



(11) **LT 6999 B**

(51) Int. Cl. (2023.01): **C12Q 1/68**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris:	2022 530	(73) Patento savininkas:	Medicina Practica Laboratorija, UAB, Ližiškių g. 4, 10239 Vilnius, LT
(22) Paraiškos padavimo data:	2022-08-10		Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, A. Mickevičiaus g. 9, 44307 Kaunas, LT
(41) Paraiškos paskelbimo data:	2023-04-25	(72) Išradėjas:	Ramunė ŠEPETIENĖ, LT
(45) Patento paskelbimo data:	2023-06-12		Ignas GALMINAS, LT
			Vaiva PATAMSYTĖ, LT
			Svajūnas BARAKAUSKAS, LT
			Lukas ŽEMAITIS, LT
			Dovydas GEČYS, LT
			Vilius SKIPSKIS, LT
		(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:	Reda ŽABOLIENĖ, 7, METIDA, Verslo centras „VERTAS“, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT

LT 6999 B

(54) Pavadinimas:

Odos polinkio į tam tikrus fenotipinius pokyčius nustatymo būdas ir atitinkamos odos priežiūros režimo parinkimas

(57) Referatas:

Šis išradimas yra odos polinkio į tam tikrus fenotipinius pokyčius nustatymo būdas ir atitinkamos odos priežiūros režimo parinkimas, ir priklauso matavimo ir testavimo procesų sričiai, tiksliau matavimo ir testavimo procesams, kuriuose naudojamos nukleorūgštys, sričiai. Šiame dokumente aprašomas Lietuvos populiacijai tinkamas genetinis odos būklės tyrimas ir jo vertinimo būdas, naudojant vieno nukleotido polimorfizmų analizę genuose, susijusiuose su odos antioksidacine funkcija, odos atsparumo saulės poveikiui funkcija, odos elastingumo ir jos atramine funkcija, odos drėkinimo funkcija bei odos imuninio atsako funkcija.

TECHNIKOS SRITIS

Šis išradimas priklauso matavimo ir testavimo procesų sričiai, tiksliau matavimo ir testavimo procesams, kuriuose naudojamos nukleorūgštys (IPC – C12Q1/68).

TECHNIKOS LYGIS

Oda yra didžiausias žmogaus organas ir atlieka tokias funkcijas kaip kūno apsauga nuo mechaninių ir fizinių poveikių, neleidžia į kūną prasiskverbti bakterijoms ir kitiems mikroorganizmams bei chemikalams. Be to, odos pokyčiai yra vienas iš labiausiai matomų senėjimo požymių, kurių prevencija sulaukia didelio susidomėjimo jaunystę ir grožį vertinančioje visuomenėje. Siekdami pagerinti odos išvaizdą ir sveikatą, žmonės dažnai naudoja odos priežiūros produktus atsižvelgdami į tuo metu pasireiškiančius simptomus. Tačiau toks pasekmių gydymas dažnai būna pavėluotas ir mažai efektyvus. Nustačius odos polinkį į tam tikrus fenotipinius pokyčius būtų galima iš anksto imtis prevencijos ir pasiekti geresnių rezultatų. Žmogaus genomo sekos nustatymas ir bendrai tobulėjanti genomikos sritis suteikia naujų priemonių, leidžiančių ištirti odos senėjimo procesą molekuliniu lygmeniu, o bioinformatika leidžia integruotai analizuoti didžiulį generuojamų duomenų kiekį ir nustatyti tam tikrų genų asociacijas su tam tikrais fenotipiniais pokyčiais. Vieno nukleotido polimorfizmai (VNP) atsiranda, kai pakeičiamos arba ištrinamos atskiros aminorūgščių bazės, todėl tam tikroje padėtyje gali pasikeisti aminorūgštys ir pasikeisti fenotipas ir tuo pačiu odos savybės. Patento dokumentas US2021164993A1 aprašo metodą sukurti individualizuotą odos priežiūros režimą, pagrįstą individo genetiniu profilu, apimančiu biomarkerius, genetiškai susijusius su odos fenotipinėmis savybėmis. Dokumentas US2021164993A1 aprašo odos fotosenėjimo (įskaitant odos senėjimą ir odos atspalvį) sąsają su vienu ar daugiau genų, parinktų iš grupės, kurią sudaro *MCIR*, *TYR*, *SLC45A2 (MATP)*, *SLC24A5*, *ASIP* regionas, *HERC2*, *IRF4*, *EXOC2*, *STXBP5L*, *6p25.3* regionas, *AIP1* ir *NCOA6*. Odos elastingumo (tekstūros) sąsają su vienu ar daugiau genų, parinktų iš grupės, kurią sudaro: *ACE*, *HIF1A*, *ELN*, *SRPX*, *HMCN1*, *TMEM8* ir *MTHFR*. Odos drėgmės sąsają su genais parinktais iš grupės, kurią sudaro *AQP3* ir *FLG*. Odos uždegimo ir alergijos sąsają

