



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/577 (2023.02)

(21)(22) Заявка: 2022118665, 07.07.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.07.2022

Дата регистрации:
11.04.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.07.2022

(45) Опубликовано: 11.04.2023 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, Читинская
медицинская академия, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Кибалина Ирина Владимировна (RU),
Нольфин Николай Алексеевич (RU),
Смоляков Юрий Николаевич (RU),
Фефелова Елена Викторовна (RU),
Цыбиков Намжил Нанзатович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Читинская государственная
медицинская академия Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2603463 C1, 27.11.2016. SU
1686380 A1, 23.10.1991. КИБАЛИНА И.В. и
др. Динамика уровня хемокина ENA-78/
CXCL5 в сыворотке крови и кожном экссудате
у пациентов с атопическим дерматитом.
Медицинская иммунология. 2022; 24(2): 401-
406. Принята к печати 05.01.2022. SHI J. et al.
TLR4 polymorphisms as potential predictors of
atopic dermatitis in (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ РЕЦИДИВА АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к дерматовенерологии и аллергологии, и может быть использовано для прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита. В крови определяют экспрессию толл-подобного рецептора 4 типа (TRL-4) на моноцитах, концентрацию эпителиального пептида, активирующего нейтрофилы (ENA-78). Рассчитывают коэффициент риска развития рецидива $K_{пр}$ по формуле $K_{пр}=1/(1+e^{-(3,156-$

$0,171*TRL4+0,006*ENA78)$. При значении $K_{пр} \geq 0,46$ прогнозируют высокий риск развития рецидива атопического дерматита. При значении $K_{пр} < 0,46$ прогнозируют низкий риск развития рецидива заболевания. Способ обеспечивает повышение точности прогнозирования риска развития рецидива у пациентов с атопическим дерматитом за счет использования оригинальной формулы расчета коэффициента риска развития рецидива $K_{пр}$. 1 табл., 3 пр.

(56) (продолжение):

Chinese Han children. J Clin Lab Anal. 2022 May; 36(5): e24385. Epub 2022 Mar 29.

R U 2 7 9 4 0 8 4 C 1

R U 2 7 9 4 0 8 4 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/577 (2023.02)

(21)(22) Application: **2022118665, 07.07.2022**

(24) Effective date for property rights:
07.07.2022

Registration date:
11.04.2023

Priority:

(22) Date of filing: **07.07.2022**

(45) Date of publication: **11.04.2023** Bull. № 11

Mail address:

**672000, g. Chita, ul. Gorkogo, 39a, Chitinskaya
meditsinskaya akademiya, patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Kibalina Irina Vladimirovna (RU),
Nolfin Nikolaj Alekseevich (RU),
Smolyakov Yuriy Nikolaevich (RU),
Fefelova Elena Viktorovna (RU),
Tsybikov Namzhil Nanzatovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya Chitinskaya gosudarstvennaya
meditsinskaya akademiya Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTION OF THE RISK OF DEVELOPMENT OF RECURRENT ATOPIC DERMATITIS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; dermatovenereology and allergology.

SUBSTANCE: invention can be used to predict the risk of atopic dermatitis recurrence. In the blood, the expression of the toll-like type 4 receptor (TRL-4) on monocytes, the concentration of the epithelial peptide that activates neutrophils (ENA-78) is determined. The risk factor for the development of recurrence K_{pr} is calculated using the formula $K_{pr} = 1 / (1 + e^{-3.156 -$

$0.171 * TRL4 + 0.006 * ENA78}$). A value of $K_{pr} \geq 0.46$ means a high risk of atopic dermatitis recurrence can be predicted. A value of $K_{pr} < 0.46$ means a low risk of developing a relapse of the disease can be predicted.

EFFECT: method improves the accuracy of predicting the risk of recurrence in patients with atopic dermatitis by using the original formula for calculating the risk factor for recurrence K_{pr} .

1 cl, 1 tbl, 3 ex

RU 2 794 084 C1

RU 2 794 084 C1

Изобретение относится к медицине, в частности к дерматовенерологии, аллергологии и может быть использовано для прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита.

