



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **72201**

(13) **U**

(51) МПК

**A61K 38/55** (2006.01)

**A61B 5/0205** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

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

(21) Номер заявки: **u 2012 01081**

(22) Дата подання заявки: **02.02.2012**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.08.2012**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.08.2012, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):

**Волошин Олександр Іванович (UA),  
Присяжнюк Василь Петрович (UA),  
Сидорчук Лариса Петрівна (UA),  
Булик Роман Євгенович (UA)**

(73) Власник(и):

**БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ,  
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)**

**(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ УРАЖЕНЬ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ЦИРОЗ ПЕЧІНКИ НЕВІРУСНОГО ПОХОДЖЕННЯ**

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування виникнення уражень серцево-судинної системи у хворих на цироз печінки невірусного походження включає дослідження поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту. Пацієнтам з метою раннього виявлення уражень серцево-судинної системи діагностичними методами проводять визначення T894G поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту. Мета виявлення "несприятливого" Т-алеля, носійство якого асоціювалось із частим виникненням та важчим перебігом серцево-судинних уражень у хворих на цироз печінки невірусного походження.

**UA 72201 U**



Корисна модель належить до медицини, а саме до гепатології та кардіології, й може бути використана з метою прогнозування та профілактики уражень серцево-судинної системи у хворих на цироз печінки (ЦП) невірусного походження.

Загальновідомо, що у хворих на ЦП, водночас із прогресуванням основного захворювання наростають зміни з боку серцево-судинної системи, які включають у себе пошкодження міокарда, магістральних судин та розлади мікроциркуляції. Порухення системної гемодинаміки корелюють зі змінами показників печінкового кровотоку і зустрічаються у більшості таких хворих. Водночас із прогресуванням ЦП знижується скоротлива здатність міокарда, відбувається перебудова системної гемодинаміки з розвитком гіпер-, гіпо- та псевдонормокінетичного її типів. Перебіг хронічних дифузних захворювань печінки часто супроводжують вторинні атерогенні дисліпіпротеїдемії, прогресуючий коронарний атеросклероз та ішемічна хвороба серця. Окремими авторами ЦП розглядається як чинник ризику розвитку інфаркту міокарда у більш ранньому віці. У зв'язку із вищезазначеним важливим є виявлення серед хворих на ЦП груп ризику, щодо виникнення уражень серцево-судинної системи та рання діагностика таких порушень.

Новим напрямком в сучасній комплексній діагностичній програмі хворих на хронічні дифузні захворювання печінки є вивчення генетичної схильності до виникнення ускладнень цього захворювання, зокрема ушкоджень серцево-судинної системи. Оскільки, своєчасна корекція серцево-судинних розладів у таких хворих покращує артеріальний печінковий кровотік, печінкову мікроциркуляцію, знижує вираженість циркуляторної гіпоксії і відповідно, попереджує розвиток дистрофічних змін у печінці.

Аналогом способу прогнозування виникнення серцево-судинних уражень у хворих на цироз печінки невірусного походження, що пропонується, є спосіб профілактики розвитку серцево-судинних ускладнень при хронічній хворобі нирок (44223 МПК (2006) А61К 31/00, А61К 38/55, G01N 33/48, G01N 33/49, Державна установа "Інститут терапії імені Л.Т. Малої АМН України"(UA) Самохіна Любов Михайлівна (UA); Топчий Іван Іванович (UA); Несен Андрій Олексійович (UA). Недоліком аналога є те, що у комплексній діагностичній програмі серцево-судинних ускладнень не використано дослідження генетичної схильності до їх виникнення, як найбільш раннього методу виявлення та профілактики таких ускладнень.

Прототипом розробленого методу є спосіб прогнозування серцево-судинних ускладнень у хворих на гіпертонічну хворобу у поєднанні з цукровим діабетом 2 типу (32949 МПК (2006) А61В 5/0205, G01N 33/00, Запорізький державний медичний університет (UA); Главацький Олександр Миколайович (UA); Березін Олександр Євгенович (UA). Недоліком прототипу є те, що у даному способі прогнозування серцево-судинних ускладнень не досліджується роль поліморфізму генів-кандидатів у розвитку уражень серцево-судинної системи.

Нами пропонується рішення, що усуває вказані недоліки.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб прогнозування виникнення уражень серцево-судинної системи у хворих на ЦП невірусного походження шляхом застосування у комплексній діагностичній схемі таких пацієнтів дослідження Т894G поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS), з метою виявлення "несприятливого" Т-алеля, носійство якого асоціювалось із більш частим виникненням та важчим перебігом серцево-судинних уражень.