su vienu ar daugiau genų parinktų iš grupės, kurią sudaro: *FLG*, *HLA-C*, *IL12B*, *IL23R*, *TNIP1*, *IL13*, *MTHFR*, tarpgeninis regionas tarp *HLA-DRA* ir *BTNL2*, tarpgeninis regionas tarp *PRELID2* ir *KCTD16* ir *TNFAIP3*. US2021164993A1 paraiškoje aprašomo išradimo ir viso technikos lygio trūkumas yra tas, kad genų panelė nustatyti odos būklę yra nepritaikyta lietuvių populiacijai.

IŠRADIMO ESMĖ

Šioje patento paraiškoje aprašomame išradime pirmiausia buvo išanalizuota mokslinė literatūra ir buvo suformuluoti tiriamųjų atrankos kriterijai. Mokslinėje literatūroje buvo identifiukuoti statistiškai reikšmingai ($p \leq 0,05$) su odos pamatinėmis savybėmis (elastingumas, drėkinimas, apsauginė ir atraminė funkcija bei dalyvavimas odos imuniniame atsake) susiję polimorfizmai. Atlikus pilotinius tikro laiko polimerazės grandininės reakcijos (TL-PGR) tyrimus buvo nustatyta 16 labiausiai odos būklę įtakančių genetinių VNP, kurie koreliuoja su odos savybėmis Lietuvos populiacijos pirminėje imtyje (1 lent.).

1 lentelė.

Odos antioksidacinė funkcija	Odos atsparumas saulės poveikiui	Odos elastingumas ir jos atraminė funkcija	Odos drėkinimo funkcija	Odos imuninio atsako funkcija
<i>SOD2</i> (rs4880)	<i>TYR</i> (rs1126809)	<i>MMP1</i> (rs1799750)	<i>AQP3</i> (rs17553719)	<i>IL1Beta</i> (rs1143634)
<i>GPX1</i> (rs1050450)	<i>SLC45A21</i> (rs26722)	<i>ELN</i> (rs7787362)		<i>IL6</i> (rs1800795)
<i>NQO1</i> (rs1800566)	<i>SLC45A22</i> (rs16891982)	<i>COL1A1</i> (rs1800012)		<i>TNF-α</i> (rs1800629)
<i>CAT</i> (rs1001179)		<i>AHR</i> (rs2066853)		
<i>NRF2</i> (rs35652124)				

Odos jautrumas UV spinduliams lietuvių populiacijoje koreliuoja su *TYR*, *SLC45A21* ir *SLC45A22* genuose esančiais vieno nukleotido polimorfizmais. Odos elastingumo ir atraminė funkcija koreliuoja su *COL1A1*, *MMP1*, *ELN* ir *AHR* genuose esančiais vieno nukleotido polimorfizmais. Odos drėkinimo funkcija koreliuoja su *AQP3* gene esančiu vieno nukleotido polimorfizmu. Odos antioksidacinė funkcija koreliuoja su *SOD2*, *GPX1*, *CAT*, *NRF2* ir *NQO1* genuose esančiais vieno nukleotido polimorfizmais. Odos imuninio atsako funkcija koreliuoja su *IL1Beta*, *IL6* ir *TNF-α* genuose esančiais vieno nukleotido polimorfizmais.

