

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042316**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.02.03

(51) Int. Cl. **G01N 33/577 (2006.01)**

(21) Номер заявки
202192002

(22) Дата подачи заявки
2021.07.15

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЯЖЕСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНОГО ПРОЦЕССА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ТЕЧЕНИЯ ПЕРИОДОНТИТА У ПАЦИЕНТА

(43) **2023.01.31**

(96) **2021/EA/0047 (BY) 2021.07.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**КАЗЕКО ЛЮДМИЛА
АНАТОЛЬЕВНА (BY)**

(72) Изобретатель:
**Казеко Людмила Анатольевна,
Захарова Виктория Алексеевна,
Бенеш Юлия Дмитриевна (BY)**

(56) EJEIL AL et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of met-alloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingiva. J PERIODONTOL, 2003, Vol.74, No.2, p. 188-195 doi: 10.1902/jor.2003.74.2.188.PMID: 12666707. Реферат, с. 188 правая колонка первый абзац, с. 189 левая колонка пятый абзац-правая колонка четвертый абзац, с. 190 левая колонка четвертый абзац - правая колонка первый абзац, с. 192-194, фиг. 1-2, 4, 5 табл. 2
BY-C1-22601
RU-C1-2533241
US-B2-7374886

(57) Изобретение относится к области медицины, к разделу стоматологии и позволяет определить тяжесть течения периодонтита у пациента за счет исследования биоптата десны иммуногистохимическим методом, когда при определении выраженной и умеренной экспрессии тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 судят о высоком воспалительно-деструктивном потенциале, а при слабой экспрессии судят о наличии низкого воспалительно-деструктивного потенциала при периодонтите.

042316

B1

042316
B1

Изобретение относится к области медицины, а именно к стоматологии, может быть использовано для диагностики заболеваний периодонта на основе иммуногистохимического исследования биоптата десны.

Заявителю известен способ определения характера течения периодонтита на основе иммуногистохимического анализа биоптатов десны, заключающийся в определении уровня экспрессии матриксной металлопротеиназы-13 в биоптатах десны, когда при определении слабой экспрессии судят о наличии быстро прогрессирующего характера течения периодонтита, а при умеренной и высокой - о наличии хронического периодонтита. Описанный способ является способом-аналогом [1].

Общим признаком для заявляемого способа и способа-аналога является изучение биоптатов десны с помощью иммуногистохимического анализа, заключающееся в определении интенсивности экспрессии ферментов, регулирующих процессы деструкции в экстрацеллюлярном матриксе тканей периодонта.

Заявителю также известен способ определения формы течения периодонтита у пациента путем иммуногистохимического исследования биоптата десны, заключающийся в определении интенсивности экспрессии матриксной металлопротеиназы-14 в биоптате десны пациента с периодонтитом, когда при выявлении слабой или умеренной интенсивности экспрессии матриксной металлопротеиназы-14 судят о быстро прогрессирующем течении периодонтита, а при выявлении выраженной интенсивности экспрессии матриксной металлопротеиназы-14 судят о хроническом его течении [2]. Указанный способ является аналогом по отношению к заявляемому.

Общим признаком для заявляемого способа и способа-аналога является изучение биоптатов десны с помощью иммуногистохимического анализа, заключающееся в определении интенсивности экспрессии ферментов, регулирующих процессы деструкции в экстрацеллюлярном матриксе тканей периодонта.

Однако использование способа-аналога позволяет определить только характер течения периодонтита, так как оценка экспрессии матриксных металлопротеиназ позволяет дифференцировать формы периодонтита по скорости течения процесса, но не позволяет оценить деструктивный потенциал заболевания. При хроническом сложном периодонтите на этапе манифестации заболевания уровень деструкции костной ткани сопоставим с деструкцией при быстро прогрессирующем периодонтите, и критериями для дифференциальной диагностики служат клинические данные, паттерн деструкции альвеолярного отростка, возраст пациента и уровни экспрессии матриксных металлопротеиназ. На раннем клиническом этапе клиническая картина схожа при всех формах течения периодонтита, что затрудняет дифференциальную диагностику и прогнозирование течения процесса. Так, оценка экспрессии ММП позволяет прогнозировать скорость, с которой будет развиваться периодонтит, тогда как экспрессия ТИМП-1 может быть использована как маркер тяжести воспалительно-деструктивного процесса.

