



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68811** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
A61B 5/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 11827	(72) Винахідник(и): Полянський Ігор Юлійович (UA), Максим'юк Віталій Васильович (UA), Костенко Віктор Володимирович (UA)
(22) Дата подання заявки: 07.10.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.04.2012	(73) Власник(и): Полянський Ігор Юлійович, вул. Ентузіастів, 9-а/188, м. Чернівці, 58000 (UA), Максим'юк Віталій Васильович, вул. Червоноармійська, 77б/2, кв. 10, м. Чернівці, 58000 (UA), Костенко Віктор Володимирович, вул. Миру, 6/4, м. Чернівці, 58000 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.04.2012, Бюл.№ 7	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування перебігу гострого панкреатиту, при якому у хворих на гострий панкреатит визначають поліморфізм N34S гена секреторного панкреатичного інгібітору трипсину (SPINK1) і при наявності S34S-генотипу прогнозують важкий клінічний перебіг захворювання зі схильністю до розвитку поширеного некротичного ураження підшлункової залози.

UA 68811 U

Корисна модель належить до медицини і може бути використаний для прогнозування перебігу гострого панкреатиту.

Питання високовірогідного прогнозування перебігу і адекватного хірургічного лікування гострого панкреатиту та його ускладнень є одними з найбільш складних проблем абдомінальної хірургії. На сучасному етапі не існує абсолютно специфічних методів прогнозування перебігу гострого панкреатиту. Це зумовлено розмаїттям етіологічних чинників, змінами клінічних проявів під впливом різних факторів, відсутністю чітких специфічних лабораторних та інструментальних прогностичних критеріїв. Разом з тим, недостатньо висока прогностична вірогідність розвитку різних форм ураження підшлункової залози значно утрудняє проведення адекватної терапії гострого панкреатиту на ранніх стадіях його перебігу, що негативно віддзеркалюється на кінцевих результатах лікування таких хворих.

У зв'язку з цим, дана корисна модель спрямована на розробку нового специфічного способу високовірогідного прогнозування перебігу гострого панкреатиту на ранніх стадіях його розвитку.

Прототип описаний у книзі "Диагностика и лечение деструктивного панкреатита" / Нестеренко Ю.А. Лаптев, В.В., Михайлуков С.В. – М.: ООО "БИНОМ-ПРЕСС", 2004. - 304 с. Автори вказують на те, що з метою прогнозування перебігу гострого панкреатиту, широко використовується динамічна оцінка рівня α -амілази крові та сечі. Зокрема, різке підвищення активності амілази крові з наступним швидким її падінням вказує на прогресування панкреонекрозу.

Разом з тим, прогностична чутливість та специфічність вказаного лабораторного тесту при різних формах ураження підшлункової залози, за даними різних дослідників, може коливатись в межах від 30 до 80 %. Основною причиною таких розбіжностей є те, що в нормі панкреатична α -амілаза (Р-тип) визначає тільки 35-45 % загальної активності цього ферменту у сироватці крові, а решту її частину складає непанкреатична α -амілаза, яка синтезується, в основному, у слинних залозах (S-тип) та, у незначній кількості, в печінці, тонкій кишці, нирках та маткових трубах. Окрім того, α -амілаза може продукуватись злоякісними пухлинами легень, стравоходу, молочної залози та матки. Відповідно, така політопічність джерел, які визначають сумарну активність α -амілази крові та сечі, може призводити до суттєвих змін її рівня не тільки при гострому панкреатиті, а й при багатьох інших захворюваннях (кишкова непрохідність, перфоративна виразка, мезентеріальний тромбоз, алкогольна інтоксикація, діабетичний кетоацидоз, паротит та ін.).

При розробці способу прогнозування перебігу гострого панкреатиту поставлена задача розробити такий спосіб, який би був позбавлений вказаних недоліків, тобто, був більш точним, специфічним, не залежав від впливу сторонніх факторів, не мав протипоказів, був доступним і швидким у виконанні.

Поставлена задача вирішується наступним чином.

Запропонований метод ґрунтується на визначенні поліморфізму N34S гена секреторного панкреатичного інгібітору трипсину (SPINK1), який знаходиться на третьому екзоні 5-ої хромосоми. Для цього проводиться вивчення алелей поліморфних ділянок третього екзону гена SPINK 1, шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферійної крові, стабілізованої ЕДТА як антикоагулянт ("Merk®", Німеччина), із наступною ампліфікацією поліморфної ділянки за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на програмованому ампліфікаторі "Amplify-4L" (Росія), з індивідуальною температурною програмою для специфічних праймерів: sense 5'-CAATCACAGTTATTCCCCAGAG-3', antisense 5'-GTTTGCTTTTCTCGGGGTGAG-3'. Для дискримінації алелей третього екзону гена SPINK 1 використовується ендонуклеаза рестрикції PstI згідно з інструкцією ("Fermentas®", Німеччина). Аналіз продуктів ПЛР проводиться за допомогою електрофорезу в 3 % агарозному гелі в присутності трисборатного буфера (ТББ), концентрованого з бромідом етидію. Фрагменти візуалізуються за допомогою УФ-випромінювача в присутності маркера молекулярних мас 100-1000 bp ("СибЭнзим", Росія).

Довжина амплікату N34S поліморфізму гена SPINK 1 становить 320 пар нуклеотидів (пн). За наявності в 34 кодоні 3-го екзону нуклеотидної послідовності даного гена аденіну амплікат розщеплюється рестриктазою PstI на фрагменти розмірами 320 і 286 пн. У випадку трансверсії A→G сайт для рестрикції PstI втрачається.

У результаті проведення ПЛР можливе визначення наступних варіантів поліморфізму N34S гена SPINK1: N34N-генотип, N34S-генотип та S34S-генотип. При цьому, враховуючи аутосомно-рецесивний тип успадкування мутації N34S гена SPINK1, наявність N34N- або N34S-генотипу оцінюється, як сприятливий прогностичний критерій перебігу гострого панкреатиту, а верифікація S34S-генотипу - визначається як прогностично несприятливий маркер.

Приклад практичного використання способу:

Напрацьований нами спосіб прогнозування перебігу гострого панкреатиту апробований у клінічних умовах. У дослідженні прийняло участь 33 особи із різними морфологічними формами гострого панкреатиту, котрим після підписання інформованої згоди пацієнта, за допомогою полімеразної ланцюгової реакції було проведено генетичний аналіз.

- 5 У результаті досліджень встановлено, що розвиток гострого панкреатиту у осіб з несприятливим S34S-генотипом, при порівнянні зі сприятливими N34N- та N34S-генотипами, характеризується більш важким клінічним перебігом зі схильністю до поширеного гнійно-некротичного ураження підшлункової залози та раннім розвитком гнійно-некротичних ускладнень, що негативно впливає на кінцеві результати їх лікування. Це дозволяє оцінювати наявність патологічного S34S-генотипу, як прогностично несприятливий маркер та обґрунтовує доцільність визначення поліморфізму N34S гена SPINK1 з метою специфічного раннього вірогідного прогнозування перебігу гострого панкреатиту на ранніх стадіях його розвитку.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 15 Спосіб прогнозування перебігу гострого панкреатиту шляхом оцінки лабораторних методів дослідження, який **відрізняється** тим, що у хворих на гострий панкреатит визначають поліморфізм N34S гена секреторного панкреатичного інгібітору трипсину (SPINK1) і при наявності S34S-генотипу прогнозують важкий клінічний перебіг захворювання зі схильністю до розвитку поширеного некротичного ураження підшлункової залози.

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601