Artimiausias analogas US2021164993A1 atskleidžia odos jautrumo UV spinduliui sąsają su vienu ar daugiau genų, parinktų iš grupės, kurią sudaro MCIR, TYR, SLC45A2 (MATP),

SLC24A5, ASIP regionas, HERC2, IRF4, EXOC2, STXBP5L, 6p25.3 regionas, AIP1 ir

NCOA6. Šiame išradime jautrumo UV spinduliui sąsaja nurodyta su TYR ir SLC45A21 bei SLC45A22 genais. Artimiausias analogas įtraukia abu šiame išradime aprašytus genus į genų panelę naudojamą nustatyti odos jautrumą saulei.

Artimiausiame analoge odos elastingumo sąsaja yra nurodyta su vienu ar daugiau genų, parinktų iš grupės, kurią sudaro: ACE, HIF1A, ELN, SRPX HMCN1, TMEM8, MMP1 ir MTHFR. Šis išradimas odos elastingumo sąsaja nurodo su COL1A1, MMP1, ELN ir AHR. COL1A1 ir AHR genų naudojimas nėra aprašomas odos elastingumo funkcijai nustatyti.

Artimiausiame analoge odos drėgmės sąsaja yra nurodyta su vienu ar daugiau genų, parinktų iš grupės, kurią sudaro AQP3 ir FLG. Šiame išradime aprašoma sąsaja tarp odos drėkinimo funkcijos ir AQP3, kas jau yra atskleista artimiausiame analoge.

Artimiausiame analoge aprašoma odos uždegimo ir alergijos sąsaja su vienu ar daugiau genų parinktų iš grupės, kurią sudaro: FLG, HLA-C, IL12B, IL23R, TNIP1, IL13, MTHFR, tarpgeninis regionas tarp HLA-DRA ir BTNL2, tarpgeninis regionas tarp PRELID2 ir KCTD16 ir TNFAIP3. Šiame išradime aprašoma sąsaja tarp uždegiminių procesų ir tarp IL1Beta, IL6 ir TNF-α genų. Nei vienas artimiausiame analoge aprašomų genų nėra identiškas šiame išradime naudojamiems genams.

Artimiausiame analoge aprašoma odos antioksidacinės ir apsauginės funkcijos asociacija su SOD2, GPX1, CAT, NQO1, GLO1 ir AGER genais. Šis išradimas tai pačiai asociacijai rasti tiria SOD2, GPX1, CAT, NRF2 ir NQO1 genus.

Identifikavus šiuose genuose esančius polimorfizmus, duomenys yra apdorojami naudojant algoritmą ir yra pateikiamas koeficientas, rodantis žmogaus odos funkcijos būklę. Algoritmui pasirinktas polimorfizmų rizikos skaičiavimo modelis nusako galimus 3 skirtingus genetinio tyrimo variantus kiekvienam polimorfizmui. Toks modelis leidžia įvertinti genetinę riziką konkrečiai odos funkcijai, atsižvelgiant į visas 3 galimas genetines kombinacijas: homozigotinę, heterozigotinę ir laukinių alelių porą. Kiekviena grupė nepriklausomai renka koeficientą, rodantį žmogaus odos funkcijos būklę. VNP duodantis teigiamą naudą odai gauna

+1, silpnai neigiami 0, stipriai neigiami -1. Galutinis koeficientas apskaičiuojamas pagal neigiamų ir teigiamų VNP santykį.

