



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110296** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61N 7/00
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 00984	(72) Винахідник(и): Тодоріко Лілія Дмитрівна (UA), Сем'янів Ігор Олександрович (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.02.2016	(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: 10.10.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2016, Бюл.№ 19	

**(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ
ЗАЛЕЖНО ВІД СУПУТНЬОЇ ПАТОЛОГІЇ ГЕПАТО-ПАНКРЕАТО-БІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ ТА
ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ GSTT1 ТА GSTM1**

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування перебігу вперше діагностованого туберкульозу легень із супутньою патологією гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізмом генів GSTT1 та GSTM1 шляхом проведення молекулярно-генетичного дослідження та прогнозування тяжкості перебігу туберкульозу легень. Встановлюють наявність супутньої патології гепатогепатопанкреатобіліарної системи за допомогою проведення ультразвукового дослідження органів черевної порожнини та загального і біохімічного аналізів крові та визначення поліморфних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 за допомогою молекулярно-генетичного дослідження; і при виявленні супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи та нульового генотипу GSTT1 та/або GSTM1 прогнозують тяжкий перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень.

UA 110296 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до фтизіатрії та внутрішньої медицини, і може бути використана у медичній практиці для прогнозування перебігу вперше діагностованого туберкульозу легень із супутньою патологією гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізмом генів глутатіон-S-трансферази.

При туберкульозі легень (ТБ) перебіг захворювання залежить від дії значної кількості чинників. Суттєву роль при цьому відіграють генетичні чинники як хворого, так і патогенного збудника. Одними із генів, експресія яких відіграє ключову роль у забезпеченні резистентності клітин до впливу вільних радикалів за алкілування білків, запобіганні пошкодження ДНК, перекисного окиснення ліпідів, біосинтезі простагландинів, транспортуванні та метаболізмі білірубину, гормонів, є гени, які кодують синтез глутатіон-S-трансферази (GST).

Існує багато даних, які свідчать про участь вільнорадикальних процесів у патогенезі туберкульозу. Так, наприклад, у динаміці розвитку експериментального туберкульозу відбувається активація вільнорадикального окиснення в легеневій тканині та плазмі крові. При цьому інтенсивність процесів перекисного окиснення залежала від ступеня вираженості запального процесу.

Проведення повноцінної хіміотерапії, особливо при використанні стандартних режимів, може обмежуватися розвитком побічних реакцій на протитуберкульозні препарати (ПТП), які виникають переважно у перші тижні інтенсивної фази хіміотерапії. Особливо часто вони розвиваються у разі супутнього ураження гепатопанкреатобіліарної (ГПБ) системи.

На сьогодні відсутні дані та рекомендації щодо прогнозування перебігу вперше діагностованого туберкульозу легень із супутньою патологією ГПБ системи та поліморфізмом генів глутатіон-S-трансферази.

У перспективі це дозволило б покращити епідеміологічну ситуацію в цілому, оскільки крім позитивного результату лікування для конкретного випадку, відбувається розрив епідемічного ланцюга та зменшується кількість побічних реакцій з боку гепатопанкреатобіліарної системи.

Прототипом корисної моделі є спосіб прогнозування несприятливого перебігу туберкульозу легень [Пат. 49910 Україна, МПК А61В 10/00 / Чеснокова М.М., Бажора Ю.І., Сметюк О.О.; Заявник Одеський державний медичний університет - заяв. № u201000146 від 11.01.2010; опубл. 11.05.2010, бюл. № 9], в якому проводять прогнозування несприятливого перебігу туберкульозу легень за допомогою молекулярно-генетичного дослідження ізолятів *M. tuberculosis*, тобто визначають наявність IS6110 інсерції у міжгенній *dnaA-dnaD* ділянці, чим встановлюють належність ізолятів до родини Beijing, яка є предиктором несприятливого перебігу туберкульозу.

Недоліком прототипу-способу є те, що даний метод не враховує супутню патологію гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізм генів системи детоксикації ксенобіотиків глутатіон-S-трансферази.

В основу корисної моделі було поставлено завдання удосконалити спосіб прогнозування перебігу вперше діагностованого туберкульозу легень із супутньою патологією гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізмом генів GSTT1 та GSTM1 шляхом проведення молекулярно-генетичного дослідження для визначення поліморфних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 та встановлення наявності супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи за допомогою проведення ультразвукового дослідження органів черевної порожнини та загального і біохімічного аналізу крові; і при виявленні супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи та нульового генотипу GSTT1 та/або GSTM1 прогнозують тяжкий перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень.

