



(51) МПК  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*C12Q 1/62* (2006.01)  
*C12Q 1/68* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*G01N 33/492* (2018.08); *C12Q 1/62* (2018.08); *C12Q 1/68* (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2017145735, 25.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
25.12.2017

Дата регистрации:  
19.03.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2017

(45) Опубликовано: 19.03.2019 Бюл. № 8

Адрес для переписки:

630083, г. Новосибирск, ул. Большевистская,  
175/6, кв. 47, Верещагину Е.И.

(72) Автор(ы):

Верещагин Евгений Иванович (RU),  
 Пешкова Инесса Викторовна (RU),  
 Богачев Сергей Станиславович (RU),  
 Саматов Игорь Юрьевич (RU),  
 Стрельцова Елена Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Верещагин Евгений Иванович (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: КАМИЛОВ Ф.Х. Исследование обмена белков и нуклеиновых кислот при экспериментальных термических ожогах. Автореф. дисс доктора мед. наук. Омск, 1975. 38 с.. ЛИТВИЦКИЙ П.Ф. и др. Нарушения обмена белков, аминокислот и нуклеиновых кислот. Вопросы современной педиатрии. 2015; 14 (1): 95-107. de OLIVEIRA E.P. et al. High plasma uric acid concentration: (см. прод.)

(54) Способ оценки интенсивности обмена нуклеиновых кислот в клинической практике

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины. Предложен способ диагностики нарушений обмена нуклеиновых кислот (НК) у критических больных. Определяют концентрации олигонуклеотидов ДНК и мочевой кислоты (МК) в сыворотке крови (СК). Рассчитывают индекс интенсивности обмена НК (ИИ ОНК). Значения индекса менее 30% у критических больных

свидетельствуют о том, что распад НК преобладает над синтезом de novo. Значения индекса, превышающие 30%, свидетельствуют о преобладании синтеза над распадом НК. Изобретение обеспечивает эффективную диагностику нарушений обмена НК у критических больных. 3 табл., 5 пр.

(56) (продолжение):

causes and consequences. Diabetol Metab Syndr. 2012 Apr 4; 4:12. SU 950396 A1, 15.08.1982.

RU 2 682 322 C1

RU 2 682 322 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*C12Q 1/62* (2006.01)  
*C12Q 1/68* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*G01N 33/492* (2018.08); *C12Q 1/62* (2018.08); *C12Q 1/68* (2018.08)(21)(22) Application: **2017145735, 25.12.2017**(24) Effective date for property rights:  
**25.12.2017**Registration date:  
**19.03.2019**

Priority:

(22) Date of filing: **25.12.2017**(45) Date of publication: **19.03.2019** Bull. № 8

Mail address:

**630083, g. Novosibirsk, ul. Bolshevistskaya, 175/6,  
kv. 47, Vereshchaginu E.I.**

(72) Inventor(s):

**Vereshchagin Evgenij Ivanovich (RU),  
Peshkova Inessa Viktorovna (RU),  
Bogachev Sergej Stanislavovich (RU),  
Samatov Igor Yurevich (RU),  
Streltsova Elena Ivanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Vereshchagin Evgenij Ivanovich (RU)**(54) **METHOD FOR ASSESSING THE INTENSITY OF THE EXCHANGE OF NUCLEIC ACIDS IN CLINICAL PRACTICE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine. Method for diagnosing disorders of nucleic acid (NA) metabolism in critical patients is proposed. Concentration of oligonucleotides DNA and uric acid (UA) in blood serum (BS) is determined. Intensity index of the exchange of NA (AI NAM) is calculated. Index values of less than 30 % in critical patients indicate

that NA breakdown prevails over de novo synthesis. Index values of higher than 30 % indicate a predominance of synthesis over the decomposition of the NA.

EFFECT: invention provides an effective diagnosis of metabolic disorders of NA in critical patients.

