанной НСТ-активности нейтрофилов, поскольку расчет диагностического показателя осуществляется с помощью светового микроскопирования; использование в реакции ПАМГ-2, не имеющего сертификата и не относящегося к числу химических препаратов, включенных в «Реестр новых медицинских изделий, разрешенных к применению МЗ РФ».

Известен способ диагностики наружного генитального эндометриоза (патент RU №2211454, G01N 33/53, дата приоритета 29.10.2001, дата публикации 27.08.2003) у женщин

путем исследования биологического материала, отличающийся тем, что в пробе сыворотки периферической венозной крови определяют концентрацию интерферона- $\gamma$  и при его содержании, равном 1000 пкг/мл и менее, диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Недостатками данного способа являются: неспецифичность, поскольку содержание интерферона- $\gamma$  в крови изменяется в зависимости от многих эндо- и экзогенных факторов: стресса, наличия аутоиммунных заболеваний, вирусных инфекций, иммунодефицитных состояний и даже воспаления пародонта (Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. - М.: Медицина, 1996. - 240 с.), которое имеет место у очень многих людей и характеризуется недостаточно высокой точностью (77%).

Известен способ диагностики тяжести наружного генитального эндометриоза (патент RU №2219548, G01N 33/48, дата приоритета 28.01.2002, дата публикации 20.12.2003) путем спектрофотометрического определения в перитонеальной жидкости уровня молекул средней массы и на длине волны 280 нм и показателях экстинкции в пределах 0,100-0,210 е.о.п. диагностируют наружный генитальный эндометриоз I стадии; 0,211-0,310 е.о.п. - наружный генитальный эндометриоз II стадии; 0,311-0,526 е.о.п. - наружный генитальный эндометриоз III стадии; 0,527-0,726 е.о.п. - наружный генитальный эндометриоз IV стадии. Недостатком данного способа является его инвазивность (взятие перитонеальной жидкости); неспецифичность (изменение уровня молекул средней массы, как маркера эндогенной интоксикации, имеет место при различных патологических и даже, функциональных состояниях организма) (Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. Н. Тица. - М.: Издательство «Лабинформ». - 1997. - 960 с.); недостаточная чувствительность (измерение определяемых продуктов в относительных величинах оптической плотности).

Известен способ диагностики стадии наружного генитального эндометриоза (патент RU №2242002, G01N 33/53, дата приоритета 13.05.2003, дата публикации 10.12.2004) путем исследования сыворотки крови, отличающийся тем, что определяют содержание макроглобулина и при его уровне от 600,0 мг/дл и выше диагностируют I стадию, при значении от 599,0 до 480,0 мг/дл - эндометриоз II стадии, от 479,0 до 360,0 мг/дл - эндометриоз III стадии и от 359,0 мг/дл - эндометриоз IV стадии. Недостатками этого способа являются низкая специфичность, поскольку изменение содержания  $\alpha$ 2-макроглобулина в сыворотке крови может быть отражением воспалительных процессов не только в репродуктивных тканях, но и в любом другом органе (печени, поджелудочной железе, желудочно-кишечном тракте) (Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. Н. Тица. М.: Издательство «Лабинформ», - 1997. - 960 с. Иванова О.М. Значение  $\alpha$ 2-макроглобулина в патогенезе ишемической болезни сердца. - Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - №4. - С. 109-112; Зорина В.Н. и др. Роль альфа-2-макроглобулина в патогенезе ревматоидного артрита и системной красной волчанки. - Бюллетень сибирской медицины. - 2010. - №5. - С. 39-44). Не указаны чувствительность и достоверность способа.

Также не лишен недостатков способ ранней диагностики наружного генитального эндометриоза у женщин путем исследования биоптата эндометрия (патент RU №2247391, G01N 33/68, дата приоритета 13.05.2003, дата публикации 27.02.2005), отличающийся тем, что в пробе ткани определяют активность катепсина D и при его значении 0,1 Ед. ферм, акт/ч и менее диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Способ инвазивен (взятие ЦУГа эндометрия), характеризуется ограниченной информативностью (использование одного фермента только из группы кислых лизосомальных эндопептидаз без учета нейтральных экзопептидаз), недостаточными точностью и специфичностью.

Чрезвычайно низкие относительные величины продуктов реакции (десятые и сотые единицы) свидетельствуют о низкой чувствительности способа.

