



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **111564** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)
G01N 21/00
G01N 33/487 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2015 06417	(72) Винахідник(и): Завгородня Наталія Григорівна (UA), Брижань Ганна Олександрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 30.06.2015	(73) Власник(и): ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035 (UA), Завгородня Наталія Григорівна, вул. Артема, 71, кв. 65, м. Запоріжжя, 69002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.05.2016	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Шилкин Г.А. и др. Результаты кристаллографического анализа слезной жидкости при различных формах дистрофической патологии глаз. Офтальмохирургия, №2, 1997, С. 86-92 UA 11809 U, 16.01.2006 Курышева Н.И. и др. Кристаллография слезной жидкости как метод прогнозирования риска развития катаракты у больных первичной глаукомой. Вестник офтальмологии, №5, 1999, С. 5-6 Павлів О.Б. Імпресійна цитологія в діагностиці сухого кератокон'юнктивіту при синдромі Сьєгрена. Офтальмологічний журнал, №5, 2002, С. 16-20 Волкович Т.К. Возможности импрессионной цитологии в диагностике заболеваний роговицы. Матеріали XIII З'їзду офтальмологів України, 21-23 травня 2014 року, Одеса, Україна, - С. 8 Рахманов В.В. Метод кристаллографии слезной жидкости в офтальмодиагностике. Актуальные вопросы современной медицины: Сборник научных работ. С.- Петербург. Гос. Мед. Ун-т, СПб. 1999, - С. 128, реферат
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.12.2015, Бюл.№ 24	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.05.2016, Бюл.№ 9	

**(54) СПОСІБ НЕІНВАЗИВНОЇ ДІАГНОСТИКИ ДИСТРОФІЇ ЕПІТЕЛІЮ КОН'ЮНКТИВИ ТЯЖКОГО
СТУПЕНЯ У ПАЦІЄНТІВ З КАТАРАКТОЮ****(57) Реферат:**

Винахід належить до офтальмології, а саме стосується способу неінвазивної діагностики дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня у пацієнтів з катарактою шляхом визначення наявності хрестоподібних кристалів з товстими променями в проміжному поясі фації сльози таких пацієнтів.