Атопический дерматит - хронический аллергический генетически детерминированный дерматоз мультифакторной природы, имеющий сложную патофизиологическую основу и морфологические изменения кожи в зависимости от возраста пациента [1]. Заболевание выявляется повсеместно и способно поражать людей разных возрастных групп. Для дерматоза характерен дебют в раннем детском возрасте, быстрая трансформация из острого процесса в хронический, длительные рецидивы, способствующие усугублению тяжести патологического процесса [2]. Частота рецидива атопического дерматита зависит от тяжести течения дерматоза. Так, при легком течении заболевания с площадью поражения кожи до 10% обострения возникают 1-2 раза в год. При среднетяжелом течении и распространенном кожном процессе с площадью поражения от 10% до 50% рецидивы проявляются 3-4 раза в год. Более 4 раз в год развиваются обострения при тяжелом течении атопического дерматита. Согласно статистическим данным рецидивы дерматоза провоцируются в 60% случаев алиментарными триггерами, реже аэроаллергенами, бытовыми факторами и ксенобиотиками [3]. Соответственно, чем чаще возникают рецидивы у пациента, тем короче период ремиссии, выше риск развития «атопического марша» и осложненного течения дерматоза [4]. Заболевание может за короткий период времени осложниться вторичным инфицированием, развитием тяжелых форм с торпидностью к стандартной терапии, что непосредственно влияет на качество жизни как самого пациента, так и его семьи [5].

В настоящее время не существует специфических критериев для своевременного прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита, чтобы оказать необходимый спектр профилактических мероприятий для предотвращения обострений заболевания, приводящих к инвалидизации и ухудшению качества жизни пациентов.

Известен способ прогнозирования рецидива профессионального аллергического дерматита [6]. Для его осуществления в нейтрофилах крови определяют содержание кислой фосфатазы, подсчитывают количество клеток с положительной реакцией и при их содержании 45% и более от нормы прогнозируют рецидив заболевания.

Недостатком данного способа прогнозирования является его узкая направленность, так как способ предназначен для прогнозирования рецидива профессионального заболевания, связанного с определенным аллергеном.

Известен способ прогноза течения и оценки эффективности лечения атопического дерматита [7]. Способ заключается в определении содержания в сыворотке крови лактоферрина (ЛФ) в мкг/мл, альфа-1-антитрипсина (α 1-АТ) в г/л, альфа-2-макроглобулина (α 2-МГ) в г/л у пациентов с верифицированным атопическим дерматитом. На основании полученных данных рассчитывают коэффициент К по формуле: $K = \text{ЛФ} \times \alpha 1\text{-АТ} \times \alpha 2\text{-МГ}$ и при его значениях от 6 до 15 прогнозируют легкую степень тяжести заболевания, а при 15 и более - среднюю и тяжелую степень тяжести заболевания.

Недостатком данного способа прогнозирования является невозможность использования способа для прогнозирования риска возникновения рецидивов атопического дерматита, так как он прогнозирует тяжесть течения заболевания [8].

Наиболее близким по технической сущности является «Способ диагностики обострения дерматоза при аутоиммунной патологии», взятый в качестве прототипа [9]. Способ основан на определении в сыворотке крови концентрации соматотропного гормона и инсулина. Рассчитывают отношение концентрации соматотропного гормона

к концентрации инсулина, и при значении этого отношения 0,67 и более диагностируют обострение заболевания.

Данный способ недостаточно точен в стадии клинической ремиссии, так как показывает активность патологического процесса при уже развившемся обострении
5 заболевания.

