



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 58683

(13) A

(51) 7 G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ АКТИВНОСТІ ПСОРИАТИЧНОГО ПРОЦЕСУ

1

2

(21) 2002065007

(22) 18 08 2002

(24) 15 08 2003

(46) 15 08 2003, Бюл. №8, 2003 р.

(72) Романенко Всеволод Миколайович, Свистунов Ігор Ваніфатійович, Романенко Кирило Всеволодович

(73) ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО

(57) Спосіб оцінки активності псоріатичного процесу, що включає визначення активності ферменту тимідинфосфорилази, який відрізняється тим, що визначають активність тимідинфосфорилази в сироватці крові хворого і при зменшенні її концентрації нижче $0,44 \pm 0,02$ ум. од. оптичної густини активність псоріатичного процесу оцінюють як високу

Винахід належить до медицини, а саме до дерматології і може бути використаний для визначення активності псоріатичного процесу.

Відомий спосіб визначення активності ферменту тимідинфосфорилази (КФ 2.4.2.4) у псоріатичних висипаннях узятو нами як прототип (1).

Він полягає в тому, що в біоптатах псоріатично зміненої шкіри при вимірюванні проби з [3H]-тимідином визначають концентрацію ферменту тимідинфосфорилази, котра була експериментально ідентифікована зі 100-кДа фракцією - основною базою для інгібіції синтезу ДНК. Збільшення метаболізму тимідину обумовлено високою активністю тимідинфосфорилази (ТФ). Зниження активності ТФ і підвищення проліферації кератиноцитів *in vitro* (у культурі) та *in vivo* (при псоріазі) припускає, що цей фермент може відігравати критичну роль у забезпеченні тимідину, необхідного для проліферації кератиноцитів.

Але цей спосіб має такі недоліки: травматизація ураженої шкіри і неможливість використання засобів зовнішньої терапії в місці біопсії, трудомісткість і тривалість виконання процедури дослідження. Спосіб побічно відбиває дійсну активність ферменту в організмі хворого, оскільки вміст ферменту визначається в конкретній ділянці ураженої шкіри, що веде до недостатньої точності і вірогідності оцінки.

В основу винаходу покладено завдання: створити спосіб оцінки активності псоріатичного процесу, який би спрощував проведення процедури, забезпечував підвищення точності і вірогідності оцінки та скорочення часу дослідження.

Поставлена задача вирішується тим, що в

спосіб оцінки активності псоріатичного процесу, котрий включає визначення активності ТФ, відповідно до винаходу, визначають активність ТФ у сироватці крові хворого і при зменшенні її концентрації нижче $0,44 \pm 0,02$ ум. од. оптичної густини говорять про високу активність псоріатичного процесу.

Особливості метаболізму нуклеїнових кислот і їхніх попередників є універсальними маркерами різних патологічних процесів. Фермент метаболізму тимідину-ТФ - визнано одним з маркерів інтенсивності клітинної проліферації. Інтенсивність проліферативних процесів залежить від активності ферментів «запасного» шляху синтезу попередників ДНК, зокрема піримідинового, одним із яких (ферментів) є ТФ. Ендогенний пул піримідинового попередника ДНК (TMP-тимідинмонофосфат) у клітині залежить не тільки від активності тимідинкінази, що є ключовим ферментом біосинтезу тимідину, а також і від активності ТФ - катаболічного ферменту, який розщеплює тимідин до тиміну (3). ТФ каталізує перетворення різних піримідинових метаболітів у тканинах. Завдяки підвищеній активності тимідинкінази на тлі зниження активності ТФ зростає включення тимідину до TMP, тобто підвищується синтез тимідинфосфату по «запасному» шляху і відповідно - швидкість усього процесу біосинтезу ДНК. Один із основних проявів псоріазу - гіперпроліферація епідермоцитів. У шкірі хворих на псоріаз фіксується підвищений синтез ДНК (4).