Для вирішення поставлених задач додатково до комплексної діагностичної програми хворих на ЦП невірусного походження пропонується дослідження поліморфізму гена eNOS (Т894G). З метою вивчення алелей поліморфних ділянок Т894G у гені eNOS у обстежених хворих виділяли геномну ДНК з лейкоцитів периферійної крові з подальшою ампліфікацією за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції.

Для визначення статистичних відмінностей між групами використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних груп у тому разі, коли дані відповідали нормальному розподілу. У випадку непараметричних даних для цього використовували критерій Манна-Уїтні. Достовірною вважали ймовірність помилки менше 5 % ( $p < 0,05$ ).

Апробацію запропонованого способу проведено на кафедрі пропедевтики внутрішніх хвороб Буковинського державного медичного університету та на базі гастроентерологічних відділень обласної клінічної лікарні та міської клінічної лікарні № 3 м. Чернівці. Поліморфізм гена eNOS досліджено у 50 хворих на ЦП невірусного походження та 10 практично здорових волонтерів (контрольна група). Розподіл генотипів поліморфізму гена наведений у таблиці 1.

Таблиця 1

Розподіл T894G поліморфізму гена eNOS у  
хворих на цироз печінки невірусного походження та практично здорових осіб

Генотипи гена eNOS, n (%)	Хворі на цироз печінки (n=50)		Практично здорові особи (n=10)	
	Абсолютна кількість, n	%	Абсолютна кількість, n	%
TT	2	4,0	0	0,0 %
TG	32	64,0	7	70,0 %
GG	16	32,0	3	30,0 %

Серед хворих на ЦП носіїв TT генотипу було 2 (4,0 %), TG-32 (64,0 %), GG-16 (32,0 %); носіїв Т-алеля - 18 осіб (36,0 %), G-алеля - 32 особи (64,0 %). У контрольній групі гомозиготних носіїв Т-алеля не виявили, 70,0 % обстежених осіб цієї групи були гетерозиготами, 30 % - гомозиготними носіями G-алеля, що вірогідно не відрізнялось від розподілу генотипів серед хворих на ЦП. В залежності від T894G поліморфізму гена eNOS хворих на ЦП було поділено на дві групи, з подальшим дослідженням ймовірного зв'язку носійства Т- чи G-алеля із біохімічними, цитокіновими та ехокардіографічними показниками. У зв'язку з тим, що кількість носіїв "несприятливого" TT-генотипу була обмежена (n=2), вважали за необхідне аналізувати показники за наявності "несприятливого" Т-алеля.

Встановлено, що у пацієнтів із Т-алелем активність аспартатамінотрансферази була достовірно вища на 27,4 % ( $p<0,05$ ), ніж у хворих із GG-генотипом. У пацієнтів із Т-алелем достовірно вищою була концентрація передсердного натрійуретичного пропептиду у плазмі крові на 89,2 % ( $p<0,05$ ) порівняно із вмістом цитокіну у хворих на ЦП носіїв GG-генотипу, що асоціювалось із тяжчим перебігом серцево-судинної патології, скаргами на за грудинний біль, неприємні відчуття у ділянці серця та задишку, у окремих пацієнтів розвитком серцевої недостатності 2А-2Б стадії та набрякового синдрому.

У пацієнтів із ЦП носіїв Т-алеля встановили достовірне збільшення лівого передсердя на 13,6 % ( $p<0,01$ ) порівняно із хворими на ЦП із GG-генотипом. Також у носіїв Т-алеля була більшою маса міокарда лівого шлуночка на 19,5 % ( $p<0,01$ ), а у осіб чоловічої статі також індекс маси міокарда лівого шлуночка на 12,2 % ( $p<0,05$ ), ніж у хворих на ЦП із GG-генотипом (таблиця 2).

Таблиця 2

Біохімічні, цитокінові показники крові та ехокардіографічні параметри  
у хворих на цироз печінки залежно від T894G поліморфізму гена eNOS

Показник		Контрольна група, n=10	Хворі на ЦП, n=50	
			Носії Т-алеля, n=34	Носії GG-генотипу, n=16
Аспартатамінотрансфераза, ОД/л		18,00±0,90	74,48±8,96 */****	58,44±4,68*
Передсердний натрійуретичний пропептид, нмоль/л		0,32±0,04	2,27±0,34 */****	1,20±0,15*
Ліве передсердя (діаметр) (см)		3,92±0,14	4,52±0,09 **/****	3,98±0,08
Маса міокарда лівого шлуночка (мг)		213,94±20,94	302,86±20,57 **/****	253,40±21,58***
Індекс маси міокарда лівого шлуночка (мг/м <sup>2</sup> )	(чол.)	123,81±12,00	155,33±11,41 ***/*	138,39±7,06
	(жін.)	103,97±10,08	135,79±8,79 ***	120,29±11,09***

