



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/48 (2020.05)

(21)(22) Заявка: 2020110974, 16.03.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.03.2020

Дата регистрации:
08.09.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.03.2020

(45) Опубликовано: 08.09.2020 Бюл. № 25

Адрес для переписки:
450008, г.Уфа, Ленина, 3,
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ, Патентный
отдел

(72) Автор(ы):

Имаева Альфия Камилевна (RU),
Мустафин Тагир Исламнурович (RU),
Галлямова Лилия Фанилевна (RU),
Нургалиева Альфия Хаматьяновна (RU),
Хуснутдинова Эльза Камилевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Башкирский государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2310848 C1, 20.11.2007. RU
2507519 C1, 20.02.2014. RU 2312348 C1,
12.10.2007. UA68121 U, 12.03.2012. ВИННИК
Ю.С. и др. Влияние генетических факторов на
риск возникновения и особенности течения
острого алкогольного панкреатита // Вестник
экспериментальной и клинической хирургии,
2010, Том 3, N4, стр. 317-322. РАПОВКА В.Г.
и др. Роль (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования развития острого панкреатита у жителей Республики Башкортостан

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к медицинской генетике и хирургии, и может быть использовано для прогнозирования развития острого панкреатита. Проводят выделение ДНК из лимфоцитов периферической венозной крови, генотипирование методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции синтеза ДНК. Исследуют полиморфный вариант Arg47His гена алкогольдегидрогеназы ADH1B, полиморфный вариант Glu487Lys гена альдегиддегидрогеназы ALDH2. При

обнаружении у лиц мужского и женского пола русской национальности аллеля Arg гена ADH1B, у лиц женского пола русской, башкирской и татарской национальностей аллеля Lys гена ALDH2 прогнозируют высокий риск развития острого панкреатита. Использование изобретения повышает точность прогноза за счет выявления факторов национальной и тендерной предрасположенности к развитию заболевания. 2 табл., 5 пр.

(56) (продолжение):

полиморфизма генов в развитии вариантов острого и хронического панкреатита // Тихоокеанский медицинский журнал, 20018, N1, стр. 11-15.

R U 2 7 3 1 6 9 3 C 1

R U 2 7 3 1 6 9 3 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/48 (2020.05)

(21)(22) Application: **2020110974, 16.03.2020**

(24) Effective date for property rights:
16.03.2020

Registration date:
08.09.2020

Priority:

(22) Date of filing: **16.03.2020**

(45) Date of publication: **08.09.2020 Bull. № 25**

Mail address:

**450008, g.Ufa, Lenina, 3,
BASHGOSMEDUNIVERSITET, Patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Imaeva Alfiya Kamilevna (RU),
Mustafin Tagir Islamnurovich (RU),
Gallyamova Liliya Fanilevna (RU),
Nurgalieva Alfiya Khamatyanovna (RU),
Khusnutdinova Elza Kamilevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Bashkirskij gosudarstvennyj
meditsinskij universitet" Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTION OF DEVELOPING ACUTE PANCREATITIS IN RESIDENTS OF THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, particularly to medical genetics and surgery, and can be used for prediction of developing acute pancreatitis. DNA is recovered from lymphocytes of peripheral venous blood, genotyping by allele-specific polymerase chain reaction of DNA synthesis. A polymorphous version of Arg47His of ADH1B alcohol dehydrogenase gene, a polymorphous version of Glu487Lys of aldehyde dehydrogenase gene ALDH2 are investigated.

If male and female Russian nationality is detected in allele Arg of ADH1B gene, in females of Russian, Bashkir and Tatar nationalities of Lys allele of ALDH2 gene high risk of developing acute pancreatitis is predicted.

EFFECT: use of the invention improves accuracy of prediction by detecting factors of national and gender predisposition to developing the disease.

1 cl, 2 tbl, 5 ex

Изобретение относится к медицине, в частности к медицинской генетике и хирургии, и может быть использовано для прогнозирования развития острого панкреатита.