UA 111564 C2

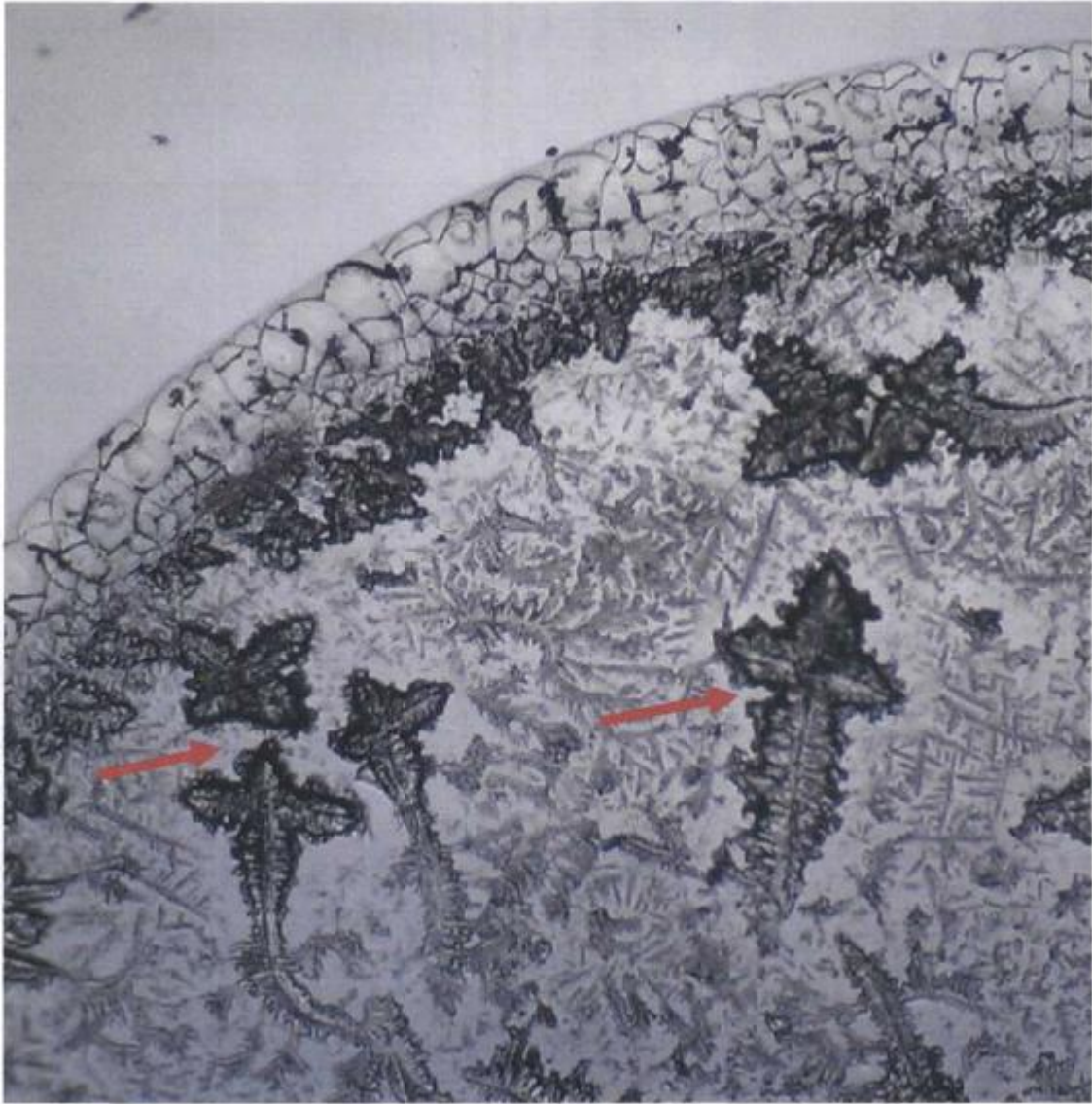


Fig. 1

Винахід стосується медицини, а саме офтальмології, і може бути використаний для виявлення дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня у пацієнтів з катарактою у неінвазивний спосіб.

Діагностика дистрофічних змін епітелію кон'юнктиви зазвичай виконується шляхом цитологічного дослідження. Здійснення забору цитологічного матеріалу епітелію кон'юнктиви для дослідження є інвазивним, та потребує необхідного спеціального матеріально - технічного забезпечення. Існує неінвазивний спосіб оцінки стану дистрофічних змін епітелію кон'юнктиви шляхом конфокальної прижиттєвої біомікроскопії. Перевагою цього методу є його атравматичність, можливість пошарового аналізу епітелію кон'юнктиви, можливість повторювати дослідження стільки, скільки цього потребує мета дослідження, але виконання цього способу діагностики стану епітелію кон'юнктиви потребує наявності спеціалізованого коштовного обладнання - конфокального мікроскопу, що є недоступним для більшості медичних закладів, навіть спеціалізованих офтальмологічних.

Найбільш близьким за технічною суттю, та результатом, що досягається, є спосіб, що полягає у вивченні якісного стану сльози шляхом кристалографії слізної рідини (Шилкін Г.А. та співавтори. Офтальмохірургія - 1997. - № 2. - С. 86-92), при якому кристалографія слізної рідини виконувалась у хворих на різноманітну дистрофічну патологію ока, таку як: катаракта, глаукома, пігментна абіотрофія сітківки, діабетична ретинопатія, короткозорість, та у здорових пацієнтів, та була виявлена кристалографічна картина слізної рідини, характерна для перерахованих станів. Сльозу для кристалографічного дослідження об'ємом 15 мкл здобували з кон'юнктивальної порожнини, після стимуляції сльозовиділення, за допомогою мікропіпетки зі знімним атравматичним наконечником. Зібрану слізну рідину у вигляді краплі наносили на знежирене предметне скло, яке протягом години залишали у термостаті при температурі 25 °C у чашці Петрі. Після закінчення строку інкубації препарат виймали, проводили його макро- та мікроскопічне дослідження за допомогою світлового мікроскопу при збільшенні 25^x та 63^x. Макроскопічно надавали оцінку поясам кристалізації, а саме периферичному, проміжному, центральному, та їх співвідношенню. Мікроскопічно надавали оцінку особливостям цих зон, розмірам та формі кристалів, що їх утворюють, їх розташуванню. При різноманітних дистрофічних захворюваннях ока кристалографічна картина сльози мала характерні для кожної патології зміни. Так, в кристалограммах сльози пацієнтів з катарактою співвідношення поясів кристалізації було 1:2:6, більшу частину поля зору займав центральний пояс з темними крупними чотирикутними кристалами, в проміжній зоні визначались мілкі папоротеподібні кристали.