Для повышения точности способа прогнозирования риска развития рецидива у пациентов с атопическим дерматитом определяют экспрессию толл-подобного рецептора 4 типа (TRL-4) на моноцитах в цельной крови, концентрацию эпителиального пептида, активирующего нейтрофилы (ENA-78) в сыворотке крови и на основании полученных
10 данных рассчитывают прогностический коэффициент риска развития рецидива атопического дерматита $K_{пр}$ по формуле: $K_{пр} = 1 / (1 + e^{-(3,156 - 0,171 * TRL4 + 0,006 * ENA78)})$, где:
 $K_{пр}$ - прогностический коэффициент риска развития рецидива атопического дерматита;
 e - экспонента = 2,718; значение 3,156 - свободный коэффициент (intercept); значение
15 0,171 - доверительный коэффициент для TRL4; TRL4 - уровень толл-подобных рецепторов 4 типа на моноцитах в цельной крови (%); значение 0,006 - доверительный коэффициент ENA78; ENA78 - концентрация эпителиального пептида, активирующего нейтрофилы (пг/мл) и при значении прогностического коэффициента $K_{пр} \geq 0,46$ - прогнозируют
высокий риск развития рецидива атопического дерматита, при значении $K_{пр} < 0,46$ -
20 прогнозируют низкий риск развития рецидива заболевания.

Способ осуществляют следующим образом. Производят забор венозной крови натощак в две вакуумные пробирки объемом до 5 мл. В первой пробирке в цельной крови определяют уровень TRL-4 рецепторов на моноцитах методом
25 четырехпараметрического фенотипирования, используя комбинации моноклональных антител к активационным маркерам CD284 фирмы Beckman Coulter (США). Результаты учитывают на проточном цитофлуори-метре Beckman Coulter FC-500 (США), используя стандартные протоколы. Во второй пробирке цельную кровь центрифугируют при
18°C 3000 об/мин в течение 15 минут и в сыворотке крови определяют концентрацию ENA-78 с применением панели моноклональных антител The LEGEND plex TM в
30 соответствии с протоколом производителя методом проточной цитофлуориметрии [10].

В качестве показателей прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита были выбраны показатели TRL-4 (толл-подобный рецептор 4 типа) и ENA-78 (эпителиальный пептид, активирующий нейтрофилы) в ходе пошагового подбора
35 переменных на основании многофакторного анализа при построении математической модели заболевания (Табл.).

Таблица

Прогностическое значение показателей

Переменные	Коэффициент	Стандартная ошибка	Хи-Квадрат Вальда	P=	Доверительный интервал [95%CI]
Intercept	3,156	1,565	4,066	0,0438	23.5 [1.65-1080]
`TRL-4`	-0,1713	0,0549	9,71	0,00183	0.843 [0.733-0.918]
`ENA-78`	0,005755	0,00305	3,549	0,0596	1.01 [1-1.01]

Показатели TRL-4 и ENA-78 имеют достоверные коэффициенты: TRL-4=-0,1713 (p=0,00183), ENA-78=0,005755 (p=0,0596).
45

Для расчета показателей информативности и качества прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита применяли ROC-анализ: специфичность - 80,0%, чувствительность - 95,0%.

Данные показатели непосредственно участвуют в развитии патологического кожного процесса при атопическом дерматите. Хемокин ENA-78 синтезируется в патологически измененной коже кератиноцитами, эозинофилами, фибробластами и активирует миграцию нейтрофилов и моноцитов в патологический очаг из сосудистого русла с синтезом медиаторов воспаления, пролонгируя длительность обострения и увеличивая площадь поражения кожи [11]. Рецептор TRL-4 экспрессируется при атопическом дерматите на моноцитах в коже, являясь маркером повреждения клеток кожи в очаге поражения [12]. Таким образом, данные показатели являются специфическими критериями для атопического дерматита.

Примеры конкретного применения способа.

ПРИМЕР №1.

Пациент К., 25 лет. Жалоб не предъявляет. Имеет отягощенный наследственный анамнез. Болеет атопическим дерматитом с 8 лет. Последнее обострение отмечает 4 месяца назад при употреблении в пищу цитрусовых. Пациенту был выставлен диагноз: Атопический дерматит, распространенная форма, взрослый период, обострение, назначена терапия в условиях стационара в виде антигистаминных препаратов, топических глюкокортикостероидов, анилиновых красителей. Выписка из стационара проводилась при достижении ремиссии. При осмотре кожные покровы сухие, специфических высыпаний нет. Произвели забор венозной крови натощак в две вакуумные пробирки объемом до 5 мл. В первой пробирке в цельной крови определили уровень TRL-4 рецепторов на моноцитах методом четырехпараметрического фенотипирования, используя комбинации моноклональных антител к активационным маркерам CD284 фирмы Beckman Coulter (США) с применением стандартных протоколов на проточном цитофлуориметре. Во второй пробирке цельную кровь центрифугировали при 18°C 3000 об/мин в течение 15 минут и в сыворотке крови определили концентрацию ENA-78 с применением панели моноклональных антител The LEGEND plex TM в соответствии с протоколом производителя методом проточной цитофлуориметрии.

