

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039422**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.01.26

(21) Номер заявки
201900456

(22) Дата подачи заявки
2019.09.27

(51) Int. Cl. **C12Q 1/686** (2018.01)
C12N 15/38 (2006.01)
C12R 1/93 (2006.01)

**(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕЧНОГО
ТРАНСПЛАНТАТА ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

(43) 2021.03.31

(96) 2019000109 (RU) 2019.09.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ГЕМАТОЛОГИИ" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБУ "НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ"
МИНЗДРАВА РОССИИ) (RU)**

(56) VIVIAN KOURI et al., "Prospective, Comprehensive, and Effective Viral Monitoring in Cuban Children Undergoing Solid Organ Transplantation", Springerplus. 2014 May 16;3:247. doi: 10.1186/2193-1801-3-247. eCollection 2014, весь документ

US-B1-6605602
WO-A1-2018158618
RU-C1-2165977
RU-C2-2196179
US-A1-2015072889

(72) Изобретатель:
**Джумабаева Болдурыз Толгонбаевна,
Тихомиров Дмитрий Сергеевич,
Туполева Татьяна Алексеевна,
Бирюкова Людмила Семёновна (RU)**

(57) Изобретение относится к медицине, диагностике в трансплантологии, а именно к способам прогнозирования инфекционных осложнений после трансплантации почки. Описан способ прогнозирования нарушения функции почечного трансплантата при инфицировании герпесвирусной инфекцией методом полимеразной цепной реакции в моче пациента. При концентрации вирусной ДНК менее 2500 коп/мл констатируют наличие латентной вирусной инфекции у реципиента почечного трансплантата и отсутствие нарушения функции трансплантата. При концентрации вирусной ДНК, равной или более 2500 коп/мл, констатируют наличие активной вирусной инфекции у реципиента почечного трансплантата и нарушение функции трансплантата, требующей специфической противовирусной терапии.

B1

039422

039422

B1

Изобретение относится к медицине, диагностике в трансплантологии, а именно к способам прогнозирования инфекционных осложнений после трансплантации почки.

Известен патент США № 6605602, в котором, в частности, описан способ выявления риска поражения почки ВК (полиомавирус человека 1) вирусом методом полимеразной цепной реакции гена ВК вируса в моче пациента после трансплантации почки.

После трансплантации почки инфекционные осложнения у пациентов являются одним из серьезных осложнений. Среди инфекционных осложнений преимущественно выделяют герпесвирусную инфекцию, которая является причиной инфицирования и удаления трансплантата.

Задача, на решение которой направлено заявляемое изобретение, - разработка действенного и простого способа прогнозирования нарушения функции почечного трансплантата при инфицировании герпесвирусами более точного и безопасного для пациента.

Поставленная задача решается путём применения разработанного способа, заключающегося в определении концентрации ДНК герпесвируса в моче пациента методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). При концентрации ДНК герпесвируса менее 2500 коп/мл констатируют наличие латентного вирусного фактора у реципиента, который не сопровождается клиническим проявлением вирусной инфекции и нарушением функции трансплантата. При концентрации ДНК герпесвируса равной или более 2500 коп/мл констатируют наличие активной вирусной инфекции у реципиента и нарушение функции трансплантата, что требует назначения противовирусной терапии.

Представленный способ прогнозирования нарушения функции почечного трансплантата при инфицировании герпесвирусной инфекцией подтверждён следующими исследованиями.

Исследовано 32 пациента (мужчин - 21, женщин - 11) с хронической болезнью почек в терминальной стадии (ХБПС5). Медиана возраста составила 43 года.

Методом ПЦР в режиме реального времени определяли концентрацию ДНК цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна-Барра (ВЭБ) и вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6) в периферической крови и моче реципиента через 1, 2, 4, 6 месяцев и через 1 год после трансплантации почки (ТАП). Наименьшей концентрацией вирусной ДНК в периферической крови и моче считалась менее 500 коп. Концентрация вирусной ДНК более 2500 коп считалась высокой.

На фоне иммуносупрессивной терапии у реципиентов почечного трансплантата преимущественно первые два месяца после ТАП выявлялись маркеры герпесвирусной инфекции, последующие 4 и 6 месяцев, через 1 год - значительно реже. Однако нарушение функции трансплантата наблюдалось не во всех выявленных случаях.

При концентрации ДНК менее 500 коп/10⁵ клеток в крови и менее 500 коп/мл в моче ЦМВ у 8 реципиентов, ВЭБ у 10 и ВГЧ-6 у 13 не отмечалось нарушение функции трансплантата (табл. 1).

У 9 реципиентов почечного трансплантата с ЦМВ, у 6 - с ВЭБ, у 2 - с ВГЧ-6 выявлена высокая концентрация вирусной ДНК в моче более 2500 коп/мл, что сопровождалось нарушением функции трансплантата и указывало на инфицирование трансплантата (табл. 2). При этом в крови у этих пациентов вирусная ДНК либо вообще не была выявлена, либо её концентрация находилась в пределах минимальных значений - менее 500 коп/10⁵ клеток.

Таким образом, при инфицировании почечного трансплантата прежде всего повышается концентрация герпесвирусов в моче, при этом в крови их концентрация может оставаться на низком уровне. Выявлена корреляция между уровнем концентрации ДНК герпесвирусов (ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6) в моче и нарушением функции трансплантата. При низкой вирусной нагрузке не отмечается нарушения функции трансплантата, а при высокой вирусной нагрузке более 2500 коп/мл в моче наблюдается дисфункция трансплантата.