В исследовании Isaza-Guzma D.M. et al., 2011 было признано, что тяжесть периодонтита связана с высокими уровнями фактической активности металлопротеиназ, включая ММП-9 и ММП-8, а также доминирующей экспрессией ММП-9 над ТИМП-1 в слюне. В этом исследовании выявлена статистически достоверная корреляция между уровнями биомаркеров (ММП-9, ТИМП-1 и соотношение ММП-9/ТИМП-1) и клиническими параметрами [3]. Fenol A. et al., 2014 предположили возможность использования ТИМП-1 в качестве маркера для выявления риска периодонтита, а также для прогнозирования активности воспалительно-деструктивных процессов в тканях периодонта и необходимости проведения хирургического вмешательства [4].

Задачей заявляемого изобретения является создание способа определения тяжести воспалительно-деструктивного процесса у пациентов с различной формой течения периодонтита путем иммуногистохимического исследования биоптата десны с последующей количественной оценкой экспрессии ТИМП-1.

Поставленная задача достигается следующим образом.

Предложен способ определения тяжести периодонтита у пациента, заключающийся в том, что в биоптате десны иммуногистохимическим методом определяют интенсивность экспрессии тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 и при выявлении выраженной и умеренной интенсивности экспрессии судят о значительном воспалительно-деструктивном потенциале (наблюдаемом при быстро прогрессирующем и хроническом сложном периодонтите), а при выявлении слабой интенсивности экспрессии тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 - о медленнотекущем процессе с низким воспалительно-деструктивным потенциалом (хроническом простом периодонтите).

Заявителем на основании проведенных клинических наблюдений 67 пациентов с быстро прогрессирующим и хроническим (сложным и простым) периодонтитом было выявлено, что этот процесс связан с дисбалансом в системе ММП-ТИМП, которая отвечает за ремоделирование внеклеточного матрикса, т.е. адаптацию соединительной ткани десны к воспалению.

Было установлено, что экспрессия тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 повышается в направлении от здоровой слизистой оболочки полости рта к хроническому простому периодонтиту и достигает наибольших значений в группах быстро прогрессирующего и хронического сложного периодонтита.

Обследовано 67 пациентов, из которых у 19 был выявлен быстро прогрессирующий периодонтит, у 10 - хронический простой периодонтит, а у 38 - хронический сложный периодонтит. У пациентов с хроническим простым периодонтитом экспрессия тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1

была слабая, а у пациентов с быстро прогрессирующим и хроническим сложным периодонтитом - умеренная и выраженная. Выраженная экспрессия в периодонте характеризуется интенсивным иммуногистохимическим окрашиванием стромального компартмента. Слабая и умеренная экспрессия характеризуется меньшей площадью окрашивания поля зрения исследуемой ткани, нежели при выраженной экспрессии, а также значительно меньшей интенсивностью окраски. Это различие дает возможность исследователю определить воспалительно-деструктивный потенциал периодонтита у пациента.

Заявляемый способ иллюстрируется фиг. 1-3, где

на фиг. 1 представлено иммуногистохимическое окрашивание с антителами к тканевому ингибитору матричных металлопротеиназ-1, морфометрический анализ проведен с помощью программы Aperio Image Scope v 9.0, x20: (хромоген - диаминобензидин), где 1 - эпителий с умеренной и высокой степенью экспрессии; 2 - строма с умеренной степенью экспрессии, 3 - эпителий с умеренной и высокой степенью экспрессии (результат преобразования изображения в программе AperioImageScope), 4 - строма с умеренной степенью экспрессии (результат преобразования изображения в программе AperioImageScope). Такое окрашивание свидетельствует о наличии быстро прогрессирующего периодонтита;

на фиг. 2 представлено иммуногистохимическое окрашивание с антителами к тканевому ингибитору матричных металлопротеиназ-1, x20, где 5 - эпителий с умеренной и высокой степенью экспрессии; 6 - строма с умеренной степенью экспрессии, 7 - эпителий с умеренной и высокой степенью экспрессии (результат преобразования изображения в программе AperioImageScope), 8 - строма с умеренной степенью экспрессии (результат преобразования изображения в программе AperioImageScope). Такое окрашивание свидетельствует о наличии хронического сложного периодонтита;