Определили уровень ENA-78 в сыворотке крови и TRL-4 в цельной крови, значения показателей составили 970 пг/мл и 47% соответственно. Рассчитали прогностический коэффициент по формуле $K_{пр} = 1 / (1 + e^{-(3,156 - 0,171 * TRL4 + 0,006 * ENA78)})$, получили значение коэффициента $K_{пр} = 0,16$, что соответствует низкому риску развития рецидива атопического дерматита. Пациенту назначено соблюдение диеты и топическое применение эмоленгов. При наблюдении пациента в динамике в течение 1,5 лет, клинических признаков атопического дерматита не выявлено. Динамическое профилактическое наблюдение пациента продолжено.

ПРИМЕР №2.

Пациент Л., 17 лет. Жалобы на периодический кожный зуд. Пациент болеет атопическим дерматитом с детства. Наследственность не отягощена. При осмотре кожных покровов специфических высыпаний не выявлено. Определили уровень ENA-78 в сыворотке крови и TRL-4 в цельной крови, значения показателей составили 1073 пг/мл и 64% соответственно, рассчитали прогностический коэффициент, получили значение коэффициента равное 0,48, что соответствует высокому риску развития рецидива атопического дерматита. Для профилактики обострения атопического дерматита пациенту назначены наружно эмоленты и топические ингибиторы кальциневрина 2 раза в неделю на 2 месяца, соблюдение диеты. При повторных осмотрах выяснено, что в диете есть погрешности, эмоленты использует редко, а от применения ингибиторов кальциневрина пациент отказался. Через 1,5 недели у пациента появился

стойкий белый дермографизм, выраженная сухость кожи, папуловезикулярные высыпания, лихенификация, что соответствует клиническим проявлениям атопического дерматита. Выставлен диагноз: Атопический дерматит, ограниченная форма, взрослых период, острая стадия. Пациенту назначена стандартная системная и топическая терапия, через 14 дней лечения он выписан с выздоровлением. В период полной ремиссии определили уровень ENA-78 в сыворотке крови и TRL-4 в цельной крови, значения показателей составили 934 пг/мл и 28% соответственно, рассчитали по формуле, получили значение коэффициента равно 0,3, что соответствует низкому риску развития рецидива атопического дерматита. Рекомендовано применение эмоленгов, диспансерное наблюдение за пациентом продолжено.

ПРИМЕР №3.

Пациент О., 23 года. Жалобы на периодически возникающий кожный зуд. Болеет атопическим дерматитом 6 лет. Наследственность отягощена: оба родителя страдают атопическим дерматитом. При осмотре кожные покровы без патологических изменений. Определили уровень ENA-78 в сыворотке крови и TRL-4 в цельной крови, значения показателей составили 917 пг/мл и 36% соответственно, рассчитали прогностический коэффициент и получили значение равно 0,1, что соответствует низкому риску развития рецидива атопического дерматита. Пациенту рекомендовано соблюдение диеты и ежедневное применение увлажняющих кожу средств. При наблюдении пациента в динамике в течение 18 месяцев, клинических признаков атопического дерматита не выявлено. Динамическое профилактическое наблюдение пациента продолжено.

Данный способ прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита использовали у 49 пациентов. Точность диагностики - 90,5%.

