



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105613** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61B 10/00
G01N 33/483 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 09787	(72) Винахідник(и): Степаненко Роман Леонідович (UA), Гичка Сергій Григорович (UA), Туффаха Муін (UA)
(22) Дата подання заявки: 09.10.2015	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.03.2016	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.03.2016, Бюл.№ 6	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ТРИВАЛОЇ РЕМІСІЇ ПСОРІАЗУ У ХВОРИХ НА ЗВИЧАЙНИЙ ПСОРІАЗ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування перебігу тривалої ремісії псоріазу у хворих на звичайний псоріаз, що включає дослідження біопсійного матеріалу (фрагменти інтактної шкіри), причому до та після лікування в шкірі визначають кількість CD68+ макрофагів і по ступеню зменшення кількості цих клітин в сосочковому шарі дерми прогнозують ремісію перебігу захворювання.

UA 105613 U

Корисна модель, що заявляється, належить до галузі медицини, зокрема до дерматології, ревматології, клінічної імунології, терапії, сімейної медицини і призначена для оцінки тяжкості перебігу псоріазу.

Псоріаз є хронічним аутоімунним гіперпроліферативним захворюванням. На цей дерматоз страждає приблизно 2-3 % від загального населення США і Європи. [2, 5, 11].

У останні десятиліття спостерігається зростання рівню захворюваності на псоріаз, в тому числі в Україні. Означилась також тенденція "омолодження" контингенту хворих, які страждають на псоріаз, а також більш тяжкого клінічного перебігу цього дерматозу з резистентністю до ряду загальноприйнятих методів його терапії [4, 5].

Етіологія і патогенез псоріазу на тепер остаточно ще не з'ясовані. На даний момент існують дві основні гіпотези щодо характеру процесу, який призводить до розвитку цього захворювання. Згідно з першою гіпотезою, псоріаз є первинним захворюванням шкіри, при якому порушується нормальний процес дозрівання і диференціювання клітин шкіри з надлишковою проліферацією цих клітин. Аутоімунна агресія Т-лімфоцитів і макрофагів проти клітин шкіри, їх інвазія в товщу шкіри та їх проліферація в шкірі при цьому бачаться як вторинні - реакція організму на надмірне розмноження патологічно змінених кератиноцитів [1, 3, 4, 7, 9, 10].

Друга гіпотеза припускає, що псоріаз є імунно-опосередкованим, імунопатологічним захворюванням з аутоімунним компонентом, при якому проліферація клітин епідермісу є вторинною по відношенню до імунного пошкодження клітин шкіри. На теперішній час загальноприйнятим положенням є те, що виникнення запалення в шкірі у хворих на псоріаз починається з активації запальних клітин саме в шкірі [1, 2, 3, 4, 7, 10, 13, 15].

Враховуючи вищезазначене, на сучасному етапі на додачу до традиційних схем терапії розробляються активні способи, що базуються на використанні системної імуносупресивної терапії. Відповідна імуносупресивна терапія псоріазу рекомендується при середньому та важкому ступені тяжкості дерматозу й передбачає застосування: глюкокортикостероїдів; хвороба-модифікаційних препаратів (цитостатичні імуносупресанти, сульфасалазин, ароматичні ретиноїди); препарати біологічної дії - моноклональні антитіла до фактору некрозу пухлин - альфа (ФНП- α) та його розчинного рецептора (інфліксимаб, адалімумаб, етанарцепт), інших біологічних агентів (анакірна, алефацепт, ефалізумаб, абатацепт); сорбційних методів (плазма- й гемосорбція, плазма-, лімфоцито-, лейкоферез) [6, 8, 12, 14].

Існуючі на даний час способи прогнозування не можуть повною мірою достовірно оцінити прогноз перебігу псоріазу.

Так, відомий спосіб прогнозування перебігу псоріазу у хворих з метаболічним синдромом за вмістом у крові С-реактивного білка (СРБ) та адипонектину включає оцінку клінічних проявів псоріазу з оцінкою ступеня еритеми, інфільтрації, лущення і поширеності патологічного процесу з розрахунком індексу PASI (Psoriatic Area and Severity Index). Хворим на псоріаз визначають вміст у крові СРБ та адипонектину і вираховують коефіцієнт кореляції Пірсона - r між індексом PASI та показниками вмісту в крові СРБ і вмісту в крові адипонектину: при збільшенні вмісту СРБ більш як у 5 разів і зменшенні вмісту адипонектину більш як у 1,5 рази та наявності достовірної позитивної кореляції між індексом PASI та показником вмісту в крові СРБ ($R^2 0,50$, $p < 0,05$) і достовірної негативної кореляції між індексом PASI та показником вмісту в крові адипонектину ($R^2 0,50$, $p < 0,05$) перебіг псоріазу у хворих з метаболічним синдромом слід вважати несприятливим і прогнозувати загострення захворювання. [16].

