



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: не действует (последнее изменение статуса: 16.02.2022)
Пошлина: учтена за 6 год с 16.08.2017 по 15.08.2018. Возможность восстановления: нет.

(21)(22) Заявка: [2012134940/15](#), 15.08.2012(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.08.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 15.08.2012

(43) Дата публикации заявки: 20.02.2014 Бюл. № 5

(45) Опубликовано: 20.07.2014 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2370773 C1, 20.10.2009. US 2011184044 A1, 28.07.2011. ВОТТЕМА R.W.B. et al. Interleukin 13, CD14, pet and tobacco smoke influence atopy in three Dutch cohorts: the allergenic study. Eur Respir J. 2008 Sep;32(3):593-602. Epub 2008 Apr 16 [Найдено 04.05.2013] [он-лайн], Найдено из Интернет: URL:

<http://erj.ersjournals.com/content/32/3/593.full.pdf+html>. MA Y. Interleukin-18 promoter polymorphism and asthma risk: a meta-analysis. Mol Biol Rep. 2012 Feb;39(2):1371-1376. Epub 2011 May 25

Адрес для переписки:

634050, г.Томск, Московский тракт, 2, СибГМУ
отдел ИС и В, Н.Г. Зубаревой

(72) Автор(ы):

Огородова Людмила Михайловна (RU),
Федосенко Сергей Вячеславович (RU),
Селиванова Полина Александровна (RU),
Кириллова Наталья Александровна (RU),
Куликов Евгений Сергеевич (RU),
Фрейдин Максим Борисович (RU),
Кремер Елена Эдуардовна (RU),
Иккерт Ольга Павловна (RU),
Салтыкова Ирина Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
профессионального образования
"Сибирский государственный медицинский
университет" Министерства
здравоохранения и социального развития
Российской Федерации (ГБОУ ВПО
СибГМУ Минздравсоцразвития России) (RU)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины и предназначено для прогнозирования тяжести течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). При учете количества курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев, проводят стандартный тест с 6-минутной ходьбой с оценкой расстояния, пройденного пациентом за 6 минут, частоты сердечных сокращений до проведения теста с ходьбой и уровня сатурации кислорода после выполнения теста с ходьбой, осуществляют забор биоматериала с задней стенки глотки методом орофарингеальных мазков с последующим выделением ДНК, проведением секвенирования и, при обнаружении протеобактерий, осуществляют перекодирование полученных данных в качественную переменную, выделяют геномную ДНК из крови пациентов с ХОБЛ с последующим проведением генотипирования по генам CD14 rs2569190 и IL18 rs1946518, предварительно перекодируют данные генотипирования в цифровые значения, рассчитывая дискриминантную функцию, и осуществляют прогноз. Предлагаемый способ обладает повышенной точностью, информативностью и чувствительностью и позволяет эффективно прогнозировать тяжесть течения ХОБЛ, а именно дифференцировать тяжелое и очень тяжелое течения заболевания от ХОБЛ средней и легкой степени тяжести. 1 ил., 4 табл., 2 пр.

Изобретение относится к области медицины, а именно к пульмонологии, и может быть использовано для прогнозирования тяжести течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ).

Не смотря на то, что изучению ХОБЛ посвящены многие клинические исследования проблема рациональной фармакотерапии хронической обструктивной болезни легких остается нерешенной. Необходимость создания нового способа прогнозирования тяжести течения заболевания у больных ХОБЛ связана с гетерогенностью скорости прогрессирования тяжести заболевания у различных больных, различием эффективности у них существующих стандартных фармакотерапевтических подходов и высокими показателями потребления ресурсов

здравоохранения для ведения пациентов с ХОБЛ. Кроме того, ХОБЛ, ассоциированная с частыми обострениями и быстрым прогрессированием, характеризуется ранней инвалидизацией больных и высоким риском смерти, что позволяет отнести проблему персонализированной терапии ХОБЛ к одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Необходимо подчеркнуть, что, в виду недостатка фундаментальных знаний, классификация ХОБЛ основывается на клинических признаках, а не на определенных патофизиологических либо генетических механизмах.

В настоящее время актуальным является изучение состава микроорганизмов орофарингеальных мазков и определение генетического полиморфизма у больных ХОБЛ для комплексного подхода к определению и предсказанию тяжести течения заболевания с перспективой персонализации терапии хронической обструктивной болезни легких [1].

В настоящее время известно несколько способов прогнозирования тяжести течения ХОБЛ.

Так, коллектив авторов из ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН предложил способ прогнозирования стабильного течения хронической обструктивной болезни легких на основании измерения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) в л, определения изменения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) в % от исходной величины после бронхопровокационной фармакологической пробы с 0,1% раствором ацетилхолина хлорида и решения дискриминантного уравнения: $D = -2,94 \cdot \text{ОФВ}_1 + 1,34 \cdot \text{ОФВ}_1$. При величине D больше -19,34 прогнозируют стабильное течение хронической обструктивной болезни легких (RU №2262889 опублик. 27.10.2005 г.) [2]. В свете исследований последних лет очевидно, что данный способ недостаточно информативен, так как не учитывает тяжесть клинического состояния пациента, частоту обострений заболевания, генетические факторы и вклад микробиома в прогрессирование болезни.

Коллектив авторов из Сургутского государственного университета предложил способ, позволяющий сделать оценку степени тяжести бронхиальной астмы за счет сопоставления показателей бронхиальной проходимости и обратимости бронхиальной обструкции при их мониторинге. Оценка проходимости бронхиального дерева проводили по данным пикфлоуметрической кривой; оценку бронхиальной обструкции - путем измерения пиковой скорости выдоха (ПСВ) до употребления бронхолитика и через 30 минут после употребления бронхолитика. Затем полученные значения величин заносили в формулу, по которой вычисляли индекс. Если индекс достигал порогового значения, диагностировали тяжелую бронхиальную астму (RU №2348352, опублик. 20.05.2008 г.) [3]. Предложенный авторами способ имеет ограниченную область применения и неинформативен в отношении прогноза тяжести течения хронической обструктивной болезни легких.

Коллектив авторов из Военно-медицинского института Федеральной пограничной службы Российской Федерации при Нижегородской государственной медицинской академии предложил способ

прогнозирования бронхиальной обструкции при хроническом бронхите, основанный на комплексном исследовании концентрации интерлейкина-1 (ИЛ-1) в крови, слюне, бронхоальвеолярной жидкости. Определяют коэффициент распределения (КР) для (ИЛ-1) как отношение количества ИЛ-1 крови к количеству ИЛ-1 слюны и выясняют его при увеличении содержания ИЛ-1 более чем в 10 раз в крови, в 2 раза в слюне, неизменном уровне бронхоальвеолярного интерлейкина-1. При КР для ИЛ-1 более 1,0 прогнозируют бронхиальную обструкцию (RU №2245550 опублик. 27.01.2005 г.) [4]. Данный способ более подходит для выявления бронхиальной обструкции на ранних стадиях ХОБЛ, но неинформативен для оценки и прогнозирования тяжести течения болезни.