1 cl, 3 tbl, 5 ex

**C 1**  
**2 6 8 2 3 2 2**  
**R U**

**R U**  
**2 6 8 2 3 2 2**  
**C 1**

Изобретение относится к медицине.

Интенсивность обмена нуклеиновых кислот (НК) при критических состояниях является решающим фактором, определяющим исход критического состояния. Синтез фрагментов НК (нуклеотидов) - один из наиболее активных процессов в клетке.

5 Воспроизводство нуклеотидов требует значительное количество пластических веществ - аминокислот глутамина, глицина, а также углеводов, фосфатов. По затратам энергии этот процесс относится к крайне напряженным.

Ряд «барьерных» органов (печень, кишечник, лимфоузлы, селезенка) и костный мозг должны усиливать синтез НК в десятки раз при критических состояниях. Скорость  
10 деления клеток в этих органах и скорость синтеза НК определяет скорость регенерации и функциональные резервы этих органов.

В настоящий момент существуют способы изменения интенсивности синтеза и распада НК путем использования, например, ряда нутриентов, как глютамин, фолиевая кислота, витамин D3 или экзогенные олигонуклеотиды. Однако для эффективного использования  
15 этих препаратов необходим надежный способ оценки интенсивности обмена НК, в противном случае их использование будет либо малоэффективно, либо может привести к ухудшению состояния организма человека.

Известен способ определения интенсивности синтеза НК, заключающийся в оценке включения НЗ-тимидиновой метки. Недостатком способа является использование  
20 радиоактивных материалов, что затрудняет использование метода в рутинной клинической практике.

Известен способ определения НК экзосом сыворотки крови. Способ характеризуется крайней технологической загруженностью, что делает его пригодным только в эксперименте.

25 Предлагаемый нами способ заключается в одновременном определении в сыворотке крови двух параметров - нуклеиновых кислот сыворотки крови (НКСК) и мочевой кислоты сыворотки крови (МКСК). НКСК характеризуют секрецию НК. Влияние распада клеток на уровень НКСК, по-видимому, минимальное, поскольку клеточные фрагменты НК быстро распадаются под действием ферментов или элиминируются с  
30 большой скоростью через рецепторы-привратники TLR 3 и 9 типов.

Наши исследования (Валеева В.А. и др., 2012) показали, что у больных с тяжелым хирургическим сепсисом, при котором отмечается усиленный катаболизм и ускоренная гибель клеток, концентрация НКСК может быть как снижена, так и повышена. Более того, многочисленные исследования (Наборщикова Д.А. и др., 2012; Vlasov V., et al.,  
35 2007) свидетельствуют о том, что в норме концентрация НКСК является величиной постоянной, а изменения концентрации НКСК в ту или иную сторону могут сами по себе сопровождаться патологическими сдвигами. Таким образом, поддержание определенного уровня НКСК является активным процессом и определяется, в первую очередь, внеклеточной секрецией НК. Очевидно, что интенсивность секреции НК во  
40 внеклеточную жидкость и затем в сыворотку крови прямо пропорциональна интенсивности синтеза НК.

МКСК характеризует, как известно, скорость распада нуклеиновых кислот до пуриновых оснований и далее до мочевой кислоты (МК). Однако обычно определение концентрации МКСК используется для диагностики мочекишечного диатеза или подагры,  
45 при этом принимаются в расчет только повышенные значения. Вместе с тем, при критических состояниях отмечено резкое снижение МК, свидетельствующее о том, что большинство образующихся пуриновых оснований вновь используется в синтезе НК de novo.

Следовательно, МКСК является параметром, по которому можно оценить интенсивность обмена НК. При высоких значениях МК отмечается избыток пуриновых оснований, что свидетельствует о преобладании распада НК над синтезом, при этом значительная часть пуриновых оснований метаболизируются до МК. Низкие значения МК, напротив, свидетельствуют о том, что синтез НК преобладает над возможностью синтеза пуриновых оснований.