Спосіб здійснюють таким чином:

У хворого на інфільтративно-бляшковий псоріаз з кубітальної вени беруть 3 мл крові. Активність ТФ визначають у сироватці крові спектрофотомет-

(13) A

(11) 58683

(19) UA

ричне (2, 3) на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 300нм по збільшенню оптичної густини тиміну у 0,01н розчині NaOH. Питому активність ферменту виражають в умовних одиницях, фіксуючи збільшення оптичної густини тиміну при 300нм на 1мг білка протягом 30хв інкубації.

Було обстежено 56 хворих на інфільтративно-бляшковий псоріаз. У результаті встановлено, що при зменшенні концентрації ТФ у сироватці крові хворих нижче $0,44 \pm 0,02$ ум од оптичної густини, з'являються свіжі висипання, що свідчить про високу активність псоріатичного процесу - посилення процесів клітинної проліферації і біосинтезу ДНК. Зниження активності ТФ обернено корелює з підвищеною проліферацією епідермоцитів при псоріазі, що обумовлено посиленням синтезу тимідинтрифосфату по «запасному» шляху, котрий безпосередньо використовується в зібранні молекул ДНК.

Наводимо конкретні приклади здійснення способу.

Приклад 1

Хворому М., 30 років, лікарем поліклінічного відділення встановлено діагноз обмежений інфільтративно-бляшковий псоріаз. При аналізі сироватки крові показник активності ТФ склав $0,17 \pm 0,01$ ум од оптичної густини, що вказувало на високу активність процесу. У процесі спостереження за хворим зафіксовано появу безлічі свіжих висипань - свідчення прогресуючої стадії захворювання. Призначення адекватного лікування сприяло регресу висипань. При цьому показники активності ТФ нормалізувалися.

Приклад 2

Хворий С., 46 років, надійшов у шкірне відділення з діагнозом поширений інфільтративно-бляшковий псоріаз, стаціонарна стадія. Появу свіжих висипань, ознак прогресування процесу хворий не відмічає. Проведено аналіз активності ТФ

сироватки крові, що склала $0,35 \pm 0,07$ ум од оптичної густини. Незважаючи на те, що це вказувало на високу активність псоріатичного процесу, хворому призначено терапію з використанням дьогтьової мазі й ультрафіолетового опромінення, що призвело до загострення процесу на шкірі з подовженням часу непрацездатності і термінів лікування хворого.

Переваги способу

Запропонований спосіб дозволяє спростити і прискорити оцінку активності псоріатичного процесу, підвищити її надійність і вірогідність, скоротити час дослідження в 3,5 рази. Даний спосіб доступний і легко виконується, вимагає мінімальних матеріальних витрат.

У результаті правильної оцінки активності псоріатичного процесу можливе призначення адекватного лікування, що дозволить уникнути ще більшого загострення процесу і неефективності терапії.

Джерела інформації, взяті до уваги

1 Hammerberg C, Fisher GJ, Voorhees JJ, Cooper KD. Elevated thymidine phosphorylase activity in psoriatic lesions accounts for the apparent presence of an epidermal "growth inhibitor," but is not in itself growth inhibitory // J Invest Dermatol - 1991 - Vol 97, №2 - P 286-290.

2 Борзенко Б.Г., Горбачев А.А., Думанский Ю.В. и др. Возрастные особенности метаболизма тимидина в организме здорового человека, при язвенной болезни и раке желудка // Вопр мед химии - 1986 - Т. 32, № 6 - С. 52-54.

3 Akira K, Vasuhiro H, Setsuro S. Activation of 5'-deoxy-5'-fluoridine by thymidine phosphorylase in human tumors // Chem and Pharm Bull - 1983 - V 31, №1 - P 175-178.

4 Никулин Н.К. Обмен ДНК в коже больных псориазом // Вести, дерматол, и венерол - 1968 - №1 - С. 15-20.