Наиболее близким к предлагаемому, является способ прогноза прогрессирования ХОБЛ, предложенный коллективом авторов из ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН. Способ заключается в проведении иммунологического исследования с определением способности иммунокомпетентных клеток вырабатывать трансформирующий ростовой фактор β_1 (TGF- β_1) и фактор роста фибробластов (bFGF). При спонтанном уровне $\text{TGF-}\beta_1 \geq 1122,71 \pm 20,6$ пг/мл и $\text{bFGF} \leq 7,2 \pm 0,08$ пг/мл прогнозируют благоприятное течение ХОБЛ со снижением ОФВ₁ не более 50 мл в год, а при спонтанном уровне $\text{TGF-}\beta_1 \leq 1025,5 \pm 11,7$ пг/мл и $\text{bFGF} 40,1 \pm 0,9$ пг/мл прогнозируют неблагоприятное течение ХОБЛ со снижением ОФВ₁ более чем на 50 мл в год (RU №2370773 опублик. 23.06.2008 г.) [5]. Принимая во внимание современные научные данные, следует заключить, что метод недостаточно информативен, так как не учитывает роль микробиотических сообществ, населяющих дыхательные пути пациента с ХОБЛ и особенности генетического полиморфизма в развитии обострений ХОБЛ и ее прогрессировании.

Новая техническая задача-повышение точности, информативности и

чувствительности способа.

Для решения поставленной задачи в способе прогнозирования тяжести течения хронической обструктивной болезни легких, включающем исследование венозной крови пациента, дополнительно учитывают количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев, проводят стандартный тест с 6-минутной ходьбой с оценкой расстояния, пройденного пациентом за 6 минут, частоты сердечных сокращений до проведения теста с ходьбой и уровня сатурации кислорода после выполнения теста с ходьбой, определяют качественный и количественный состав микробиотического сообщества задней стенки глотки методом орофарингеальных мазков с последующим выделением ДНК, проведением секвенирования и перекодированием полученных данных в качественную переменную по принципу присвоения цифрового значения 1 при наличии свыше 50 колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий, на 1 см² задней стенки глотки, а в противном случае присваивая цифровое значение 0, выделяют геномную ДНК из венозной крови пациентов с ХОБЛ методом фенол-хлороформной экстракции с последующим проведением генотипирования по полиморфизмам генов CD14 rs2569190, IL18 rs1946518, предварительно перекодируют данные генотипирования в цифровые значения по гену CD14 rs2569190, присваивая 0 генотипу TT, 1 - генотипу TC и 2 - генотипу CC, а по гену IL18 rs1946518, присваивая 0 генотипу AA, 1 - генотипу AC и 2 - генотипу CC, и определяют вероятность отнесения индивида к группе больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения или к группам больных ХОБЛ легкой и средней степени тяжести, рассчитывая дискриминантную функцию Ф1 и Ф2:

$$\Phi 1 = -0.0349 * \text{Путь} + 1.970188 * \text{Микро} - 0.20922 * \text{ЧССпре} + 0.531974 * \text{TLR4} - 0.49016 * \text{Сатурация кислорода пост} + 0.257794 * \text{IL18B} - 0.14965 * \text{Антибиотики};$$

где

-0.0349; 1.970188; 0.20922; 0.531974; 0.49016; 0.257794; 0.14965 - численные значения являются коэффициентами;

Путь - пройденное пациентом расстояние (м) за 6 минут в стандартном тесте с 6-минутной ходьбой;

Микро - численное значение колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий (в основном *Haemophilus*) на 1 см² задней стенки глотки;

ЧССпре - частота сердечных сокращений до проведения теста с 6-минутной ходьбой;

TLR4 и IL18B - генотипы;

Сатурация кислорода пост - сатурация кислорода после проведения теста с 6-минутной ходьбой;

Антибиотики - количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев;

далее для отнесения пациента в определенную прогностическую группу оценивают значение Ф1, и при значении функции >-67,826, у пациента прогнозируют ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения;

а при значении ≤-67.826, с целью уточнения распределения используют функцию Ф2, которую рассчитывают по формуле:

$$\Phi 2 = 0.001983 * \text{Путь} - 0.574 * \text{Микро} - 0.10173 * \text{ЧССпре} + 0.748163 * \text{TLR4} - 0.2893 * \text{Сатурация кислорода пост} + 1.16181 * \text{IL18B} + 1.039555 * \text{Антибиотики};$$

где

0.001983; 0.574; 0.10173; 0.748163; 0.2893; 1.16181; 1.039555 - численные значения являются коэффициентами;

Путь - пройденное пациентом расстояние (м) за 6 минут в стандартном тесте с 6-минутной ходьбой;

Микро - численное значение колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий (в основном *Haemophilus*) на 1 см² задней стенки глотки;

ЧССпре - частота сердечных сокращений до проведения теста с 6-минутной ходьбой;

TLR4 и IL18B - генотипы;

Сатурация кислорода пост - сатурация кислорода после проведения теста с 6-минутной ходьбой;

Антибиотики - количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев;

и при значении функции ≤-31.5079, прогнозируют ХОБЛ средней степени тяжести;

- при значении функции >-31.5079, прогнозируют ХОБЛ легкой степени тяжести.

Способ осуществляют следующим образом

Проводят исследование венозной крови пациента, также учитывают количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев, проводят стандартный тест с 6-минутной ходьбой с оценкой расстояния, пройденного пациентом за 6 минут, частоты сердечных сокращений до проведения теста с ходьбой и уровня сатурации кислорода после выполнения теста с ходьбой,

определяют качественный и количественный состав микробиотического сообщества задней стенки глотки методом орофарингеальных мазков с последующим выделением ДНК, проведением секвенирования и перекодированием полученных данных в качественную переменную по принципу присвоения цифрового значения 1 при наличии свыше 50 колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий на 1 см² задней стенки глотки, а в противном случае присваивая цифровое значение 0, выделяют геномную ДНК из венозной крови пациентов с ХОБЛ методом фенол-хлороформной экстракции с последующим проведением генотипирования по полиморфизмам генов CD 14 rs2569190, IL18 rs1946518, предварительно перекодируют данные генотипирования в цифровые значения по гену CD14 rs2569190, присваивая 0 генотипу ТТ, 1 - генотипу ТС и 2 - генотипу СС, а по гену IL18 rs1946518, присваивая 0 генотипу АА, 1 - генотипу АС и 2 - генотипу СС, и определяют вероятность отнесения индивида к группе больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения или к группам больных ХОБЛ легкой и средней степени тяжести, рассчитывая дискриминантную функцию Ф1 и Ф2:

$$\Phi 1 = -0.0349 * \text{Путь} + 1.970188 * \text{Микро} - 0.20922 * \text{ЧССпре} + 0.531974 * \text{CD14} - 0.49016 * \text{Сатурация кислорода пост} + 0.257794 * \text{IL18В} - 0.14965 * \text{Антибиотики};$$

