



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105908** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
G01N 33/00
A61B 10/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 09451	(72) Винахідник(и): Присяжнюк Василь Петрович (UA)
(22) Дата подання заявки: 01.10.2015	(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.04.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.04.2016, Бюл.№ 7	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ З УРАХУВАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування тяжкості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки з урахуванням поліморфізму генів шляхом проведення комплексних біохімічних, інструментальних та генетичних досліджень. Додатково досліджують Pro12Ala поліморфізм гена PPAR-γ з метою визначення Ala-алеля зазначеного гена і при його виявленні прогнозують ймовірно тяжкий перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки.

UA 105908 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до гепатології і може бути використана з метою прогнозування тяжкості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки.

Захворювання органів гепатобіліарної системи є важливою медико-соціальною проблемою в Україні та світі, оскільки в більшості випадків становлять хронічну патологію. Серед них вагоме місце належить неалкогольній жировій хворобі печінки (НАЖХП), яка сьогодні є найпоширенішою нозологією серед захворювань печінки (О.Я. Бабак та співав., 2011). Зокрема, її поширеність складає 20-30 % дорослого населення у країнах Західної Європи та Північної Америки та 15 % у країнах Азії (S. Bellentani et al., 2010). За даними K. Das et al., НАЖХП є причиною розвитку криптогенного цирозу в 15-20 % хворих (K. Das et al., 2010). Тому актуальним питанням є пошук предикторів розвитку зазначеного захворювання печінки та визначення пацієнтів із детермінованою схильністю до його тяжкого перебігу. Новим напрямком у сучасній комплексній діагностичній програмі хворих на хронічні дифузні захворювання печінки є вивчення генетичних детермінант тяжкості їхнього перебігу.

Аналогом корисної моделі є спосіб прогнозування формування стеатозу печінки у хворих на хронічний гепатит С (Пат. № 64026 Україна, МПК А61К G01N 33/00, Козько В.М., Соломенник Г.О., Бондар О.Є., Винокурова О.М., Анциферова Н.В., Юрко К.В. Заявник Харківський національний медичний університет - заяв. № u201104303 від 08.04.2011, опубл. 25.10.2011, бюл. № 20), в якому з метою прогнозування формування стеатозу печінки у хворих на хронічний гепатит, проводять визначення вмісту триацилгліцеролів та ліпопротеїдів дуже низької щільності у сироватці крові, із подальшим розрахунком прогностичного показника стеатозу відповідно до запропонованої авторами формули.

Недоліком аналога-способу є те, що у комплексній діагностичній програмі хворих на хронічний гепатит не використано дослідження генетичної схильності до виникнення стеатозу та тяжкості його перебігу, як найбільш раннього методу прогнозування розвитку таких змін.

Прототипом корисної моделі є спосіб прогнозування неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на артеріальну гіпертензію і ожиріння з урахуванням поліморфізму генів (Пат. № 90194 Україна, МПК А61В 10/00, Яринич Ю.М., Сидорчук Л.П.; Заявник Яринич Ю.М., Сидорчук Л.П. - заяв. № u201400328 від 15.01.2014, опубл. 12.05.2014, бюл. № 9), в якому з метою прогнозування виникнення неалкогольної жирової хвороби печінки, поряд із дослідженням біохімічних, ліпідних показників крові та структурно-функціональних досліджень печінки, додатково визначають Pro12Ala поліморфізм гена рецепторів активаторів проліферації пероксидом- γ 2 (PPAR- γ 2) та I/D поліморфізм гена ACE.

Недоліком прототипу-способу є те, що зазначений спосіб прогнозування неалкогольної жирової хвороби печінки не дає можливість прогнозувати тяжкість її перебігу.

Спільними ознаками прототипу та способу корисної моделі є проведення комплексних біохімічних, інструментальних та генетичних досліджень.

Відмінною ознакою корисної моделі від прототипу є додаткове дослідження Pro12Ala поліморфізму гена PPAR- γ з метою визначення Ala-алеля зазначеного гена і при його виявленні прогноують ймовірно тяжкий перебігу НАЖХП.

Спільні та відмінні характеристики методу-прототипу та способу, що пропонується вказані у таблиці 1.

Таблиця 1

Спільні та відмінні характеристики методу-прототипу та способу, що пропонується

Спосіб діагностики	Спосіб, що пропонується	Прототип
Прогнозування розвитку НАЖХП	+	+
Прогнозування тяжкості перебігу НАЖХП	+	-

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб прогнозування тяжкості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки з урахуванням поліморфізму генів шляхом додаткового дослідження Pro12Ala поліморфізму гена PPAR- γ і при виявленні Ala-алеля зазначеного гена прогноують ймовірно тяжкий перебіг НАЖХП.

Визначення термінів, які використовуються при описі корисної моделі: неалкогольна жирова хвороба печінки, ген PPAR- γ , поліморфізм.

Теоретичне підґрунтя для використання способу.

