



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120096** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 03578	(72) Винахідник(и): Бондаркова Анна Миколаївна (UA), Пристапа Людмила Никодимівна (UA), Кмита Владислава Володимирівна (UA), Чередніченко Наталія Анатоліївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 12.04.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.10.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.10.2017, Бюл.№ 20	(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

(57) Реферат:

Спосіб лікування бронхіальної астми шляхом дослідження алельного поліморфізму генів, при якому методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначають генотипи гена, за результатами яких прогнозують неконтрольований перебіг бронхіальної астми та визначають ефективність базисного лікування захворювання. Як алельний поліморфізм досліджують Gln27Glu поліморфізм гена ADRB₂ і для визначення цих генотипів методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі та за наявності Glu27Glu генотипу за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂, асоційованого у хворих із частково контрольованим і неконтрольованим перебігом БА до базисної терапії додатково призначають тіотропіум бромід 18 мкг протягом чотирьох тижнів один раз на добу.

UA 120096 U

Корисна модель належить до галузі клінічної медицини, а саме до внутрішніх хвороб, пульмонології та медичної генетики, і може бути використана для оптимізації лікування бронхіальної астми (БА).

5 Сучасний підхід до ведення хворих на БА оснований на трактуванні захворювання як запального процесу алергічного характеру [Boulet L. P, FitzGerald J. M, Reddel H.K. The revised 2014 GINA strategy report: opportunities for change // Curr. Opin. Pulm. Med. - 2015. - P. 1-7].

Відомо, що повний контроль (відсутність симптомів) БА досягається менш, ніж у половини хворих, що зумовлено активністю запального процесу в дихальних шляхах на фоні недостатньої ефективності терапії БА [Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Updated 2016 // www.ginasthma.com].

10 Провідне місце серед засобів базисної терапії БА займають β_2 -агоністи, що характеризуються вираженою бронхолітичною активністю та мінімальним числом небажаних побічних явищ при їх правильному використанні [Cates C.J., Welsh E.J., Rowe B.H. Holding chambers (spacers) versus nebulisers for beta-agonist treatment of acute asthma. Cochrane Database Syst Rev. - 2013.].

15 Індивідуальну варіабельність відповіді на β_2 -агоністи і розвиток толерантності до їх бронходилататорного ефекту багато дослідників пов'язують із поліморфізмом генів β_2 -адренорецепторів ($ADRB_2$), зокрема із заміною амінокислотної послідовності гена $ADRB_2$ в 27-му кодоні [Lima J.J. Impact of genetic polymorphisms of the β_2 -adrenergic receptor on albuterol bronchodilator pharmacodynamics / J. J. Lima, D. B. Thomason, M. H. Mohamed // Clin Pharm Ther. - 1999. - V. - 65. - P. 519-525.; Kotani Y. β_2 -adrenergic receptor polymorphisms affect airway responsiveness to salbutamol in asthmatics / Y. Kotani, Y. Nishimura, H. Maeda // J Asthma. - 1999. - V. - 36. - P. 583-590.]. Встановлено, що Gln27Glu поліморфізм гена $ADRB_2$ визначає чутливість до β_2 -агоністів [Wechsler M. National Heart, Lung and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network. β Adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol / M. Wechsler, E. Lehman, S. Lazarus // American Journal Respir. Crit. Care Medicine – 2006-V. 173. - P. 519-526]. Так, Gln27Glu поліморфізм гена $ADRB_2$ асоційований із зниженням відповіді на терапію β_2 -агоністами короткої дії (БАКД), тривалої дії (БАТД) та комбінацією БАТД із інгаляційними глюкокортикостероїдами (ІГКС) [Kim W. Lung function response to 12-week treatment with combined inhalation of long-acting beta2 agonist and glucocorticoid according to $ADRB_2$ polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease / W. Kim, Y. Oh, J. Sung et al. // Lung. - 2008. - Vol. 186. - № 6. - P. 381-386; Lipworth B. J. Beta2-adrenoceptor polymorphism and bronchoprotective sensitivity with regular short-and long-acting beta2-agonist therapy / B. J. Lipworth, I. P. Hall, I. Aziz // Clin Sci (Lond). - 1999. - P. 253-259].