где

-0.0349; 1.970188; 0.20922; 0.531974; 0.49016; 0.257794; 0.14965 - численные значения являются коэффициентами;

Путь - пройденное пациентом расстояние (м) за 6 минут в стандартном тесте с 6-минутной ходьбой;

Микро - численное значение колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий (в основном *Haemophilus*) на 1 см² задней стенки глотки;

ЧССпре - частота сердечных сокращений до проведения теста с 6-минутной ходьбой;

CD14 и IL18В - генотипы;

Сатурация кислорода пост - сатурация кислорода после проведения теста с 6-минутной ходьбой;

Антибиотики - количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев;

далее для отнесения пациента в определенную прогностическую группу оценивают значение Ф1 и,

- если значение функции ≤ -70.4332 , пациента относят к группе больных ХОБЛ легкого течения;

- если значение функции > -70.4332 и ≤ -67.826 , пациента относят к группе больных ХОБЛ средней степени тяжести;

- если значение функции > -67.826 , пациента относят к группе больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения;

далее, при отнесении пациента к группе ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения после расчета первой дискриминантной функции дальнейший анализ прекращают, а в случае распределения больного в группы ХОБЛ легкой или средней степени тяжести с целью уточнения распределения, повторяют процедуру расчета для второй функции Ф2 по формуле

$$\Phi 2 = 0.001983 * \text{Путь} - 0.574 * \text{Микро} - 0.10173 * \text{ЧССпре} + 0.748163 * \text{CD14} - 0.2893 * \text{Сатурация кислорода пост} + 1.16181 * \text{IL18В} + 1.039555 * \text{Антибиотики};$$

где

0.001983; 0.574; 0.10173; 0.748163; 0.2893; 1.16181; 1.039555 - численные значения являются коэффициентами;

Путь - пройденное пациентом расстояние (м) за 6 минут в стандартном тесте с 6-минутной ходьбой;

Микро - численное значение колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий на 1 см² задней стенки глотки;

ЧССпре - частота сердечных сокращений до проведения теста с 6-минутной ходьбой;

CD14 и IL18В - генотипы;

Сатурация кислорода пост - сатурация кислорода после проведения теста с 6-минутной ходьбой;

Антибиотики - количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев;

И при значении функции ≤ -31.5079 , прогнозируют ХОБЛ средней степени тяжести;

- при значении функции > -31.5079 , прогнозируют ХОБЛ легкой степени тяжести.

В научно-технической литературе отсутствуют данные об исследованиях, в результате которых были бы установлены взаимосвязи между тяжестью течения ХОБЛ и особенностями микробиома задней стенки глотки в сочетании с данными генотипирования пациентов по полиморфным вариантам генов CD14 и IL18В. Также, не обнаружено предлагаемой совокупности признаков для дифференциальной диагностики ХОБЛ. Таким образом, изобретение соответствует критерию «новизна»

и «существенные отличия».

Способ апробирован в клинических условиях, таким образом, соответствует критерию «промышленная применимость».

Бактериальная контаминация, как фактор провокации обострений ХОБЛ, рассматривается достаточно давно. В нормальных условиях мукоцилиарный клиренс и активный пул альвеолярных макрофагов вместе с секретируемыми IgA, муцином и другими факторами противомикробной защиты являются эффективной оборонительной системой нижних дыхательных путей. На фоне хронических заболеваний с персистирующим воспалением (ХОБЛ) некоторые из этих линий обороны не функционируют, способствуя развитию и поддержанию бактериальной обсемененности в респираторном тракте. Мукостаз и нарушение дренажной функции бронхов на фоне локального и системного иммунодефицита создают благоприятные условия для постоянной колонизации бронхиального дерева микроорганизмами [6]. Дыхательные пути у больных ХОБЛ (особенно тяжелого и очень тяжелого течения) часто колонизированы бактериями. Наиболее часто встречается обсемененность *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus spp.*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, на поздних стадиях заболевания - *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*[7].

Обострение инфекционного процесса в респираторной системе является важным фактором, усугубляющим бронхиальную обструкцию, ведущим к нарастанию всех признаков болезни и ее дальнейшему прогрессированию. Именно трансформация бактериальной контаминации в инфекционный процесс является наиболее частой причиной развития обострений ХОБЛ [8].

Безусловно, каждое инфекционно зависимое обострение ХОБЛ ухудшает прогноз болезни. С клинической точки зрения все обострения следует рассматривать как фактор прогрессирования болезни. Обычно в течение года больной ХОБЛ переносит от одного до четырех обострений и более. Их частота заметно варьирует в зависимости от степени тяжести заболевания и адекватности выбранной схемы лечения. Так, при ООВ₁ 50-55% от должного средняя частота обострений составляет 1,9-2,1 обострения в год, а у больных с ООВ₁ менее 40% - 2-3 обострений в год. Поэтому одним из основных критериев эффективного лечения стабильной ХОБЛ является уменьшение частоты обострений и увеличение продолжительности периода жизни больного без эпизодов обострения заболевания [1].

Учитывая вышесказанное, возникает необходимость учета выраженности бактериальной контаминации и видовых особенностей микробиома дыхательных путей при прогнозировании тяжести течения ХОБЛ. В представленном методе используется оценка микробиома в мазках с задней стенки глотки, поскольку установлена корреляция между орофарингеальными микробиотическими сообществами и сообществами, полученными из браш-биоптатов бронхов и лаважной жидкости [9].

В результате проведенных исследований было получены сведения о составе микробиотических сообществ в орофарингеальных мазках у пациентов с ХОБЛ. Было решено использовать дискриминантный анализ, вычисляемый на основе, более чем одного фактора. С целью повышения точности и информативности способа было принято решение также использовать данные генотипирования пациентов по полиморфным вариантам генов-регуляторов иммунного ответа и воспаления IL18 rs5744247, IL18 rs1946518, CD14 rs2569190, IFNG rs2069705, MCP1 rs1024611. В известных источниках информации отсутствуют данные об исследованиях, в результате которых были бы установлены взаимосвязи между тяжестью течения ХОБЛ и особенностями микробиома задней стенки глотки в сочетании с данными генотипирования пациентов по полиморфным вариантам генов-регуляторов иммунного ответа и воспаления.