Острый панкреатит остается одним из часто встречающихся с неоднозначным прогнозом патологий органов пищеварения [Э.И. Гальперин, Т.Г. Дюжева, К.В. Докучаев. Диагностика и хирургическое лечение панкреонекроза. Хирургия. 2003. №3. С. 55-59]. В настоящее время он занимает третье место в структуре хирургических заболеваний после острого аппендицита и острого холецистита. По данным ВОЗ, отмечается тенденция к увеличению числа больных молодого и среднего возраста острым панкреатитом, что часто связывают с неблагоприятной экологией, жизненными условиями, частотой холелитиаза, ожирением и злоупотреблением алкоголем. На сегодняшний день признаны успешными исследования в области этиологии, патогенеза, клиники, диагностики, методов лечения и профилактики осложнений острого панкреатита. Вместе с тем, летальность при остром панкреатите остается высокой и варьирует от 20 до 80% [В.К. Гостищев, В.А. Глушко. Панкреонекроз и его осложнения, основные принципы хирургической тактики. Хирургия. 2003. №3. С. 50-54].

В клиниках всего мира при остром панкреатите довольно широко используют различные прогностические системы. Среди них наиболее часто применяют системы Ranson, Apache-2, Glasgow. Многие из них достаточно трудоемкие процедуры, так как рассчитаны на получение и анализ результатов лабораторного исследования. Последние удлиняют сроки объективной оценки тяжести заболевания [Тимербулатов В.М., Мустафин Т.И., Тимербулатов М.В., Имаева А.К. Сравнительный анализ балльной оценки тяжести острого панкреатита. Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2008. 2. 79-81]. Актуальными на сегодняшний день являются молекулярно-генетические методы исследования, позволяющие предположить развитие острого панкреатита и его осложнений.

Известен способ прогнозирования острого панкреатита, заключающийся в определении индекса хаотропности липидного состава эритроцитов по формуле:

$$ИХ = \frac{ЛФЛ + СЖК}{СФЛ} \times 10$$

где ИХ - индекс хаотропности, ед., ЛФЛ - содержание лизофосфолипидов от общего содержания липидов, %, СЖК - свободные жирные кислоты от общего содержания липидов, %, СФЛ - суммарные фосфолипиды от общего содержания липидов, %. Значения индекса хаотропности менее 1,7 соответствуют норме, от 1,8 до 2,5 показывают развитие острого отека панкреатита с abortивным течением, от 2,6 до 4,4 - острого деструктивного панкреатита с abortивным течением, от 4,6 и более - острого деструктивного панкреатита с прогрессирующим течением [патент RU 2470309, 2012 г.].

Наиболее близким аналогом изобретения является способ прогнозирования риска возникновения, клинического течения и исхода острого алкогольного панкреатита, заключающийся в том, что проводят исследование генотипа пациента методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции, исследуют гены GSTTМ1 и GSTT1 [Винник Ю.С., Первова О.В., Черданцев Д.В., Титова Н.М. Влияние генетических факторов на риск возникновения и особенности течения острого алкогольного панкреатита. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2010. Том 3. №4. 317-322.].

При анализе данных молекулярно-генетического исследования пациентов и контрольной группы, как известно, учитывают национальный и тендерный состав, что

объясняет различия в генетической предрасположенности к конкретным заболеваниям на различных территориях. Это определяет необходимость выяснения территориальной предрасположенности к острому панкреатиту и, в частности, к деструктивным его формам среди населения крупного региона.

5 Технический результат при использовании изобретения - повышение точности прогноза за счет выявления факторов национальной и тендерной предрасположенности к развитию заболевания.

Предлагаемый способ прогнозирования развития острого панкреатита осуществляется следующим образом. Проводят натощак забор венозной крови пациента, выделяют ДНК по методике фенол-хлороформной экстракции Mathew. С помощью аллель-специфичной полимеразной цепной реакции исследуют полиморфный вариант Arg47His гена алкогольдегидрогеназы ADH1B, полиморфный вариант Glu487Lys гена альдегиддегидрогеназы ALDH2. При обнаружении у лиц мужского и женского пола русской национальности аллеля Arg гена ADH1B, у лиц женского пола русской, башкирской и татарской национальностей аллеля Lys гена ALDH2 прогнозируют высокий риск развития острого панкреатита.