Одними із найбільш важливих генів, які регулюють адипо- та фіброгенез є гени, які кодують синтез PPAR (E. Boitier et al., 2003). PPAR експресуються в багатьох тканинах, зокрема в адипоцитах, гепатоцитах, міоцитах та ендотеліальних клітинах. Зазначені рецептори відіграють

важливу роль у ліпідному та вуглеводному обміні, проте особливості їхнього впливу залежать від того, який саме тип рецепторів PPAR задіяний та в яких тканинах проходить його активація (B. Grygiel-Gorniak, 2014).

PPAR- α в основному впливає на метаболізм жирних кислот і знижує рівень ліпідів. PPAR- β/δ бере участь в окисненні жирних кислот, переважно в скелетних і серцевому м'язах та водночас регулює рівень глюкози та холестеролу в плазмі крові (M.N. Di Minno et al., 2012). PPAR- γ у великій кількості розміщується в жировій тканині, де відіграє ключову роль у адипогенезі та регулюванні ліпідного обміну. Фізіологічна експресія PPAR γ в адипоцитах забезпечує збалансовану секрецію адипоцитокінів (адипонектину і лептину), які є посередниками інсуліну в периферичних тканинах (U. Kintscher et al., 2005), і таким чином, запобігає розвитку НАЖХП (C.Q. Rogers et al., 2008).

Крім вказаної адипогенної активності, рецептори PPAR γ також відіграють важливу роль у метаболізмі ліпідів, регулюючи участь відповідних генів у виробленні, транспортуванні і зберіганні жирних кислот, таких як ліпопротеїналіпаза і транспортер жирних кислот CD36 (G. Medina-Gomez et al., 2007).

Ген PPAR- γ має окремі промоутери і п'ять екзонів, що призводить до утворення трьох мРНК: PPAR γ 1, PPAR γ 2 і PPAR γ 3. Білки, які продукують PPAR γ 1 і PPAR γ 3 мРНК ідентичні, в той час як білок, синтезований з PPAR γ 2 мРНК містить додатковий NH₂-термінал, який складається з 30 амінокислот. Всі ізоформи PPAR γ -відіграють важливу роль у диференціації адипоцитів і метаболізмі глюкози, однак їхня експресія відрізняється. PPAR γ 1-ізоформа розміщується в майже у всіх клітинах, в той час як PPAR γ 2-ізоформа локалізується в основному у жировій тканині (J.N. Feige et al., 2006).

У власних дослідженнях вивчено Pro12Ala поліморфізм гена PPAR- γ у 64 хворих на НАЖХП та 20 практично здорових осіб (контрольна група).

Тип розподілу даних визначали за порівнянням середньої арифметичної, моди і медіани, та за допомогою тестів Шапіро-Уїлка та Левене. Для визначення статистичних відмінностей між двома незалежними групами використовували критерій Манна-Уїтні. Достовірною вважали ймовірність помилки менше 5 % ($p < 0,05$). Аналіз якісних ознак проводили за критерієм χ^2 (при частотах менше 5 - точний тест Фішера).

Визначали відповідність розподілу генотипів у популяції рівновазі Харді-Вайнберга; порівняння частот алелей генів виконували із показником ступеня свободи 1 df, частот генотипів між групами і контролем із ступенем свободи 2 df.

У обстежених пацієнтів із Ala-алелем спостерігали достовірно вищі показники активності трансаміназ, порівняно з контрольними показниками, що не було властивим для пацієнтів з Pro/Pro-генотипом (табл. 2). Зокрема, активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) у пацієнтів із НАЖХП носіїв Ala-алелю була достовірно вища на 59,8 % ($p = 0,02$), порівняно з такою у практично здорових осіб та на 55,5 % ($p = 0,007$), ніж у пацієнтів із Pro/Pro-генотипом. Водночас, активність аланінамінотрансферази (АлАТ) у пацієнтів із Ala-алелем була достовірно більша у 2,1 разу ($p = 0,02$), порівняно з контрольним значеннями та на 80,0 % ($p = 0,03$), ніж у пацієнтів із Pro/Pro-генотипом гена PPAR- γ . Також у зазначеної когорти пацієнтів із мінорним Ala-алелем діагностовано вищу активність гаммаглутамілтрансферази (ГГТ), яка переважала у 3,3 разу ($p = 0,001$) таку у практично здорових осіб, та у 2,1 разу ($p = 0,04$) - у хворих носіїв Pro/Pro-генотипу.

Таблиця 2

Біохімічні показники крові залежно від Pro12Ala поліморфізму гена PPAR-γ у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки

Показник	Контрольна група, n=20	Хворі із НАЖХП, n=64	
		Носії Pro/Pro - генотипу, n=51	Носії Ala-алеля, n=13
Глюкоза, ммоль/л	4,8±0,19	6,7±0,39 p ₁ =0,0001	7,0±0,88 p ₁ =0,0005, p ₂ >0,05
Білірубін загальний, мкмоль/л	10,3±0,76	12,0±0,82 p ₁ >0,05	14,5±1,85 p ₁ >0,05, p ₂ >0,05
Білірубін прямий, мкмоль/л	2,6±0,29	2,7±0,22 p ₁ >0,05	3,4±0,60 p ₁ >0,05, p ₂ >0,05
Холестерол, ммоль/л	4,7±0,24	5,5±0,17 p ₁ =0,058	5,4±0,33 p ₁ >0,05, p ₂ >0,05
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,3±0,13	2,0±0,14 p ₁ =0,001	2,3±0,37 p ₁ =0,02, p ₂ >0,05
Аспартатамінотрансфераза, Од/л	24,9±2,50	25,6±1,85 p ₁ >0,05	39,8±4,25 p ₁ =0,02, p ₂ =0,007
Аланінамінотрансфераза, Од/л	22,1±3,01	26,0±2,95 p ₁ >0,05	46,8±6,31 p ₁ =0,02, p ₂ =0,03
Лактатдегідрогеназа (заг.), Од/л	385,1±21,15	481,5±18,36 p ₁ =0,006	515,9±38,08 p ₁ =0,007, p ₂ >0,05
Лужна фосфатаза, Од/л	84,7±5,40	85,6±3,69 p ₁ >0,05	91,7±9,80 p ₁ >0,05, p ₂ >0,05
Гаммаглутамілтрансфераза, Од/л	25,3±2,85	39,0±2,98 p ₁ =0,006	83,1±14,71 p ₁ =0,001, p ₂ =0,04

Примітка: p₁ - достовірність відмінностей порівняно із показниками у групі практично здорових людей; p₂ - достовірність відмінностей порівняно із показниками у групі хворих на НАЖХП із Pro/Pro-генотипом.

Спосіб здійснюється наступним чином.

- 5 Хворим на НАЖХП додатково до комплексної діагностичної програми досліджують Pro 12Ala поліморфізм гена PPAR-γ і при виявленні Ala-алеля зазначеного гена прогнозують ймовірно тяжкий перебіг НАЖХП.

Приклади практичного використання корисної моделі.

Приклад.

- 10 Хворий Л., 61 рік, медична карта № 885 стаціонарного хворого, знаходився на стаціонарному лікуванні із діагнозом: Неалкогольна жирова хвороба печінки. Стеатогепатоз. Конституційне ожиріння I ступеня (абдомінальний тип). Хворіє на НАЖХП 5 років, в анамнезі - порушення режиму та якості харчування, схильність до вечірнього переїдання. Був прийнятий зі скаргами: біль в правому підребер'ї давлячого характеру помірної інтенсивності, періодична нудота, задишка при звичайному фізичному навантаженні. Об'єктивне обстеження: індекс маси тіла - 30,4, шкіра блідо-рожевого кольору, наявні ксантоми та ксантелазми на повіках, живіт збільшений у розмірах за рахунок підшкірної жирової клітковини, болючий при пальпації у правому підребер'ї, нижній край печінки виступає на 2 см з-під краю правої реберної дуги,
- 15

селезінка - під лівою реберною дугою, ЧСС - 92/хв, АТ-135/85 мм рт. ст., серцеві тони дещо ослаблені. Над легеньми вислуховується везикулярне дихання. Під час проведення ультразвукового дослідження печінки виявлено: розмір по середньо-ключичній лінії - 162 мм, розмір по серединній лінії - 70 мм, контури рівні, капсула диференціюється, паренхіма дрібнозерниста, структура однорідна, ехогенність підвищена, хід судин звичайний, відзначається дорзальне затухання ехосигналу. Комп'ютерна томографія печінки: краніокаудальний розмір правої долі 165 мм, контури чіткі, рівні, щільність паренхіми знижена до 17 НУ, без додаткових утворень. Відзначається зниження рентгенологічної щільності паренхіми печінки, порівняно з паренхімою селезінки. Дослідження Pro12Ala поліморфізму гена PPAR-γ виявило носійство Ala/Ala генотипу. Проведені біохімічні дослідження: вміст глюкози (5,9 ммоль/л), загального білірубіну (18,8 мкмоль/л), прямого білірубіну (5,9 ммоль/л), альбуміну (44,0 г/л), загального білка (76,0 г/л), сечовини (5,6 ммоль/л), креатиніну (97,0 мкмоль/л), виявлено підвищення активності АлАТ (67 Од/л), АсАТ (101 Од/л), ЛДГ (заг.) (570 Од/л), ГГТ (156 Од/л). Показники ліпідного профілю: вміст холестеролу (6,70 ммоль/л), триацилгліцеролів (2,07 ммоль/л), холестеролу ліпопротеїдів високої щільності (1,20 ммоль/л), холестеролу ліпопротеїдів низької щільності (4,39 ммоль/л), холестеролу ліпопротеїдів дуже низької щільності (1,11 ммоль/л), коефіцієнт атерогенності - 4,58.

Технічний результат: запропонований спосіб прогнозування тяжкості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки дозволяє оптимізувати діагностичну програму таких хворих, виявити серед таких пацієнтів групу ризику щодо тяжкого перебігу зазначеного захворювання.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування тяжкості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки з урахуванням поліморфізму генів шляхом проведення комплексних біохімічних, інструментальних та генетичних досліджень, який **відрізняється** тим, що додатково досліджують Pro12Ala поліморфізм гена PPAR-γ з метою визначення Ala-алеля зазначеного гена і при його виявленні прогнозують ймовірно тяжкий перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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