

Results and conclusions. Polysaccharides, phenolic compounds were identified in «Denta-Phyt» collection by qualitative reactions; components of essential oils, hydroxycinnamic acids, flavonoids were found by TLC. The morphological characteristics and BAS of the collection were identified based on the results of the analysis. They were included into the project of methods of quality control for «Denta-Phyt» collection.

Key words: medicinal plant raw materials, identification.

Відомості про автора:

Безценна Тетяна Сергіївна — кандидат фармацевтичних наук, асистент кафедри загальної фармації та безпеки ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету. Адреса: м. Харків, Майдан Захисників України 17, тел.: (057) - 732 – 27 – 98.

УДК 616.521-002.157/.158-036.11/.12-031.37/.38:617.576.1:617.586.1]-07-091.8:577.21/.23:575.24/.25]-085.357:615.262.1/.2

ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ДИСГІДРОТИЧНОЇ ЕКЗЕМИ ДОЛОНЕЙ ТА ПІДОШОВ З УРАХУВАННЯМ ГЕНОТИПІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПАЦІЄНТІВ

**С. В. Возіанова¹, Н. Г. Горовенко¹, В. В. Бойко¹,
З. І. Россоха²**

1 — Національна медична академія післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика, м. Київ,

2- Державний заклад «Референс-центр з молекулярної діагностики
МОЗ України», м. Київ

Вступ. Дисгідротична екзема долоней та підошов (ДЕДП) — запалення шкіри кистей та стоп, що характеризується розвитком везикульозних елементів із гістологічною картиною спонгіозу та формуванням внутрішньоепідермальних везикул.

Мета роботи. Проаналізувати зв'язок ефективності лікування ДЕДП з поліморфним варіантом *C646G* гена *NR3C1*.

Матеріали та методи. У 41 пацієнта з дисгідротичними ураженнями було проведено генетичне обстеження із визначенням поліморфного варіанту *C646G* гена *NR3C1*.

Результати. Генотипи *646 CG* та *646 GG* за геном *NR3C1* асоційовані зі зниженою чутливістю до лікування топічним глюкокортикостероїдним препаратом — маззю Клобетазолом пропіонатом у хворих із дисгідротичними ураженнями долоней та підошов. Рекомендується

розглянути питання про додаткове призначення цим пацієнтам цитостатиків та ретиноїдів.

Висновки. Важливим маркером неефективної відповіді на лікування при застосуванні стандартної схеми першої лінії терапії Клобетазолом пропіонатом у лікуванні дисгідротичних уражень долоней та підшов є поліморфізм гена *NR3C1*.

Ключові слова: дисгідротична екзема долоней та підшов, поліморфний варіант *C646G* гена *NR3C1*, ефективність терапії.

Вступ. Дисгідротична екзема долоней та підшов (ДЕДП) — запалення шкіри кистей та стоп, що характеризується розвитком везикульозних елементів із гістологічною картиною спонгіозу та формуванням внутрішньоепідермальних везикул [3].

На даний час не викликає сумніву той факт, що впровадження в клінічну практику досягнень в області фармакогенетики створює можливість для індивідуалізації фармакотерапії. Ідентифікація наявності у індивіда відповідного аллельного варіанту окремих генів, які зумовлюють особливості фармакокінетики і / або фармакодинаміки лікарського засобу, дозволяє скорегувати терапію і підвищити її ефективність та безпеку [4]. Недостатньо ефективна і безпечна фармакотерапія залишається однією з найгостріших проблем сучасної медицини. Так, за даними різних авторів, у 10-40 % пацієнтів застосування лікарських засобів (ЛЗ) виявляється неефективним, в той же час у 10 % розвиваються небажані лікарські реакції [5].

Саме генетично обумовлені індивідуальні особливості хворого відіграють значну роль у виникненні та перебігу захворювання, впливають на ефективність терапії [7].

В лікуванні важких форм різних захворювань, в тому числі екзем, першою лінією терапії є призначення глюкокортикостероїдних препаратів. Важливе значення має поліморфний варіант гена глюкокортикостероїдного рецептора *NR3C1*, що обумовлює резистентність до глюкокортикостероїдної терапії [8]. Феномен резистентності до глюкокортикостероїдних рецепторів при хронічних запальних захворюваннях зустрічається досить часто, однак точний молекулярний механізм досі нез'ясований. При різних захворюваннях можливе зниження чутливості тканин до глюкокортикостероїдів через зниження або відсутність функціональних глюкокортикостероїдних рецепторів. Ген *NR3C1 GR* локалізується на хромосомі 5q31.3 і включає в себе дев'ять екзонів. Поліморфізм, тобто варіації в послідовності ДНК, з частотою більш ніж на 1 % в здоровій популяції, можуть погіршувати структуру *GC-GR* комплексу і згодом впливати на лікування [8]. Екзон 1 має сім основних варіантів транскрипції. Екзони від 2 до 8 характеризують основну послідовність гена *NR3C1*. Екзон 9 визначає два