Известен диагностический тест, при котором определяется содержание основного фактора роста фибробластов-2 в сыворотке крови и перитонеальной жидкости, повышение которого в обеих биологических жидкостях используется для диагностики наружного генитального эндометриоза (Бурлев В.А., Larsson A., Olovsson M. Фактор роста фибробластов-2 в диагностике перитонеальной формы эндометриоза // Акушерство и гинекология. - 2007. - №3. - С. 50-54). Недостатками метода являются: его инвазивность (исследование перитонеальной жидкости); неспецифичность - он играет важную роль не только для ангиогенеза в эндометрии, но и для ангиогенеза во всех тканях организма человека (Ferriari R.A., Charnock-Jones D.S., Prentice A. et al. Immunohistochemical localization of acidic and basic fibroblast growth factors in normal human endometrium and endometriosis and the detection of their mRNA by polymerase chain reaction. // Hum. Reprod. - 1993. - Vol. 8. - P. 11-16, Moller B., Rasmussen C, Lindblom B., Olovsson M. Expression of the angiogenic growth factors VEGF, FGF-2, EGF and their receptors in normal human endometrium during the menstrual cycle // Mol. Hum. Reprod. - 2001. - Vol. 5. - P. 681-684); ограниченные возможности применения метода (только в крупных перинатальных центрах, для его выполнения необходим высококвалифицированный специалист).

Известен способ диагностики генитального эндометриоза (патент RU №2363000, G01N 33/68, дата приоритета 03.08.2007, дата публикации 27.07.2009), включающий исследование сыворотки крови и перитонеальной жидкости, отличающийся тем, что в полученных образцах иммуноферментным методом определяют содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР) и, если отношение содержания СЭФР в сыворотке к содержанию СЭФР в перитонеальной жидкости превышает значение 4,35, диагностируют наружный генитальный эндометриоз. К недостаткам метода относятся его инвазивность (исследование перитонеальной жидкости), а также недостаточная специфичность, поскольку ангиогенный СЭФР играет весьма важную роль не только в локальных процессах ангиогенеза в эндометрии, но и на системном уровне в организме женщины (Costa N., Paramanathan S., Mac Donald D., Wierzbicki A.S., Hampson G. Factors regulating circulating vascular endothelial growth factor (VEGF): association with bone mineral density (BMD) in post-menopausal osteoporosis. // Cytokine. - 2009. - Vol. 46, N 3. - P. 376-381; Thielemann A., Baszczuk A., Koczyński Z., Koczyński P., Grodecka-Gazdecka S. Clinical usefulness of assessing VEGF and soluble receptors sVEGFR-1 and sVEGFR-2 in women with breast cancer // Ann. Agric Environ Med. - 2013. - Vol. 20, N 2. - P. 293-297).

Известен способ диагностики наружного генитального эндометриоза у женщин с бесплодием (патент RU №2291439, G01N 33/577, дата приоритета 04.07.2005, дата публикации 10.01.2007) путем исследования периферической венозной крови, отличающийся тем, что в крови определяют относительное количество CD 16+ моноцитов в моноцитарном гейте и при значениях этого показателя, равного или менее 45%, диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Данный способ, как и предыдущие, имеет ряд недостатков:

- неспецифичность, поскольку количество CD 16+ моноцитов значительно варьирует в венозной крови при различных заболеваниях, патологических и экстремальных состояниях (вирусные инфекции, аутоиммунные заболевания, гастроэнтерологические заболевания, воспалительные процессы, стресс) (Мамедова Л.Н. Клинико-патогенетическое обоснование оптимизации диагностики и лечения воспалительных заболеваний кишечника: Дисс. кан. мед. наук. - Ростов на Дону, 2014. - 180 с. Последние достижения в клинической иммунологии. Под ред. Р.А. Томпсона. М.: Медицина, 1983.

- 199 с.);

- недостаточная чувствительность (измерение диагностического показателя в относительных количествах);

- недостаточная точность (снижена в связи с отсутствием абсолютных величин), почти 20% составляют ложноположительные и ложноотрицательные результаты.

Известен диагностический тест, при котором учитывается абсолютное количество макрофагов в перитонеальной жидкости -  $13 \cdot 10^6$ , позволяющее диагностировать наличие эндометриоза (Oosterlynk D.J., Lacquaet F.A., Waer M. et al. Lymphokine - activated killer activity in women with endometriosis // Gyn. Obstet. Invest. - 1994. - Vol. 37, #3. - P. 185-190).  
Недостатком вышеизложенного способа следует отнести его травматичность, так как для диагностики эндометриоза этим методом нужно получить перитонеальную жидкость, для чего проводят лапароскопию. В случае подтверждения диагноза необходимо проводить повторную лапароскопию. В то же время для подсчета абсолютного количества макрофагов в перитонеальной жидкости должен участвовать специалист высокого профессионального уровня.