35 Найбільш близьким аналогом є спосіб прогнозування ефективності контролюючої терапії бронхіальної астми у дітей (Патент України № 96416 U, МПК (2006.01) G01N 33/53, G01N 33/487, G01N 33/50. Опубл. 10.02.2015, бюл. № 3). Згідно з цим способом першим етапом є виділення ДНК біологічного матеріалу, а саме із венозної крові хворих, з наступним дослідженням алельного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази, при якому проводять визначення делецій у генах глутатіон-S-трансферази T1 та M1 методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції та за наявності делеційного поліморфізму даних генів прогнозують неконтрольований перебіг бронхіальної астми у дітей шкільного віку, а також недостатню ефективність стандартної контролюючої терапії.

45 Даний спосіб за рахунок взяття до уваги генетичних маркерів значно сприяє підвищенню ефективності лікування даної групи. Але недоліком цього способу є те, що враховується лише прогнозування неефективності контролюючої терапії БА без подальшої корекції лікування залежно від алельного поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази, а це знижує ефективність самого лікування.

50 В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу лікування БА шляхом додаткового визначення Gln27Glu (rs 1042714) поліморфізму гена $ADRB_2$ для оптимізації лікування хворих носіїв Glu27Glu генотипу із неконтрольованим перебігом БА шляхом залучення тіотропіуму броміду до базисного лікування, що дозволяє досягти контролю захворювання та підвищити ефективність самого лікування.

55 Поставлена задача вирішується тим, що у способі, що включає дослідження алельного поліморфізму генів, при якому методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) визначають наявність генів, за результатами яких прогнозують неконтрольований перебіг БА для корекції базисного лікування цього захворювання, згідно із корисною моделлю, як алельний поліморфізм генів досліджують Gln27Glu поліморфізм гена $ADRB_2$ і для визначення цих генів методом ПЛР з наступним аналізом довжин рестрикційних фрагментів, при виділенні яких шляхом електрофорезу в агарозному гелі, встановлюють у хворого наявність Glu27Glu генотипу

за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂ та носія даного генотипу із частково контрольованим і неконтрольованим перебігом БА додатково призначають до базисного лікування тіотропіум бромід 18 мкг протягом чотирьох тижнів один раз на добу.

5 Використання усіх суттєвих ознак способу, включаючи відмінні, дозволяє за рахунок виявлення Glu27Glu генотипу за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂ прогнозувати неконтрольований перебіг БА у хворих, сформувані групи ризику щодо даного захворювання, покращити тактику базисного лікування, що в цілому позитивно впливає на ефективність лікування.

Спосіб здійснюють наступним чином.

10 У хворого на БА визначають генотипи за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂ та за наявності Glu27Glu генотипу прогнозують неконтрольований перебіг захворювання та недостатню ефективність базисного лікування із наступним підвищенням доз іГКС та БАТД, додатково призначення тіотропіуму броміду та оцінкою рівня контролю за показниками об'єму форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ₁) і результатами за опитувальником Asthma Control Questionnaire (ACQ-5).

Приклад конкретного застосування.