Коэффициенты дискриминантных моделей подобраны на основании анализа данных клинических и лабораторных исследований пациентов, проведенных на базе ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, с помощью логистического регрессионного анализа.

Разработку предлагаемого способа прогноза тяжести течения ХОБЛ с помощью классифицирующей функции, основанного на совокупности клинико-функциональных факторов, идентификации количественного и видового состава микробиома орофарингеальных мазков молекулярно-генетическими методами (выделение бактериальной ДНК с последующим секвенированием), а также определении генетического полиморфизма по генам иммунного ответа и регуляции воспаления (гены семейства TLR, гены цитокинов и их рецепторов) методом выделения ДНК из цельной крови для генотипирования с проведением ПДРФ-анализа предваряла следующая экспериментальная работа и клинические исследования.

Основанием для разработки предлагаемого способа явилось углубленное клинико-анамнестическое, физикальное и функциональное обследование 45 больных ХОБЛ (15 пациентов с легкой ХОБЛ, 15 пациентов со среднетяжелой ХОБЛ и 15 пациентов с тяжелым и очень тяжелым течением ХОБЛ).

Пациенты включались в исследование при условии соответствия следующим критериям:

Критерии включения для пациентов с ХОБЛ:

1. Мужчины в возрасте от 40 до 70 лет, имеющие ранее документально подтвержденный диагноз ХОБЛ;
2. Пациенты, курящие в настоящий момент или бывшие курильщики с индексом курения более 10 пачка/лет;
3. Пациенты, имеющие по результатам исследования функции внешнего дыхания постбронходилатационные значения $ОФВ_1 < 80\%$ от должного и $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$. Пациенты с ХОБЛ II стадии - $ОФВ_1 = < 80-50\%$ от должного, пациенты с ХОБЛ III стадии - $ОФВ_1 = < 50-30\%$ от должного, пациенты с ХОБЛ IV стадии - $ОФВ_1 = < 30\%$ от должного [10].
3. Пациенты, подписавшие до включения в исследование письменное информированное согласие;
4. Документально подтвержденный клинический диагноз ХОБЛ как минимум за 12 месяцев перед началом исследования (к ИРК пациента должна быть приложена ксерокопия из амбулаторной карты датированная и подписанная исследователем);
5. Стабильное течение заболевания (отсутствие обострений на протяжении не менее 4 недель до включения в исследование).

Критерии исключения:

- Отсутствие информированного согласия;
- Курение > 10 пачка/лет (для пациентов с БА);
- Признаки респираторной инфекции на момент включения больного в исследование;
- Курсы антибактериальной терапии любой длительности в течение последних 4 недель до момента включения;
- Женщины в состоянии беременности и лактации;
- Наличие любого онкологического заболевания;
- Больные другими заболеваниями бронхо-легочной системы: дефицит $\alpha 1$ -антитрипсина, бронхэктатическая болезнь, буллезная эмфизема легких, кисты легких, асбестоз, резекция части легкого или трансплантация (по данным анамнеза);
- Больные с тяжелой сопутствующей патологией в стадии декомпенсации, которые, по мнению исследователя, могут повлиять на результаты исследования;
- Гельминтная инвазия (по данным анамнеза);
- Алкоголизм и наркомания;
- Психические расстройства, тяжелые поражения органов ЦНС в стадии декомпенсации (по данным анамнеза);
- Больные с гиперчувствительностью к проводимой терапии;
- Потенциальная опасность от проведения функциональных тестов и инструментального обследования (по мнению врача исследователя);
- Отказ пациента от участия в исследовании.

В рамках настоящего исследования выполнен сравнительный анализ клинической характеристики пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания. Все исследованные показатели приведены по результатам опроса пациентов и изучения имеющейся медицинской документации, а также по данным обследования.

Пациенты с тяжелым и очень тяжелым течением ХОБЛ по классификации GOLD характеризовались большей выраженностью одышки и кашля, более значимым анамнезом предшествующих обострений ХОБЛ, госпитализаций, связанных с ними, частотой курсов приема антибиотиков и системных глюкокортикостероидов.

Забор биоматериала из ротоглотки на идентификацию микробиоты и забор венозной крови для проведения молекулярно-генетического исследования был осуществлен у всех пациентов, включающихся в исследование [11].

Далее выполнялось выделение ДНК из мазков с использованием наборов FastDNA® SPIN Kit for Soil (MPBIO, США) с последующим проведением секвенирования, качественным и количественным анализом состава микробиома.

Выделение геномной ДНК из венозной крови пациентов с ХОБЛ проводилось методом фенол-хлороформной экстракции. Затем проводилось генотипирование по выбранным генам иммунного ответа и регуляции воспаления IL18 rs5744247, IL18 rs1946518, CD14 rs2569190, IFNG rs2069705, MCP1 rs1024611.

Также, были определены следующие показатели, включенные в построение дискриминантной модели: демографические (пол, возраст, рост, вес), анамнестические (стаж курения, количество обострений ХОБЛ и госпитализаций за предшествующие 12 месяцев, частота курсов терапии антибиотиками и системными глюкокортикостероидами за последние 12 месяцев), клинико-функциональные (выраженность кашля и продукции мокроты, выраженность одышки по шкале mMRC, толерантность к физической нагрузке в тесте с 6-минутной ходьбой (пройденный путь) с учетом сатурации кислорода, подсчета частоты сердечных сокращений и частоты дыхательных движений до и после проведения теста), лабораторные

(колонизация микробиомом по результатам исследования орофарингеальных мазков, данные генотипирования пациентов по полиморфным вариантам генов-регуляторов иммунного ответа и воспаления: IL18 rs5744247, IL18 rs1946518, CD14 rs2569190, TLR2 rs4696480, IL12RB1 rs11575934, IL12RB1 rs401502, IL17F rs1889570, IFNG rs2069705, IFNGR2 rs17880053, MCP1 rs1024611).

Для целей дискриминантного анализа данные генотипирования были перекодированы в цифровые значения в соответствии с таблицей 1. Данные по определению микробиоты были перекодированы в качественную переменную по следующему принципу: при наличии свыше 50 колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий на 1 см² ротоглотки признаку присваивали значение 1, в противном случае - 0.

Построение дискриминантной функции проводили в два этапа. Сначала была проведена приоритезация предикторных переменных с помощью унивариантной мультиномиальной регрессии. В дальнейшем анализ включили переменные, для которых достигнутый уровень значимости в регрессионной модели не превышал 5%. Эти переменные затем были использованы для пошагового дискриминантного анализа по алгоритму forward stepwise. Результатом анализа являются дискриминантные функции, которые позволяют определить константы дискриминации и проводить классификацию зависимых переменных (степени тяжести). В связи с отсутствием тестовой выборки, для оценки валидности дискриминантных моделей использовали процедуру перекрестной валидации по алгоритму leave-one-out. Расчеты проводили в языковой среде R с помощью пакетов MASS и nnet.