альтернативні варіанти сплайсингу. Продукт гена *NR3C1* експресується на мРНК, яка є основою для *GCR* ізоформ, які утворюються в результаті альтернативного сплайсингу (*GCRα*, *GCRβ*, *GCRδ*, *GCRγ* і *GCR-P*), серед яких тільки α ізоформи активні. *GCRβ* здатний пригнічувати сигнальний шлях з ізоформ та призводить до порушення чутливості до глюкокортикостероїдів [6].

Застосування підходів молекулярної медицини на сьогодні дозволяє вирішувати питання вибору оптимальної терапії при лікуванні дерматологічної патології та визначення генетичних особливостей хворого, які можуть впливати на метаболічні перетворення ліків та ефективність їх застосування [4]. Досягнення ефективної відповіді на лікування при проведенні першої лінії терапії покращує індивідуальний прогноз хворого, оскільки знижує ймовірність виникнення медикаментозної резистентності та сприяє отриманню швидкого та ефективного результату терапії.

Мета роботи. Проаналізувати зв'язок ефективності лікування ДЕДП з поліморфним варіантом *C646G* гена *NR3C1*.

Матеріали та методи. На кафедрі дерматовенерології НМАПО імені П. Л. Шупика на базі ТМО «Дерматовенерологія» та Київської міської клінічної шкірно-венерологічної лікарні було обстежено 41 пацієнт з дисгідротичними ураженнями середнього на важкого ступеню тяжкості. Серед яких 13 з ДЕДП, 19 пацієнтів із дисгідротичною екземою кистей (ДЕК), 7 пацієнтів з псоріазіформною екземою та 2 пацієнта з дисгідротичною екземою підшов (ДЕП). 24 пацієнта знаходились на стаціонарному лікуванні, 17 пацієнтів були обстежені амбулаторно. Серед досліджуваних було 27 жінок віком від 23 до 70 років та 14 чоловіків віком від 28 до 78 років. Діагноз був встановлений відповідно до МКХ-10 (L30.1 Дисгідроз [помфолікс]) за клінічними критеріями: локалізацією, вираженістю морфологічного малюнка, еритемою, інфільтрацією, везикулами, тріщинами, лущенням, набряком та анамнестичними даними. Всім хворим було проведено загальноклінічне лабораторне обстеження, біохімічне обстеження та молекулярно-генетичне дослідження поліморфного варіанту *C646G* гена *NR3C1*.

Молекулярно-генетичне дослідження. Дослідження поліморфізму гену *NR3C1* в зразках периферичної крові проводилось в молекулярно-генетичній лабораторії ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України» з використанням полімеразної ланцюгової реакції.

Для визначення поліморфного варіанту *C647G* гену *GR* (*NR3C1*) (rs41423247) використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами із застосуванням методу ПЛР та наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ).

Досліджувану ділянку гену ампліфікували за допомогою специфічних праймерів («Metabion», Німеччина).

Специфічні фрагменти гену *GR* (*NR3C1*) ампліфікували із застосуванням комерційного набору Dream Taq Green PCR MasterMix (фірми «ThermoScientific», США). Готували відповідні загальні робочі суміші для постановки реакції ампліфікації фрагментів ДНК, розносили по пробіркам по 22 μ l і додавали по 3 μ l ДНК.

Як видно з малюнку 1, амплікони *C647G* гену *GR* (*NR3C1*) підлягали гідролітичному розщепленню по наявному сайту рестрикції 5'-T↓GATCA-3', внаслідок чого утворювалися фрагменти з молекулярною вагою 120 п.н. та 86 п.н. — генотип *CC*. Сайт рестрикції зникав при нуклеотидній заміні *C* на *G* в позиції 647, тому при генотипі *GG* розмір фрагменту ампліфікованої ділянки ДНК після взаємодії з рестриктазою залишався незмінним — 206 п.н. Відповідно у гетерозигот (генотип *CG*) спостерігалися всі три типи фрагментів одночасно: 206 п.н., 120 п.н. та 86 п.н.