20 Хвора Л., 62 років, звернулася до лікаря-пульмонолога за консультацією із скаргами на загальні слабкість, напади ядухи в нічний час, малопродуктивний кашель. Об'єктивно: загальний стан середнього ступеня тяжкості. Шкірні покриви та видимі слизові звичайного кольору чисті. Периферичні лімфатичні вузли не збільшені. В легенях дихання жорстке, вислуховуються свистячі хрипи; ЧД = 22/хв. Тони серця ритмічні, ясні; ЧСС=78 уд./хв., АТ=128/84 мм рт. ст. Живіт при пальпації м'який, безболісний. Фізіологічні випорожнення без патологічних змін. Діагноз БА встановлений в 1998 р. На даний момент пацієнтка приймає симбікорт 640/18 мкг 2 рази на добу та сальбутамол більше 5 разів на день. Після проведеного обстеження встановлено діагноз: бронхіальна астма 4 ст. персистуючий перебіг, гормонозалежна форма, неконтрольований перебіг (до ОФВ₁-42,6 %; після ОФВ₁-58,5 %; Δ ОФВ₁-37 %, 343 мл.; кількість балів за опитувальником ACQ-5-1,75). За допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі встановлено, що пацієнтка є носієм Glu27Glu генотипу за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂. Подальша тактика лікування - призначення до базисного лікування тіотропіуму броміду 18 мкг 1 раз на добу протягом 4 тижнів, після чого оцінювали контроль захворювання, а саме: ОФВ₁-72,3 % та кількість балів за опитувальником ACQ-5-0,89. Загальний стан пацієнтки покращився та зменшена кількість використання сальбутамолу до 1 разу на тиждень. Лікування було визнано ефективним та було продовжено за вибраною схемою.

35 Запропонований спосіб надає можливість покращити тактику базисного лікування шляхом застосування тіотропіуму броміду у хворих із частково контрольованим і неконтрольованим перебігом БА носіїв Glu27Glu генотипу за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂.

40 Для визначення ефективності залежно від дозування пацієнтів було поділено на 2 групи: I група - 164 пацієнти, що отримують низькі дози іГКС та БАТД та II група - 25 пацієнтів, які отримують середні дози у перерахунку на будесонід та формотерол. Корекцію дози проводили наступним чином: пацієнтам, які отримували низькі дози іГКС та БАТД (320/9 мкг на добу), підвищували до середніх (640/18 мкг на добу), а ті, що отримували середні дози, підвищували до високих доз (1280/36 мкг на добу) протягом 4 тижнів. На початковому етапі порівнювався рівень контролю за опитувальником ACQ-5 та рівень ОФВ₁ залежно від генотипів Gln27Glu за поліморфізмом гена ADRB₂ у 2-х групах до та після підвищення дози базисної терапії (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Результати за опитувальником ACQ-5 залежно від Gln27Glu поліморфізму гена ADRB₂ до та після корекції дози

Генотипи Групи	Gln27Gln		Gln27Glu		Glu27Glu	
	до	після	до	після	до	після
I	0,72	0,65	1,05	0,77	1,52	1,27
	(0,65-0,79)	(0,6,1-0,69)	(0,99-1,11)	(0,72-0,83)	(1,51-1,53)	(1,26-1,28)
	n=90	n=90	n=72	n=72	n=2	n=2
II	1,55	1,07	0,82	0,73	1,89	1,85
	(1,08-2,02)	(0,61-1,57)	(0,82)	(0,73)	(1,80-1,99)	(1,84-2,0)
	n=6	n=6	n=1	n=1	n=18	n=18

Таблиця 2

Показники об'єму форсованого видиху за 1 с залежно від Gln27Glu поліморфізму гена ADRB₂ до та після корекції дози

Генотипи Групи	Gln27Gln		Gln27Glu		Glu27Glu	
	до	після	до	після	до	після
I	75	83	66	79	57	60
	(73-77)	(82-84)	(65-68)	(77-81)	(55-58)	(59-61)
	n=90	n=90	n=72	n=72	n=2	n=2
II	45	7,0	55	78	49	52
	(33-36)	(57-82)	(55)	(78)	(46-51)	(50-54)
	n=6	n=6	n=1	n=1	n=18	n=18

У I та II групах серед носіїв генотипів Gln27Gln, Gln27Glu та Glu27Glu встановлено статистично значущу різницю за результатами опитувальника ACQ-5 та показниками ОФВ₁ (p₁=0,001 та p₂=0,01, за Краскала-Уоллісом). При проведенні подальшого аналізу у носіїв Glu27Glu генотипу не спостерігали змін рівня контролю за результатами опитувальника ACQ-5 та показниками ОФВ₁ після корекції доз БАТД та іГКС порівняно із Gln27Gln та Gln27Glu генотипами за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂ (p=0,001, за Манна-Уїтні).