Проте даний спосіб дозволяє визначити тільки зміни показників крові та не дозволяє вибрати правильну тактику ведення пацієнтів, спрямовану на профілактику несприятливого перебігу захворювання шляхом призначення своєчасної адекватної раціональної терапії.

Відомий також спосіб прогнозування перебігу псоріазу за змінами показників тромбоцитарного гемостазу при порушенні функціонального стану печінки включає оцінку клінічних проявів псоріазу з оцінкою ступеня еритеми інфільтрації, лущення і поширеності патологічного процесу з розрахунком індексу PASI, оцінку показників функціонального стану печінки, визначення показників тромбоцитарного гемостазу - адгезії, агрегації тромбоцитів та фактора Віллебранда і вираховують коефіцієнт кореляції Пірсона (r) між індексом PASI і показниками адгезії, агрегації тромбоцитів та фактора Віллебранда.

Проте даний спосіб не враховує стану безпосередньо шкіри та не дозволяє вибрати правильну тактику ведення пацієнтів, спрямовану на профілактику несприятливого перебігу захворювання шляхом призначення своєчасної адекватної раціональної терапії [17].

В зв'язку з вищенаведеним, не викликає сумніву той факт, що вирішення проблеми прогнозування ступеня тяжкості перебігу псоріазу є надзвичайно актуальним.

Задача, яку вирішує корисна модель, що заявляється, полягає у створенні ефективного способу прогнозування тривалої ремісії псоріазу, який би був точним, інформативним, більш

простим у використанні, швидким у плані проведення, та дозволив отримати найбільш достовірні данні, які б сприяли адекватному та достовірному прогнозуванню перебігу захворювання.

Технічний результат, що досягається при вирішенні задачі, на відміну від прототипу полягає у отриманні можливості точного прогнозування перебігу псоріазу за рахунок визначення в біопсійному матеріалі (фрагменти інтактної шкіри) до та після проведеного курсу лікування кількості CD68+ макрофагів та по ступеню зниження інфільтрації сосочкового шару дерми цими клітинами прогнозувати тривалість ремісії захворювання.

За доступними літературними даними такий спосіб прогнозування перебігу псоріазу не відомий.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові та клінічний огляд, згідно корисної моделі додатково досліджують біопсійний матеріал (фрагменти інтактної шкіри), визначають в сосочковому шарі дерми кількість CD68+ макрофагів до і після проведеного курсу лікування і при зменшенні їх рівня в 2 і більше разів прогнозують тривалу ремісію перебігу псоріазу.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Хворі були поділені на 2 групи. Першу групу склали пацієнти, у яких після проведеного курсу лікування спостерігалась тривала ремісія псоріазу. До другої групи увійшли пацієнти, у яких після проведеного курсу лікування незабаром виник рецидив захворювання. Біопсійний матеріал (фрагменти інтактної шкіри) забирали у одних і тих же пацієнтів до і після проведеного курсу лікування з одних і тих же ділянок. Отриманий матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні протягом доби. В подальшому матеріал проводився по спиртах і заливався у парафінові блоки, з яких готувались гістологічні зрізи товщиною 5-6 мкм. Отримані препарати зафарбовувались гематоксиліном та еозином. Компоненти сполучної тканини виявляли за допомогою комбінованої методики Пікро-Малорі, запальні клітини ідентифікували за допомогою методики Гімзе, стан вуглеводного обміну визначали за допомогою PAS реакції.

