



УКРАЇНА

(19) UA (11) 56420 (13) U
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ МІСЦЕВОГО ІМУНІТЕТУ ПОРОЖНИНИ РОТА ПРИ ПОШКОДЖЕННІ СЛИЗОВИХ ОБОЛОНОК

1

2

(21) u201009071

(22) 19.07.2010

(24) 10.01.2011

(46) 10.01.2011, Бюл.№ 1, 2011 р.

(72) ГОЖЕНКО АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ, БОГДАНОВА ОЛЕКСАНДРА ВІКТОРІВНА, ДЕГТЯРЕНКО ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА

(73) ГОЖЕНКО АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ, БОГДАНОВА ОЛЕКСАНДРА ВІКТОРІВНА, ДЕГТЯРЕНКО ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА

(57) Спосіб діагностики стану місцевого імунітету порожнини рота при пошкодженні слизових оболонок,

який передбачає зняття мазків-відбитків і проведення наступного імпресійно-цитологічного дослідження, який **відрізняється** тим, що мазки-відбитки отримують спочатку з пошкодженої слизової, а потім з контрлатеральної ділянки поверхні, в отриманих мазках-відбитках визначають вміст субпопуляції імунокомпетентних клітин CD7, CD54, CD150 і при збільшенні вмісту таких у відбитках, отриманих з пошкоджених поверхонь більше ніж на 10% у порівнянні з відбитками з непошкоджених слизових, діагностують порушення стану місцевого імунітету слизових оболонок.

Дана корисна модель відноситься до області медицини, а саме лабораторної діагностики і клінічної імунології та може бути використана для визначення стану місцевого імунітету (МІ) слизових оболонок порожнини рота.

Відомий спосіб дослідження МІ порожнини рота шляхом виконання послідовних промивань по М.А. Ясиновському в модифікації А.І. Сукманського (1991).

Даний спосіб полягає в підрахунку кількості лейкоцитів в промивній рідині, зібраної в результаті серії послідовних полоскань порожнини рота фосфатним буферним розчином (рН=7,2). До недоліків даного способу слід вказати на тривалість проведення дослідження.

Відомий спосіб діагностики стану МІ відповідно патенту України №36955 (А). Спосіб полягає у визначенні імуноглобулінів в слині і визначення концентрації секреторної і мономерної форми імуноглобуліну А, а також М і G, після чого визначається співвідношення вказаних захисних білків в слині.

До недоліків даного способу слід віднести обмеженість його використання, так як вивчається тільки стан гуморального імунітету.

Найближчим до способу, що заявляється є спосіб по Д.Ф. Глузман (Глузман Д.Ф., Скляренко А.М., Нагорная В.А., Крячок И.А. Диагностическая иммунология опухолей. - Киев: Морион, 2003. - с.142). Цей метод полягає в дослідженні лімфоцитів непрямим ПАП-методом з використанням ком-

плексу пероксидаза-антипероксидаза, отриманого з рослинної сировини і наступного порівняння отриманих результатів з даними аналізу крові досліджуваного.

Даний метод вибраний нами як найближчий аналог. До недоліків способу-найближчого аналогу можна віднести недостатню точність способу, т.як даний метод не забезпечує індивідуального контролю за станом пошкоджених слизових, оскільки показники місцевого імунітету порівнюють зі змінами в показниках крові, які свідчать про системні порушення імунітету, що мають місце.

В основу створення даної корисної моделі поставлене завдання створення способу, що дозволить визначати стан місцевого імунітету в місці пошкодження слизових оболонок шляхом забору матеріалу для дослідження з пошкодженої ділянки і контрлатеральної ділянки, симетричній зоні пошкодження. Поставлене завдання вирішене в способі діагностики стану МІ слизових оболонок порожнини рота, що передбачає зняття мазків-відбитків і наступного їх імпресійно-цитологічного дослідження з визначенням вмісту субпопуляцій імунокомпетентних клітин CD7, CD54, CD150.

Новим в технічному рішенні, що заявляється, є:

- забір матеріалу для дослідження виконується безпосередньо з пошкодженої поверхні і з поверхні, що розміщена контрлатерально місцю пошкодження;

UA (11) 56420 (13) U

- порівняння вмісту моноклональних антитіл (CD7, CD54, CD150) в двох пробах (3).

