



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2020 00003**

(22) Data de depozit: **07/01/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/08/2021 BOPI nr. **8/2021**

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "VICTOR BABEȘ" DIN
TIMIȘOARA, PIAȚA EFTIMIE MURGU
NR.2 A, TIMIȘOARA, TM, RO**

(72) Inventatori:
• **CHIRIȚĂ-EMANDI ADELA,
STR.1 DECEMBRIE 1918 NR.45A,
TIMIȘOARA, TM, RO;**

• **NICULESCU MIHAI-DINU, 2506 BONNIE
BRAE RD., DURHAN, NC, US;**
• **PIIU MARIA, STR.MARTIR OVIDIU
MUNTEANU NR.9, TIMIȘOARA, TM, RO;**
• **ANDREESCU NICOLETA-IOANA,
STR.VÂLCEA NR.1, TIMIȘOARA, TM, RO;**
• **ZIMBRU CRISTIAN-GRIGORE, STR.XLV
NR.6, AP.1, SAT.ȘAG, COMUNA ȘAG, TM,
RO**

(54) **PROCEDEU CARE, UTILIZÂND MODELE NUTRIGENETICE,
PERMITE IDENTIFICAREA ADULȚILOR CU OBEZITATE
ȘI DISLIPIDEMIE CARE VOR RĂSPUNDE FAVORABIL
LA TRATAMENT HIPOLIPEMIANT**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de identificare a adulților cu obezitate și dislipidemie care vor răspunde favorabil la tratamentul hipolipemiant. Metoda, conform invenției, constă în etapele de:

1- evaluare privind istoricul medical al pacientului privind următoarele date: sex, greutate, înălțime, istoric medicamentos, analize de sânge biochimice, ADN- genotip prin tehnici de genetică moleculară pentru mai multe polimorfisme uninucleotidice,

2- modelarea matematică în funcție de sexul pacientului, pe baza modelelor de regresie, în care

variabila dependentă este răspunsul la tratament estimat prin valoarea colesterolului și polimorfismele genetice sunt variabile independente-predictori și 3- interpretarea rezultatului modelului privind valoarea Colesterol total estimată din scor genetic (Y), astfel că, dacă valoarea Y este mai mică de 200, pacientul are o probabilitate de 81% să răspundă la tratamentul cu medicație pentru dislipidemie.

Revendicări: 13



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 22 000 03
Data depozit 07 - 01 - 2020 ..

DESCRIEREA INVENȚIEI**A. Titlul invenției.**

Procedeu care, utilizând modele nutrigenetice, permite identificarea adulților cu obezitate și dislipidemie care vor răspunde favorabil la tratament hipolipemiant.

B. Domeniul tehnic.

Invenția se referă la un procedeu destinat domeniului medical/farmaceutic, care presupune calcularea unui scor de risc genetic pentru adulții cu obezitate și dislipidemie, care indică probabilitatea ca aceștia să răspundă la tratamentul cu medicație hipolipemiantă.

Problema corelației bolilor de obezitate și dislipidemie cu anumiți factori genetici a făcut obiectul unor invenții anterioare.

C. Stadiul tehnicii

Este cunoscută o Metodă de analiză epigenetică pentru determinarea riscului genetic clinic (WO 2016/112031 A1). Această metodă determină riscul ca un anumit individ să sufere de o boală metabolică, fără a indica însă predispoziția acestuia de a răspunde sau nu la tratament.

De asemenea, este cunoscută o Metodă pentru determinarea unei nutriții personalizate și unei diete utilizând nutrigenetica și date fiziologice (US2010113892 A1). Autorii acestui brevet au revendicat o metodă de nutriție personalizată, cu o viziune mai largă dar mai nespecifică față de invenția propusă spre brevetare.

În plus, este cunoscut un Program pentru a reglementa condițiile de sănătate "Program for regulating health conditions" (United States Patent Application 20050095628 <http://www.freepatentsonline.com/y2005/0095628.html>). Față de acest program brevetat, invenția propusă adresează în mod specific metabolismul lipidic și răspunsul la tratamentul hipolipemiant.

