



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61621 (13) A

(51) 7 G01N33/50, A61K9/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ КАТАРАКТИ

1

2

(21) 2003032341

(22) 18 03 2003

(24) 17 11 2003

(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р.

(72) Логай Іван Михайлович, Красновид Тетяна
Андріївна, Леус Миколай Федорович, Кравченко
Людмила Іванівна, Драгомireцька Олена Іванівна
(73) Логай Іван Михайлович, Красновид Тетяна
Андріївна, Леус Миколай Федорович, Кравченко
Людмила Іванівна, Драгомireцька Олена Іванівна(57) Спосіб прогнозування виникнення катаракти,
який полягає в біохімічному аналізі крові пацієнта,
який відрізняється тим, що можливість прогнозу-
вання ймовірності виникнення катаракти визнача-
ється станом активності ферменту глутатіон-S-
трансферази, рівень активності якого менш
19 нкат/мг білка визначається як фактор ризику
розвитку катаракти

Винахід відноситься до галузі медицини, зокрема до офтальмології і може бути використаний для прогнозування виникнення катаракти

Щодо даних ВООЗ серед причин сліпоти катаракта становить 43% (19,3 млн) від усієї офтальмопатології. У нинішній час спостерігається зростання числа хворих на вікову катаракту серед осіб все більш молодого віку (Increased mortality in women with cataract - a population based follow up of the North London Eye Study A Reidy, D C Minassian, P Desai, G Vafidis, J Joseph, S Farrow, A Connolly Br J Ophthalmol - 2002, 86 P 424-428). Залежність між частотою вікової катаракти та віком пацієнтів що обстежувалися дає основу розглядати це захворювання як проявлення старіння організму. Проте розбіжності, що спостерігаються у розповсюдженості катаракти серед населення різних регіонів, у термінах появи первинної локалізації та форми порушення прозорості, динаміки прогресування, а також наявності катаракти з одного боку у осіб відносно молодого віку та з іншого боку збереження прозорості кришталика у осіб нерідко навіть похилого віку не дозволяють погоджуватися з судженням, що вікова катаракта є результатом лише вікових змін. Враховуючи викладене вище, актуальним є прогнозування можливої ймовірності виникнення катаракти з метою профілактики її розвитку. Існують засоби клінічного дослідження стану кришталика - біомікротиндалеметрія, що дозволяє кількісно досліджувати тиндальфеномен (розсіювання світла білковими молекулами, що утворюють колоїдні розчини у клітках), в результаті чого дозволяє кількісно

оцінювати ступінь порушення прозорості кришталика (Биомикротиндалеметрические исследования хрусталика и роговицы в норме Ю И Вязовский - ОЖ - 1982 - №2 - С 106-108). Проте цей засіб дає можливість оцінювати лише ступінь вже наявних порушень прозорості кришталика.

Відомий засіб біохімічного прогнозування швидкості розвитку катаракти з використанням регресійного аналізу. У крові хворих на початкову вікову катаракту визначали біохімічні показники глутатіонредуктазу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, ПАЛФ-ефект, аспартатамінотрансферазу, концентрацію SB-груп, аскорбінову кислоту, глутатіон та амінонітроген. Порушення активності цих ферментів свідчать про швидке прогресування катаракти. Цей спосіб дає можливість прогнозування швидкості прогресування вже наявної катаракти та використовується для планування проведення своєчасного оперативного лікування з метою реабілітації хворого.

Спосіб прогнозування виникнення катаракти до нинішнього часу немає. Найбільш близьким до запропонованого нами є засіб біохімічного прогнозування швидкості прогресування катаракти. Спосіб полягає в тому, що у крові хворих на початкову вікову катаракту визначали біохімічні показники (по загальноприйнятій методиці) глутатіонредуктазу, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, ПАЛФ-ефект, аспартатамінотрансферазу, концентрацію SH-груп, аскорбінову кислоту, глутатіон та амінонітроген. Порушення активності цих ферментів свідчать про швидке прогресування катаракти.

(19) UA (11) 61621 (13) A

(A A Putenko, N E Leus, E I Baydan, L I Kravchenko The Use of Regression Analyses for forecasting of Speed Development of Age-Related Cataract - Ophthalmic Res - 1999, 31, 2 p 159)

Недоліками цього методу є цей спосіб дає можливість прогнозування швидкості прогресування вже наявної катаракти та не дає можливість прогнозувати ймовірність виникнення катаракти у пацієнтів з прозорими кришталиками для проведення своєчасної її профілактики

В основу нашого винаходу поставлене завдання прогнозування можливості появи катаракти шляхом дослідження рівня активності у крові ключового ферменту детоксикації глутатіон-8-трансферази (GST), як показника дезінтоксикаційної функції печінки, що дозволить визначити контингент осіб із підвищеним ризиком й прогнозувати можливу ймовірність виникнення катаракти з метою профілактики її розвитку. Поставлене завдання вирішується шляхом дослідження рівня активності у крові ключового ферменту детоксикації GST для прогнозування можливої ймовірності виникнення катаракти з метою профілактики її розвитку. Основою для розробки запропонованого

Дослідження активності ферменту глутатіон-8-трансферази у крові пацієнтів із прозорими кришталиками