Таким чином, виконується порівняння показників імунітету пошкодженої та непошкодженої слизових.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, і досягнутим результатом можна пояснити наступним чином:

У системному кровообігу циркулюють лімфоцити, які мають відповідні норми чи патології функціональні здібності. При еміграції лімфоцитів на слизову оболонку їх стан може змінюватись в залежності від функціонально-біохімічних властивостей тканин, скрізь які відбувається їх вихід. У свою чергу, зміни функції лімфоцитів впливають на їх участь у місцевих процесах. На основі порівняння стану лімфоцитів в зоні ураження та на здоровій слизовій можливо уточнення діагностики та лікування патології, що має місце.

Спосіб здійснюється таким чином:

До пошкодженої поверхні прикладають фільтр, наприклад, Millipore, з підсиленням 100-150г на 1,0-1,5см поверхні для зняття мазка-відбитку. Фільтр з отриманим матеріалом фіксують в забуферному розчині формаліну протягом 5 хвилин. Далі на фільтр наносять моноклональні антитіла певної специфічності та інкубують протягом 1 години. Отриманий зразок промивають в забуферному фізіологічному розчині та наносять на кролячу сироватку. Знову інкубують протягом 1 години і промивають в за буферному фізіологічному розчині, наносять ПАП-формалекс і виконують повторну інкубацію протягом 1 години. Отриманий зразок зафарбовують метиловим зеленим протягом 5-ти хвилин і виконують дофарбовування діамінобензидином протягом 5-ти хвилин. Виконують мікроскопію і підрахунок клітин, що прореагували. За такою ж методикою одночасно здійснюють забір матеріалу для дослідження з непошкодженої ділянки і наступне його опрацювання. Отримані результати порівнюють між собою. Наводимо приклад конкретного виконання способу.

Приклад 1

Хворий А., історія хвороби №1678-М звернувся до лікаря-стоматолога центру морської медицини зі скаргами на сильний, ниючий біль в ділянці ясен, рухомість зубів, виділення гною. Об'єктивно: у фронтальній ділянці нижньої щелепи зуби рухомі, виділяється масивний гнійний екссудат. Попередній діагноз: пародонтит (?), гострий перебіг. Лікування: місцево - ополіскування гіпертонічним розчином і розчином хлоргексидину біглюконату; всередину - таблетована форма препарату найз

по схемі. Через 5 днів, у зв'язку з тим, що полегшення не настало, хворий звернувся до лікаря повторно. Запропоновано здати аналіз для визначення стану місцевого імунітету порожнини роту. Хворий сполоснув ротову порожнину фосфатним буферним розчином для видалення слизу і залишків їжі. Далі до поверхні ясен пацієнта А. з силою 120г на 1,0см поверхні приклали фільтр Millipore для зняття мазка-відбитку. Фільтр з отриманим матеріалом фіксували в забуферному розчині формаліну протягом 5-ти хвилин. Потім на фільтр нанесли моноклональні антитіла певної специфічності і провели інкубацію протягом 1 години. Отриманий зразок промили в забуферному фізіологічному розчині і нанесли на кролячу сироватку. Знову провели інкубацію протягом 1 години і отриманий зразок промили в забуферному фізіологічному розчині, нанесли ПАП-комплекс і повторно проінкубували протягом 1 години. Отриманий зразок пофарбували метиловим зеленим (5хв) і провели дофарбовування діамінобензидином (5хв). Провели мікроскопію і підрахунок клітин, що прореагували. Результати досліджень: CD7 - 32%, CD54 - 28%, CD150 - 30%. Другу пробу брали по такій же методиці з ділянки слизової роти без видимих пошкоджень. Результати досліджень: CD7 - 6%, CD54 - 8%, CD150 - 7%.

Медичний персонал лабораторії не чинив тиску на А. Забір мазка-відбитку був здійснений добровільно, без примусу. При дослідженні пацієнта А. медичний персонал лабораторії приймав заходи, спрямовані на забезпечення безпеки і здоров'я пацієнта, поваги його людської гідності, з дотриманням морально-етичних норм у відповідності з принципами, опублікованими в Хельсінській декларації прав людини, Конвенції Ради Європи по правам людини і біомедицини та відповідних законів України. Вищевказаний приклад підтверджує значні відмінності у вмісті імунокомпетентних клітин CD7, CD54, CD150 на пошкоджених і здорових ділянках слизової.

Отримані дані дозволили встановити які з ланок імунітету і в якій мірі страждають найбільшим чином і на основі цього призначити патогенетичне обґрунтоване лікування.

Даний спосіб був застосований у 16 пацієнтів з ураженням слизових оболонок різної локалізації. Імпресійно-цитологічним методом з використанням мазків-відбитків на пошкоджених та інтактних слизових досліджуваних осіб визначали субпопуляції імунокомпетентних клітин (маркерів активації), а саме CD7, CD54, CD150.