Результаты расчетов унивариантной мультиномиальной представлены в таблице 2.

В соответствии с данными регрессионного анализа для построения дискриминантной функции для определения тяжести течения ХОБЛ использовали следующие переменные: микробиом, госпитализации, mMRC, IL18 rs5744247, IL18 rs1946518, CD14 rs2569190, IFNG rs2069705, MCP1 rs1024611, обострения, антибиотики, путь, сатурация кислорода пре и пост - до и после проведения теста с ходьбой, частота дыхательных движений пре и пост - до и после проведения теста с ходьбой.

Пошаговый дискриминантный анализ установил существенный вклад переменных, представленных в таблице 3. Коэффициенты для дискриминантных моделей представлены в таблице 4. Стратификация пациентов в соответствии с дискриминантными функциями представлена на рисунке 1. Очевидно, что наиболее эффективным является различие наиболее тяжелого течения ХОБЛ (ХОБЛ3: ХОБЛ тяжелого (3 стадия по GOLD) и очень тяжелого течения (4 стадия по GOLD)) от двух других групп (ХОБЛ1: ХОБЛ легкого течения (1 стадия по GOLD); ХОБЛ2 (ХОБЛ средней степени тяжести (2 стадия по GOLD), которые могут быть разделены с помощью дополнительной функции. Значение¹ статистики лямбда Уилкса для всей модели составило 0.068, что свидетельствует о высокой классифицирующей возможности рассчитанных дискриминантных функций.

Средние значения первой дискриминантной функции в имеющейся выборке таковы: ХОБЛ1, -70.9993; ХОБЛ2, -69.8672; ХОБЛ3, -65.7848. В соответствии с этим значение константы дискриминации для групп ХОБЛ1 и ХОБЛ2 есть $(-70.9993-69.8672)/2=-70.4332$; а для групп ХОБЛ2 и ХОБЛ3 $(-69.8672-65.7848)/2=-67.826$. Таким образом, правила классификации пациентов для первой дискриминантной функции будут следующие:

- если значение функции < -70.4332 , пациента относим к классу ХОБЛ1;
- если значение функции > -70.4332 и < -67.826 , пациента относим к классу ХОБЛ2;
- если значение функции > -67.826 , пациента относим к классу ХОБЛ3. При этом доля достигнутой классификации для первой функции составляет 79.83%, а для второй - 20.17. То есть, использование дополнительной классифицирующей функции существенно увеличивает эффективность классификации. В соответствии с этим и данными, представленными на Фиг 1, вторая функция может быть использована для дополнительной переклассификации пациентов, отнесенных к группам ХОБЛ1 и ХОБЛ2.

Средние значения второй классифицирующей функции в имеющейся выборке таковы: ХОБЛ1, -30.159; ХОБЛ2, -32.8568. Соответственно, константа дискриминации составляет $(-30.159-32.8568)/2=-31.5079$.

Правила дискриминации пациентов для второй функции будут следующие:

- если значение функции < -31.5079 , пациента относим к группе ХОБЛ2;
- если значение функции > -31.5079 , пациента отнести к группе ХОБЛ1. Вторая функция должна быть применена только к пациентам, классифицированным с помощью первой функции по группам ХОБЛ1 и ХОБЛ2.

Использование этих функций применительно к имеющейся обучающей выборке (исходный набор данных) позволил провести корректную классификацию больных ХОБЛ по степеням тяжести в 86.7% случаев. Три пациента из группы ХОБЛ2 были ошибочно отнесены к группе ХОБЛ1 и один пациент из группы ХОБЛ3 был

ошибочно отнесен к группе ХОБЛ2. С помощью анализа перекрестной проверки корректность предсказания составила 80%.

Таким образом, по результатам проведенного исследования предложены дискриминантные модели для классификации больных ХОБЛ по степеням тяжести с помощью критериев, непосредственно не используемых для такого анализа. Это дает основание полагать, что полученные модели могут быть использованы для предсказания, а не диагностики пациентов.

Примеры выполнения способа

Пример 1

И.О.Ф. Валентин Николаевич А.

Дата рождения: 31.12.1941.

Жалобы: постоянный кашель в течение дня с обильным отделением белесоватой мокроты, резко выраженную одышку при минимальной физической нагрузке, эпизоды дыхательного дискомфорта по утрам, высокую потребность в беродуале Н (до 12 доз в сутки).

Анамнез заболевания: Диагноз «хроническая обструктивная болезнь легких, очень тяжелое течение (по классификации GOLD)» поставлен в октябре 2002 г. пульмонологом г.Томска. Стаж заболевания 10 лет. С марта 2007 г. по настоящее время пациент получает Серетид Мультидиск 50/500 мкг по 1 ингаляции 2 раза в день (1000/100 мкг/сут по ФП). С момента постановки диагноза в качестве симптоматической терапии использует Беродуал Н в режиме «по требованию». Потребность до 12 доз в сутки. Вышеописанные жалобы регистрируются на фоне текущей терапии. В течение последнего года у пациента зарегистрированы 3 обострения ХОБЛ средней и тяжелой степени тяжести, 2 госпитализации в профильный медицинский стационар, пациент получил за предшествующие 12 месяцев 2 курса антибактериальной терапии по поводу обострения ХОБЛ.

Анамнез жизни: Пациент курит в течение 40 лет по 20-40 сигарет в сутки, индекс курения - 40 пачка/лет. С 2007 года у пациента диагностирована Гипертоническая болезнь II стадия, риск 2, НК0. С момента постановки диагноза по настоящее время пациентка получает Энап 5 мг 2 раза в сутки и Индапамид 2,5 мг утром.

Объективный статус: Рост: 174 см., вес 72 кг., АД: 125/85 мм. рт.ст., ЧСС: 70 уд. мин.

Состояние удовлетворительно. При пальпации грудной клетки болевые точки не найдены. При аускультации дыхание жесткое, выслушиваются рассеянные сухие хрипы при спокойном дыхании. По другим органам и системам без особенностей.

Спирометрия: ОФВ1=26,1%, ФЖЕЛ=60,1%. Тест на обратимость отрицательный АОФВ1=4,5%. Заключение: нарушения бронхиальной проходимости III степени по обструктивному типу.

Прогноз: очень тяжелое течение ХОБЛ.