Для осуществления предлагаемого способа проводили молекулярно-генетический анализ образцов ДНК, полученных из 5 мл крови. ДНК выделяли из периферической крови по стандартной методике фенол-хлороформной экстракции по методу Mathew (Mathew, 1984) с обработкой протеиназой К (фирма «Синтол»). В гене ADH1B анализировали наиболее распространенный полиморфный вариант Arg47His; в гене ALDH2 проводили анализ полиморфного варианта Glu487Lys. Детекция генетических вариантов ADH1B (Arg47His) и ALDH2 (Glu487Lys) производилась с помощью аллель-специфичной ПЦР с использованием набора реагентов для анализа однонуклеотидного полиморфизма методом «SNP ЭКСПРЕСС». Для всех исследуемых генов использовался диагностический набор реагентов для анализа олигонуклеотидного полиморфизма фирмы ООО НПФ «Литех». Визуализацию результатов осуществляли электрофоретически в 2%-ом агарозном геле. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с применением программного обеспечения MS Office Excel. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля применялся критерий χ^2 для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йейтса на непрерывность [<http://www.biometrika.tomsk.ru/>]. При обнаружении статистически значимых различий ($p < 0,05$) между исследуемыми выборками проводилась оценка показателя отношения шансов (odds ratio, OR), а также границ его 95%-ого доверительного интервала (CI 95%). Наблюдаемое распределение частот аллелей и генотипов по всем исследованным локусам соответствует ожидаемым из уравнения Харди-Вайнберга.

Было обследовано 498 человек в крупном городе Республики Башкортостан. В группу сравнения вошли 265 здоровых доноров, из них женщин 224, мужчин 41. Исследуемую группу составил 231 больной острым панкреатитом, где мужчин было 128, а женщин 103, средний возраст которых составил $62,4 \pm 11,3$ года. В группе с острым панкреатитом отечная форма имела место у 158, деструктивная - у 73 пациентов. Возраст обследуемых составил в среднем $48,6 \pm 9,6$ лет. Диагноз острого панкреатита устанавливался на основании изучения анамнеза, лабораторных и инструментальных методов исследования, данных объективного обследования. В анамнезе часто значились погрешности в диете, употребление алкоголя, наличие желчнокаменной болезни. Больные жаловались на боли в животе, слабость, сухость во рту, повышение температуры тела. При объективном обследовании выявлялась болезненность при

пальпации в проекции поджелудочной железы. У 20% больных обнаружена различная степень ожирения. В клинических анализах выявлялся лейкоцитоз, гипергликемия, повышение активности панкреатической амилазы и липазы. Больным проводилось ультразвуковое исследование органов брюшной полости, когда часто регистрировалось повышение эхогенности поджелудочной железы, иногда визуализировались фрагменты органа, порой определялось скопление жидкости. Паранепанкреатическая и другие отделы забрюшинной клетчатки отличались неравномерной эхогенностью. По завершении обследования выставлялся диагноз - Острый панкреатит. Тотчас производился забор 5 мл крови у пациентов для молекулярно-генетического исследования.

Исследование полиморфного варианта Arg47His гена ADH1B среди больных ОП выявило следующие результаты (таблица 1). Генотип Arg/Arg выявлен у мужчин и у женщин примерно с одинаковой частотой, в среднем частота встречаемости гомозиготного генотипа Arg/Arg составила 80,43%. Генотип Arg/His обнаруживался у мужчин реже (в 17,97% случаев), чем у женщин (в 19,61% случаев). Генотип His/His выявлялся только у мужчин (1,56% случаев). Если у мужчин, больных ОП, аллель Arg встречался на 89,45%, то у больных женщин - на 90,20% хромосом. Аллель His у женщин с ОП обнаруживалось реже - на 9,80%, чем у больных мужчин - на 10,55% хромосом. Среди больных ОП выявлены этнические различия: генотип Arg/Arg встречался у русских значительно чаще (в 93,18% случаев), чем у татар и башкир (в 79,17% и 52,94% случаев, соответственно). Гетерозиготный генотип Arg/His обнаруживался у русских значительно реже (в 6,82% случаев), чем у татар и башкир (в 19,44% и 47,06% случаев, соответственно). Генотип His/His обнаружен только у башкир (в 1,39% случаев). Аллель Arg у русских наблюдался гораздо чаще (в 96,59% случаев), чем в двух других этнических группах (в 88,89% и 76,47% случаев, соответственно). Аллель His, напротив, у русских встречался значительно реже (в 3,41% случаев), чем у татар и башкир (в 11,11% и 23,53% случаев, соответственно).