TINKAMIAUSI ĮGYVENDINIMO VARIANTAI

Šis išradimas pageidautinai funkcionuoja tokiu principu:

1. pacientas priduoda mėginį (kraujas, seilės);
2. laboratorijoje atliekamas DNR skyrimas;
3. atliekamas Tikro Laiko PGR genotipavimas;
4. algoritmas pagal identifikuotą neigiamų ir teigiamų vieno nukleotido polimorfizmų kiekį ir homozigotiškumą automatiškai įvertina rezultatus ir pateikia rizikos koeficientą.

Homozigotinė būseną be mutacijų nurodytuose genuose (lent. 1) - neigiamų pokyčių tiriamame gene nėra ir šis genas funkcionuoja optimaliai, todėl algoritmo suteikiama reikšmė +1. Heterozigotinė būseną - pusė turimos genetinės informacijos nurodytuose genuose (lent. 1) yra su mutacija ir kita pusė -be. Tokiu atveju, mutacijos poveikis silpnesnis ir suteikiama reikšmė yra 0. Homozigotinė būseną su mutacija - visa turima genetinė informacija yra su mutacija. Tokiu atveju, mutacijos poveikis stipresnis ir suteikiama reikšmė yra -1. Šiame dokumente aprašomas genetinis tyrimas leidžia aptikti ir nustatyti visas 3 anksčiau minėtas

būsenas. Pagal gautus genetinius rezultatus algoritmo pagalba kiekvienai kategorijai suskaičiuojamas rizikos laipsnis. Dauguma genetiškai užprogramuotų požymių jaunesniame amžiuje gali būti nepastebimi ir pradėti ryškėti tik sulaukus 30 metų. Šis genetinis tyrimas leidžia identifikuoti genetiškai užprogramuotus odos senėjimo požymius ir pritaikant konkrečias medžiagas sumažinti šių požymių pasireiškimą ateityje. Pagal gautus rezultatus pateikiamos personalizuotos rekomendacijos.

Pavyzdžiui, nustatius didelę riziką odos apsauginėje ir antioksidacinėje funkcijoje, pacientui duodama rekomendacija atkreipti dėmesį į stresą, mitybą, žalingus įpročius, kurie gali padidinti laisvųjų radikalų kiekį organizme, taip pat tokiems pacientams rekomenduotina naudoti veido odos priežiūros priemones su antioksidantais, apsaugines priemones nuo UV spindulių visus metus. Esant tokiam sutrikimui, reikėtų nenaudoti agresyvių veido odos priežiūros priemonių kasdienėje rutinoje, papildomai naudoti odos barjerą puoselėjančias medžiagas priklausomai nuo odos tipo.

Nustatius didelę riziką odos elastingumo ir odos atraminėje funkcijoje reikia atkreipti dėmesį, kad oda yra linkusi į raukšlių susidarymą ir kad rekomenduotina naudoti prevencines priemones prieš raukšlių susidarymą. Taip pat esant sutrikusiai kolageno funkcijai gali išryškėti kraujagyslių tinklas, nes kolageno skaidulos neišlaiko kraujagyslių. Esant tokiam sutrikimui rekomenduotina naudoti kosmetines priemones su kolageno reprodukciją skatinančiais ingredientais, bei rinktis tokio pat tipo kosmetines procedūras, papildomai vartoti maisto papildus.

Nustatius didelę odos imuninio atsako funkcijos riziką, pacientui rekomenduojama atkreipti dėmesį į tai, kad oda yra turi padidėjusį jautrumą įvairioms cheminėms medžiagoms bei kitiems išorės dirgikliams. Rekomenduotina nenaudoti agresyvių kosmetinių procedūrų; cheminių šveitiklių, lazerinių, mezoterapinių procedūrų bei rinktis švelnesnius veido odos priežiūros produktus kasdienėje rutinoje.

Nustatius dideles odos drėkinimo funkcijos problemas pacientas informuojamas, kad šios mutacijos lemia odos polinkį į išsausėjimą ir kad, atsižvelgiant į tai, yra rekomenduotina rinktis tam tikrus labiau drėkinančius odos produktus bei stebėti skysčių vartojimą.

