



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119054** (13) **U**  
(51) МПК (2017.01)  
**A61B 10/00**  
**G01N 33/48** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2017 02556</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Білозоров Олексій Павлович (UA),</b> <b>Частій Тетяна Володимирівна (UA),</b> <b>Мілютіна Олена Йосипівна (UA),</b> <b>Сокол Оксана Анатоліївна (UA),</b> <b>Маштакова Ірина Олексіївна (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>20.03.2017</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>11.09.2017</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>11.09.2017, Бюл.№ 17</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ</b> <b>ДЕРМАТОЛОГІЇ ТА ВЕНЕРОЛОГІЇ</b> <b>НАМНУ",</b> вул. Чернишевська, 7/9, м. Харків, 61057 (UA)
	<b>(74)</b> Представник: <b>Євтушенко Тамара Григорівна</b>

**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СХИЛЬНОСТІ ДО МІКРОБНОЇ ЕКЗЕМИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб діагностики схильності до мікробної екземи включає визначення поліморфізму генів. За допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів визначають поліморфізм гена TLR1 S602I і у випадку наявності алеля TLR1 602I прогнозують підвищену схильність до розвитку мікробної екземи.

UA 119054 U



Корисна модель належить до медицини, а саме до дерматовенерології та генетики, і може бути використана для визначення схильності пацієнтів до розвитку мікробної екземи.

Відомо, що існують індивідуальні особливості клітинних реакцій, активності ферментів, конформації ефекторних молекул та інших параметрів, що визначають інтенсивність реакцій вродженого імунітету у відповіді на подразники. Основу таких особливостей складають поліморфізми структури відповідних генів, які призводять до підвищення або зниження функції відповідного білка. Одним з методів аналізу участі запальних механізмів в патогенезі хронічних дерматозів є аналіз асоціації захворювань з поліморфізмом генів, продукти яких займають ключову роль в здійсненні імунних реакцій. Для вродженого імунітету - це регулятори та ініціатори реакції. Серед одних з найважливіших механізмів вродженого імунітету можна назвати систему тол-подібних рецепторів (TLR). TLR здатні розпізнавати структурні компоненти бактерій, вірусів, грибів та найпростіших. Приєднання ліганду до TLR призводить до олігомеризації, гомо- або гетеродімеризації, наслідком чого є передача активаційного сигналу до клітини і формування її біологічної відповіді. Значний інтерес представляє дослідження впливу поліморфізмів структури генів TLR на особливості перебігу різноманітних патологічних процесів - інфекційних захворювань, порушень метаболізму та особливостей адаптації організму до несприятливих факторів навколишнього середовища.

Одним з найбільш тяжких хронічних дерматозів є мікробна екзема, яка характеризується частими загостреннями і значно впливає на працездатність людини. Значну небезпеку мають ускладнення хронічної мікробної екземи, особливо часті при ураженні кінцівок.

У зв'язку з цим важливе значення має виявлення груп ризику по розвитку мікробної екземи, особливо перспективними в цьому напрямку є молекулярно-генетичні дослідження, які дозволяють виявити асоціацію схильності до захворювання з особливостями первинної структури ДНК.

Особливості перебігу різноманітних патологій оцінюють за допомогою вивчення змін у структурі геному.

Так, наприклад, відомі способи прогнозування підвищеної схильності до atopічної екземи (атопічного дерматиту), засновані на асоціації виникнення цього захворювання з поліморфізмом генів, виявлено асоціацію виникнення екземи із значною кількістю генів (Bin L. Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis [електронний ресурс] / L. Bin, D. Y. M. Leung // Allergy Asthma Clin. Immunol. - 2016. - Vol. 12:52. DOI 10.1186/s 13223-016-0158-5; Денисова Я.Е. Современные представления о молекулярно-генетических механизмах возникновения истинной экземы / Я.Е. Денисова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Сер. Медицина. Фармация. - 2013. - № 18(161), вып. 23. - С. 5-11.).

Найближчим аналогом є метод визначення однонуклеотидного поліморфізму гена FLG людини (Зуева М.И. Однонуклеотидный и инсерционно-делеционный полиморфизм гена FLG человека при кожных заболеваниях [електронний ресурс] / М.И. Зуева, Д.О. Парфенова, Л.А. Атраментова // Фактори експериментальної еволюції організмів. - 2013. - Т. 13. - С. 303-306. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo\\_2013\\_13\\_79](http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2013_13_79)). Показано, що у хворих на мікробну екзему наявність мутації гена FLG 2282del4 є предиктором підвищеної вірогідності розвитку захворювання, специфічність цього показника дорівнювала 99,0 %, а прогностична позитивна цінність дорівнювала 85,7 % (Зуева М.И. Однонуклеотидный и инсерционно-делеционный полиморфизм гена FLG человека при кожных заболеваниях [електронний ресурс] / М.И. Зуева, Д.О. Парфенова, Л.А. Атраментова // Фактори експериментальної еволюції організмів. - 2013. - Т. 13. - С. 303-306. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo\\_2013\\_13\\_79](http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2013_13_79)). Метод полягає у визначенні наявності мутації FLG 2282del4 у ДНК хворого, для проведення дослідження виділяють ДНК з лейкоцитів периферичної крові або інших зразків тканин хворого, проводять полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) на фрагмент геному FLG, що відповідає локалізації мутації, та визначенні змін первинної структури ДНК (послідовності нуклеотидів) методом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів.