Таблица 1. Низкая концентрация вирусной ДНК у реципиентов почечного трансплантата

Концентрация вирусной ДНК, после трансплантации почки, через:												Дисфункция трансплантата
1 мес		2 мес		4 мес		6 мес		1 год				
кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча			
Цитомегаловирус												
г	н	н	н	н	н	н	500	н	н	500	нет	

М	н	н	н	н	н	н	500	н	н	н	нет
З	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
Б	500	н	н	н	500	500	н	н	н	н	нет
Ст	500	н	500	н	н	н	н	н	н	н	нет
Ш	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
Ал	500	500	500	500	н	н	н	н	н	н	нет
Ш	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
Вирус Эпштейна - Барр											
М	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
З	500	н	н	н	н	н	500	н	н	н	нет
П	н	н	500	н	н	н	н	н	н	н	нет
М	н	н	500	н	н	н	н	н	н	н	нет
Л	500	н	500	н	н	500	500	н	н	н	нет
Б	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
И	н	н	н	н	500	н	н	н	н	н	нет
А	н	500	н	500	н	н	н	н	н	н	нет
Щ	500	нет	500	н	500	н	500	н	н	н	нет
Д	н	н	н	н	500	н	н	н	н	н	нет
Вирус герпеса человека б типа											
А	н	500	н	н	н	н	н	н	н	500	нет
Ш	н	500	н	500	н	500	н	500	н	н	нет
Т	н	н	н	500	н	500	н	500	н	500	нет
М	н	500	н	500	н	500	н	600	н	н	нет
С	н	500	н	н	н	500	н	н	н	н	нет
Шл	н	500	н	500	н	500	н	н	н	н	нет
Б	н	н	н	н	н	н	н	н	н	800	нет
А	н	500	н	500	н	н	н	н	н	н	нет
О	н	1500	н	н	н	700	н	500	н	н	нет
Ш	н	н	н	500	н	н	н	500	н	500	нет
Ст	н	700	н	500	н	н	н	н	н	н	нет
А	н	500	н	500	н	н	н	500	н	н	нет
Л	н	500	н	н	н	н	н	н	н	н	нет

Примечание: н - ДНК вируса не обнаружена.

Таблица 2. Высокая концентрация вирусной ДНК у реципиентов почечного трансплантата

	Высокая концентрация вирусной ДНК, после трансплантации почки, через										Дисфункция трансплантата
	1 мес		2 мес		4 мес		6 мес		1 год		
	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	
Цитомегаловирус											
Эин	500	н	н	15000	н	н	н	н	н	н	да
Ш	500	500	н	8700	н	1200	н	500	н	500	да
С	н	н	н	н	н	н	н	19600	н	500	да
Т	500	2500	500	н	н	н	н	н	н	н	да
М	500	н	н	н	н	500	н	9000	н	н	да
С	500	500	500	9500	500	500	н	н	н	н	да
Т	500	500	н	5000	н	н	н	н	н	н	да
Л	н	н	500	2700	н	н	н	н	н	н	да
Ст	500	н	н	9100	н	н	н	н	н	н	да
Вирус Эпштейна -Барр											
Ш	500	н	1000	н	н	5100	н	н	н	н	да
Ст	500	280000	н	н	н	н	н	н	н	н	да
К	н	н	н	1854500	н	н	н	н	н	н	да
А	н	н	н	н	н	н	н	3060	н	н	да
Т	500	9000	н	н	н	н	н	н	н	н	да
Ст Р	н	5000	н	9100	н	н	н	н	н	н	да
Вирус герпеса человека 6 типа											
И	н	500	н	500	н	5100	н	500	н	н	да
К	н	н	н	3400	н	3400	н	н	н	н	да

Примечание: н - ДНК вируса не обнаружена.

Таким образом, разработанный способ прогнозирования нарушения функции почечного трансплантата при инфицировании герпесвирусной инфекцией путём определения концентрации вирусной ДНК методом полимеразной цепной реакции в моче пациента более точный по сравнению с существующим методом полимеразной цепной реакции в плазме крови пациента.

В патенте на изобретение США № 6605602 описан способ определения ВК вируса, который является представителем полиомавирусов и не относится к герпесвирусам. Так же в нём не раскрыта концентрация ДНК вируса, определяющая тип и стадии инфицирования трансплантата. Вышеперечисленное позволяет оценивать представленный способ как соответствующий критерию патентоспособности "новизна".

ВК вирус локализуется в эпителии канальцев почек. При инфицировании ВК вирусом наблюдается поражение собирательных трубочек, дистальных канальцев и петли Генле, что делает естественным выявление ДНК ВК вируса методом ПЦР в моче реципиента почечного трансплантата. ВК вирус практически не поражает эндотелиальные, гладкомышечные и интерстициальные клетки, что служит критерием дифференциальной диагностики с герпесвирусной инфекцией. ЦМВ поражает эндотелиальные клетки, ВЭБ преимущественно локализуется в CD21-позитивных лимфоцитах, а ВГЧ-6 преимущественно в Т-лимфоцитах. При герпесвирусной инфекции поражается интерстиций (межканальцевая ткань и клубочки почки) почки. Поэтому повышение концентрации маркеров ЦМВ, ВЭБ и ВГЧ-6 первоначально в моче у реципиента почечного трансплантата не очевидно для специалистов, что позволяет судить о соответствии заявляемого способа критерию патентоспособности "изобретательский уровень".

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ прогнозирования нарушения функции почечного трансплантата путем определения концентрации ДНК герпесвируса методом полимеразной цепной реакции в моче реципиента, при котором при

концентрации вирусной ДНК менее 2500 коп/мл констатируют наличие латентной вирусной инфекции у реципиента почечного трансплантата и отсутствие нарушения функции трансплантата, а при концентрации вирусной ДНК равной или более 2500 коп/мл констатируют наличие активной вирусной инфекции у реципиента почечного трансплантата и нарушение функции трансплантата, требующей специфической противовирусной терапии.

