



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115976** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61B 10/00
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 07910	(72) Винахідник(и): Білозоров Олексій Павлович (UA), Частій Тетяна Володимирівна (UA), Мілютіна Олена Йосипівна (UA), Сокол Оксана Анатоліївна (UA), Унучко Сергій Васильович (UA)
(22) Дата подання заявки: 18.07.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.05.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.05.2017, Бюл.№ 9	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ДЕРМАТОЛОГІЇ ТА ВЕНЕРОЛОГІЇ НАМНУ", вул. Чернишевського, 7/9, м. Харків, 61057 (UA)
	(74) Представник: Євтушенко Тамара Григорівна

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СХИЛЬНОСТІ ДО УСКЛАДНЕНОГО ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАНЬ УРОГЕНІТАЛЬНОЇ СИСТЕМИ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики схильності до ускладненого перебігу захворювань урогенітальної системи шляхом оцінки поліморфізму генів. За допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів або іншим методом визначають поліморфізм першого екзону гена MBL2 G230A (B) та гена S602I TLR1. У випадку наявності гомозиготності за алелями MBL2 AA та TLR1 602SS прогнозують розвиток ускладненого перебігу захворювання.

UA 115976 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до дерматовенерології та генетики, і може бути використана для визначення схильності пацієнтів до ускладненого перебігу захворювань уrogenітальної системи, які викликані уrogenітальними інфекціями.

Уrogenітальними інфекціями або інфекціями сечовивідних шляхів прийнято позначати групу бактеріальних, грибкових і вірусних захворювань, що призводять до запалення органів сечовивідних шляхів і викликають широкий спектр запальних станів. Інфекції сечовивідних шляхів широко поширені в усьому світі. З цієї проблемою щороку до лікарів звертаються десятки мільйонів пацієнтів. Слід зазначити, що поряд з інфекціями, що передаються статевим шляхом, до цієї групи захворювань входить велика кількість умовно-патогенних інфекцій. У сукупності урологічних патологій саме умовно-патогенні інфекції зустрічаються значно частіше. Досить часто уrogenітальні інфекції рецидивують, набувають хронічного перебігу і призводять до тяжких ускладнень, тому діагностика схильності до ускладненого перебігу захворювань уrogenітальної системи є важливою проблемою сучасної медицини.

Теперішнього часу особливості перебігу різноманітних інфекційних патологій оцінюють за допомогою діагностування змін у структурі геному.

Оцінку гетерогенності у первинній структурі ДНК (дезоксирибонуклеїнової кислоти), тобто поліморфізму, використовують для визначення кандидатних генів, зміни у яких лежать в основі виникнення патологій. Одним з найпоширеніших видів поліморфізму є одонуклеотидний поліморфізм. Наявність того чи іншого нуклеотиду в алелі може впливати на активність гена та змінювати властивості білку, який кодується даним геном. Такі зміни у структурі геному можуть впливати на перебіг різноманітних процесів і значною мірою визначати їх тяжкість.

Так, наприклад, відомий спосіб прогнозування розвитку ускладнень уrogenітального хламідіозу, заснований на асоціації тяжкого перебігу уrogenітального хламідіозу з поліморфізмом генів IL6-174 C/C і TGF1-915 G/C. Предикторами розвитку вторинного (трубного) безпліддя як ускладнення уrogenітальної хламідійної інфекції згідно з ним є генотипи IL6-174 C/C; IL10-592C/C; IFN+874 T/T [Пат. № 2535724, UA, МПК G01N 33/50. / Кубанова А.А., Кубанов А.А., Фриго Н.В. и др. - 3. № 2012141489/15; Заявл. 28.09.2012; Опубл. 20.12.2014. Спосіб молекулярной диагностики генетического риска развития осложнений урогенитальной хламидийной инфекции, приводящих к нарушению репродуктивной функции, у человека].

Метод полягає у виділенні ДНК з лейкоцитів периферичної крові, проведенні ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції) на фрагмент гена FcyRIIIa та визначенні змін первинної структури ДНК (послідовності нуклеотидів) прямим секвенуванням отриманих зразків ДНК, методом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів або іншим методом.

Даний спосіб діагностики схильності до ускладненого перебігу захворювань уrogenітальної системи є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за найближчий аналог.

В основу корисної моделі поставлено задачу розширення арсеналу способів діагностики схильності до ускладненого перебігу уrogenітальних захворювань.

Задачу, яку поставлено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі діагностики схильності до ускладненого перебігу захворювань уrogenітальної системи шляхом оцінки поліморфізму генів, згідно з корисною моделлю, за допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів або іншим методом визначають поліморфізм першого екзону гена MBL2 G230A та гена TLR1 S602I і у випадку наявності гомозиготності за алелями MBL2 AA та TLR1 602 SS прогнозують розвиток ускладненого перебігу захворювання.

Технічний ефект корисної моделі, а саме розширення арсеналу способів діагностики схильності до ускладненого перебігу уrogenітальних захворювань, обумовлений синергізмом заходів, які заявляються.