Nustačius didelę apsaugos nuo UV spinduliu funkcijos riziką, pacientas informuojamas, kad šios mutacijos turi neigiamą įtaką melanino produkcijai, dėl ko susilpnėja odos atsparumas žalingam saulės spinduliuotės poveikiui. Taip pat didėja pigmentacijos, melanomos rizika, priešlaikinis senėjimas, smulkių raukšlių tinklo susidarymas, odos papilkėjimas. Rekomenduojama saugotis tiesioginių saulės spindulių, visus metus naudoti SPF apsaugą, nesilankyti soliariumuose.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Odos polinkio į tam tikrus fenotipinius pokyčius nustatymo būdas, apimantis:

- vieno nukleotido polimorfizmų nustatymą iš anksto atrinktuose vieno nukleotido polimorfizmų regionuose, kur kiekvienas šiuose regionuose esantis vieno nukleotido polimorfizmas yra genetiškai susietas su odos polinkiu į tam tikrus fenotipinius pokyčius, kur iš anksto atrinktus vieno nukleotido polimorfizmų regionus sudaro:

- pirmasis iš anksto nustatytų vieno nukleotido polimorfizmų regionų pogrupis, apimantis vieno nukleotido polimorfizmų regionus, genetiškai susijusius su odos atsparumu saulės poveikiui ir esančius genuose TYR, SLC45A21 ir SLC45A22;

- antrasis iš anksto nustatytų vieno nukleotido polimorfizmų regionų pogrupis, apimantis vieno nukleotido polimorfizmų regionus, genetiškai susijusius su odos elastingumu ir jos atramine funkcija ir esančius genuose MMP1 ir ELN;

- trečiasis iš anksto nustatytų vieno nukleotido polimorfizmų regionų pogrupis, apimantis vieno nukleotido polimorfizmų regioną, genetiškai susijusį su odos drėkinimo funkcija ir esantį gene AQP3;

- ketvirtasis iš anksto nustatytų vieno nukleotido polimorfizmų regionų pogrupis, apimantis vieno nukleotido polimorfizmų regionus genetiškai susijusius su odos antioksidacine funkcija ir esančius genuose SOD2, GPX1, CAT ir NQO1;

- koeficiento priskyrimą kiekvienam fenotipiniam polinkiui, kur koeficientas nustatomas pagal vieno nukleotido polimorfizmą, turinčių įtaką tam tikram odos fenotipui, kiekį ir homologiją;

individualizuoto asmens odos priežiūros režimo pateikimą pagal nustatytą koeficientą, susijusį su odos polinkiu į atsparumą saulės ir oksidaciniam poveikiams ir atsparumą elastingumo ir drėgmės praradimui;

b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad apima:

- antrojo pogrupio vieno nukleotido polimorfizmų buvimas ar nebuvimas nustatomas COL1A1 ir/arba AHR genuose;

- ketvirtojo pogrupio vieno nukleotido polimorfizmų buvimas ar nebuvimas

nustatomas NRF2 gene;

- penktojo pogrupio vieno nukleotido polimorfizmų buvimas ar nebuvimas nustatomas TNF- α ir/arba IL6 ir/arba IL1Beta genuose.

2. Būdas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad bent dalis genotipo yra nustatoma atliekant tikralaikę polimerazės grandininę reakciją arba taikant sekoskaitą.

3. Būdas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad papildomai apima nustatymą, ar vieno nukleotido polimorfizmas turi heterozigotinę ar homozigotinę formą, nuo kurios priklauso odos fenotipinio polinkio koeficiento nustatymas.

4. Būdas pagal 3 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad koeficientui suteikiama -1 vertė, kai vieno nukleotido polimorfizmo nėra, 0 vertė, kai vieno nukleotido polimorfizmas turi heterozigotinę formą ir +1 vertė, kai vieno nukleotido polimorfizmas turi homozigotinę formą.

5. Atitinkamos odos priežiūros režimo parinkimas, naudojant nustatytus duomenis pagal bet kurį iš ankstesnių 1-4 punktų.