Таким образом, при одновременном определении НКСК и МКСК оценивается как интенсивность синтеза НК, так и интенсивность распада НК. Используя полученные данные, можно рассчитать индекс интенсивности обмена НК.

На основании полученных данных рассчитывается индекс интенсивности обмена (ИИ ОНК) с использованием следующей формулы:

$$\text{ИНДЕКС ИНТЕНСИВНОСТИ ОБМЕНА НК} = \text{НКСК} / \text{МКСК} \times 100\%,$$

где НКСК - концентрация олигонуклеотидов сыворотки крови (мкг/л),

МКСК - концентрация мочевой кислоты сыворотки крови (мкмоль/л).

Пример 1. У группы взрослых здоровых добровольцев (n=10) оценивали концентрации НКСК и МКСК. При расчете индекса интенсивности обмена НК получено, что в норме индекс составил 16+/-5%.

Пример 2.

В исследование включены больные с тяжелыми ожогами, проходившие лечение в ожоговом центре ОКБ Новосибирска. Возраст 15-65 лет, продолжительность наблюдения 21 день.

Исследование проведено в группе ожоговых больных (n=18) с площадью ожога более 50% тела и степенью 2а и выше. Данные больные разделены на две группы - выжившие больные (n=13) и умершие (n=5).

В ходе исследования выявлены достоверные различия между группами (выжившие/ умершие) по следующим показателям: Индекс Франка, оценка по шкале SOFA, уровень гликемии и уровень альбумина сыворотки крови. СРП был также достоверно выше у умерших больных с 10 суток госпитализации.

Уровень лейкоцитов, относительное содержание лимфоцитов, лактат сыворотки крови достоверно не отличались между группами.

Со стороны показателей обмена нуклеиновых кислот были отмечены следующие изменения. Наиболее низкие значения НКСК отмечены в группе умерших больных. Отмечены достоверные (p<0.05) различия в содержании олигонуклеотидов ДНК в сыворотке крови в группе выживших больных по сравнению с группой умерших на 10 (106±5 и 72±9 соответственно) и 14 дни (89±5 и 50±9 соответственно).

Напротив, МКСК в первые 5 суток была достоверно ниже сравнению со средними значениями в группе выживших больных. Отмечены достоверные (p<0.5) различия в содержании мочевой кислоты в сыворотке крови в группе выживших больных по сравнению с группой умерших на 3 (180,2±44,1 и 340,2±19,0 соответственно) и 5 дни (127,7±14,9 и 205,6±13,3 соответственно).

При расчете индекса интенсивности обмена НК было показано, что в первые 5 суток после ожога наиболее низкие значения индекса отмечены у умерших больных. Коэффициент на 5 сутки составил 58% и 24% в группах выживших и умерших соответственно, и 62% и 27% соответственно на 14 сутки. Таким образом, у выживших больных на протяжении всего периода наблюдения ИИО НК превышал 30%.

Таким образом, у критических больных значения индекса <30% свидетельствуют о выраженном распаде клеток со сниженной репарацией, что типично для шока и персистирующей полиорганной недостаточностью. Соответственно распад НК

преобладает над синтезом de novo. Напротив, значения индекса, превышающие 30% свидетельствуют о преобладании синтеза над распадом НК, и преобладании репарации тканей над их распадом.

Пример 3.

5 Больной И., 45 лет. DS: Ожоговая болезнь, ожог IIa-III, площадь более 50%. Проходил лечение в отделении реанимации ожогового центра в течение 28 дней. Исход - выздоровление. Результаты оценки показателей интенсивности обмена нуклеиновых кислот представлены в табл. 1.

10 **Таблица 1.** Изменения обмена нуклеиновых кислот в остром и подостром периодах ожоговой болезни при благоприятном исходе.

15 День от поступления	ДНК нг/мл (N= 0.9-45)	Мочевая кислота мкМ/л	Индекс интенсивности обмена НК
1	58	133	43%
7	84	56	150%
14	62	94	65%

20 Таким образом, при благоприятном течении ожоговой болезни отмечены значения индекса интенсивности обмена НК от 43 до 150%. Пример 4.