на фиг. 3 представлено изображение после морфометрического анализа микрофотографии иммуногистохимического окрашивания с помощью программы Aperio Image Scope v 9.0, где 9 - эпителий со слабой степенью экспрессии, 10 - строма со слабой степенью экспрессии, 11 - эпителий со слабой степенью экспрессии (результат преобразования изображения в программе AperioImageScope), 12 - строма со слабой степенью экспрессии (результат преобразования изображения в программе AperioImageScope). Такое окрашивание свидетельствует о наличии хронического простого периодонтита.

Пример 1.

Способ осуществляется следующим образом.

Пациент Д. 30 лет, обратился с жалобами на выявленную подвижность зубов. Был установлен предварительный диагноз быстро прогрессирующий периодонтит. Для выбора правильной тактики лечения необходимо верифицировать диагноз (определить экспрессию ММП) и спрогнозировать тяжесть развития процесса у данного пациента (определить экспрессию ТИМП). Для этого у пациента берут биоптат десны и проводят стандартное иммуногистохимическое исследование на предмет определения интенсивности экспрессии тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ-1.

По стандартной методике [1] производят окрашивание и морфологическое исследование срезов с последующим получением электронных микрофотографий (увеличение x20) (фиг. 1). После этого осуществляют морфометрическое исследование в программе AperioImageScope v 9.0 с использованием алгоритма Pixel Counter. На фиг. 1 представлены полученные результаты, из которых по выраженному окрашиванию стромы (2) видно, что у пациента быстро прогрессирующий периодонтит с выраженным деструктивным потенциалом. На основании полученных данных лечащий врач имеет возможность выбрать наиболее оптимальную тактику лечения.

Пример 2.

Пациент С. 50 лет, обратился с жалобами на выявленную подвижность зубов. Был установлен предварительный диагноз хронический периодонтит. Для выбора правильной тактики лечения необходимо верифицировать диагноз (определить экспрессию ММП), и определить тяжесть течения периодонтита у данного пациента (определить экспрессию ТИМП). Аналогичным образом, как описано в примере 1, у пациента берут биоптат десны и проводят стандартное иммуногистохимическое исследование на предмет определения интенсивности экспрессии тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ-1. На фиг. 2 представлены полученные результаты, из которых по выраженному окрашиванию стромы (6) видно, что у пациента хронический сложный периодонтит. На основании полученных данных лечащий врач имеет возможность выбрать наиболее оптимальную тактику лечения.

Пример 3.

Пациент С. 40 лет, обратился с жалобами на выявленную подвижность зубов. Был установлен предварительный диагноз хронический периодонтит. Для выбора правильной тактики лечения необходимо верифицировать диагноз (определить экспрессию ММП), и определить тяжесть течения периодонтита у данного пациента (определить экспрессию ТИМП).

Аналогичным образом, как описано в примере 1, у пациента берут биоптат десны и проводят стандартное иммуногистохимическое исследование на предмет определения интенсивности экспрессии тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ-1. На фиг. 3 представлены полученные результаты, из которых по слабому окрашиванию стромы (10) видно, что у пациента хронический простой периодонтит. На основании полученных данных лечащий врач имеет возможность выбрать наиболее оптимальную тактику лечения.

Таким образом, достигаемый технический результат заявляемого способа заключается в том, что предложенный алгоритм определения тяжести воспалительно-деструктивного потенциала у пациента позволяет на ранних стадиях развития выявить группы пациентов с тяжелым течением периодонтита, что, в свою очередь, даст возможность осуществить своевременное и правильное лечение указанного заболевания.