D. Problema tehnică pe care o rezolvă invenția

Problema pe care o rezolvă invenția propusă este de identifica acei indivizi pentru care tratamentul hipolipemiant uzual/clasic va da rezultatele așteptate, astfel încât doar acestora să le fie administrat un asemenea tratament. Este cunoscut că tratamentul hipolipemiant uzual/clasic are efecte adverse asupra pacienților, astfel încât, cunoscând pacienții asupra cărora un asemenea tratament ar putea fi eficient, s-ar reduce atât consecințele negative asupra sănătății respectivilor pacienți, cât și povara financiară asupra individului, sistemului de sănătate și a societății în general.

Procedeu care stă la baza invenției va permite cadrelor medicale să identifice acei pacienți cu obezitate și dislipidemie care vor avea beneficii sub tratamentul cu medicație hipolipemiantă.

E. Avantajele invenției

Prin aplicarea invenției, se vor atinge următoarele obiective:

- va ajuta cadrele medicale să evite administrarea tratamentelor hipolipemiante clasice în cazul unor pacienți care suferă de dislipidemie și obezitate, tratamente care nu doar că ar fi ineficiente în cazul lor, ci ar avea și efecte adverse;
- va ajuta persoanele cu dislipidemie și obezitate să primească un tratament eficient, individualizat care le va aduce beneficii pentru sănătate;
- va ajuta profesioniștii din sănătate să dezvolte un plan de management personalizat pentru tratamentul dislipidemiei, în funcție de riscul pe care fiecare individ îl are de a răspunde sau nu la tratament;
- va limita costurile pacienților / statului pentru achiziționarea tratamentelor cu medicație hipolipemiantă.

F. Contextul invenției:

Prevalența obezității este în continuă creștere atât pe plan mondial cât și național. În România, prevalența persoanelor cu exces ponderal la adulți este de 53,1% pentru bărbați (din care 16,9% cu obezitate) și de 49,1% pentru femei (din care 21,2% cu obezitate). Tendința generală este una de înrăutățire a situației, rata de creștere a obezității la copii în



România fiind una din cele mai înalte din Europa (5% în opt ani), conform Strategiei Naționale de Sănătate 2014-2020.

Impactul economic al obezității pe plan mondial este estimat anual la 2 trilioane USD cuprinzând, pe lângă cheltuielile medicale aferente și costurile economice indirecte (morbiditate și mortalitate crescute, reducerea productivității și a calității vieții, etc.). În Statele Unite ale Americii, Centers for Disease Control (CDC) estimează că 147 miliarde USD sunt folosiți numai pentru tratamentele medicale asociate obezității.

În contextul creșterii continue a costurilor aferente obezității și a prevalenței crescânde a acestei boli, inclusiv în rândul populației tinere, este necesară includerea de noi abordări terapeutice și preventive, inclusiv folosind metode nutrigenomice pentru un tratament personalizat și eficient. Deși cercetările în acest domeniu au făcut progrese semnificative, traducerea acestor cunoștințe într-un serviciu de sănătate publică nu a avut loc încă.

Cu toate că, în general, exista un consens larg în ceea ce privește modalitățile de monitorizare și evaluare a patologiei metabolismului lipidic asociate obezității, mecanismul acestor modificări este departe de a fi explicat adecvat.

Riscul de obezitate, precum și riscul de incidenta și evoluție dislipidemiei sunt parțial dependente de profilul genetic și/sau epigenetic al indivizilor. Profilul lipidic și răspunsul la tratament sunt variabile, în funcție de sex, profil genetic, profil endocrin și alți factori necunoscuți sau incomplet caracterizați.