Спільними суттєвими ознаками прототипу і винаходу, що заявляється, є такі:

- проведення мікроскопії фації сльози пацієнтів з катарактою у світловому мікроскопі.
- визначення морфологічних особливостей кристалів, що утворюються у проміжному поясі фації сльози.

Цей спосіб приймаємо за прототип. Однак, дистрофічні захворювання ока є досить різноманітними. Найчастіше у одного пацієнта спостерігається декілька дистрофічних захворювань очей, найбільш розповсюдженим дистрофічним станом, що може супроводжувати будь яку патологію ока - є дистрофічні зміни епітелію кон'юнктиви, що клінічно виявляється у симптомах кератокон'юнктивального ксерозу. Наданий у прототипі опис патологічних змін кристалографії слізної рідини при різних дистрофічних захворюваннях ока, таких як катаракта, глаукома, пігментна абіотрофія сітківки, діабетична ретинопатія, короткозорість - характеризує окремо кожне з цих захворювань, в той час, коли інші дистрофічні зміни, що можуть супроводжувати кожну з цих патологій, не приймалися до уваги.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення способу неінвазивної діагностики дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня у пацієнтів з катарактою шляхом визначення специфічних ознак в кристалограммі сльози таких пацієнтів у вигляді хрестоподібних кристалів з товстими променями, розташованими у проміжному поясі фації сльози, що забезпечить підвищення достовірності неінвазивної діагностики дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі, який полягає у проведенні кристалографічного аналізу слізної рідини пацієнтів з катарактою, визначались морфологічні особливості кристалів проміжного поясу фації сльози, новим є те, що додатково, проводять обстеження стану епітелію кон'юнктиви пацієнтів з катарактою шляхом імпресійно цистоскопії з подальшою оцінкою імпресійно-цитологічних препаратів в балах, що дозволяє визначити ступінь розвитку дистрофії епітелію кон'юнктиви; отримані дані підлягали статистичному аналізу за допомогою ліцензійної програми Statistica 6.1 з використанням непараметричних методів статистичної обробки, а саме коефіцієнта рангових кореляцій Спірмена, де вивчалась

кореляційна залежність між наявністю хрестоподібних кристалів з товстими променями, що виявлялись в проміжній зоні фації сльози пацієнтів з катарактою, та цитологічним станом епітелію кон'юнктиви, що оцінювався в балах; виявлено, що наявність хрестоподібних кристалів з товстими променями в проміжній зоні фації сльози пацієнтів з катарактою має певну позитивну кореляційну залежність з дистрофією епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня, рівень позитивної кореляційної залежності за коефіцієнтом Спірмена становить $r=0,5$ ($p<0,500$); таким чином діагностують у пацієнта з катарактою дистрофію епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня у неінвазивний спосіб.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому: під час кристалоутворення краплі сльози відбувається радіальне розподілення речовин, згідно з їх молекулярною вагою та осмотичною активністю, що по завершенні процесу кристалоутворення відображується у вигляді поясів кристалізації. Морфологічний тип кристалів, що утворюються в поясах фації сльози залежить від концентрації в слізній рідині відповідних кожному поясу кристалізації речовин. Поява в слізній рідині речовин, що утворюються на тлі дистрофічних змін епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня, буде знаходити своє відображення в кристалографічній картині слізної рідини.

Таким чином, заявлений неінвазивний спосіб діагностики дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня ґрунтується на виявленні характерних змін якісного стану слізної рідини, що полягають у наявності хрестоподібних кристалів з товстими променями у проміжному поясі фації сльози пацієнтів з катарактою, що має певну позитивну кореляційну залежність з дистрофією епітелію кон'юнктиви важкого ступеня.

Спосіб кристалографії слізної рідини здійснюється таким чином: за допомогою шприца з атравматичною канюлею здобувають слізну рідину об'ємом 15 мкл з нижнього кон'юнктивального зведення. Далі слізну рідину у вигляді краплі переміщують на попередньо знежирене предметне скло, та залишають при кімнатній температурі у горизонтальному положенні на 1 годину, отриману фацію сльози досліджують за допомогою світлового мікроскопу при збільшенні $8\times$ та $40\times$, де визначались особливості кристалів проміжного поясу кристалізації.