Опис запропонованого нами способу

У пацієнтів роблять забір крові з ліктьової вени натще в сухі пробірки, куди попередньо добавляють 1,0 мл гепарину (5000 од в 1 мл розчину), розведеного 1:9 фізіологічним розчином. Активність GST визначають у плазмі крові, що одержується шляхом центрифугування при 4500 об/хв на протязі 10 хв. В мікрокувету вносять 0,2 мл плазми та 0,2 мл реакційного суміші (субстрат-глутатіон відновлюваний), перемішують та поміщають у кюветний відсік спектрофотометру Spekol-ZV для спектрофотометрії. Вимірювання екстинції роблять, використовуючи кювету з товщиною шару до 1 см при довжині хвилі 360 нм кожні 60 с протягом 10-15 хв. Значення активності ферменту обчислювали по формулі

$$A = E / k \cdot t \cdot c, \text{ де}$$

E - зміна екстинції за одиницю часу,

k - молярний коефіцієнт екстинції,

t - час інкубації,

c - вміст білка в пробі

Перевага розробленого способу полягає в дослідженні активності ферменту GST у крові пацієнтів із прозорими кришталиками, що дозволяє визначити контингент осіб із підвищеним ризиком виникнення катаракти з метою профілактики її розвитку і прогнозувати можливу ймовірність її виникнення

Клінічні іспити були проведені в Інституті очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України. Групу (110 пацієнтів 220 очей, що обстежувалися) склали особи, які знаходилися на диспансерному обліку з приводу хронічних захворювань шлунково-кишкового шляху та гепатобіляр-

засобу з'явилися дані літератури (Експериментальна катаракта при порушеній дезінтоксикаційній функції печінки Л. І. Кравченко, Т. А. Красновид, Н. Ф. Леус Тезиси докладів VI конференції офтальмологів республіки Молдова, Кишинев - 2002 - с. 22) про динаміку активності ключового ферменту детоксикації GST у крові та кришталику експериментальних тварин при моделюванні катаракти в умовах збереженої та порушеної дезінтоксикаційної функції печінки. Результати досліджень показали динаміку катарактоутворення й зміни активності ключового ферменту детоксикації GST при поєднаному впливі двох прямих катарактогенних факторів 0,2% розчину 3-амінотріазолу та світла високої інтенсивності на фоні токсичної гепатотропної дії 10% розчину чотирьох хлористого вуглецю (CCl₄), викликаючого порушення білковосинтезуючої та дезінтоксикаційної функції печінки, починаючи з першого тижня експерименту. Це стало науковим обґрунтуванням для можливості прогнозування щодо появи катаракти у пацієнтів із прозорими кришталиками

Прийнятливо-наслідковий зв'язок

являється ключовим ферментом детоксикації, рівень активності, якого у крові має важливе значення в процесі катарактогенезу. Значення активності ферменту менш 19 нкат/мг білка визначається, як фактор ризику розвитку катаракти

<->

ної системи у гастроентеролога у районній поліклініці, активно запрошених до інституту. Вірогідність діагнозу була підтверджена медичними документами. Тривалість захворювання складала 5-10 років. Крім того, під нашим спостереженням знаходилася група здорових в соматичному відношенні осіб (56 осіб 112 очей) того ж віку, мешканців Одеси, які знаходилися на відпочинку у профікторіях і стан здоров'я, яких був оцінений терапевтом-геронтологом. Абсолютних скарг з боку очей у осіб обох груп не відмічено. В Інституті очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України ім. було проведено повне офтальмологічне обстеження в одних і тих же умовах по одній і тій же методиці обмеженим числом офтальмологів. На час обстеження у всіх осіб кришталики були прозорими. Тоді ж ім. було проведено біохімічне дослідження крові з визначенням активності GST за методом Awashi D.C. [Awashi Y.C., Saneto P., Srivastava K. // Exp. Eye Res. - 1980 - V 30 - P 29-39]. Відзначали дані про наявність катаракти у сімейному анамнезі. Час початку спостереження 1982-1992 рік, кінець спостереження 1985-2002 рік. Середня тривалість спостереження 87±53SD місяців. Середній вік пацієнтів на початок спостереження складав 55,7±9,2SD року. Для аналізу відмінності розбіжності в активності ферменту пацієнти були поділені на 2 групи. 1 група - особи, у яких катаракта не розвилася до нинішнього часу (щодо дати останнього огляду (n=98)). 2 група - особи, у яких визначена початкова катаракта на час останнього огляду (n=139). Значення активності ферменту менш 19 нкат/мг білка було визначено як порогове для бінарного позначення фактору ризику

код 1 - фактор ризику присутній (активність GST менш 19 нкат/мг білка), 0 - буде відсутній (активність GST більша або дорівнює 19 нкат/мг білка) Таким чином, вперше отримана можливість прогнозування появи катаракту у осіб із прозорими кришталиками в залежності від рівня активності у крові ключового ферменту детоксикації GST, як показника дезінтоксикаційної функції спроможності печінки. Зниження активності GST менш 19 нкат/мг білка є фактором ризику появи катаракти. У випадку прогнозування високої ймовірності

появи катаракти необхідні як загально терапевтичні заходи, направлені на активне лікування основного захворювання, так і обов'язковими, на наш погляд, повинні бути рекомендації офтальмологічного обстеження з метою проведення заходів для профілактики появи катаракти.

Даний спосіб був апробований на базі Інституту очних хвороб та тканинної терапії ім В.П. Філатова АМН України і може бути рекомендований для впровадження в практику охорони здоров'я