Ассоциативный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса Arg47His гена ADH1B между группами больных ОП и здоровых доноров из РБ выявил статистически значимые различия в зависимости от этнической принадлежности испытуемых. Аллель Arg гена ADH1B был маркером повышенного риска развития ОП для русских ($\chi^2=4,68$; $p=0,031$; OR=3,27; 95%CI 1,19-8,97). А аллель His гена ADH1B в свою очередь служит маркерами пониженного риска развития ОП для данной этнической группы ($\chi^2=4,68$; $p=0,031$; OR=0,31; 95%CI 0,11-0,84).

Таким образом, выявление у лиц русской национальности аллеля Arg гена ADH1B свидетельствует о повышенном риске развития острого панкреатита.

Анализ полиморфного варианта Glu487Lys гена ALDH2 также выявил определенные закономерности (таблица 2). У больных ОП генотип Glu/Glu обнаруживался у мужчин чаще (в 99,22% случаев), чем у женщин (в 97,06% случаев), причем генотип Glu/Lys, напротив, чаще выявлялся у женщин (в 2,94% случаев), чем у мужчин (в 0,78% случаев), при этом генотип Lys/Lys не встречался ни у мужчин, ни у женщин. Если у мужчин, больных ОП, аллель Glu встречался на 99,6%, то у больных женщин - на 98,53% хромосом. Аллель Lys у женщин с ОП обнаруживался чаще - на 1,47% хромосом, чем у больных мужчин - на 0,4% хромосом. Среди больных ОП выявлены также этнические различия: генотип Glu/Glu у русских и башкир встречался в 100,0% случаев, а у татар в 98,6% случаев. Генотип Glu/Lys выявлен только у татар, частота его встречаемости составила 1,4%. Носительство генотипа Lys/Lys не обнаружено ни в одной из трех этносов. Аллель Glu у русских и башкир, больных ОП, наблюдался на 100,00%, у татар

- на 99,3% хромосом. Аллель Lys, обнаружен только у татар с ОП (на 0,7% хромосом).

Ассоциативный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта Glu487Lys гена ALDH2 между группами больных ОП и здоровых доноров из РБ указал, что для женщин носительство аллеля Lys сопряжено с повышенным риском развития воспаления поджелудочной железы, однако различия не достигают уровня статистической значимости ($p > 0,05$). Таким образом, обнаружение у больных женского пола носительства аллеля Lys гена ALDH2 определяет тенденцию к повышенному риску развития острого панкреатита.

Сущность изобретения поясняется следующими клиническими примерами.

Пример 1.