Для уточнения было проведено дополнительное исследование согласно предлагаемому способу

Согласно предлагаемому способу, у пациента уточнили количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев - 2 курса, выполнен стандартный тест с 6-минутной ходьбой с оценкой расстояния, пройденного пациентом за 6 минут - 120 метров, частоты сердечных сокращений до проведения теста с ходьбой (70 в 1 минуту) и уровня сатурации кислорода после выполнения теста с ходьбой (92%), определен качественный и количественный состав микробиотического сообщества задней стенки глотки методом орофарингеальных мазков - выявлено свыше 50 колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий (в основном Naemophilus) на 1 см задней стенки глотки - присвоено числовое значение 1, выделена геномная ДНК из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции с последующим проведением генотипирования по выбранным генам иммунного ответа и регуляции воспаления, в частности TLR4 rs2569190 - выявлен генотип GG присвоено значение 2, IL18 rs1946518 - выявлен генотип GT, присвоено числовое значение 1, рассчитана дискриминантная функция Ф1:

$$\Phi 1 = -0.0349 * \text{Путь} + 1.970188 * \text{Микро} - 0.20922 * \text{ЧССпре} + 0.531974 * \text{TLR4} - 0.49016 * \text{Сатурация кислорода пост} + 0.257794 * \text{IL18B} - 0.14965 * \text{Антибиотики} = -0.0349 * 120 + 1.970188 * 1 - 0.20922 * 70 + 0.531974 * 2 - 0.49016 * 92 + 0.257794 * 1 - 0.14965 * 2 = -60,93;$$

Полученный результат по функции Ф1=-60,93, что >-67.826, таким образом, у пациента прогнозировалось тяжелое и очень тяжелое течение хронической обструктивной болезни легких

Согласно проведенным наблюдениям, прогноз оказался верным, и соответствует 4 стадии по спирометрической классификации GOLD, 2011.

Пример 2

И.О.Ф. Иван Анатольевич Х.

Дата рождения: 23.02.1952.

Жалобы: периодический кашель по утрам с небольшим отделением светлой мокроты, умеренную одышку при ускоренной ходьбе, подъеме в гору, эпизоды

дыхательного дискомфорта по утрам.

Анамнез заболевания: Диагноз при обращении в клинику «хроническая обструктивная болезнь легких, легкой степени тяжести» поставлен в ноябре 2007 г. пульмонологом г.Томска. Стаж заболевания 5 лет. С января 2010 г. по настоящее время пациент получает Сальбутамол в режиме по-требованию, на протяжении последних 6 месяцев потребность в препарате повысилась до 2-4 доз в сутки, усилилась одышка, снизилась переносимость физической нагрузки. Вышеописанные жалобы регистрируются на фоне текущей терапии. В течение последнего года у пациента не зарегистрированы обострения ХОБЛ, за медицинской помощью не обращался, пациент не получал за предшествующие 12 месяцев антибактериальной терапии по поводу обострений ХОБЛ.

Учитывая, что по спирометрической классификации GOLD у пациента регистрируется ХОБЛ 1 стадии (легкое течение), регулярная базисная терапия пациенту не назначалась.

Анамнез жизни: Пациент курит в течение 10 лет по 20 сигарет в сутки, индекс курения - 10 пачка/лет. С 2008 года у пациента диагностирована ИБС, стенокардия напряжения ФКП, НК0. Регулярную терапию ИБС не получает. Объективный статус: Рост: 184 см., вес 76 кг., АД: 120/80 мм. рт.ст., ЧСС: 68 уд. мин.

Состояние удовлетворительно. При пальпации грудной клетки болевые точки не найдены. При аускультации дыхание жесткое, хрипы не выслушиваются. По другим органам и системам без особенностей.

Спирометрия: ОФВ1=81,1%, ФЖЕЛ=106,1%. Тест на обратимость отрицательный ΔОФВ1=3%. Заключение: нарушения бронхиальной проходимости I степени по обструктивному типу.

Прогноз: легкое течение ХОБЛ.

Пациенту выполнено исследование для уточнения прогноза течения заболевания согласно предлагаемому способу с целью обоснования необходимости назначения базисной терапии пролонгированными препаратами.

Согласно предлагаемому способу, у пациента уточнили количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев - 0, выполнен стандартный тест с 6-минутной ходьбой с оценкой расстояния, пройденного пациентом за 6 минут - 480 метров, частоты сердечных сокращений до проведения теста с ходьбой (68 в 1 минуту) и уровня сатурации кислорода после выполнения теста с ходьбой (97%), определен качественный и количественный состав микробиотического сообщества задней стенки глотки методом орофарингеальных мазков - выявлено менее 50 колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий на 1 см² задней стенки глотки - присвоено числовое значение 0, выделена геномная ДНК из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции с последующим проведением генотипирования по полиморфизмам CD14 rs2569190 - выявлен генотип TT присвоено значение 0, IL18 rs1946518 - выявлен генотип AC, присвоено числовое значение 1, рассчитана дискриминантная функция Ф1:

$$\begin{aligned} \Phi 1 = & -0.0349 * \text{Путь} + 1.970188 * \text{Микро} - 0.20922 * \text{ЧССпре} + 0.531974 * \text{CD14} - \\ & 0.49016 * \text{Сатурация кислорода пост} + 0.257794 * \text{IL18B} - 0.14965 * \text{Антибиотики} =; - \\ & 0.0349 * 480 + 1.970188 * 0 - 0.20922 * 68 + 0.531974 * 0 - 0.49016 * 97 + 0.257794 * 1 - 0.14965 * 0 = -78,26; \end{aligned}$$

Полученный результат по функции Ф1 = -78,26, что ≤ -70,4332, таким образом, у пациента прогнозировалось легкое течение хронической обструктивной болезни легких.

С целью уточнения распределения проведен дополнительный расчет для второй функции Ф2, используя соответствующие правила дискриминации:

$$\begin{aligned} \Phi 2 = & 0.001983 * \text{Путь} - 0.574 * \text{Микро} - 0.10173 * \text{ЧССпре} + 0.748163 * \text{CD14} - \\ & 0.2893 * \text{Сатурация кислорода} \\ & \text{пост} + 1.16181 * \text{IL18B} + 1.039555 * \text{Антибиотики} = 0.001983 * 480 - 0.574 * 0 - \\ & 0.10173 * 68 + 0.748163 * 0 - 0.2893 * 97 + 1.16181 * 1 + 1.039555 * 0 = -34,76583; \end{aligned}$$

Полученный результат по функции Ф2 = -34,76583, что ≤ -31,5079, свидетельствовал о том, что, у пациента прогнозируется течение хронической обструктивной болезни легких средней степени тяжести.

После уточнения тяжести течения ХОБЛ по предлагаемому способу, пациенту была назначена базисная терапия Спириной, 18 мкг в сутки ежедневно, на 3 месяца. При повторном обследовании пациент практически не предъявлял жалобы, состояние значительно улучшилось: повысилась переносимость физической нагрузки, уменьшилась выраженность одышки и кашля.