Додатково виконувалось цитологічне дослідження епітелію кон'юнктиви шляхом імпресійної цистоскопії. Під час обстеження пацієнтів також визначався рівень продукції слізної рідини за тестом Ширмера за допомогою стрічок фільтрувального паперу Shirmer-Test-Strips. Виконувалась біомікроскопія допоміжного апарату ока, де визначався стан повік та мейбомієвих залоз, оцінювався стан рогівки.

В клінічну групу дослідження увійшло 42 пацієнти (63 ока) з катарактою різного ступеня зрілості. Всім пацієнтам виконувалось загальне офтальмологічне обстеження з визначенням рівня сльозопродукції, визначався стан повік та мейбомієвих залоз та стан рогівки. У всіх пацієнтів виконувалось кристалографічне дослідження слізної рідини, та цитологічне дослідження епітелію кон'юнктиви методом імпресійної цистоскопії з визначенням ступеня тяжкості дистрофічних змін епітелію кон'юнктиви в балах. Аналіз кристалографії слізної рідини дозволив виявити в 9 препаратах фації сльози (14 %) кристали у вигляді хрестів з товстими променями, що розташовані в проміжній зоні фації сльози (рисунок). За результатами імпресійно-цитологічного дослідження епітелію кон'юнктиви виявлено нормальний стан епітелію кон'юнктиви в 10 препаратах (15,9 %), в 12 препаратах епітелію кон'юнктиви (19 %) виявлені легкі дистрофічні зміни, середній ступінь тяжкості дистрофічних змін епітелію кон'юнктиви виявлена в 23 препаратах (36,5 %), та в 18 препаратах (28,6 %) виявлена важка дистрофія епітелію кон'юнктиви.

Проведена статистична обробка отриманих даних кристалографічного обстеження слізної рідини, імпресійно-цитологічного обстеження епітелію кон'юнктиви та даних клінічного обстеження пацієнтів з катарактою з визначенням кореляційних залежностей за коефіцієнтом рангових кореляції Спірмена. Результати статистичної обробки даних представлені в таблиці.

Таблиця

Коефіцієнт рангової кореляції за Спірменом між наявністю хрестоподібних кристалів з товстими променями в проміжному поясі фації сльози, та даними цитологічного обстеження епітелію кон'юнктиви методом імпресійної цистоскопії, даними клінічного обстеження пацієнтів з катарактою

Категорія	Визначена ознака	Коефіцієнт кореляцій з наявністю хрестоподібних кристалів, г.
Дисфункції мейбомієвих залоз	1 ступінь	-0,1
	2 ступінь	-0,09
	3 ступінь	0,04
Стан рогівки	Мікроерозії	-0,16
Рівень сльозопродукції	Нормосекреція	-0,25
	Гіпосекреція	-0,03
	Гіперсекреція	0,32
Ступінь дистрофії епітелію кон'юнктиви	Норма	-0,23
	Легка дистрофія	-0,25
	Середня дистрофія	-0,09
	Тяжка дистрофія	0,5*
Примітка: * наявність зв'язку між ознаками статистично достовірно $p < 0,500$.		

Таким чином визначено, що наявність в проміжній зоні кристалографії сльози пацієнтів з катарактою хрестоподібних кристалів з товстими променями має певну позитивну кореляційну залежність з дистрофією епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня. Виявлення хрестоподібних кристалів з товстими променями в кристалографії слізної рідини пацієнтів з катарактою може використовуватись для визначення дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня у не інвазивний спосіб.