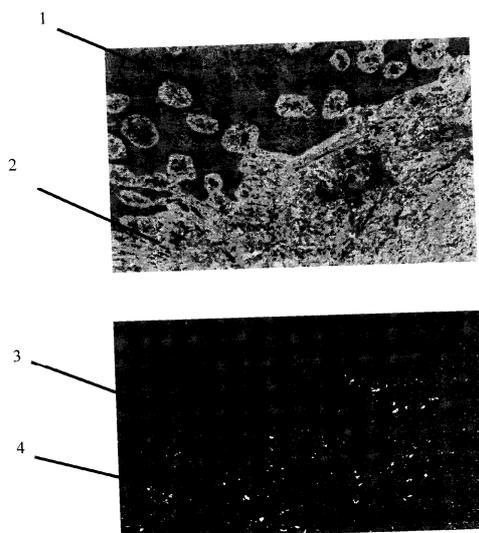
Таким образом, при повышении экспрессии ТИМП-1 на ранних клинических этапах можно прогнозировать потенциально тяжелое течение периодонтита.

Литература.

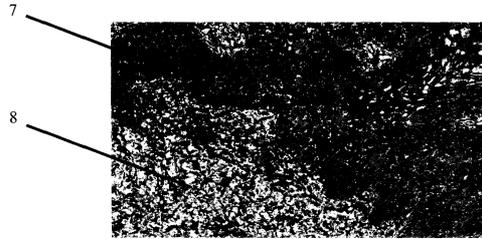
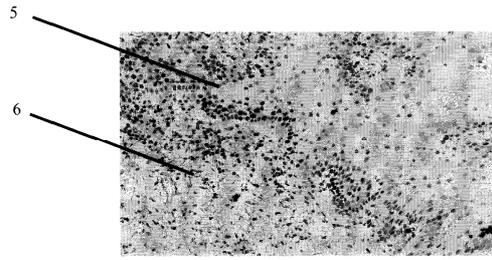
1. Способ определения формы течения периодонтита у пациента /Казеко Л. А., Колб Е. Л., Рукша К. Г., Портянко А. С., Черствый Е. Д.// Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели. Промышленные образцы. Топологии интегральных микросхем» № 1. – 2020. С. 45.
2. Способ определения течения периодонтита у пациента /Казеко Л. А., Рукша К. Г., Портянко А. С., Черствый Е. Д.// Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели. Промышленные образцы. Топологии интегральных микросхем» № 3. – 2019. – С. 63.
3. Isaza-Guzman D.M., Arias-Osorio C., Martínez-Pabon M.C., Tobon-Arroyave S.I. Salivary levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase TIMP-1: a pilot study about the relationship with periodontal status and MMP-9(-1562C/T) gene promoter polymorphism. Arch Oral Biol. 2011, vol. 56, no. 4, pp.401-411.
4. Fenol A., Peter M., Jayachandran Perayil, Rajesh Vyloppillil, Anuradha Bhaskar. Comparison of salivary timp-1 levels in periodontally involved and healthy controls and the response to nonsurgical periodontal therapy. Int J Chronic Dis., 2014, vol. pp. 1-7.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

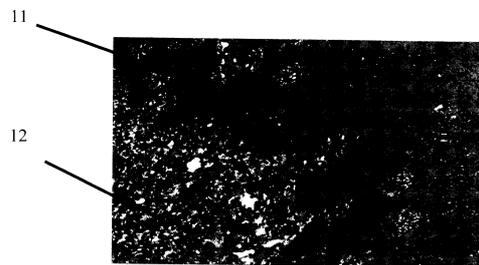
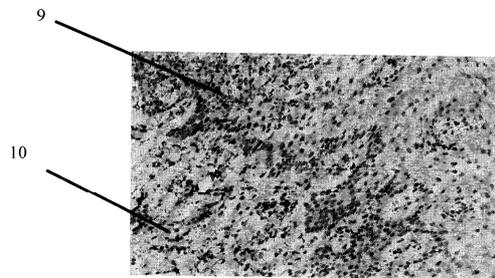
Способ определения тяжести воспалительно-деструктивного процесса у пациентов с различной формой течения периодонтита путем иммуногистохимического исследования биоптата десны и последующего определения интенсивности экспрессии тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1, когда при определении выраженной и умеренной экспрессии тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 судят о тяжелом и среднетяжелом течении воспалительно-деструктивного процесса, а при слабой экспрессии судят о легком течении воспалительно-деструктивного процесса у пациента с периодонтитом.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3