Рис. 1. Електрофореграма розподілу рестрикційних фрагментів поліморфізму *C647G* гену *GR* (*NR3C1*)

Примітка: зразки 2-9, 16 — генотип *CC*,
зразки 1, 10-13, 15 — генотип *CG*,
зразки 14 — генотип *GG*,
M — маркер молекулярної ваги.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel 2010, стандартного критерію χ^2 з поправкою Йетса (Лапач С. Н. зі співавт., 2001). Для порівняння показників проводили розрахунок середньої арифметичної величини та її стандартного відхилення ($M \pm m$). Дані перевірено на нормальність розподілу (тест Колмогорова-Смірнова). Для оцінки кількісних показників застосовано параметричний *t*-критерій Ст'юдента.

Результати. При аналізі об'єктивних даних спостерігалась типова клінічна картина, яка характерна для дисгідротичних уражень: локалізація в ділянках долоней, підшов, бічних поверхонь пальців із сагоподібними з щільною покриткою пухирцями, діаметром від 1 до 5 мм (іноді багатоканальними) на тлі незначної гіперемії. Пухирці або

розкривалися, перетворюючись в ерозії, або підсихали з утворенням плоских, жовтуватого кольору кірочок. Іноді пухирці зливалися в великі багатокамерні везикули. Осередок дисгідротичної екземи був чітко відмежований від здорової шкіри і нерідко був оточений по периферії роговим «комірцем», за межами якого в періоди загострення з'являлися нові пухирці. Поступово, збільшуючись у розмірах, вогнище ураження інколи розповсюджувалося на тильні поверхні кистей або стоп. У таких випадках спостерігалася типова для звичайної екземи клінічна картина з появою мікроевезикул. Хворі скаржилися на помірний, часом сильний свербіж, який передував спалахам захворювання або рецидиву.

У випадках псоріазіформної екземи спостерігалися клінічні прояви папуло-бляшкової форми псоріазу на тулубі та кінцівках у поєднанні з дисгідротичною екземою долоней та підшов. У хворих в ділянках розгинальних поверхонь верхніх та нижніх кінцівок, волосистої частини голови, тулубі були присутні папули та бляшки рожевого кольору, різної величини, більшість вкриті сірувато-білими лусочками; вогнища інфільтрації були чітко відмежовані від здорової шкіри. На окремих елементах виявлялась «псоріатична тріада». Висип на долонях та підшвах був представлений ділянками гіперкератозу з тріщинами, вогнищами інфільтрації. Суб'єктивно хворі скаржилися на свербіж. При патоморфологічному дослідженні біоптатів шкіри, взятих з долоней та підшов, було підтверджено хронічний спонгіозіформний дерматит.

В Україні на сьогоднішній день не існує уніфікованого протоколу лікування екземи, тому терапія залежить від форми і стадії захворювання і повинна бути комплексною і індивідуалізованою.

Всім пацієнтам відповідно до міжнародного протоколу лікування була застосована 1 лінія терапії та призначено потужний топічний стероїд IV класу- мазь Клобетазол пропіонат терміном 1-2 місяці щоденно, потім 2-3 рази на тиждень та зволожуючий крем Локобейз ріпеа [10]. На протязі 4-6 тижнів застосування місцевої терапії у пацієнтів з позитивним ефектом відмічалось зменшення вираженості або відсутність локального запалення, сухості шкіри, свербіжу, що характеризувалось відновленням та покращенням бар'єрної функції шкіри, профілактикою вторинної інфекції на відміну від пацієнтів з негативним ефектом, де вищеперераховані ефекти були помірно досягнуті на 8 тижднів лікування, а в деяких випадках ефект від лікування був взагалі відсутній. Рецидивів у пацієнтів з позитивним ефектом на протязі 6 місяців нашого спостереження не відмічалось.

Для пошуку інформативних прогностичних маркерів відповіді на лікування стандартними схемами першої лінії терапії хворих розділили на дві групи залежно від результатів лікування. До групи А

увійшло, за результатами клінічної оцінки, 16 пацієнтів у яких було досягнуто позитивний ефект від проведеного лікування, а до групи В — 25 пацієнтів, у яких застосування терапії не супроводжувалось досягненням бажаного ефекту лікування (Таблиця 1).

Таблиця 1

Розповсюдження поліморфного варіанта гена *NR3C1*(C646G) у пацієнтів з ДЕДП залежно від відповіді на лікування

Генотип	Група А (n=16)		Група В (n=25)		Загальна група (n=41)	
646 CC	13	81,25 %	1	4 %	14	34,14 %
646 CG	3	18,75 %	21	84 %	24	58,53 %
646 GG	0	0 %	3	12 %	3	7,31 %

Серед пацієнтів групи А генотипи 646 CG та 646 GG було виявлено у 18,75 %, а серед пацієнтів групи В — у 84 % осіб. При порівнянні результатів розповсюдження генотипів 646 CC та 646 CG/646 GG у групах пацієнтів залежно від результатів лікування нами було встановлено достовірні відмінності. У пацієнтів зі зниженим та відсутнім ефектом від проведеного лікування була достовірно підвищена частота генотипів 646 CG/646 GG ($\chi^2=22,57$; $p<0,01$).