Примітка: \* - достовірність відмінностей ( $p<0,001$ ) порівняно із показниками у групі практично здорових людей; \*\* - достовірність відмінностей ( $p<0,01$ ) порівняно із показниками у групі практично здорових людей; \*\*\* - достовірність відмінностей ( $p<0,05$ ) порівняно із показниками у групі практично здорових людей; \*\*\*\* - достовірність відмінностей ( $p<0,05$ ) порівняно із показниками у групі хворих із GG-генотипом.

Спільними ознаками запропонованої корисної моделі та прототипу є те, що у хворих вивчали можливі шляхи прогнозування виникнення серцево-судинних ускладнень.

- Відмінними ознаками корисної моделі від прототипу є те, що пацієнтам додатково до основних методів діагностики серцево-судинної патології проводили дослідження Т894G поліморфізму гена eNOS, як одного із генів-кандидатів розвитку серцево-судинних захворювань. Відмінності у схемах прогнозування серцево-судинних ускладнень, використаних у способі, що пропонується, та прототипі вказані у таблиці 3.

Таблиця 3

Відмінності у схемах прогнозування  
серцево-судинних ускладнень, використаних у способі, що пропонується, та прототипі

Спосіб діагностики	Спосіб, що пропонується	Прототип
Клініко-анамнестичні дослідження	+	+
Електрокардіографія	+	+
Ехокардіографія	+	+
Добове моніторування артеріального тиску та електрокардіограми	+	+
Дослідження Т894G поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту	+	-

- 10 Теоретичне підґрунтя для використання способу.

Порушення функціонування ендотелію судин відіграє важливу роль у виникненні серцево-судинних захворювань, розвитку ЦП та прогресуванні його ускладнень, зокрема портальної гіпертензії. В основі ендотеліальної дисфункції лежить дисбаланс між локальним виробленням та розпадом потужних вазоактивних речовин, з-поміж яких виділяють оксид азоту (II) та ендотелій-1. Вироблення оксиду азоту (II) регулюється шляхом моделювання експресії гена eNOS та активності фермента eNOS або через зміни в активності кофакторів та ендогенних інгібуючих молекул. Залежно від захворювання можливе як підвищення, так і зниження експресії гена eNOS. Проте, навіть при підвищеній експресії гена eNOS не завжди буде спостерігатись зростання концентрації оксиду азоту (II) у крові. Зазначене може бути пов'язане з іншими причинами зменшення активності оксиду азоту (II): зниження експресії і/або активності ферменту eNOS, пошкодження структури eNOS, надмірна активність систем знешкодження оксиду азоту (II) і порушення ефекторних механізмів передавання NO опосередкованих сигналів.

eNOS відіграє вагомий роль у регуляції судинного тону, знешкоджує супероксиданіон-радикали, пригнічує агрегацію тромбоцитів, адгезію лейкоцитів та проліферацію клітин гладеньких м'язових волокон. Ендотеліальний оксид азоту (II) вважається важливим атеропротекторним середником, а порушення його синтезу корелює зі збільшенням ризику розвитку серцево-судинних захворювань. Зокрема, в експериментах на мишах, з геному яких був видалений ген eNOS, виявлено схильність до підвищення артеріального тиску. А у тих, у яких ген eNOS був вилучений спільно з E-аполіпопротеїном, спостерігалася підвищена захворюваність на атеросклероз. Поліморфізм гена eNOS відіграє важливу роль і у розвитку та прогресуванні захворювань печінки. Зокрема, збільшення внутрішньопечінкового судинного опору у хворих на ЦП супроводжується зниженням активності eNOS. У хворих на ЦП, який ускладнений портальною гіпертензією, спостерігається зменшення активності eNOS, унаслідок цього виникає зниження кровотоку у внутрішньопечінкових судинах. В експериментальних моделях холестатичного ЦП встановлено, що зміна продукції оксиду азоту (II) бере участь в ураженні печінки і розвитку портальної гіпертензії. Окремі автори встановили, що генетичні варіанти гена eNOS (894G/T, -786T/C) можуть призвести до відмінностей у важкості первинного біліарного ЦП та його прогресуванні.

- 40 Наводимо приклад застосування корисної моделі.

Приклад.