На наступному етапі відібрали 24 пацієнти II групи, які є носіями Gln27Gln та Glu27Glu генотипів за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂ із частково контрольованим і неконтрольованим перебігом БА та не давали адекватної відповіді на високі дози БАТД та іГКС. Пацієнтів поділили на дві групи, до А групи увійшли 12 хворих, яким до високих доз БАТД та іГКС додавали формотерол 12 мкг 2 рази на добу, а у Б групі - 12 хворих, яким базисну терапію поєднували із тіотропіумом бромідом 18 мкг 1 раз на добу. Рівень контролю визначали через 4 тижні за результатами опитувальника ACQ-5 та показниками ОФВ₁ (табл. 3, 4).

Таблиця 3

Показники результатів за опитувальником ACQ-5 після повторної корекції базисного лікування

Показники Групи	Опитувальник ACQ-5, бали			
	Gln27Gln (n=3)		Glu27Glu (n=9)	
	до	після	до	після
А	1,2	0,72	1,91	1,85
	(1,07-1,26)	(0,65-0,73)	(1,89-1,97)	(1,74-1,95)
	p=0,013		p=0,109	
Б	0,8	0,65	1,92	1,37
	(0,74-1,15)	(0,60-0,67)	(1,86-1,99)	(1,24-1,48)
	p=0,047		p=0,008	

Було встановлено, що в А групі рівень контролю за опитувальником ACQ-5 у носіїв Gln27Gln генотипу був вищий після корекції лікування, а у носіїв Glu27Glu генотипу даної різниці не

спостерігалось ($p=0,013$ та $p=0,109$ за Вілкоксоном). У носіїв Gln27Gln та Glu27Glu генотипу Б групи відмічався вищий рівень контролю за опитувальником ACQ-5 ($p=0,047$ та $p=0,008$ за Вілкоксоном).

Таблиця 4

Показники об'єму форсованого видиху за 1 сек. після повторної корекції базисного лікування

Показники Групи	ОФВ ₁ , %			
	Gln27Gln (n=3)		Glu27Glu (n=9)	
	до	після	до	після
А	70	82	56	55
	(69-74)	(78,5-86)	(52-58)	(53-60)
	$p=0,048$		$p=0,070$	
Б	66 (61,5-73)	72 (70,5-80)	55 (51-57)	68 (68-70)
	$p=0,033$		$p=0,007$	

5

Було встановлено, що показники ОФВ₁ у носіїв Gln27Gln генотипу А групи були вищими після корекції лікування, а у носіїв Glu27Glu генотипу даної різниці не спостерігалось ($p=0,013$ та $p=0,109$ за Вілкоксоном). У носіїв Gln27Gln та Glu27Glu генотипу Б групи відмічали вищі показники ОФВ₁ ($p=0,033$ та $p=0,007$ за Вілкоксоном).

10

Отже, носії Glu27Glu генотипу Б групи після додавання до високих доз БАТД та іГКС тіотропію броміду мали вищий рівень контролю за опитувальником ACQ-5 та показники ОФВ₁ порівняно із носіями Glu27Glu генотипу А групи, що отримували додатково 24 мкг формотеролу.

15

Технічний результат. Покращується тактика базисного лікування із застосуванням тіотропію броміду у хворих на бронхіальну астму носіїв Glu27Glu генотипу за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂, що підтверджується підвищенням показників ОФВ₁ та рівня контролю за опитувальником ACQ-5.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20

Спосіб лікування бронхіальної астми шляхом дослідження алельного поліморфізму генів, при якому методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначають генотипи гена, за результатами яких прогнозують неконтрольований перебіг бронхіальної астми та визначають ефективність базисного лікування захворювання, який **відрізняється** тим, що як алельний поліморфізм досліджують Gln27Glu поліморфізм гена

25

ADRB₂ і для визначення цих генотипів методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі та за наявності Glu27Glu генотипу за Gln27Glu поліморфізмом гена ADRB₂, асоційованого у хворих із частково контрольованим і неконтрольованим перебігом БА до базисної терапії додатково призначають тіотропіум бромід 18 мкг протягом чотирьох тижнів

30

один раз на добу.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

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