Больной З., 42 года, мужчина, русский, доставлен в клинику г. Уфа по линии скорой медицинской помощи с диагнозом - острый панкреатит. При поступлении предъявлял жалобы на боли в животе, тошноту, рвоту, слабость, сухость во рту. Больным считает себя около трех дней, как оказалось, после трехдневного злоупотребления алкоголем. Объективно: состояние средней тяжести, положение активное, язык суховат, обложен белым налетом. В легких ясный легочный звук, частота дыхания 17 в мин. Тоны сердца ритмичные, ясные, частота сердечных сокращений 85 уд/мин, АД 125/80 мм.рт.ст. Живот правильной формы, вздут, резко болезненный в эпи- и мезогастрии. Симптомы Воскресенского, Мейо-Робсона, Керте положительные. Перитонеальных знаков нет. На УЗИ органов брюшной полости: поджелудочная железа визуализировалась фрагментами, контуры органа были неровными, экзогенность повышенной. Паренхима печени с признаками жировой инфильтрации и увеличением размеров органа. Формирующийся камень желчного пузыря. В общем анализе крови: лейкоцитоз - $17,9 \times 10^9$ /л, гемоглобин 160 г/л, эритроциты $4,9 \times 10^9$ /л. Показатели биохимического анализа: общий белок 60 г/л, общий билирубин 33,7 ммоль/л, прямой билирубин 8,3 ммоль/л, сахар крови 8,6 ммоль/л, АлАт-42 ед/л, АсАт-55 ед/л, амилаза 166 ед/л. При генотипировании выявлено носительство аллеля Arg гена ADH1B, что служит у пациентов русской национальности фактором высокого риска для развития острого панкреатита. Несмотря на проводимую интенсивную терапию, состояние больного прогрессивно ухудшалось, усилились боли в животе, решено провести диагностическую лапароскопию. В ходе операции выявлен стекловидный отек желудочно-ободочной связки, из полости малой сальниковой сумки элиминировано 50 мл мутной жидкости. Поджелудочная железа отечная, полнокровная, с множественными очагами жирового некроза во всех отделах органа. Диагностирован субтотальный жировой панкреонекроз. В послеоперационном периоде проводилась традиционная терапия, включающая антибактериальную, спазмолитическую, антисекреторную, коррегировалась гемодинамика и водно-электролитный баланс. Послеоперационный период протекал без осложнений, больной выписан на 28 сутки с выздоровлением.

Пример 2.

Больная Е., 57 лет, женщина, русская, поступила в клинику г. Уфа по направлению поликлиники с диагнозом желчнокаменная болезнь. Жалобы предъявляла на боли в правом подреберье, сухость во рту, желтушность склер. Данные жалобы усиливались после приема алкоголя и жирной пищи. В крови выявлено увеличение содержания лейкоцитов до $12,5 \times 10^9$ /л, гемоглобин 110 г/л, эритроциты $4,1 \times 10^9$ /л. Биохимический анализ крови выявил снижение уровня общего белка до 48 г/л, повышение концентрации общего билирубина - 68,8 ммоль/л, прямого билирубина 16,7 ммоль/л, сахар крови - 5,6 ммоль/л, АлАт-58 ед/л, АсАт-77 ед/л, амилаза 240 ед/л. При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости следующие изменения: в паренхиме печени

выявлены признаки жировой инфильтрации, желчный пузырь увеличен, стенки его утолщены, в просвете определяются конкременты; поджелудочная железа увеличена, экзогенность повышена, повышение экзогенности парапанкреатической клетчатки. Был произведен забор крови в количестве 5 мл для молекулярно-генетического исследования.

5 При этом выявлено носительство аллеля Arg гена ADH1B. Для пациентов русской национальности вне зависимости от пола данное обстоятельство является фактором высокого риска для развития острого панкреатита. В хирургическом отделении стационара была выполнена операция -лапароскопическая холецистэктомия. Удален желчный пузырь с множественными конкрементами. В послеоперационном периоде

10 состояние больной с ухудшением. На УЗИ ОБП выявлена жидкость в полости малого сальника, повышенная экзогенность поджелудочной железы. Принято решение о проведении лапаротомии с ревизией брюшной полости и полости малого сальника. При вскрытии полости малого сальника эвакуировано 50 мл мутного экссудата, на поверхности поджелудочной железы и в толще парапанкреатической клетчатки

15 выявлены множественные очаги жирового некроза. Случай расценен как очаговый панкреонекроз, произведена санация полости малого сальника и брюшной полости. В последующем состояние больной с улучшением, больная выписана на 23-й день с картиной выздоровления.

Пример 3.