Хворий Х., 58 років, медична карта № 3431 стаціонарного хворого, знаходився на стаціонарному лікуванні із діагнозом: Цироз печінки, змішаний, активний, стадія декомпенсації. Гепатоцелюлярна недостатність II ст. Портальна гіпертензія II ст. Асцит. Хворіє на цироз печінки 3 роки, в анамнезі - зловживання алкогольними напоями, професійний контакт із лакофарбовими речовинами, порушення режиму та якості харчування. Був госпіталізований зі скаргами: біль у правому підребер'ї тиснучого характеру помірної інтенсивності, збільшення

живота у розмірах, пожовтіння шкірних покривів, порушення сну, задишка, періодичний біль за грудиною тиснучого характеру, помірної інтенсивності, який з'являється після помірного фізичного та емоційного навантаження. Під час об'єктивного обстеження: шкіра та склери жовтяничного кольору, наявні телеангіоектазії, ксантелазми, "печінкові долоні", асцит, пастозність нижніх кінцівок, живіт болючий при пальпації у правому підребер'ї, нижній край печінки виступає на 5 см з-під краю правої реберної дуги, селезінка - на 1 см з-під краю лівої реберної дуги, ЧСС - 74/хв., АТ-130/80 мм рт. ст., серцеві тони ослаблені. Дослідження T894G поліморфізму гена eNOS виявило носійство "несприятливого" Т-алеля цього гена. Проведені біохімічні дослідження: виявлено помірне збільшення концентрації загального та прямого білірубіну, виражена гіпоальбумінемія, помірне підвищення рівня печінкових трансаміназ. Визначення рівня передсердного натрійуретичного пропептиду у крові встановило його значне зростання. Під час ультразвукового дослідження органів черевної порожнини виявлено гепатомегалію (розмір правої частки - 189 см, лівої частки - 84 см) ехогенність паренхіми печінки підвищена, паренхіма середньої зернистості, контури горбисті. Судинна сітка - деформована, "обрублена". Жовчні шляхи не візуалізуються. Жовчний міхур: розміри звичайні, стінки

ущільнені, вміст - осад, що займає  $\frac{1}{3}$  об'єму жовчного міхура. Підшлункова залоза: розміри звичайні, контури чіткі, безперервні, рівні, у паренхімі візуалізуються ділянки підвищеної ехогенності, Вірсунгова протока не візуалізується. Селезінка: розміри збільшені, довжинник 125 см, поперечник - 76 см, структура однорідна. В черевній порожнині виявлена вільна рідина. Під час ехокардіографічного дослідження встановлено збільшення діаметра аорти та ущільнення її стінок, помірне збільшення діаметра лівого передсердя та лівого шлуночка. Скоротлива здатність міокарда лівого шлуночка задовільна (фракція викиду - 58 %). Помірне збільшення товщини задньої стінки лівого шлуночка та товщини міжшлуночкової перетинки, стулки аортального клапана - незначно ущільнені, кальциноз стулок мітрального клапана. Виявлена регургітація на мітральному клапані - 1 ступеня, на трикуспідальному клапані - 1-2 ступеня, систолічний тиск в легеневі артерії - 30 мм рт. ст. Внаслідок проведених розрахунків встановлено збільшення індексу маси міокарда лівого шлуночка (184 г/м) на тлі незбільшених розмірів відносної товщини стінок лівого шлуночка: у пацієнта діагностовано ексцентричну гіпертрофію лівого шлуночка.

На підставі отриманих результатів додатково до загальноприйнятого базового лікування хворих на ЦП призначено кардіотропну метаболічну терапію з продовженням її у підтримуючій дозі на амбулаторно-поліклінічному етапі впродовж 2 місяців з подальшим щоквартальним контролем клініко-лабораторних показників стану печінки та серцево-судинної системи.

Таким чином, застосування запропонованого способу прогнозування виникнення серцево-судинних уражень у хворих на цироз печінки невірусного походження дозволяє оптимізувати діагностичну програму таких хворих, виявити серед таких пацієнтів групу ризику, щодо виникнення серцево-судинних уражень та вчасно їх діагностувати.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування виникнення уражень серцево-судинної системи у хворих на цироз печінки невірусного походження, що включає дослідження поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту, який **відрізняється** тим, що пацієнтам з метою раннього виявлення уражень серцево-судинної системи поряд із загальноприйнятими діагностичними методами (електрокардіограма, ехокардіограма тощо) додатково проводили визначення T894G поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту, з метою виявлення "несприятливого" Т-алеля, носійство якого асоціювалось із більш частим виникненням та важчим перебігом серцево-судинних уражень у хворих на цироз печінки невірусного походження.

---

Комп'ютерна верстка Л.Литвиненко

---

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