Таким образом, предлагаемый способ, основанный на использовании совокупности клинико-функциональных факторов, идентификации количественного и видового состава микробиома орофарингеальных мазков молекулярно-генетическими методами (выделение бактериальной ДНК с последующим секвенированием), а также определении генетического полиморфизма по генам иммунного ответа и регуляции воспаления (гены семейства TLR, гены цитокинов и их

рецепторов) методом выделения ДНК из цельной крови для генотипирования с проведением ПДРФ-анализа, позволяет прогнозировать тяжесть течения хронической обструктивной болезни легких, дифференцировать тяжелое и очень тяжелое течения заболевания от ХОБЛ легкого и среднетяжелого течения. Способ характеризуется высокой чувствительностью (корректную

классификацию больных ХОБЛ по степеням тяжести в 86.7% случаев), что делает способ перспективным для широкого применения в клинической практике, поскольку позволяет своевременно назначать более адекватные лечебно-профилактические мероприятия.

Источники информации, использованные при составлении описания:

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Updated 2010 ().

2. Патент RU №2262889 «Способ прогнозирования стабильного течения хронической обструктивной болезни легких» авторов Колосова В.П., Колосова А.В.

3. Патент RU №2348352 «Способ диагностики степени тяжести бронхиальной астмы» авторов Мещерякова В.В., Титовой Е.Л.

4. Патент RU №2245550 «Способ прогнозирования бронхиальной обструкции при хроническом бронхите» авторов Постниковой Л.Б., Кубышевой Н.И.

5. Патент RU №2370773 «Способ прогноза прогрессирования хронической обструктивной болезни легких стабильного течения хронической обструктивной болезни легких» авторов Калининой Е.П., Лобановой Е.Г., Иванова Е.М.

6. Sehti S., Murphy T.F. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive Pulmonary Disease. N. Engl. J. Med. 2008; 359: 2355-2365.

7. Bilde L., Rud Svenning A., Dollerup J., Baekke Borgeskov H., Lange P. The cost of treating patients with COPD in Denmark - A population study of COPD patients compared with non-COPD controls. Respir. Med. 2007; 101: 539-546.

8. Monso E., Rosell A., Bonet G. et al. Risk factors for lower airway colonization in chronic bronchitis. Eur. Respir. J. 1999; 13: 338-342.

9. Porcher C, Malinge M.C., Picat C. et al / A simplified method for determination of specific DNA or RNA copy number using quantitative PCR and an automatic DNA sequencer // Biotechniques. - 1992. - №1. - P.106-114.

10. Standardization of Spirometry, 1994 update. American Thoracic Society. Am. J. Respir. Crit. Care Med. - 1995. - Vol.152, №3. - P.1107-1136.

11. Barnes, P.J. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: molecular and cellular mechanisms / P.J.Barnes, S.D.Shapiro, R.A.Pauwels // Eur. Respir. J. - 2003. - №22. - P.627-688.

Приложение

Таблица 1. Перекодировка генотипических данных в цифровые значения

Таблица 2. Результаты расчетов мультиномиальной регрессии для степени тяжести ХОБЛ и предикторных переменных

Примечание: LR - статистика отношения правдоподобия; R^2 - коэффициент детерминации; AIC - информационный критерий Акаике; P-value - достигнутый уровень значимости регрессионной модели

Таблица 3. Статистика для дискриминантного анализа для переменных, оставшихся в модели после пошагового алгоритма.

Таблица 4. Коэффициенты дискриминантных моделей для степени тяжести ХОБЛ

Фиг 1. Распределения пациентов с ХОБЛ в осях канонических переменных, рассчитанных на основании данных дискриминантного анализа. Выделены четыре пациента с некорректной классификацией (см. текст).

Таблица 1.				
Гены	Генотипы			
IL18 rs5744247	CC-0	CG-1	GG-2	
IL18 rs1946518	AA-0	AC-1	CC-2	
CD14 rs2569190	AA-0	AG-1	GG-2	
TLR2 rs4696480	TT-0	AT-1	AA-2	
IL12RB1 rs11575934	GG-0	CG-1	CC-2	
IL12RB1 rs401502	GG-0	AG-1	AA-2	
IL17F rs1889570	GG-0	AG-1	AA-2	
IFNG rs2069705	CC-0	TC-1	TT-2	
IFNGR2 rs17880053	DD-0	DG-1	GG-2	
MCP1 rs1024611	TT-0	TC-1	CC-2	
Таблица 2.				
Переменные	LR	R^2	AIC	P-value
Микробиом	18.2	0.434	56.7	0.00011
Пол	2.15	0.065	72.8	0.341
Госпитализации	18.7	0.442	56.3	8.85E-05
Кашель	5.46	0.157	73.5	0.243
Мокрота	8.59	0.235	70.3	0.0723

mMRC, баллы	25.1	0.544	57.8	0.000323
IL18 rs5744247	13	0.353	65.9	0.0111
IL18 rs1946518	17.6	0.443	61.4	0.0015

CD14 rs2569190	17.6	0.443	61.4	0.0015
TLR2 rs4696480	4.8	0.148	74.1	0.309
IL12RB1 rs11575934	5.84	0.177	69.1	0.0539
IL12RB1 rs401502	7.97	0.233	71	0.0927
IL17F rs1889570	6.7	0.2	72.2	0.153
IFNG rs2069705	9.92	0.282	69	0.0418
IFNGR2 rs17880053	6.57	0.197	72.4	0.16
MCP1 rs1024611	12.6	0.342	66.4	0.0137
Возраст	1.62	0.0492	73.3	0.446
Обострения	15.2	0.379	59.7	0.00049
Антибиотики	12.7	0.328	62.2	0.00174
Курение	1.27	0.0388	73.7	0.531
Вес	3.64	0.108	71.3	0.162
Рост	0.145	0.00454	74.8	0.93
Путь в тесте с 6-минутной ходьбой	30.7	0.617	44.2	2.13E-07
Сатурация кислорода - пре	13.6	0.346	61.4	0.00113
Частота дыхательных движений - пре	11.8	0.307	63.2	0.00281
Частота сердечных сокращений - пре	7.18	0.201	67.7	0.0276
Сатурация кислорода - пост	16.7	0.407	58.2	0.000235
Частота дыхательных движений - пост	8.56	0.235	66.4	0.0138
Частота сердечных	3.79	0.112	71.1	0.15

сокращений - пост				0.15
Таблица 3.				
Переменные	Wilks'Lambda	Partial Lambda	F-remove (2,21)	p-level
Путь	0.156543	0.435806	13.59332	0.000163
Микро	0.110151	0.619350	6.45325	0.006536
Частота сердечных сокращений - пре	0.126356	0.539922	8.94725	0.001547
CD14 rs2569190	0.088066	0.774675	3.05408	0.068510
Сатурация кислорода - пост	0.079541	0.857698	1.74207	0.199531
IL18 rs1946518	0.084464	0.807708	2.49976	0.106211
Антибиотики	0.080745	0.844914	1.92731	0.170424