Спільними ознаками прототипу та корисної моделі є проведення молекулярно-генетичного дослідження та прогнозування тяжкості перебігу туберкульозу легень.

Відмінними ознаками прототипу та корисної моделі є встановлення наявності супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи за допомогою проведення ультразвукового дослідження органів черевної порожнини та загального і біохімічного аналізу крові та визначення поліморфних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 за допомогою молекулярно-генетичного дослідження; і при виявленні супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи та нульового генотипу GSTT1 та/або GSTM1 прогнозують тяжкий перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень.

Таблиця

Порівняння корисної моделі та прототипу за ознаками

Ознаки	Прототип	Корисна модель
Молекулярно-генетичне дослідження	ізолятів <i>M. tuberculosis</i> , тобто визначають наявність IS6110 інсерції у міжгенній <i>dnaA-dnaD</i> ділянці	алельний розподіл за поліморфними варіантами генів <i>GSTM1</i> та <i>GSTT1</i>
Встановлення наявності супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи	не проводять	проводять за допомогою ультразвукового дослідження органів черевної порожнини та загального і біохімічного аналізу крові
Прогнозування перебігу туберкульозу	проводять	проводять: при виявленні супутньої патології ГПБ системи та нульового генотипу <i>GSTT1</i> та/або <i>GSTM1</i> прогнозують тяжкий перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень

Визначення термінів, які використовуються при описі корисної моделі: вперше діагностований туберкульоз легень, полімеразна ланцюгова реакція, ксенобіотики, гепатопанкреатобіліарна система, поліморфізм генів, *GSTT1*, *GSTM1*.

Теоретичні передумови здійснення способу, що заявляється.

Результати нашого дослідження показали, що при невчасній діагностиці супутньої патології ГПБ системи у хворих на ВДТБ і належному програмному лікуванні туберкульозу, у пацієнтів з коморбідністю часто розвивається непереносимість до ПТП і розвиток побічних реакцій, як наслідок, формується неефективне лікування та рецидиви туберкульозу, що узгоджується з результатами інших дослідників.

Необхідність виявлення патології з боку гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізму генів системи детоксикації ксенобіотиків глутатіон-S-трансферази у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень підтверджується результатами, які були отримані у ході проведеного дослідження, в основі якого лежало комплексне обстеження 120 хворих на ВДТБ легень.

Отримані дані свідчать про високу частоту патології з боку ГПБ системи у хворих на туберкульоз, яка діагностується у 58 % хворих на ТБ. За нозологіями розподіл наступний: хронічний некалькульозний холецистит - 36,5 % обстежених, дифузні зміни печінки - 27,8 % хворих на ТБ та хронічний панкреатит, який діагностовано у 22,3 % пацієнтів. Значну небезпеку складає коморбідність ТБ з 2-ма захворюваннями ГПБ системи поєднання 2-х патологій, яке виявилось у 72 хворих (18 %), та 3-х варіантів патологій у 10 хворих (2,5 %), що виявилися за результатами ретроспективного аналізу.

Значна частота поєднаних захворювань пояснюється не лише патогенетичними чинниками і несприятливим впливом лікарських засобів на травний канал хворих на ТБ, а й поширенням серед таких хворих обтяжливих соціальних і поведінкових чинників.

Під час ультразвукового обстеження органів черевної порожнини, у хворих на ВДТБ виявляються наступні зміни - потовщення стінки жовчного міхура більше 3 мм, ущільнення стінки жовчного міхура, неомогенність порожнини та деформація жовчного міхура; збільшенням задніх сегментів печінки, товщина правої частки більше 13 см, посилення акустичної щільності паренхіми печінки, наявності неоднорідних ділянок з нечіткими межами зниженої щільності, нечітким зображенням вен печінки. Збільшення розмірів підшлункової залози, також зустрічаються додаткові ознаки: кісти підшлункової залози 0,5 %, розширення протоки підшлункової залози 19,7 %.

При невчасній діагностиці супутньої патології і належному лікуванні туберкульозу у пацієнтів з коморбідністю може розвинути непереносимість до ПТП, спостерігається частий розвиток побічних реакцій, і як наслідок, формується неефективне лікування, рецидиви туберкульозу та хіміорезистентність.

При проведенні молекулярно-генетичного дослідження нами встановлено, вірогідно частішу наявність функціонального алеля, ніж його відсутність, у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень (ВДТБ) у 4,75 рази ($p < 0,001$).