20 Больная И., 34 лет, женщина, татарка, поступила в клинику г. Уфа по направлению скорой медицинской помощи. Жалобы предъявляла на слабость, сухость во рту, боль в области живота и подреберья. Появление жалоб связывает с употреблением алкоголя в течение 1 месяца. Самостоятельно принимала спазмолитики, положительного эффекта нет. При поступлении состояние средней тяжести, сознание спутанное, нормостеник,

25 рост 171 см, вес 86 кг. При осмотре кожные покровы бледные, сухие, дыхание при аускультации везикулярное, с частотой 26 в минуту. Сердцебиение ритмичное, тоны сердца приглушены, с ЧСС 110 уд/мин. Живот при пальпации болезненный, напряжен, вздут, симметричен. Со слов больной мочеиспускание не нарушено, стул отсутствует последних 3 дня. Симптомы Воскресенского, Мейо-Робсона и Керне положительные,

30 перитонеальные знаки отрицательные. Генотипирование выявило носительство аллеля Lys гена ALDH2, что является фактором повышенного риска к развитию острого панкреатита у лиц женского пола. При поступлении проведено ультразвуковое исследование органов брюшной полости, выявлено увеличение размеров печени с повышением ее экзогенности, поджелудочная железа не визуализируется, в брюшной

35 полости выявлено наличие свободной жидкости. Госпитализирована в хирургическое отделение, где проводилась интенсивная детоксикационная, спазмолитическая, обезболивающая и антиферментная терапия. Однако состояние больной ухудшилось, отмечалось повышение температуры тела до 38°C. В анализах крови: лейкоциты- $4,8 \times 10^9$

40 г/л, гемоглобин - 785 г/л, тромбоциты - 316×10^9 г/л, глюкоза крови 6,3 ммоль/л, общий белок 47 г/л, общий билирубин 3,9 мкмоль/л, АлАт 32 ЕД/л, АсАт 47 ЕД/л. В показателях коагулограммы фибриноген 4,5 г/л, АЧТВ 37,0 с. Повторное УЗИ ОБП выявило скопление жидкости в брюшной полости, паренхиматозные изменения в печени по типу жирового гепатоза, признаки острого панкреатита с развитием некроза в области тела и хвоста, по Baltazar стадия E. Принято решение о срочном оперативном лечении.

45 Выполнена верхне-срединная лапаротомия, вскрытие, некрэктомия, санация и дренирование сальниковой сумки, дренирование забрюшинного пространства слева и брюшной полости. Выявлен панкреонекроз с вовлечением тела и хвоста поджелудочной железы, секвестры в полости сальника. На компьютерной томограмме органов брюшной

полости выявили увеличение плотности парапанкреатической и забрюшинной клетчатки с формированием полости (абсцесс). В дальнейшем, на фоне интенсивной терапии, регулярной санации и дренирования очагов инфекции состояние больной с отрицательной динамикой. Развились осложнения панкреонекроза в виде массивной забрюшинной флегмоны, арозивного кровотечения. Смерть больной наступила на 35-й день от геморрагического шока вследствие кровотечения из сосудов ложа поджелудочной железы. При этом сохранялась возможность предвидения тяжелой формы острого панкреатита и его осложнений в случае выполнения молекулярно-генетических исследований с выявлением носительства аллеля Lys гена ALDH2.

10 Пример 4.