Клінічні характеристики пацієнтів при об'єктивному обстеженні не залежали від виявлених генотипічних особливостей, а відповідали клінічній картині виявлених різновидів дисгидротичних уражень. Середній вік початку захворювання на ДЕДП у обстежених нами пацієнтів був наступним: 646 GG генотип — $36,33 \pm 4,66$ років; 646 CG генотип — $42,16 \pm 3,49$ років та при 646 CC генотипі — $40,35 \pm 3,8$ років. У визначених нами показниках не було виявлено достовірних відмінностей, що вказує на відсутність зв'язку між більш раннім початком захворювання та поліморфним варіантом дослідженого нами гена.

Висновки. Отже, важливим маркером неефективної відповіді на лікування при застосуванні стандартної схеми першої лінії терапії Клобетазолом пропіонатом в лікуванні дисгидротичних уражень долоней та підшов є поліморфізм гена *NR3C1*. Генотипи 646 CG та 646 GG за геном *NR3C1*, за результатами нашого дослідження, асоційовані зі зниженою чутливістю до лікування топічним глюкокортикостероїдним препаратом — маззю Клобетазолом пропіонатом у хворих з дисгидротичними ураженнями долоней та підшов. Рекомендуються розглянути питання про додаткове призначення цим пацієнтам цитостатиків та ретиноїдів.

Потрібно підкреслити, що диференційований підхід до вибору топічної терапії хворих на ДЕДП дозволить підвищити ефективність

терапії в період загострення, істотно зменшити системну фармакологічну навантаженість, досягти стійкої тривалої ремісії захворювання і, в кінцевому рахунку, значно поліпшити якість життя таких пацієнтів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зуева М. И. Мутации R501X и 2282del4 гена FLG у больных аллергодерматозами / М. И. Зуева. // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія. — 2011. — С. 93–97.
2. Карунас А. С. Молекулярно-генетическое исследование аллергических заболеваний: дис. докт. биол. наук / А. С. Карунас. — Уфа, 2012. — 505 с.
3. Клаус Вольф. Дерматология Фицпатрика в клинической практике в 3 т.: / Клаус Вольф, Лоуэлл А., Голдсмит, Стивен И. [и др.]. — М.: Панфилова; БИНОМ, 2012. — 896 с.
4. Кулес В. Г. Фармакогенетика системы биотрансформации и транспортеров лекарственных средств: от теории к практике / В. Г. Кулес, Д. А. Сычев, Г. В. Раменская [и др.] // Биомедицина. — 2007. — № 6. — С. 29–47.
5. Сычев Д. А. Значение полиморфизма гена MDR1, кодирующего гликопротеин Р, для индивидуализации фармакотерапии / Д. А. Сычев, В. Г. Кулес, Г. В., Раменская и др. // Клиническая фармакология и терапия. — 2005. — С. 1–5.
6. Nesrine A. Mohamed. Influence of glucocorticoid receptor gene NR3C1 646 C>G polymorphism on glucocorticoid resistance in asthmatics: a preliminary study/ Nesrine A. Mohamed, Asmaa S. M. Abdel-Rehim, Mohamed Nazmy Farres, Hedya Said Muhammed // Central European Journal of Immunology. — 2015. — № 40(3). — P. 325–330.
7. Thyssen J. P. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis / Thyssen J.P., Kezic S. // J. Allergy Clin. Immunol. — 2014. — № 134. — P. 792–799.
8. Sara De Iudicibus. Molecular mechanism of glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease / Sara De Iudicibus, Raffaella Franca, Stefano Martelossi. // World J. Gastroenterol. — 2011. — № 17. — P. 1095–1108.
9. Glucocorticoid receptor genepolymorphism and juvenile idiopathicarthritis. Pediatr Rheumatol Online / Kostik M. M., Klyushina A. A., Moskalenko M. V., Scheplyagina L. A., Larionova V. I. // Pediatr Rheumatol Online J. — 2011. — Jan 13, 9(1):2.
10. Guidelines for diagnosis, prevention and treatment of hand eczema / Thomas L. Diepgen, Klaus E. Andersen, Oliver Chosidow, Peter Jan Coenraads // Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG) — 1610–0379/2014.