În contextul profilului genetic, sunt cunoscute polimorfisme în gene care reglează căi metabolice în sinteză colinei (gena PEMT), a sintezei de betaina din colină (gena CHDH), a donării de metil de la 5-MTHF la homocisteina și sinteza de 5-MTHF (genele MTHFD și MTHFR), a transportului intracelular al colinei, precum și polimorfisme ale genei FADS2, al cărei produs (delta-6-desaturaza) reglează viteza reacției de desaturare a acizilor grași esențiali; care prezintă efecte dovedite asupra metabolismului lipidic sau sunt asociate cu patologia steatozei hepatice.

Patologia asociată obezității este complexă, și include atât afectare cardiovasculară, hepatică, renală, pulmonară, a aparatului locomotor, cerebrală, imunologică, cât și bolile metabolice (diabet zaharat tip 2) și cancerale. Modificările metabolismului lipidic asociate

obezității reprezintă un domeniu de interes special atât în ceea ce privește riscul cardiovascular pe care acestea îl comporta, în special atunci când sunt asociate și alte boli (diabet zaharat, steatoza hepatică, ateroscleroza etc.), cât și ca instrument de monitorizare în cursul tratamentului. În contextul invenției propuse, este important de precizat că dislipidemiile asociate obezității, deși complexe și heterogene, sunt monitorizate clinic utilizând variabile biochimice obținute din sânge printre care valoarea colesterolului total.

Invenția propusă se concentrează asupra identificării persoanelor cu obezitate și dislipidemie care, fiind purtătoare ale unor combinații de polimorfisme genetice, nu vor răspunde la tratamentul cu medicație hipolipemiantă.

G. Exemple de realizare a invenției

Următoarele definiții vor fi utilizate:

Obezitatea este definită prin Indice de Masă Corporală $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$.
 $IMC = \text{greutatea} / (\text{înălțimea} \times \text{înălțimea})$

Dislipidemia la evaluare este definită prin colesterol total seric $\geq 200 \text{ mg/dl}$ SAU HDLc $\leq 50 \text{ mg/dl}$, la femei și $\leq 40 \text{ mg/dl}$, la bărbați SAU trigliceride serice $\geq 150 \text{ mg/dl}$.

Dislipidemia anamnestic este definită prin faptul că pacientul cunoaște că are dislipidemie, fie că e sau nu sub tratament.

Tratamentul hipolipemiant este definit ca medicație orală cu statine, sau statine plus fibrati, sau statine plus fibrati plus ezetimib, sau fibrati, sau omega3, sau ezetimib.

Răspunsul pozitiv la tratamentul hipolipemiant este situația în care, ulterior administrării tratamentului pentru dislipidemie, colesterolul total, trigliceride și HDL sunt în valori normale la evaluare.

Polimorfism genetic este un polimorfism uninucleotidic (single-nucleotide polymorphism în engleză, abreviat SNP, notat/codat „rs” urmat de câteva numere) definit ca o variație în secvența ADN-ului genomic ce interesează un singur nucleotid - A, T, C sau G - observată pe cei doi cromozomi omologi ai unui individ.

Nume gene în care sunt localizate SNP studiate:



ABCB4—ATP binding cassette subfamily B member 4;

CHDH—choline dehydrogenase;

FADS2—fatty acid desaturase 2;

MTHFD1—methylenetetrahydrofolate dehydrogenase;

MTHFR—methylenetetrahydrofolate reductase;

SCD—stearoyl-CoA desaturase;

PEMT—phosphatidylethanolamineN-methyltransferase;

PNPLA3—patatin-like phospholipase domain containing 3.

Vor fi prezentate două exemple de realizare a invenției:

Exemplul 1 de realizare a invenției:

Etapă 1 – Evaluarea datelor necesare pentru procedeul de calcul

Prima etapă constă în evaluarea istoricului medical al pacientului, pentru a stabili că sunt îndeplinite următoarele premise: acesta suferă de obezitate și dislipidemie și are vârsta între 18 și 70 de ani; această etapă implică analiza următoarelor date: sex, greutate, înălțime, istoric medicamente

Mai mult, această etapă implică:

- Evaluarea analizelor de sânge biochimie (colesterol, HLD, LDL, trigliceride).
- Evaluarea analizelor de sânge ADN - genotip ce implică tehnici de genetică moleculară pentru mai multe polimorfisme uninucleotidice (single-nucleotide polymorphism în engleză, abreviat SNP, notat/codat „rs” urmat de câteva numere) astfel: rs4846052 gena MTHFR, rs7849 gena SCD1, rs6807783 gena CHDH, rs1801133 gena MTHFR, rs4244593 gena PEMT, rs9655950 gena ABCB4, rs8068641 gena PEMT, rs2526678 gena FADS2, rs7634578 gena CHDH, rs738409 gena PNPLA3, rs10135928 gena MTHFD1.