Для визначення характеру і розповсюдженості інфільтрації сосочкового шару дерми макрофагами застосовували імуногістохімічну методику з визначенням експресії маркера CD68 (PG-M1). При постановці імуногістохімічної реакції з метою демаскування антигенів була проведена теплова обробка зрізів та блокування неспецифічного зв'язування білків протеїновим блоком "DAKO" і ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком "DAKO", після цього наносились первинні антитіла. За допомогою детекції "DAKO EnVizion +" проводили візуалізацію первинних антитіл. Гістологічні структури для проведення візуалізації імуногістохімічні препарати дофарбовували гематоксиліном Майєра, покривали канадським бальзамом та покривали покривними скельцями. Результати позитивної експресії CD68 оцінювали шляхом підрахунку клітин з позитивним забарвленням у 10 випадково обраних полях зору мікроскопу при збільшенні 400.

Отримані гістологічні та імуногістохімічні препарати вивчали з використанням мікроскопа "Olympus BX 51", цифрової камери "Olympus C 5050 Z" та програмного забезпечення "Olympus DP-Soft". Імуногістохімічні дослідження були проведені в Інституті патології Карл-Тім-Клінікум (м. Котбус, Німеччина).

Достовірність відмінностей порівнюваних величин визначалася за допомогою критерію Стюдента (t). Різниця між середніми значеннями досліджених показників приймалася достовірною з ймовірністю 95 % і вище. Зв'язок між ознаками визначали за допомогою коефіцієнта кореляції. Всі встановлені параметри послужили вихідними даними для статистичного аналізу, який проводився за допомогою пакета прикладних програм "Microsoft Excel - XP". Морфометричний аналіз проведено за допомогою комп'ютерної програми "Olympus DP-Soft". Статистичну обробку результатів дослідження проводили за загальноприйнятими методиками з використанням пакету "STATISTICA 7". Відмінності вважали статистично достовірними при рівні надійності 0,05 і вище.

Конкретні приклади виконання.

Приклад 1. Хворий М., 36 р. Перебував на лікуванні з діагнозом: псоріаз папульозно-бляшковий, стаціонарна стадія, змішаний тип. Хворіє на псоріаз 16 років. Хворий звернувся зі скаргами на висипання та періодичний свербіж. Ступінь тяжкості: PASI-32,5, BSA-40. Після проведеного курсу лікування у хворого спостерігалась тривала ремісія (більше 7 місяців). В біопсійному матеріалі хворого до лікування в сосочковому шарі дерми в ділянці бляшки визначалось 23,0+₋2,7 CD68-позитивних макрофагів. Після лікування аналогічні показники склали 8,8+₋1,1.

Приклад 2. Хворий О., 56 р. Перебував на лікуванні з діагнозом: псоріаз папульозно-бляшковий, стаціонарна стадія, змішаний тип. Хворіє на псоріаз 15 років. Хворий звернувся зі

скаргами на висипання. Ступінь тяжкості: PASI-31,2, BSA-38 Після проведеного курсу лікування у хворого виник рецидив захворювання через 1 місяць. В біопсійному матеріалі хворого до лікування в сосочковому шарі дерми в ділянці бляшки визначалось 22,4+_{2,7} CD68-позитивних макрофагів. Після лікування аналогічні показники склали

5 По запропонованому способу було обстежено 120 хворих на псоріаз, і отримані результати виявили високу інформативність запропонованого способу в порівнянні зі способом-прототипом (табл. 1).

Статистична обробка отриманих результатів виконана на персональному комп'ютері з використанням пакету прикладних програм Microsoft XP "Excel".

10 Кількість позитивних CD68 макрофагів в сосочковому шарі дерми до і після проведеного курсу лікування в групі хворих з тривалою ремісією і у групі хворих з рецидивом псоріазу наведена в таблиці 1.

Таблиця 1

Групи хворих	Кількість CD68-позитивних клітин в 10 полях зору в сосочковому шарі дерми до лікування (n=11)	Кількість CD68-позитивних клітин в 10 полях зору в сосочковому шарі дерми після лікування (n=11)
Група хворих з тривалою ремісією після проведеного лікування	23,1+ _{2,6}	10,8+ _{1,2}
Група хворих з рецидивом псоріазу після проведеного лікування	22,4+ _{2,5}	17,3+ _{1,8}

15 Перевагою запропонованого способу є те, що він дозволяє об'єктивно (доказово на тканинному рівні) встановити, що зменшенні кількості CD68-позитивних макрофагів у сосочковому шарі дерми хворих після проведеного курсу лікування (в 2,5 і більше рази) підтверджує розвиток тривалої ремісії захворювання, а при незначному зменшенні кількості цих клітин (менше 2 разів), існує висока вірогідність розвитку рецидиву псоріазу.