Известен способ диагностики генитального эндометриоза путем исследования функциональной активности базофилов периферической крови больного в присутствии водного экстракта эндометриоидной ткани с концентрацией белка  $>200$  мкг/мл. При показателе  $>12\%$  диагностируется генитальный эндометриоз (Патент 2004910. Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Пшеничникова Т.Я., Волков Н.И., Ионов И.Д. Российский научно-исследовательский центр перинатологии, акушерства и гинекологии. Способ диагностики генитального эндометриоза. Бюллетень "Изобретения", - 1993. - 45-46. - с. 164.).

Недостатки способа:

- выделение базофильных лейкоцитов требует забора большого количества крови (18 мл) из-за относительной малочисленности базофилов в периферической крови человека (0,5-1%)

- предлагаемый для использования экстракт эндометриоидной ткани не является стандартизованным препаратом и не включен в "Реестр новых медицинских средств и изделий, разрешенных к применению МЗ РФ";

- способ не предусматривает диагностику различных форм генитального эндометриоза (наружный, внутренний), т.к. данный способ применяется для диагностики всех форм генитального эндометриоза;

- не указывается точность способа.

Известен способ диагностики наружного генитального эндометриоза путем определения спонтанного высвобождения гистамина из базофилов периферической крови. При значении этого показателя 49% и более диагностируют наружный генитальный эндометриоз (Авторское свидетельство 1534397. Ионов И.Д., Волков Н.И., Сухих Г.Т., Пшеничникова Т.Я. Всероссийский НИИ по охране здоровья матери и ребенка. Способ диагностики наружного генитального эндометриоза. - Бюллетень «Изобретения». - 1990. - 1. - С. 180). Способ имеет ряд недостатков:

- выделение базофилов требует забора большого количества крови (18 мл) из-за относительной малочисленности базофилов в периферической крови человека (0,5-1%) и низкого содержания в них гистамина;

- предлагаемый способ неспецифичен, так как повышение высвобождения гистамина базофилами происходит и при других патологических состояниях, в частности воспалениях и аллергических реакциях любого типа;

- способ не дает возможности установить степень тяжести заболевания и является только качественным;

- не указывается точность способа.

Известен ряд способов диагностики матки на основании исследования сыворотки крови пациенток. Способ диагностики внутреннего эндометриоза матки (патент RU 2117296, G01N 33/68, дата приоритета 27.12.1995, дата публикации 10.08.1998),  
 5 включающий биохимическое исследование сыворотки крови больной, отличающийся тем, что в сыворотке крови определяют уровень кислой фосфатазы и при выявлении его значения 50,91+6,95 ммоль/л диагностируют внутренний эндометриоз матки. Способ диагностики наружного генитального эндометриоза у женщин с бесплодием (патент RU 2655812, G01N 33/50, дата приоритета 06.06.2017, дата публикации 29.05.2018),  
 10 включающий исследование крови, отличающийся тем, что в сыворотке крови женщины определяют содержание агматина и при его величине ниже 2,2 мкг/мл диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Способ диагностики наружного генитального эндометриоза у пациенток с бесплодием (патент RU 2599019, G01N 33/53, G01N 33/48, дата приоритета 06.04.2015, дата публикации 10.10.2016), включающий измерение в  
 15 плазме крови концентрации коэнзима Q10 и  $\alpha$ -токоферола, и при величине коэнзима Q10 менее 1,057 мкг/мл и  $\alpha$ -токоферола менее 18,00 мкг/мл диагностируют тяжелые или умеренные формы наружного генитального эндометриоза; при концентрациях коэнзима Q10 от 1,057 мкг/мл до 1,352 мкг/мл и  $\alpha$ -токоферола от 18,00 мкг/мл и до 21,03 мкг/мл - малые формы наружного генитального эндометриоза; при концентрациях  
 20 коэнзима Q10 более 1,352 мкг/мл и  $\alpha$ -токоферола более 21,03 мкг/мл - наружный генитальный эндометриоз исключают.