Серед пацієнтів із наявним функціональним алелем вірогідно частіше діагностували хронічний некалькульозний холецистит (ХНХ), аніж хронічний гепатит (ХГ) і панкреатит (ХП) у 2,06 рази ($\chi^2 = 8,76$, $p = 0,003$) та поєднання ко-, чи мультиморбідних станів (2-х, чи 3-х і більше патологій) у 3,3 рази ($\chi^2 = 17,25$, $p < 0,001$), відповідно. Натомість серед власників мутантного делеційного генотипу достовірно превалювали мультиморбідні тяжкі хворі у 1,8-3 рази ($\chi^2 = 4,20$, $p = 0,04$). При цьому, незалежно від виду наявної супутньої патології ХНХ, ХГ, чи ХП домінував функціональний алель у 3,2-8,25 рази ($\chi^2 = 11,52-45,46$, $p < 0,001$). А у пацієнтів за мультиморбідності частоту 1-, чи 0-генотипів реєстрували на паритетній основі: 52,63 % проти 47,37 % (ВШ=1,23, 95 % ДІ=0,35-4,41, $p > 0,05$).

Виявлені зміни вказують на необхідність прогнозування перебігу вперше діагностованого туберкульозу легень залежно від супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізму генів GSTT1 та GSTM1. При отриманні результатів, які вказують на наявність супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи, є необхідним призначення гепатопротекторної терапії, та за можливості парентерального шляху введення протитуберкульозних препаратів.

Тому, вивчення поліморфізму відомих генів-кандидатів, а також пошук нових генів, білкові продукти яких беруть участь у патогенетичних механізмах захворювання, є однією з важливих задач при дослідженні туберкульозу [Баранов В.С. Генетический паспорт - основа индивидуальной и предиктивной медицины / Баранов В.С. - СПб.: Н-Л, 2009. - 528 с.]

Расовий і популяційний аналіз нульового поліморфізму гена GSTM1 засвідчив, що частота гомозиготного нульового генотипу вище означеного генасеред обстежених нами хворих на туберкульоз була менша, ніж у населення європеїдної ($P_D = 0,42-0,60$ проти $P_D = 0,22$, $p < 0,05$) та азійської рас ($P_D = 0,42-0,54$, $p < 0,05$), вагомо не відрізняючись від відповідного показника екваторіальної раси ($P_D = 0,16-0,36$, $p < 0,05$).

Алельний розподіл за поліморфним варіантом гена GSTM1 серед хворих на туберкульоз та практично здорових відповідає загалом очікуваній популяційній рівновазі Hardy-Weinberg. У кількісному відношенні домінує алель із відсутністю 0-генотипу ($P_1 = 54,0$ %), при цьому відносна частота алелей вірогідно не відрізняється. Встановили статистично значимий дефіцит гетерозиготності у групі контролю ($F = 0,28$, $p = 0,033$), що загалом не розповсюджується на всю вибірку ($F = 0,24$, $p > 0,05$) і засвідчує нормальний популяційний розподіл.

Корисна модель здійснюється таким чином.

Хворому на вперше діагностований туберкульоз легень проводять ультразвукове дослідження органів черевної порожнини та загальний і біохімічний аналіз крові, за допомогою яких встановлюють наявність супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи. Додатково проводять молекулярно-генетичне дослідження: дослідження поліморфізму генів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, виділяють ДНК хворих із периферичної крові за допомогою реагентів комерційного набору "ДНК-сорб-В" ("Амплиценс", Москва); поліморфні ділянки GSTT1, GSTM1 ампліфікують за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції на ампліфікаторі "Amply 4" з використанням локуспецифічних олігонуклеотидних праймерів, згідно з протоколом для одномоментного аналізу поліморфізму GSTT1 і GSTM1 за M. Arandet. A1. (1996).

При виявленні супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи та нульового генотипу GSTT1 та/або GSTM1 прогнозують тяжкий перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень. В такому випадку можливий розвиток побічних реакцій на протитуберкульозні препарати, погана переносимість стандартних режимів лікування, що в подальшому призводить до розвитку медикаментозної стійкості та відміни протитуберкульозних препаратів.

Приклад використання способу, що заявляється.

Хворий М., 47 років. Клінічний діагноз: ВДТБ (18.02.2015) легень (дисемінований), Дестр+, МБТ+ МГ + Риф - М+ К+, Резист I -, Резист II 0, Гіст 0, Кат 1, Ког 1 (2015).