Прогнозирование течения дисгидротической экземы ладоней и подошв с учетом генотипических особенностей пациентов

С. В. Возианова, Н. Г. Горovenko, В. В. Бойко, З. И. Россоха

Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев,

Государственное учреждение «Референс-центр по молекулярной диагностике МОЗ Украины», г. Киев

Введение. Дисгидротическая экзема ладоней и подошв — дерматоз мультифакторной природы со сложным патогенезом, характеризующийся развитием везикулярных элементов с гистологиче-

ской картиной спонгиоза и образованием внутриэпидермальных везикул.

Цель работы. Проанализировать связь эффективности лечения ДЕДП с полиморфным вариантом *C646G* гена *NR3C1*.

Материалы и методы. У 41 пациента с дисгидротическими поражениями было проведено генетическое обследование с определением полиморфного варианта *C646G* гена *NR3C1*.

Результаты. Генотипы *646 CG* и *646 GG* по гену *NR3C1* ассоциированы с пониженной чувствительностью к лечению топическим глюкокортикостероидным препаратом — мазью клобетазолом пропионатом у пациентов с дисгидротическими поражениями ладоней и подошв. Необходимо рассмотреть вопрос о дополнительном назначении этим пациентам цитостатиков и ретиноидов.

Выводы. Важным маркером неэффективного ответа на лечение при применении стандартной схемы первой линии терапии клобетазола пропионата в лечении дисгидротических поражений ладоней и подошв является полиморфизм гена *NR3C1*.

Ключевые слова: дисгидротическая экзема ладоней и подошв, полиморфный вариант *C646G* гена *NR3C1*, эффективность терапии.

Prognostication of the course of dyshidrotic eczema of palms and soles with the account of genotypic features of patients

S. V. Vozianova, N. G. Gorovenko, V. V. Boyko, Z. I. Rossokha

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv,
State Institution «Reference Center for Molecular Diagnostics
of the Ministry of Health of Ukraine», Kyiv

Introduction. Dyshidrotic eczema of palms and soles (DEPS) is an inflammatory skin disorder that has a multifactorial nature with the complex pathogenesis and is characterized by the development of vesical elements with the histological picture of spongiolysis and development of intraepidermal vesicles.

The purpose is to analyze the relationship between the effectiveness of treatment of DEPS with polymorphic variant of *C646G* of the *NR3C1* gene.

Materials and methods. In 41 patients with dyshidrotic lesions, a genetic examination was performed to determine the polymorph variant *C646G* of the *NR3C1* gene.

Results. The genotypes *646 CG* and *646 GG* for the *NR3C1* gene are associated with a decreased sensitivity to treatment with a topical glucocorticosteroid drug — Clobetasol Propionate ointment in patients with dyshidrotic lesions of palms and soles. It is necessary

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

to consider an additional prescription of cytostatics and retinoids to these patients.

Conclusions. An important marker of an ineffective response to treatment with the use of the standard first-line therapy regimen by clobetasol propionate in the treatment of dyshidrotic lesions of the palms and soles is the polymorphism of the *NR3C1* gene.

Key words: dyshidrotic eczema of palms and soles, polymorphic version of *C646G*, *NR3C1* gene, efficacy of therapy.

Відомості про авторів:

Возіанова Світлана Віталіївна — доктор медичних наук, професор кафедри дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, тел.: (044)-413-53-52.

Горовенко Наталія Григорівна — доктор медичних наук, професор кафедри медичної та лабораторної генетики Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.

Бойко Вікторія Вікторівна — аспірант кафедри дерматовенерології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.

Россоха Зоя Іванівна — кандидат медичних наук, директор ДЗ «РЦМД МОЗ України». Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.

УДК 582.734.4:615.07:615.322:54.061/.062:547.9:577.15/.17

АНАЛІЗ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЛЕТКИХ СПОЛУК В РОСЛИННОМУ ЗБОРІ З ЦНС-ТОНІЗУЮЧОЮ АКТИВНІСТЮ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДУ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ З МАС-ДЕТЕКЦІЄЮ

А. В. Гудзенко, К. М. Анзіна

Київський міжнародний університет, м. Київ

Вступ. Леткі речовини виявляють широкий спектр біологічної дії, тому є доцільним дослідження їх якісного складу та кількісного вмісту.

Мета. Дослідження компонентного складу летких сполук в рослинному зборі з ЦНС-тонізуючою активністю за допомогою методу газової хроматографії з використанням мас-детекції.

Матеріали та методи. Вивчення компонентного складу летких сполук проводили з використанням газового хроматографа Agilent 6890 (США), обладнаному мас-спектрометричним детектором (модель 5973).