Литература

1. Атопический дерматит: клинические рекомендации / под редакцией А.А. Кубанова, Л.С. Намазовой-Барановой, Р.М. Хаитова. - Москва, 2020. - 69 с.
2. Балаболкин И.И. Современные представления о патогенезе и терапии атопического дерматита у детей / И.И. Балаболкин, В.А. Булгакова, Т.И. Елисеева // Фарматека. - 2017. - №1. - С. 53-60.
3. Заславский Д.В. Профилактика и комплексное лечение атопического дерматита у детей / Д.В. Заславский, А.А. Абдусалямов, А.А. Сыдигов // Лечащий врач. - 2015. - №6. - С. 48-54.
4. Atopic dermatitis: skin care and topical therapies / D.M. Fleischer, J. Udkoff, J. Borok [et al.]. - DOI 10.12788/j.sder.2017.035 // Semin Cutan Med Surg. - 2017. - Vol.36, №3. - P. 104-110.
5. Schneider L., Hanifin J., Boguniewicz M. et al. Study of the atopic march: development of atopic comorbidities. *Pediatr Dermatol.* 2016;33(4):388-398.
6. Патент №1649361 А1 СССР, МПК G01N 1/28, А61В 10/00 Способ прогнозирования рецидива профессионального аллергического дерматита: заявка №4436837/14 от 06.06.1988: опубл. 15.05.1991 / Иванова Л.А., Измерова Н.И., Сомов Б.А., Соколов В.В.: патентообладатель Научно-исследовательский институт гигиены труда и профессиональных заболеваний АМН СССР - 3 с.
7. Патент №2603463 Российская Федерация, МПК G01N 33/48, А61В 5/00 Способ прогноза течения и оценки эффективности лечения атопического дерматита: заявка №2015150693/15 от 25.11.2015 / Зорина В.Н., Бурдина А.В., Зорин Н.А.: патентообладатель Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Федерации - 11 с.

8. Боровикова О.В., Климова И.И. Определение концентрации лактоферрина и интерлейкина в сыворотке крови для дифференциальной диагностики риносинуситов у детей/ О.В. Боровикова, И.И. Климова // Медицина XXI века: сборник материалов V научно-практической конференции молодых ученых, Новокузнецк, 9 апреля 2015 года, - Новокузнецк: ГБОУ ДПО НГИУВ Минздрава России, 2015. - С. 15-17.

9. Патент №1686380 СССР, МПК G01N 33/74 Способ диагностики обострения дерматоза при аутоиммунной патологии: заявка №4485248/14 от 06.07.1988 / Скрипкин Ю.К., Бутов Ю.С., Снигирева Р.Я., Головин С.Н., Нагибина И.В., Ширяева Н.В.: патентообладатель 2-й Московский медицинский институт им. Н.И. Пирогова - 3 с.

10. Балалаева И.В. Проточная цитофлуориметрия: Учебно-методическое пособие. - Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2014. - 75 с.

11. Аллергология и клиническая иммунология. Клинические рекомендации / под редакцией Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. - 336 с. - ISBN 978-5-9704-5010-9.

12. Expression of TLR2 and TLR4 on peripheral blood monocytes during exacerbation of atopic dermatitis / N.N. Tsybikov, I.V. Petrisheva, E.V. Fefelova. - DOI 10.2500/aap.2015.36.3901 // Allergy Asthma Proc. - 2015. - Vol. 36 (6). - 140-145.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития рецидива атопического дерматита, включающий биохимическое исследование крови, отличающийся тем, что в крови определяют экспрессию толл-подобного рецептора 4 типа (TRL-4) на моноцитах, концентрацию эпителиального пептида, активирующего нейтрофилы (ENA-78) и рассчитывают коэффициент риска развития рецидива $K_{пр}$ по формуле:

$$K_{пр} = 1 / (1 + e^{-(3,156 - 0,171 * TRL4 + 0,006 * ENA78)})$$

где: $K_{пр}$ - прогностический коэффициент риска развития рецидива атопического дерматита; e - экспонента=2,718; значение 3,156 - свободный коэффициент (intercept); значение 0,171 - доверительный коэффициент для TRL4; TRL4 - уровень толл-подобных рецепторов 4 типа на моноцитах в цельной крови (%); значение 0,006 - доверительный коэффициент ENA78; ENA78 - концентрация эпителиального пептида, активирующего нейтрофилы (пг/мл) и при значении прогностического коэффициента $K_{пр} \geq 0,46$ прогнозируют высокий риск развития рецидива атопического дерматита, при значении $K_{пр} < 0,46$ - низкий риск развития рецидива заболевания.

40

45