Теоретичною передумовою способу послугував той факт, що ген MBL2 що знаходиться у хромосомі 5q та кодує манноз'язуючий лектин, належить до рецепторів, що визначають патерн патогенів. Він забезпечує активацію системи комплементу за лектиновим шляхом при взаємодії з деякими бактеріальними компонентами або ушкодженими структурами тканин макроорганізму, що безпосередньо пов'язано з захистом від інфекції і ступенем ушкодження тканин, який супроводжує захисні реакції. Поліморфізм гена MBL2 G230A (B) безпосередньо впливає на ступень активації комплементу, алель AA характеризується підвищеною активністю комплементу, яка характеризується високою антибактеріальною активністю, але одночасно і високим ступенем ушкодження тканин внаслідок таких реакцій.

Ген толподібного рецептора 1 (TLR1), який також належить до рецепторів, що визначає патерн патогенів, знаходиться на хромосомі 5. Під впливом бактеріальних продуктів, зокрема, ліпопептидів відбувається активація цього рецептора, сигнал активації передається на генетичний апарат і стимулює утворення прозапальних цитокінів. Поліморфізм гена TLR1 I602S

значною мірою впливає на ефективність передачі сигналу активації рецептора в клітини, для генотипів TLR1 602IS та TLR1 602SS характерне значне зниження ефективності передачі цього сигналу.

Враховуючи дані функції генів MBL2 та TLR1, їх було обрано для діагностики схильності до ускладненого перебігу захворювань уrogenітальної системи.

Спосіб виконують наступним чином:

Проводять виділення ДНК з лейкоцитів периферичної крові, після чого визначають поліморфізми генів MBL2 G230A та TLR1 I602S за допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів або іншим методом. Якщо використовують аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів, то для поліморфізму MBL2 G230A проводять ампліфікацію фрагментів 2 екзону гена MBL2 G230A, обробляють отримані амплікони рестриктазою (HphI), піддають отримані фрагменти електрофорезу в гелі агарози і за характером електрофоретичної картини визначають генотип. Для визначення поліморфізму TLR1 I602S проводять ампліфікацію фрагменту гена TLR1, обробляють отримані амплікони рестриктазою (PstI), піддають отримані фрагменти електрофорезу в гелі агарози і за характером електрофоретичної картини визначають генотип. У випадку наявності гомозиготності за алелями MBL2 AA та TLR1 602 SS прогнозують схильність до ускладненого перебігу захворювання уrogenітальної системи.

Ефективність способу була встановлено експериментально: При дослідженні хворих з уrogenітальною патологією було виявлено, що наявність ускладнень частіше асоціюється з гомозиготністю за алелями MBL2 AA та TLR1 602SS (таблиця).

Таблиця

Частота випадків, гомозиготних за алелями MBL2 AA та TLR1 602SS у хворих з уrogenітальною патологією в залежності від наявності ускладнень

	N	Частота MBL2 AA (%)	Частота TLR1 602SS (%)
Група без ускладнень (діагнози - уретрит, ендocerвіцит)	99	67,7±4,6	25,4±4,3
Група з ускладненнями (простатит, аднексит та інші)	85	78,3±4,47	35,0±5,1
Вірогідність		P < 0,05	P < 0,05

Спосіб ілюструють наступні приклади його клінічного застосування:

Приклад № 1

Хворий М., 33 роки. Діагноз - уrogenітальний хламідіоз, хронічний простатит, двобічний орхіепідидиміт. Серед скарг - виділення, біль, печія, розлади сечовипускання, свербіж. Спостерігалися висхідні запальні процеси: простатит, орхіепідидиміт. В анамнезі - кількаразове безуспішне лікування запального процесу. Хворому було проведено генотипування на поліморфізм генів MBL2 G230A та TLR1 I602S, виявлено генотип MBL2 230AA та TLR1 602SS, що свідчить про те, що пацієнт є носієм алелів, які обумовлюють схильність до ускладненого перебігу уrogenітальних захворювань. Поряд з традиційною терапією левофлораксацином було застосовано додаткову комплексну терапію, яка включала підвищені дози антибактеріальних препаратів, методи стимуляції відновлювальних процесів та захист від додаткових травмуючих впливів. Рекомендовано диспансерне спостереження.

Приклад № 2

Хвора Б., 42 роки. Діагноз - уrogenітальний мікоплазмоз, лівобічний сальпінгоофорит. Скарги на слизово-гнійні виділення зі статевих шляхів, ациклічні кров'яністі виділення, болючість під час статевих контактів. Неодноразово лікувалась за місцем проживання, відзначала короткочасне поліпшення. При обстеженні методом ПЛР була виявлена M. genitalium. При проведенні УЗД - ознаки лівобічного сальпінгоофориту. При генотипуванні виявлено генотип MBL2 230AA та TLR1 602SS. Було призначене лікування левофлораксацином, місцеве фізіотерапевтичне лікування, методи стимуляції відновлювальних процесів та захист від додаткових травмуючих впливів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб діагностики схильності до ускладненого перебігу захворювань уrogenітальної системи шляхом оцінки поліморфізму генів, який **відрізняється** тим, що за допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів або іншим методом визначають поліморфізм першого екзону гена MBL2 G230A (B) та гена S602I TLR1 і у випадку наявності гомозиготності за алелями MBL2 AA та TLR1 602SS прогнозують розвиток ускладненого перебігу захворювання.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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

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