Недостатками данной группы способов можно назвать следующие:

- недостаточная точность способов для диагностики эндометриоза на ранних стадиях;
- высокая вероятность появления как ложноположительных результатов (например,  
 25 повышение уровня кислой фосфатазы у женщин может быть связано с гиперпаратиреозом, болезнью Гоше, раком молочной железы и метастазами в костную ткань (Bull H, Murray PG, Thomas D, Fraser AM, Nelson PN. Acid phosphatases. Mol Pathol. 2002 Apr; 55(2):65-72. doi: 10.1136/mp.55.2.65.), так и ложноотрицательных  
 30 результатов (например, повышенный уровень агматина в сыворотке крови может быть связан с наличием аутоиммунного заболевания щитовидной железы (Song J, Shan Z, Mao J, Teng W. Serum polyamine metabolic profile in autoimmune thyroid disease patients. Clin Endocrinol (Oxf). 2019 May; 90(5):727-736. doi: 10.1111/cen. 13946.) или даже с приемом биологически активной добавки, содержащей агматин).
- недостаточная специфичность, так как указанные маркеры могут относиться к  
 35 другим патологическим состояниям организма.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату к предлагаемому изобретению является способ диагностики наружного генитального эндометриоза (патент RU 2526823, G01N 33/53, G01N 33/50, G01N 33/48, дата приоритета 05.08.2013, дата публикации 27.08.2014), включающий исследование сыворотки крови  
 40 биохимическим методом с определением уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), при величине которого 0,77 ммоль/л и выше диагностируют наружный генитальный эндометриоз. Недостатками данного метода являются:

- исследование суммарного содержания липопротеинов, а не отдельных специфических соединений, что может давать ложноположительные результаты, например, под  
 45 влиянием различий в диете пациенток;
- отсутствие специфичности именно к эндометриозу, поскольку повышение ЛПВП может быть обусловлено генетическими заболеваниями, хроническим алкоголизмом, хроническими заболеваниями печени, такими как первичный билиарный цирроз

(холангит), гипертиреозом и действием лекарственных средств (таких, например, как кортикостероиды, инсулин, фенитоин, эстрогены) (MSD Manuals, <https://www.msmanuals.com/professional>).

Указанные недостатки предлагается устранить в заявляемом способе.

5        Задача, на решение которой направлено предлагаемое изобретение заключается в выявлении признаков болезни при ранней диагностике.

Данная задача решается достижением, заключающимся в ранней диагностике признаков заболевания эндометриза, способом химического анализа метаболитов в сыворотке крови, включающим анализ 6 аминокислот.

10        Технический результат, получаемый в ходе использования изобретения, состоит в повышении точности и специфичности неинвазивной ранней диагностики эндометриоза у женщин, что позволит своевременно назначать соответствующую адекватную патогенетическую терапию.

Новизна заявляемого способа заключается в том, что вместо биохимического анализа 15 биологических проб проводится химический анализ метаболитов в сыворотке крови, включающий анализ 6 аминокислот - глицина, аланина, валина, пролина, серина и триптофана в диапазоне концентраций от 0,5 до 10,0 мкг/мл, последующую нормировку полученных значений аналитического сигнала на аналитический сигнал валина для исключения в расчете возможной погрешности определения концентраций аминокислот 20 и выполнение сравнения нормированных значений концентраций 5 аминокислот со средними нормированными значениями для групп больных и здоровых. Если полученные значения нормированных значений концентраций глицина, аланина, пролина и серина не менее чем в 1,4 раза ниже, а триптофана выше, чем средние значения для референсной группы здоровых, то подтверждается возможность постановки диагноза 25 эндометриоз, если полученные значения соответствуют средним по референсной группе здоровых, заболевание не диагностируется. В случае отклонения от соотношений превосходства или недостаточности концентрации триптофана с концентрацией остальных аминокислот проводят дополнительные исследования пациентов.

Подробное описание способа и примеры его клинического выполнения.

30        Способ осуществляют следующим образом.

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии, с применением газового хроматомасс-спектрометра Shimadzu GCMS-TQ8040 или аналогичного не уступающего по характеристикам, с предварительной подготовкой пробы дериватизацией определяют 35 концентрации 6 аминокислот в сыворотке крови пациентов. Проводят нормирование значений для 5-ти аминокислот путем деления их концентраций на концентрацию валина и получают нормированные значения концентрации для каждой аминокислоты.

В результате определения нормированных концентраций по этой схеме для контрольной группы здоровых (14 человек) и контрольной группы больных с 40 предварительно поставленным диагнозом с подтверждением диагноза по результатам гистологического исследования (14 человек) предварительно полученных средних значений нормированных концентраций для обеих контрольных групп (фигура). На фигуре представлено сопоставление средних нормированных концентраций 5 аминокислот для пациентов контрольной группы с подтвержденным диагнозом эндометриоз и контрольной группы здоровых (Ala - аланин, Gly - глицин, Pro - пролин, 45 Ser - серин, Trp - триптофан). Нормированные значения концентраций глицина, аланина, пролина и серина не менее чем в 1,4 раза ниже, а триптофана выше для контрольной группы больных с предварительно поставленным диагнозом «эндометриоз».