20 Джерела інформації:

1. Долгушин И.И. Нейтрофилы и гомеостаз.- Екатеринбург.-2001.-278 с

2. Клинико-морфологическая диагностика и принципы лечения кожных болезней. Руководство для врачей / М.А. Пальцев, Н.Н. Потекаев, И.А. Казанцева, С.С. Кряжева.- М: ОАО "Издательство "Медицина", 2006.-512 с.

25 3. Куц Л.В. Современные аспекты патогенеза псориаза. // Запорожский медицинский журнал.-2011.- Т. 13, № 5.- С. 29-32.

4. Пинсон И.Я. К вопросу о патогенезе псориаза.// Российский журнал кожных и венерических болезней.-2006.- №2.- С. 24-27.

5. Степаненко В.І. Дерматологія, венерологія: підручник - К.: КІМ, 2012.-848 с.

30 6. Asadullah K.Cytokines: interleukin and interferon therapy in dermatology / K. Asadullah, W. Sterry, U. Trefzer // ClinExp Dermatol.-2002.-Vol. 27. - P. 578-584.

7. Chang E. T-cellactivation is potentiated by cytokines released by lesional psoriatic, but not normal, epidermis / E. Chang, C Hammerberg, G. Fisher, et al. // Arch Dermatol.-1992. - Vol. 128. - P. 1479-85.

35 8. Ettehadi P. Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF) biological activity in psoriatic skin lesions / P. Ettehadi, M. Greaves, D. Wallach, et al. //ClinExp Immunol.-1994.-Vol.96.-P. 146-151.

9. Nockowski P. Novel approach to psoriasis / P. Nockowski, W. Baran // Terapia.-2005.- Vol. 3.- P. 20-24.

40 10. Ozawa M. Immunopathogenesis of Psoriasis / M. Ozawa, S. Aiba // Curr Drug Targets Inflamm Allergy.-2004.- Vol. 3.- P. 137-144.

11. Parisi R. Identification and Management of Psoriasis and Associated Comorbidity (IMPACT) projectteam. "Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence" / R. Parisi, D. Symmons, C. Griffiths, D. Ashcroft // J. InvestDermatoL.-2013. - Vol. 133. - P. 377-85.

45 12. Singri P. Biologic therapy for psoriasis: the new therapeutic frontier / P. Singri, D. West, K. Gordon //Arch Dermatol.-2002. - Vol. 138. - P. 657-63.

13. Trznadel-Budzko E. Nitricoxide and selected biochemical and immunological parameters in pathogenesis of psoriasis vulgaris / E.Trznadel-Budzko. -Pracahabilitacyjna.-1999.

14. Tzu J. Current advancements in the treatment of psoriasis: Immunobiologic agents / J. Tzu, A. Mamelak, D. Sauder // Clin Applied Immunol Rev.-2006. -Vol. 6.-P. 99-130.

15. Yoshinaga Y. Detection of inflammatory cytokines in psoriatic skin / Y. Yoshinaga, M. Higaki, S. Terajima, et al. // Arch Dermatol Res.-1995. -Vol.287.-P. 158-164.

5 16. Патент № 96357, МПК А61Р 17/06 (2006.01), G01N 33/483 (2006.01). Спосіб прогнозування перебігу псоріазу у хворих з метаболічним синдромом за вмістом у крові С-реактивного білка та адипонектину/ Вірстюк Н.Г., Никифоруk М.М.; заявник та патентовласник Вірстюк Н.Г, № а201401267; заявл. 10.02.2014; опубл. 10.02.2015, бюл. № 3.-6с.

10 17. Патент № 87753, МПК А61В 10/00(2014.01). Спосіб прогнозування перебігу псоріазу при порушенні функціонального стану печінки за змінами показників тромбоцитарного гемостазу / Вірстюк Н.Г.; Волошинович М.С; заявник та патентовласник Вірстюк Н.Г. № а201303472; заявл. 21.03.2013; опубл. 25.02.2014, бюл. № 4.-6 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 Спосіб прогнозування перебігу тривалої ремісії псоріазу у хворих на звичайний псоріаз, що включає дослідження біопсійного матеріалу (фрагменти інтактної шкіри), який **відрізняється** тим, що до та після лікування в шкірі визначають кількість CD68+ макрофагів і по ступеню зменшення кількості цих клітин в сосочковому шарі дерми прогнозують ремісію перебігу
20 захворювання.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601