Больная А., 49 лет, русская, поступила в клинику г. Уфа с диагнозом: Постхолецистэктомический синдром, обострение панкреатита. Предъявляла жалобы на боли в области живота и правом подреберье, сухость во рту, тошноту, общую слабость. Данные жалобы появились за 8 часов до поступления, связаны с погрешностями в диете, а именно жирная пища. Приступы острого панкреатита отмечала часто, после выполнения холецистэктомии 15 лет назад. При поступлении состояние средней тяжести, выраженные боли в области живота при пальпации, положение вынужденное, полусогнутое, склеры желтушные. Госпитализация в отделение абдоминальной хирургии, где проводилось дальнейшее обследование и интенсивное лечение. Произведен забор крови на молекулярно-генетическое исследование. Генотипирование выявило носительство аллеля Lys гена ALDH2, что для женщин является фактором повышенного риска к развитию острого панкреатита. На ФЭГДС выявлены эндоскопические признаки панкреатита, поверхностный гастрит. При УЗИ ОБП выявлена повышенная эхогенность печени, желчный пузырь отсутствует. Контуры поджелудочной железы нечеткие, эхогенность повышена, структура неоднородная. Признаки наличия свободной жидкости в брюшной полости. В общем анализе крови выявлено увеличение содержания лейкоцитов до $10,1 \times 10^9$ /л, гемоглобин 125 г/л, эритроциты $4,4 \times 10^9$ /л. В биохимическом анализе крови определили повышение уровня общего билирубина - 71,2 ммоль/л, снижение концентрации общего белка до 38 г/л, сахар крови - 6,6 ммоль/л, АлАт-64 ед/л, АсАт-85 ед/л, амилаза 187 ед/л. При исследовании общего анализа мочи - цвета желтый, прозрачная, рН-5,0, единичные лейкоциты в поле зрения, эритроциты - 1-2 в поле зрения. Проводилась интенсивная терапия, включающая регидратацию, коррекцию электролитных нарушений, обезболивание и снижение панкреатической секреции. С целью предупреждения развития гнойных осложнений больной проводилась также антибактериальная терапия. В ходе лечения отмечено улучшение состояния. Повторное ультразвуковое исследование органов брюшной полости показало нормализацию эхогенности поджелудочной железы и рассасывание экссудата. Больная через 18 дней выписана с выздоровлением. У больной, перенесшей в прошлом холецистэктомию, при более раннем выполнении молекулярно-генетического исследования имелась возможность предвидеть частое развитие эпизодов острого панкреатита. Коррекция диеты с исключением жирной и острой пищи при наличии повышенной генетической предрасположенности позволила бы не допускать развития отечной формы панкреатита у данной больной.

45 Пример 5.

Больная Ф., 63 лет, башкирка, поступила в клинику г. Уфа по линии скорой медицинской помощи. Обратилась за медицинской помощью вследствие появления рвоты, головокружения, одышки, тошноты. Также жалобы предъявляла на сухость во рту. Данные жалоба появились за три дня до поступления в стационар, почти сразу

после возвращения из Кипра, где отмечала эпизоды нарушения диеты. Случай был расценен как манифест сахарного диабета. При поступлении состояние больной тяжелое, сознание - сопор, положение - лежа на каталке. Уровень артериального давления - 100/80 мм.рт.ст., ЧСС - 120 уд/мин, частота дыхания - 30 в мин. Определен уровень глюкозы в крови, он составил 20,8 ммоль/л. С диагнозом сахарный диабет больная госпитализирована в эндокринологическое отделение. Проведено обследование: в общем анализе крови выявлено снижение уровня гемоглобина до 98 г/л, гематокрита до 27,9%, повышение количества лейкоцитов до $16,6 \times 10^9$ /л. Результаты биохимического исследования крови: общий белок 53 г/л, альбумин 26 г/л, билирубин 190-70 мкмоль/л, АлАт-356 ед/л, АсАт-221 ед/л, ЛДГ - 1249 ед/л, щелочная фосфатаза - 1142 ед/л. При исследовании коагулограммы обнаружено повышение уровня фибриногена до 6,0 г/л, ПТИ 104%, МНО- 1,25, РФМК - 21. Моча желтого цвета, мутная, лейкоциты - 3-4 в полу зрения, эритроциты свежие - 2-3 в поле зрения, фосфатыф 4+, альфа-амилаза 65. Было взято 5 мл на молекулярно-генетическое исследование. Генотипирование выявило носительство аллеля Lys гена ALDH2. В отделении состояние больной прогрессивно ухудшалось. Спустя 6 дней появились признаки перитонита. Решено провести компьютерную томографию органов брюшной полости, где выявили увеличение размеров и нечеткость контуров поджелудочной железы, неравномерное уплотнение парапанкреатической клетчатки, преимущественно в области головки, расширение просвета панкреатического протока. Произведена лапаротомия. Из брюшной полости эвакуировано около 1 л серозного экссудата, в ткани большого сальника и брыжейки толстой кишки выявлены множественные очаги жирового некроза. Желчный пузырь напряжен, стенки его отечные. Выполнена холецистостомия, абдоминализация поджелудочной железы, холецистостомия, санация и дренирование брюшной полости. В послеоперационном периоде состояние без улучшения. Нарастали признаки интоксикации, выполнена повторная лапаротомия. Из полости малого сальника извлечено до 30 мл мутного экссудата, единичные секвестры с головки поджелудочной железы. При нарастающих явлениях интоксикации, через три дня после операции у больной возникла остановка сердечной деятельности по типу асистолии. Реанимационные мероприятия в течение 30 минут без эффекта, констатирована биологическая смерть. Таким образом, данный пример демонстрирует важность раннего определения молекулярно-генетической предрасположенности у лиц женского пола носительства аллеля Lys в гене ALDH2.