При госпіталізації в стаціонар скарги на кашель із виділенням слизово-гнійного харкотиння, підвищення температури тіла до субфебрильних цифр, нічну пітливість, загальну слабкість, зниження апетиту, схуднення протягом останнього часу на 8 кг, важкість у правому підребер'ї.

Дані об'єктивного обстеження: загальний стан відносно задовільний. Шкірні покриви чисті, бліді. Зниженого живлення, астеничної тілобудови.

Межі серцевої тупості відповідають віковій нормі. Тони серця ритмічні, звучні. Над легень перкуторно ясний легеневиий звук, незначне притуплення над верхівками з обох сторін; аускультативно - дихання везикулярне, над верхівками обох легень ослаблене, хрипів немає.

Живіт звичайних розмірів, при пальпації м'який, чутливий при пальпації по ходу товстого кишечника. Розміри печінки по Курлову 10,5 × 9х7,5 см. Селезінка не пальпується. Симптом Пастернацького негативний з обох сторін. Периферичні набряки відсутні.

Додаткові методи дослідження: загальний аналіз крові: Ер. - $4,31 \times 10^{12}/л$; Нв - 141 г/л; КП - 0,98; Л - $11,1 \times 10^9/л$; е-1 %, м - 4 %, п - 12 %, с - 64 %, л - 19 %; ШОЕ - 11 мм/год.; цукор крові - 4,52 ммоль/л; біохімічні показники: сулемова проба - 1,92, загальний білок - 71 г/л; сечовина - 4,6 мм/л, креатинін - 79,4 мкм/л, тимолова проба - 2,6 од.; антитіла до ВІЛ - не виявлено; аналіз мокротиння на МБТ: мікроскопічно - МБТ [+]; GeneXpert MTB/Rif - виявлено МБТ, стійкість до рифампіцину не встановлено; культурально: на середовищі Левенштейна-Йенсена - 12 колоній, ВАСТЕК - позитивний. ТМЧ: чутливість збережена.

Результати інструментальних методів дослідження. ЕКГ: ритм синусовий, правильний, ЧСС 76/хв. ЕВС відхилена вліво, напівгоризонтальна позиція.

Рентгенографія ОГК: в легенях симетрично з обох сторін у верхніх і середніх відділах множинні вогнищеві тіні різної інтенсивності з ділянками просвітлення, корені легень розширені. Синуси вільні.

УЗД органів черевної порожнини: потовщення стінки жовчного міхура більше 3 мм, дифузне; рівномірне ущільнення стінки жовчного міхура; пристінкова неомогенність порожнини жовчного міхура, внутрішньопорожнинна деформація жовчного міхура. Збільшення правої частки печінки, нерівний край печінки, посилення акустичної щільності паренхіми, значна її нерівномірність. Вени печінки нормального калібру, просвіт нижньої порожнистої вени не змінюється. Заключення: хронічний некалькульозний холецистит, дифузне ураження печінки.

Полімеразна ланцюгова реакція - GSTM1-del; GSTT1 - I-алель.

Технічний результат. Спосіб, що заявляється, дозволяє спрогнозувати перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень шляхом виявлення супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи та визначення алельного стану генів біотрансформації ксенобіотиків глутатіон-S-трансферази класів GSTT1 і GSTM1, зокрема, функціональну I-алель та 0-алель, що в подальшому дозволить скласти індивідуальний план лікування таких хворих, відповідно знизити ризик розвитку побічних реакцій на протитуберкульозні препарати, підвищити ефективність етіотропного лікування та покращити якість життя пацієнтів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування перебігу вперше діагностованого туберкульозу легень із супутньою патологією гепатопанкреатобіліарної системи та поліморфізмом генів GSTT1 та GSTM1 шляхом проведення молекулярно-генетичного дослідження та прогнозування тяжкості перебігу туберкульозу легень, який **відрізняється** тим, що встановлюють наявність супутньої патології гепатопанкреатобіліарної системи за допомогою проведення ультразвукового дослідження органів черевної порожнини та загального і біохімічного аналізів крові та визначення поліморфних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 за допомогою молекулярно-генетичного дослідження; і при виявленні супутньої патології гепато гепатопанкреатобіліарної системи та нульового генотипу GSTT1 та/або GSTM1 прогнозують тяжкий перебіг вперше діагностованого туберкульозу легень.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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