Condiții tehnice în Etapa 1



Test biochimic uzual pentru colesterol, HLD, LDL, trigliceride, folosind Sistemul de chimie Ortho Clinical Vitros 350 (Ortho Clinical Diagnostics Inc. New Jersey, SUA), utilizând reactivi standardizați, după protocolul producătorului.

Testul genetic pentru evaluare genotip include un kit de testare genetică având un cod unic de identificare, având un dispozitiv de colectare a ADN-ului (vacutainer EDTA 2 ml).

ADN-ul genomic este izolat din sânge întregal folosind MagCore® Extractor System și MagCore® Genomic DNA Whole Blood Kit (RBC Bioscience, New Taipei City, Taiwan), în urma protocolului producătorului.

Tehnicile de genetică moleculară pot fi efectuate prin tehnica Polimerase Chain Reaction (PCR) sau prin secvențiere de ultimă generație (Next Generation Sequencing -NGS).

Genotizarea NGS folosește un secvențiator MiSeq (Illumina, San Diego, SUA) și un kit de secvențiere hotspot personalizat pentru 55 SNP-uri din 14 gene selectate anterior.

Etapă 2 – Modelarea matematică în funcție de sexul persoanei

Modelarea se bazează pe modele de regresie pentru cei care sunt cunoscuți cu dislipidemie și se afla în tratament cu medicație hipolipemiantă. Variabilă dependentă (outcome) este răspunsul la tratament estimat prin valoarea colesterolului, iar polimorfismele genetice sunt variabilele independente (predictori).

Pentru femei, modelul folosește ca predictori valorile rs4846052 gena MTHFR, rs7849 gena SCD, rs6807783 gena CHDH.

Pentru bărbați, modelul folosește ca predictori valorile rs1801133 gena MTHFR, rs4244593 gena PEMT, rs9655950 gena ABCB4, rs8068641 gena PEMT, rs2526678 gena FADS2, rs7634578 gena CHDH, rs738409 gena PNPLA3, rs10135928 gena MTHFD1.

Formulă model de calcul a probabilității de răspuns la tratament (colesterol total – variabilă dependentă):

Y (bărbați) = 356.238+(rs1801133*-51.708)+(rs4244593*-24.040)+(rs9655950*-53.208)+(rs8068641*-43.422)+(rs2526678*-47.798)+(rs7634578*-58.850)+(rs738409*-17.737)+(rs10135928*47.207)



$$Y \text{ (femei)} = 200.580 + (\text{rs}4846052 * -23.674) + (\text{rs}7849 * 34.205) + (\text{rs}6807783 * -21.036)$$

Unde:

Y= valoare Colesterol total estimată din scor genetic (valoare care indică probabilitatea de răspuns la tratament)

Rs (predictorii) = valoarea fiecărui SNP, care poate fi 0, 1 sau 2 – conform Tabelului 1 de mai jos); această valoare va fi înlocuită ca atare în formulele Y (bărbați) și Y (femei) de mai sus.