Приведенные примеры демонстрируют прогностическую и диагностическую значимость предлагаемого способа. Способ позволяет прогнозировать риск развития острого панкреатита до его клинических проявлений, определить среди больных панкреатитом группу с риском развития деструктивных форм заболевания, что в последующем будет использовано в предотвращении летальных осложнений и случаев неблагоприятного исхода острого деструктивного панкреатита.

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса Arg47His гена *ADH1B* у больных ОП и здоровых доноров

Выборка		Генотипы			Аллели		N
		Arg/Arg	Arg/His	His/His	Arg	His	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Больные ОП	Русские	82 (93,2)	6 (6,9)	0 (0,0)	170 (96,6)	6 (3,4)	88
	Татары	57 (79,2)	14 (19,4)	1 (1,4)	128 (88,9)	16 (11,1)	72
	Башкиры	9 (52,9)	8 (47,1)	0 (0)	26 (75,5)	8 (23,5)	17
	Мужчины	103 (80,5)	23 (18,6)	2 (1,6)	229 (89,5)	27 (10,6)	128
	Женщины	82 (8,4)	20 (19,6)	0 (0)	184 (90,2)	20 (9,8)	102
Контроль	Русские	46 (79,3)	12 (20,7)	0 (0,0)	104	12 (10,3)	58
	Татары	94 (70,7)	38 (28,6)	1 (0,7)	226	40 (15,0)	133
	Башкиры	38 (66,7)	18 (31,6)	1 (1,7)	94	20 (17,5)	57
	Мужчины	32 (78,1)	8 (19,5)	1 (19,5)	72	10 (12,2)	41
	Женщины	157 (70,1)	66 (29,5)	1 (0,5)	380	68 (15,2)	244

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса Glu487Lys гена *ALDH2* у больных ОП и здоровых доноров

Выборка		Генотипы			Аллели		N
		Glu/Glu	Glu/Lys	Lys/L	Glu	Lys	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Больные ОП	Русские	88 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	175 (99,1)	0 (0,0)	88
	Татары	71 (98,6)	1 (1,4)	0 (0,0)	143 (100,0)	1 (0,7)	72
	Башкиры	17 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34 (99,3)	0 (0,0)	17
	Мужчины	127 (99,2)	1 (0,8)	0 (0,0)	255(99,6)	1 (0,4)	128
	Женщины	99 (97,1)	3 (2,9)	0 (0,0)	201 (98,5)	3 (1,5)	102
Контроль	Русские	58 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	116 (100,0)	0 (0,0)	58
	Татары	133 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	266 (100,0)	0 (0,0)	133
	Башкиры	57 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	114 (100,0)	0 (0,0)	57
	Мужчины	39 (95,1)	2 (4,9)	0 (0,0)	80 (97,6)	2 (2,4)	41
	Женщины	224 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	448 (100,0)	0 (0,0)	224

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования развития острого панкреатита у жителей Республики Башкортостан, включающий выделение ДНК из лимфоцитов периферической венозной

крови, генотипирование методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции синтеза ДНК, отличающийся тем, что исследуют полиморфный вариант Arg47His гена алкогольдегидрогеназы ADH1B, полиморфный вариант Glu487Lys гена альдегиддегидрогеназы ALDH2 и при обнаружении у лиц мужского и женского пола русской национальности аллеля Arg гена ADH1B, у лиц женского пола русской, башкирской и татарской национальностей аллеля Lys гена ALDH2 прогнозируют высокий риск развития острого панкреатита.

10

15

20

25

30

35

40

45