Больная К., 49 лет. DS: Ожоговая болезнь, ожог IIa-III, площадь 55%. Проходила лечение в отделении реанимации ожогового центра в течение 22 дней. Летальный исход. Результаты оценки показателей интенсивности обмена нуклеиновых кислот представлены в табл. 2.

25 **Таблица 2.** Изменения обмена нуклеиновых кислот в остром и подостром периодах ожоговой болезни при неблагоприятном исходе.

30 День от поступления	ДНК нг/мл (N 0.9-45)	Мочевая кислота мкМ/л	Индекс интенсивности обмена НК
1	63	460	14%
5	36	240	15%
10	28	310	9%
35 14	9	370	3%

Таким образом, при неблагоприятном течении ожоговой болезни отмечены значения индекса интенсивности обмена НК ниже 10% (9 и 3%).

Пример 5.

40 Больная Н., DS: Ахалазия пищевода, кахексия III степени. На момент осмотра: вес 36 кг, индекс Кетле 14, дефицит массы тела 30%.

Проводилась нутритивная поддержка: стандартная энтеральная смесь в разведении 1:1 в объеме 2000 мл/сутки в назогастральный зонд. Несмотря на проводимую терапию, потеряла за последние 2 недели 3 кг. Обращает на себя внимание отсутствие прироста альбумина и потеря массы тела на фоне относительно стабильного состояния.

45 В программу нутритивной поддержки включен дополнительно Интестамин 500 мл/сутки, доза Глутамин 30 гр/сут.

Динамика показателей отражена в табл. 3.

**Таблица 3** Динамика показателей нутритивного статуса у больной с поражением пищевода

	Исходный	5 день	10 день
Вес, кг	36	37.7	39
Общий белок, г/л	71,2	68,3	79
Альбумин, г/л	28,8	29,8	33
Абс. кол-во лимфоцитов *10 <sup>9</sup> /л	1,1	1,39	2.1
Суточная экскреция азота мочевины(ммоль/л)	239	320	214
ДНК плазмы, мкг/л (N 9-45)	3,6	4,5	7.0
Мочевая кислота сыворотки крови, ммоль/л	78	38	55
ИИ ОНК	4.6%	12%	13%

Таким образом, при алиментарной дистрофии отмечены нарушения обмена НК, что отразилось в снижении ИИ ОНК (4.6%). После введения в терапию больших доз аминокислоты глутамина отмечены позитивные изменения нутритивного статуса, в том числе, тенденция к нормализации ИИ ОНК (12-13%).

#### Литература

1. Валеева В.А., Верещагин Е.И., Беркасова И.В., Стрельцова Е.И. Показатели обмена нуклеиновых кислот у больных с абдоминальным сепсисом // Медицина и образование в Сибири.- №6-2012, - стр. 217-222

2. Vlassov V.V., Laktionov P.P., Rykova E.Y. Extracellular nucleic acids // Bioessays. - 2007. - Vol. 29. - P. 654-667.

#### (57) Формула изобретения

Способ диагностики нарушений обмена нуклеиновых кислот (НК) у критических больных, характеризующийся тем, что определяют концентрации олигонуклеотидов ДНК и мочевой кислоты (МК) в сыворотке крови (СК), после чего рассчитывают индекс интенсивности обмена НК (ИИ ОНК) по формуле:  $ИИ\ ОНК = \frac{НКСК}{МКСК} \times 100\%$ , где НКСК - концентрация олигонуклеотидов ДНК сыворотки крови, МКСК - концентрация мочевой кислоты сыворотки крови, при этом значения индекса менее 30% у критических больных свидетельствуют о том, что распад НК преобладает над синтезом de novo, а значения индекса, превышающие 30%, свидетельствуют о преобладании синтеза над распадом НК.