Tabel 1. Codare predictorii - polimorfisme genetice: 0, 1, 2

Model	Gena	Număr rs	0	1	2
FEMEII	MTHFR	rs4846052	T/T	T/C	C/C
	SCD1	rs7849	T/T	T/C	C/C
	CHDH	rs6807783	G/G	G/C	C/C
BĂRBAȚI	MTHFR	rs1801133	G/G	G/A	A/A
	PEMT	rs4244593	T/T	T/G	G/G
	ABCB4	rs9655950	C/C	C/T	T/T
	PEMT	rs8068641	A/A	A/G	G/G
	FADS2	rs2526678	G/G	G/A	A/A
	CHDH	rs7634578	C/C	C/T	T/T
	PNPLA3	rs738409	C/C	C/G	G/G
	MTHFD1	rs10135928	T/T	T/C	C/C

Condiții tehnice etapa 2

Estimarea valorii Y poate folosi metode asistate de calculator (program Excel).

Etapa 3 - Interpretarea rezultatului modelului

Dacă valoarea calculată din model pentru variabila Y este mai mică decât 200, individul poate fi încadrat ca având probabilitate de 81% să răspundă la tratamentul cu medicație pentru dislipidemie. Dacă valoarea calculată pentru Y este mai mare decât 200, modelul nu poate oferi o probabilitate suficient de bună pentru încadrare.

Exemplul 2 de realizare a invenției:

Formulă pentru predicția categoriei în care se află pacientul. Sunt definite 4 categorii pe baza efectului statinelor (0 – fără efect, 1 – cu efect) și a nivelului colesterolului (0 – colesterol scăzut, 1 – colesterol ridicat), precum S0C0, S0C1, S1C0, S1C1. Pragul inferior pentru colesterol ridicat este considerat 200 mg/dl. Pentru fiecare categorie se calculează un scor conform formulei prezentate mai jos.

$$Scor(C) = \sum_{i=1}^n M_i(SNP_i, SS')$$

Unde:

C reprezintă categoria, M_i reprezintă matricea stărilor, n reprezintă numărul de predictorii (rs -uri), SNP_i reprezintă predictorul curent iar SS' reprezintă coloana selectată pe baza categoriei C .

Pentru identificarea categoriei StatineColesterol (prezentată mai sus) se va selecta categoria cu cel mai mare scor ca fiind cea definitorie pentru pacient. Precizia identificării categoriei corect, pentru genul masculin, este de 92.5% iar acuratețea este de 70.6%, iar pentru genul feminin precizia este de 76.25% și acuratețea de 92%.

H. Bibliografie

[1] FDA. (2014). Medical Foods Guidance Documents & Regulatory Information.

Available:

<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/MedicalFoods/>



[2] WHO. (2015, June 15). Obesity. Available:

http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/

[3] CDC. (2015, June 15). What causes childhood obesity? Available:

<http://www.cdc.gov/obesity/childhood/problem.html>

[4] WHO. (2015, June 16). Global Health Observatory Data Repository. Available:

<http://apps.who.int/gho/data/view.main>

[5] R. Dobbs, S. Sawers, F. Thompson, J. Manyika, J. Woetzel, P. Child, S. McKenna, and S. Spatharou, "Overcoming obesity: An initial economic analysis," McKinsey Global Institute, 2014.

[6] CDC. (2015, June 15). Adult Obesity Facts. Available:

<http://www.cdc.gov/obesity/data/adult.html>

[7] C. O. T. E. COMMUNITIES, "A Strategy for Europe on Nutrition, Overweight and Obesity related health issues," 2007.

[8] C. Prospective Studies, G. Whitlock, S. Lewington, P. Sherliker, R. Clarke, J. Emberson, J. Halsey, N. Qizilbash, R. Collins, and R. Peto, "Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies," *Lancet*, vol. 373, pp. 1083-96, Mar 28 2009.

[9] N. J. Bosomworth, "Approach to identifying and managing atherogenic dyslipidemia: a metabolic consequence of obesity and diabetes," *Can Fam Physician*, vol. 59, pp. 1169-80, Nov 2013.

