

Винахід відноситься до медицини, а точніше, до імунології, і може бути використаний при визначенні тканинних антигенів при псоріазі чи інших видах шкірної патології.

За прототип обраний спосіб визначення тканинних антигенів [Juhlin L., Juhlin L., Scheynius A., Klareskog L. Immunohistochemical reactivity of monodonal antibodies generated after immunization of mice with cells from a psoriatic lesion. // Acta dermatovenerol. - 1989. - Vol. 69, N2. - P. 93-100.], який полягає в імунізації мишей епідермальними клітинами, взятими із вогнища псоріатичного запалення, одержанні зростаючих клонів гібридом - продуцентів моноклональних антитіл, причому моноклональні антитіла мітяться барвником, а потім ними роблять специфічне фарбування гістологічних зрізів і по фарбуванню визначають тканинні псоріатичні антигени при порівнянні з фарбуванням зрізів здорової шкіри та шкіри взятої з вогнищ запалення при інших видах шкірних захворювань.

Ознаками, що збігаються з істотними ознаками запропонованого способу, є: одержання антитіл шляхом імунізації тварин нативними субстратами.

Технічним результатом винаходу є: підвищення точності визначення тканинних антигенів.

Причинами, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату, є: неможливість визначення тканинних псоріатичних антигенів, що приховані антитілами та іншими міжмолекулярними взаємодіями в тканинах; а використання як об'єкт дослідження епідермісу до його відторгнення не дозволяє визначити специфічні для псоріазу антигени.

В основу винаходу поставлена задача удосконалення способу визначення тканинних антигенів шляхом використання як об'єкт дослідження псоріатичних лусочок, що гомогенізують механічно, з подальшим видаленням розчинних антигенів і відкриттям антигенних детермінант, що дозволяє визначити приховані антигени.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі визначення тканинних антигенів, який включає одержання антитіл шляхом імунізації тварин нативними субстратами, відповідно до винаходу, як субстрат використовують псоріатичні лусочки, що гомогенізують шляхом розтирання, потім відмивають нерозчинні фракції від розчинних і за допомогою детергенту і переварювання пепсином видаляють антитіла і молекулярні структури, що приховують специфічні антигенні детермінанти.

Використання для імунізації тварин псоріатичних лусочок дозволяє одержати антипсоріатичні антитіла, гомогенізація і відмивання від розчинних білків нерозчинних фракцій псоріатичних лусочок ізотонічним розчином NaCl дозволяє видалити баластові антигени, що надходять у вогнище запалення з ексудатом із крові, солюбілізація детергентом імуноглобулінів з наступним їх видаленням з нерозчинних фракцій псоріатичних лусочок дозволяє відкрити приховані антитілами антигени, а наступне переварювання пепсином сприяє розкриттю антигенних детермінант прихованих молекулярними структурами і перекладу обумовлених антигенів у розчинний стан, що дозволяє преципітувати їхніми антитілами, а по преципітаті визначати тканинні антигени; що дозволяє досягти очікуваний технічний результат; без використання перерахованих вище ознак технічний результат недосяжний.

Спосіб полягає в наступному.

Сумішшю псоріатичних лусочок і повного ад'юванта Фрейнда імунізують кролів до появи антитіл, преципітуючих антигени псоріатичних лусочок. 100 мг псоріатичних лусочок змішують з 2 мл ізотонічного розчину натрію хлориду, гомогенізують розтиранням, центрифугують при 8000 об/хв 20 хв, осад відмивають шляхом центрифугування і ресуспензування, потім до осаду доливають 2 мл 1%-го детергенту, інкубують добу, знову центрифугують, осад відмивають ізотонічним розчином натрію хлориду шляхом центрифугування і ресуспензування, осад змішують з 2 мл ізотонічного розчину натрію хлориду і розчиняють у цій суміші 1 таблетку ацидин-пепсину, суміш інкубують добу при 37°C, центрифугують, до надосадової рідини додають мединал до нейтрального рН, після чого в ній визначають псоріатичний антиген у реакції імунопреципітації за Оухтерлоні за допомогою кролячих антипсоріатичних сироваток.

Запропонований спосіб ілюструється наступним прикладом його виконання.

Приклад виконання способу ілюстрований наступним графічним матеріалом.

На кресленні (Фіг.) показана схема преципітації антигенів антипсоріатичною сироваткою в пепсинових переварах епідермісу, що відривається у вогнищах запалення при псоріазі, еритематозно-бульозній бешисі і роговим лусочкам епідермісу здорових людей.

На Фіг. позначено наступне:

А - лунка з антипсоріатичною сироваткою; 1 і 2 - лунки з пепсиновим переваром нерозчинних фракцій псоріатичних лусочок; 3 - лунка з пепсиновим переваром нерозчинних фракцій рогових лусочок епідермісу здорових людей; 4 - лунка з пепсиновим переваром нерозчинних фракцій лусочок вогнища запалення при еритематозно-бульозній формі бешиси.

Були проведені дослідження в 5-ти хворих на псоріаз.

Об'єкти порівняння - пепсинові перевари рогових лусочок епідермісу п'яти здорових людей, що знімається металевою терткою з п'яток; пепсинові перевари лусочок, які утворюються в зоні запалення 5-ти хворих на еритематозно-бульозну форму бешиси.

У пепсинових переварах псоріатичних лусочок антигени преципітуються з утворенням двох ліній - на Фіг. між лунками А і 1, А і 2. У пепсинових переварах рогових лусочок епідермісу здорових людей ліній преципітації не утвориться - між лунками А і 3. Отже, у рогових лусочках здорових людей псоріатичні антигени відсутні. Близька до лунки А лінія преципітації антигенів псоріатичних лусочок - між лунками А і 2 продовжується в зону преципітації антигенів бешисових лусочок між лунками А і 4. Отже, ці антигени ідентичні і є загальними для епідермісу, що відривається у вогнищах запалення при псоріазі і бешисі. Далека від лунки А лінія преципітації антигенів псоріатичних лусочок між лунками А і 2 утвориться тільки в зоні преципітації антигенів псоріатичних лусочок. Отже, це преципітація специфічних для псоріазу антигенів.

Таким чином, за допомогою запропонованого способу в псоріатичних лусочках визначаються антигени, які не визначаються в епідермісі, що відторгається, у здорових людей, а також у вогнищі запалення при еритематозно-бульозній бешисі. Отже, визначені специфічні антигени, що можуть бути критерієм при постановці діагнозу, і/чи при оцінці ефективності лікування псоріазу.

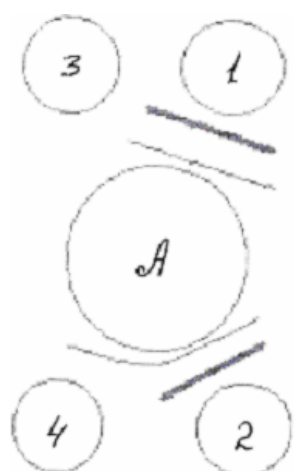


Fig.