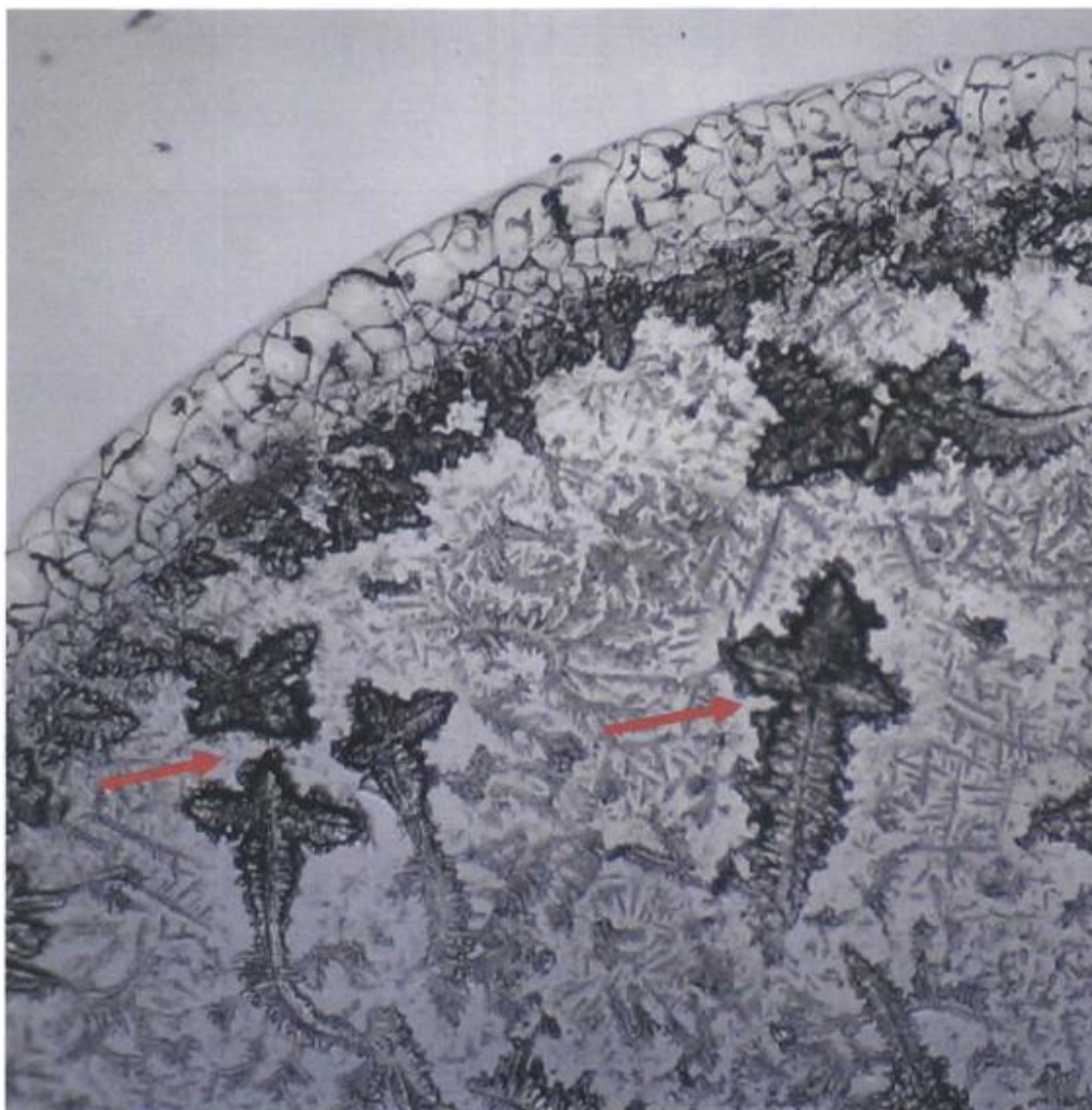
Приклад

Пацієнтка Н., 60 років. Діагноз: незріла катаракта лівого ока.

За результатами обстеження рівня сльозопродукції виявлено гіперсекрецію слізної рідини, обстеження допоміжного апарата ока виявило дисфункцію мейбомієвих залоз 1 ступеня, стан рогівки був без особливостей. Виконана кристалографія сльози, де в проміжній зоні кристалографії виявлено хрестоподібні кристали з товстими чіткими променями (фіг. 1), що дозволило діагностувати у пацієнтки дистрофію епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня. Імпресійно-цитологічне дослідження епітелію кон'юнктиви підтвердило наявність у пацієнтки дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб неінвазивної діагностики дистрофії епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня у пацієнтів з катарактою, визначення особливостей кристалографії слізної рідини пацієнтів з катарактою, який **відрізняється** тим, що у проміжному поясі фації сльози пацієнта з катарактою визначають наявність хрестоподібних кристалів з товстими променями, що дозволяє у неінвазивний спосіб діагностувати дистрофію епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня, що підтверджується імпресійно-цитологічним дослідженням епітелію кон'юнктиви, де наявність хрестоподібних кристалів з товстими променями в проміжному поясі фації сльози пацієнтів з катарактою має певну позитивну кореляційну залежність з дистрофією епітелію кон'юнктиви тяжкого ступеня за коефіцієнтом рангових кореляцій Спірмена на рівні $r = 0,5$ ($p < 0,500$).



Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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