REVENDICĂRI

1. Procedeul obținut prin utilizarea modelelor nutrigenetice, caracterizat prin aceea că permite identificarea adulților cu obezitate și dislipidemie care vor răspunde la tratament hipolipemiant.
2. Procedeul conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că include măsurarea unui biomarker (colesterol) care are o corelație cu starea de sănătate a individului.
3. Procedeul conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că tulburarea de sănătate este legată de dislipidemie și obezitate.
4. Procedeul conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că identificarea adulților care vor răspunde la tratament hipolipemiant poate fi calculată prin două formule matematice.
5. Procedeul conform revendicărilor 1 și 4, caracterizat prin aceea că una dintre formulele matematice utilizate include un grup de Polimorfisme genetice.
6. Procedeul conform revendicării 1, 4 și 5, caracterizat prin aceea că Polimorfismele genetice incluse în formula matematică sunt: rs4846052 gena MTHFR, rs7849 gena SCD1, rs6807783 gena CHDH, rs1801133 gena MTHFR, rs4244593 gena PEMT, rs9655950 gena ABCB4, rs8068641 gena PEMT, rs2526678 gena FADS2, rs7634578 gena CHDH, rs738409 gena PNPLA3, rs10135928 gena MTHFD1.
7. Procedeul conform revendicărilor 1, 4, 5 și 6, caracterizat prin aceea că formula pentru a determina genotipul pentru femei este: $Y(\text{femei}) = 200.580 + (\text{rs4846052} * -23.674) + (\text{rs7849} * 34.205) + (\text{rs6807783} * -21.036)$.
8. Procedeul conform revendicărilor 1, 4, 5 și 6, caracterizat prin aceea că formula pentru a determina genotipul pentru bărbați este $Y(\text{bărbați}) = 356.238 + (\text{rs1801133} * -51.708) + (\text{rs4244593} * -24.040) + (\text{rs9655950} * -53.208) + (\text{rs8068641} * -43.422) + (\text{rs2526678} * -47.798) + (\text{rs7634578} * -58.850) + (\text{rs738409} * -17.737) + (\text{rs10135928} * 47.207)$.



9. Procedeu conform revendicărilor 1, 4, 5, 6, 7 și 8, caracterizat prin aceea că alelele SNP-urilor din Polimorfismele genetice (rs) se vor înlocui în formula matematică cu 0, 1 sau 2 – conform Tabelului de mai jos.

Model	Gena	Număr rs	0	1	2
FEMEI	MTHFR	rs4846052	T/T	T/C	C/C
	SCD1	rs7849	T/T	T/C	C/C
	CHDH	rs6807783	G/G	G/C	C/C
BĂRBAȚI	MTHFR	rs1801133	G/G	G/A	A/A
	PEMT	rs4244593	T/T	T/G	G/G
	ABCB4	rs9655950	C/C	C/T	T/T
	PEMT	rs8068641	A/A	A/G	G/G
	FADS2	rs2526678	G/G	G/A	A/A
	CHDH	rs7634578	C/C	C/T	T/T
	PNPLA3	rs738409	C/C	C/G	G/G
	MTHFD1	rs10135928	T/T	T/C	C/C

10. Procedeu conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că tratamentul pentru dislipidemie este fie medicație orală cu statine, sau statine plus fibrati, sau statine plus fibrati plus ezetimib, sau fibrati, sau omega3, sau ezetimib.

11. Procedeu conform revendicării 1, caracterizat prin aceea că acesta cuprinde în plus furnizarea unei evaluări a raportului greutate/înălțime (prin utilizarea formulei indice de masa corporala), tratamentului medicamentos al individului și a unui test de biomarker, înainte de a evalua dacă individul este susceptibil să răspunda la un tratament medicamentos pentru o tulburare de sănătate, bazată pe genotip.

12. Procedeu conform revendicărilor 1 și 4, caracterizat prin aceea că o altă formulă

$$Scor(C) = \sum_{i=1}^n M_s(SNP_i, SS')$$

matematică prin care poate fi obținut este următoarea:

13. Procedeu conform revendicărilor 1, 4 și 12, caracterizat prin aceea că C reprezintă categoria, M_s reprezintă matricea stărilor, n reprezintă numărul de predictorii (rs -uri), SNP_i reprezintă predictorul curent iar SS' reprezintă coloana selectată pe baza categoriei C .