Таблица 4.			
Переменные	Функция 1	Функция 2	
Путь		-0.0349	0.001983
Микро		1.970188	-0.574
Частота сердечных сокращений - пре		-0.20922	-0.10173
CD14 rs2569190		0.531974	0.748163
Сатурация кислорода - пост		-0.49016	-0.2893
IL18 rs 1946518		0.257794	1.16181
Антибиотики		-0.14965	1.039555

Формула изобретения

Способ прогнозирования тяжести течения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), включающий исследование венозной крови пациента, отличающийся тем, что дополнительно учитывают количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев, проводят стандартный тест с 6-минутной ходьбой с оценкой расстояния, пройденного пациентом за 6 минут, частоты сердечных сокращений до проведения теста с ходьбой и уровня сатурации кислорода после выполнения теста с ходьбой, осуществляют забор биоматериала с задней стенки глотки методом орофарингеальных мазков с последующим выделением ДНК, проведением секвенирования и, при обнаружении протеобактерий, осуществляют перекодирование полученных данных в качественную переменную для определения качественного и количественного состава микробиотического сообщества задней стенки глотки по принципу присвоения цифрового значения 1 при наличии свыше 50 колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий на 1 см² задней стенки глотки, в противном случае присваивая цифровое значение 0, выделяют геномную ДНК из венозной крови пациентов с ХОБЛ методом фенол-хлороформной экстракции с последующим проведением генотипирования по генам иммунного ответа и регуляции воспаления CD14 rs2569190

и IL18 rs1946518, предварительно перекодируют данные генотипирования в цифровые значения по гену CD14 rs2569190, присваивая 0 генотипу TT, 1 - генотипу TC и 2 - генотипу CC, а по гену IL18 rs1946518, присваивая 0 генотипу AA, 1 - генотипу AC и 2 - генотипу CC, и определяют вероятность отнесения индивида к группе больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения или к группам больных ХОБЛ легкой и средней степени тяжести, рассчитывая дискриминантную функцию Ф1 и Ф2:

$\Phi 1 = -0.0349 * \text{Путь} + 1.970188 * \text{Микро} - 0.20922 * \text{ЧССпре} + 0.531974 * \text{CD14} -$

$0.49016 * \text{Сатурация кислорода пост} + 0.257794 * \text{IL18} - 0.14965 * \text{Антибиотики};$

$\Phi 2 = 0.001983 * \text{Путь} - 0.574 * \text{Микро} - 0.10173 * \text{ЧССпре} + 0.748163 * \text{CD14} - 0.2893 * \text{Сатурация}$
кислорода пост + 1.16181 * IL18 + 1.039555 * Антибиотики,

где

-0.0349; 1.970188; 0.20922; 0.531974; 0.49016; 0.257794; 0.14965; 0.001983; 0.574; 0.10173;

0.748163; 0.2893; 1.16181; 1.039555 - численные значения являются коэффициентами;

Путь - пройденное пациентом расстояние (м) за 6 минут в стандартном тесте с 6-минутной ходьбой;

Микро - численное значение колониеобразующих единиц микроорганизмов из группы протеобактерий на 1 см² задней стенки глотки;

ЧССпре - частота сердечных сокращений до проведения теста с 6-минутной ходьбой;

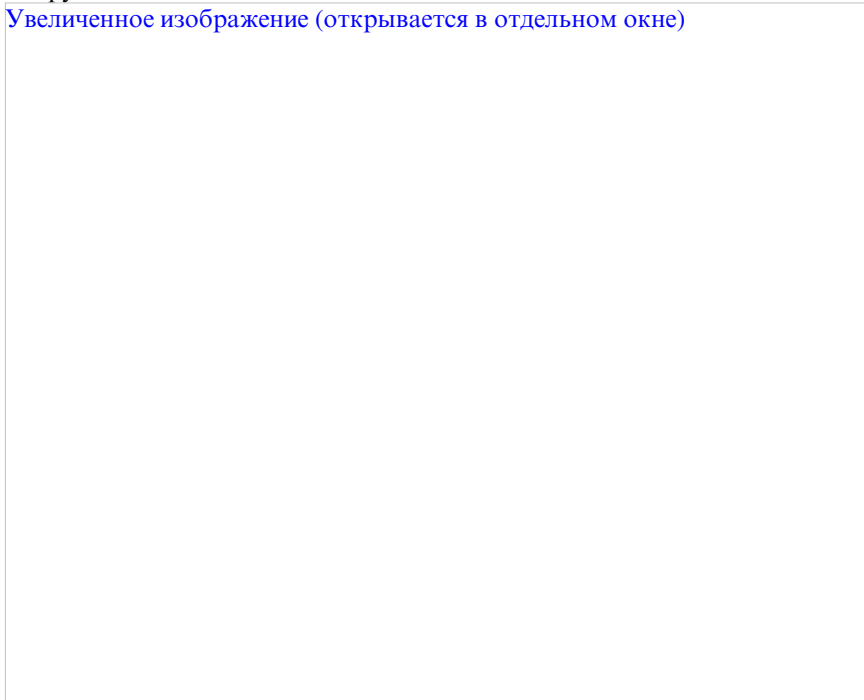
CD14 и IL18 - генотипы;

Сатурация кислорода пост - сатурация кислорода после проведения теста с 6-минутной ходьбой;

Антибиотики - количество курсов приема антибиотиков по поводу обострения ХОБЛ за предшествующие 12 месяцев;

причем, для отнесения пациента в определенную прогностическую группу оценивают значение Ф1 и при значении функции >-67.826 у пациента прогнозируют ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения; а при значении <-67.826 с целью уточнения распределения используют функцию Ф2 и при значении функции Ф2 ≤ -31.5079 прогнозируют ХОБЛ средней степени тяжести, а при значении Ф2 > -31.5079 прогнозируют ХОБЛ легкой степени тяжести.

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)



ИЗВЕЩЕНИЯ

ММ4А Досрочное прекращение действия патента из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе

Дата прекращения действия патента: 16.08.2014

Дата публикации: [10.07.2015](#)

NF4А Восстановление действия патента

Дата, с которой действие патента восстановлено: 10.11.2015

Дата внесения записи в Государственный реестр: 20.10.2015

Дата публикации: [10.11.2015](#)

ММ4А Досрочное прекращение действия патента из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе

Дата прекращения действия патента: **16.08.2018**

Дата внесения записи в Государственный реестр: **12.07.2019**

Дата публикации и номер бюллетеня: [12.07.2019](#) Бюл. №20