Даний спосіб діагностики схильності до мікробної екземи є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутий, тому його вибрано за найближчий аналог.

Спосіб, що ми пропонуємо, відрізняється від аналога тим, що досліджується поліморфізм гена TLR1 S602I і у випадку наявності алеля TLR1602I прогнозують підвищену схильність до розвитку мікробної екземи.

В основу корисної моделі поставлено задачу розширення арсеналу способів діагностики схильності до мікробної екземи. Спосіб діагностики схильності до мікробної екземи забезпечує отримання нових критеріїв оцінювання ризику розвитку мікробної екземи.

Теоретичною передумовою способу послугував той факт, що ген толподібного рецептора 1 (TLR1), який належить до рецепторів, що визначає патерн патогенів і знаходиться на хромосомі 5, під впливом бактеріальних продуктів, зокрема, ліпопептидів активується і стимулює утворення прозапальних цитокінів. Поліморфізм гена TLR1 S602I значною мірою впливає на ефективність передачі сигналу активації рецептора в клітині, алель TLR1 602I характеризується збільшеною ефективністю передачі цього сигналу.

В основі корисної моделі лежить виявлений в дослідженні зв'язок між наявністю активного алелю TLR1 602I і розвитком сенсibiliзації клітинного типу до бактеріальних та грибкових антигенів, проявом якої є мікробна екзема. Можна припустити, що цей зв'язок пояснюється стимулюючою дією бактеріальних або грибкових ліпопептидів на TLR1 клітин шкіри (саме до цих молекулярних маркерів патогенів має чутливість TLR1). Наслідком цього є збільшення утворення прозапальних цитокінів, яке може сприяти активації клітин, що відповідають за розвиток сенсibiliзації. Новим результатом, на якому заснована корисна модель, є конкретизація зв'язку між активним алелем TLR1 і розвитком сенсibiliзації саме того клітинного типу, який призводить до розвитку ураження, яке клінічно ідентифікується як мікробна екзема.

Поставлену задачу вирішують тим, що у способі діагностики схильності до екземи, що включає визначення поліморфізму генів, згідно з корисною моделлю, за допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів визначають поліморфізм гена TLR1 S602I і у випадку наявності гомозиготності за алелем TLR1 602II прогнозують розвиток ускладненого перебігу захворювання.

Технічний ефект корисної моделі, а саме розширення арсеналу способів діагностики схильності до мікробної екземи, обумовлений синергізмом заходів, які заявляються.

Спосіб виконують наступним чином:

Проводять виділення ДНК з лейкоцитів периферичної крові, після чого визначають поліморфізми гена TLR1 S602I за допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Для визначення поліморфізму TLR1 S602I проводять ампліфікацію фрагмента гена TLR1, обробляють отримані амплікони рестриктазою (PstI), піддають отримані фрагменти електрофорезу в гелі агарози і за характером електрофоретичної картини визначають генотип. У випадку наявності алеля TLR1 602I прогнозують підвищену схильність до розвитку мікробної екземи.

Ефективність способу була встановлено експериментально.

При дослідженні хворих з мікробною екземою було виявлено, що в них захворювання частіше асоціюється з наявністю алеля TLR1 602I (таблиця).

Таблиця

Частота алелів TLR1 I602S у хворих на мікробну екзему та контрольних осіб (у відсотках)

Алель	Мікробна екзема	Контроль
TLR1 602I	62,5±15,3*	36,15±4,06
TLR1 602S	37,5±15,3*	63,85±4,06
P<0,05		

Спосіб ілюструють наступні приклади його клінічного застосування.

Приклад № 1. Хворий М., 33 роки. Діагноз - ушкодження лівої гомілки, інфекційне ускладнення. При генотипуванні виявлено генотип TLR1 602II. У зв'язку з підвищеною схильністю хворого до розвитку мікробної екземи для лікування призначено поряд з традиційною терапією додатково десенсибілізуючі препарати. Рекомендовано диспансерне спостереження та уникнення травм шкіри, а у випадку їх отримання - додаткове застосування антимікробних та десенсибілізуючих засобів.

Приклад № 2. Хвора Б., 42 років. Діагноз - трофічна виразка. При генотипуванні виявлено генотип TLR1 602II. У зв'язку з підвищеною схильністю хворого до розвитку мікробної екземи для лікування призначено пластику шкіри, антимікробні засоби та десенсибілізатори.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики схильності до мікробної екземи, що включає визначення поліморфізму генів, який **відрізняється** тим, що за допомогою аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів визначають поліморфізм гена TLR1 S602I і у випадку наявності алеля TLR1 602I прогнозують підвищену схильність до розвитку мікробної екземи.

---

Комп'ютерна верстка О. Рябо

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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