Дальнейший метод расчета основан на сравнении нормированных концентраций

для пробы пациентов с неизвестным диагнозом с нормированными концентрациями для контрольной группы здоровых пациентов, которые приведены в таблице 1, где представлены граничные значения нормированных концентраций 5 аминокислот, использующиеся для постановки или опровержения диагноза «эндометриоз», с учетом коэффициента 1,4. Для удобства последующего сравнения в таблице 1 рассчитаны граничные значения нормированных концентраций 5 аминокислот, использующиеся для постановки или опровержения диагноза «эндометриоз», с учетом коэффициента 1,4.

Таблица 1

Аминокислота	Средняя концентрация в сыворотке крови, мкг/мл	Средняя нормированная концентрация	Граничные значения нормированной концентрации для постановки диагноза эндометриоз
Аланин	3,0	1,6	1,6:1,4=1,14
Глицин	4,9	2,6	2,6:1,4=1,85
Валин	1,9	1	-
Пролин	2,9	1,5	1,5:1,4=1,07
Серин	5,2	2,7	2,7:1,4=1,93
Триптофан	4,8	2,5	2,5:1,4=1,79

В таблице 2 представлено применение предлагаемого способа диагностики на примере 3-х пациентов с неизвестным диагнозом, где проиллюстрировано проведение постановки диагноза для 3-х пациентов с неизвестным диагнозом по описанному выше способу.

Таблица 2

Пациенты с неизвестным диагнозом					
№	Аминокислота	Концентрация в сыворотке крови, мкг/мл	Нормированная концентрация	Сравнение с граничным значением нормированной концентрации для постановки	Предполагаемый диагноз

				диагноза эндометриоз		
5	1	Аланин	2,8	1,0	1,0<1,14	Эндометриоз
		Глицин	2,7	0,96	0,96<1,85	
		Валин	2,8	1	-	
		Пролин	2,4	0,86	0,86<1,07	
		Серин	4,2	1,5	1,5<1,93	
		Триптофан	12,1	5,0	5,0>1,79	
10	2	Аланин	3,6	0,86	0,86<1,14	Требуется дополнительное исследование для уточнения диагноза
		Глицин	7,8	1,9	1,9>1,85	
		Валин	4,2	1	-	
		Пролин	4,2	1	1,0<1,07	
		Серин	8,3	2,0	2,0>1,93	
		Триптофан	16,9	4,0	4,0>1,79	
15	3	Аланин	3,5	1,6	1,6>1,14	Диагноз эндометриоз не подтверждается
		Глицин	5,4	2,5	2,5>1,85	
		Валин	2,2	1	-	
		Пролин	2,7	1,2	1,2>1,07	
		Серин	4,5	2,0	2,0>1,93	
		Триптофан	2,2	1,0	1,0<1,79	

Из таблицы можно заметить, что при анализе 6 аминокислот, получены значения нормированных значений концентраций для глицина меньше 1,85, для аланина меньше 1,14, для пролина меньше 1,07 и серина меньше 1,93, а для триптофана больше 1,79, то подтверждается возможность постановки диагноза эндометриоз, если полученные значения для глицина больше 1,85, для аланина больше 1,14, для пролина больше 1,07 и серина больше 1,93, а для триптофана меньше 1,79, заболевание не диагностируется. В случае если указанные зависимости не выполняется, то требуются дополнительные исследования для уточнения диагноза пациентов.

### (57) Формула изобретения

1. Способ неинвазивной ранней диагностики эндометриоза, включающий исследование сыворотки крови, отличающийся тем, что проводится химический анализ метаболитов в сыворотке крови, при котором проводят анализ шести аминокислот - глицина, аланина, валина, пролина, серина и триптофана в диапазоне концентраций от 0,5 до 10,0 мкг/мл, последующую нормировку полученных значений аналитического сигнала на аналитический сигнал валина для исключения в расчете возможной погрешности определения концентраций аминокислот и сравнение нормированных значений концентраций пяти аминокислот со средними нормированными значениями для группы здоровых, при получении значения нормированных значений концентраций для глицина меньше 1,85, для аланина меньше 1,14, для пролина меньше 1,07 и серина меньше 1,93, а для триптофана больше 1,79, подтверждают возможность постановки диагноза эндометриоза, если при значениях для глицина больше 1,85, для аланина больше 1,14, для пролина больше 1,07 и серина больше 1,93, а для триптофана меньше 1,79, заболевание не диагностируют.

2. Способ неинвазивной ранней диагностики эндометриоза по п. 1, отличающийся тем, что в случае отклонения от соотношений превосходства или недостаточности концентрации триптофана с концентрацией остальных аминокислот проводят дополнительные исследования.

