



УКРАЇНА

(19) UA (11) 33943 (13) A

(51) 6 G09B23/26

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ПСОРІАЗУ ТА ЙОГО СТАДІЙ

(21) 99042485

(22) 30.04.1999

(24) 15.02.2001

(33) UA

(46) 15.02.2001, Бюл. № 1, 2001 р.

(72) Баранова Олена Анатоліївна

(73) Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

(57) Спосіб діагностики псоріазу та його стадій, що передбачає дослідження сироватки крові, **відрізняється** тим, що 0,5-1 мл сироватки крові змішують з 10 мл 2% спиртового розчину хлориду міді, після 15-хвилинної витримки фільтрують і інкубу-

ють в термостаті при t 42-45°C і постійній вологості на протязі 6-7 годин, після чого мікроскопують і при виявленні додаткових формувань у вільному просторі і на дендритах, фрагментації дендритів діагностують псоріаз, причому в разі деревоподібної форми кристалограми при наявності 7-9 центрів кристалізації діагностують прогресивну, 4-6 - стаціонарну, 1-3 - регресивну стадію псоріазу, а в разі кущисто-пучкової форми при наявності 26-40 центрів діагностують прогресивну, 11-25 - стаціонарну, 6-10 - регресивну стадію дерматозу.

Винахід, що заявляється, відноситься до медицини, точніше - до дерматології, призначений для діагностики псоріазу та його стадій і може бути використаний для контролю за ефективністю лікування.

Псоріаз продовжує становити серйозну медико-соціальну проблему. Його розповсюдженість у загальній популяції, за даними деяких фахівців, досягає 2% та має тенденцію до зростання [6].

Характер перебігу хвороби залежить від багатьох факторів, в тому числі від своєчасності встановлення діагнозу та проведення адекватної терапії. Незважаючи на те, що клінічна картина псоріазу достатньо характерна, в окремих випадках для встановлення діагнозу необхідно проводити диференціацію з іншими дерматозами, такими як червоний плоский лишай, екзема в сквамозній формі, деякі форми піодермій тощо. Визначення стадії захворювання є не менш важливим етапом в процесі лікування хворого, оскільки комплекс лікувальних заходів призначається з обов'язковим урахуванням стадії патологічного процесу. Крім того, визначення стадії хвороби дозволяє здійснювати контроль за ефективністю лікування. В останні роки розроблено ряд способів діагностики псоріазу та його стадій, однак вони не знайшли широкого використання на практиці у зв'язку зі складністю, трудомісткістю та високою вартістю виконання.

Так, відомий спосіб діагностики псоріазу та його стадій, який базується на вивченні електрофоретичної рухомості ядер клітин букального епітелію [2], для свого виконання потребує апарату для внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу. Мазок

клітин букального епітелію беруть у хворого на щесереце після попередньої підготовки ротової порожнини, розводять в краплі води і розміщують в центрі вимірювальної комірки камери для внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу, електроди якої працюють в режимі 25-30 В/см. Потім змінюють полярність струму через 0,3-1 с і спостерігають під мікроскопом за зміщенням ядер в 100 клітинах протягом 5 хв, відмічаючи кількість рухомих клітин у відсотках. При зниженні цього показника до 70% відносно норми діагностують стадію ремісії, а при його зниженні до 40% - стадію загострення.

Незважаючи на відносну легкість і швидкість виконання, не можна вважати цей спосіб придатним для широкого вживання, оскільки він потребує наявності спеціального обладнання.

Відомий також спосіб діагностики псоріазу та його стадій за рахунок більш чіткого виділення кільця Воронова [1]. Суть способу полягає в тому, що на ділянку патологічного процесу накладають фільтрувальний папір з 0,5% розчином індігокарміну, зверху накладають прокладку, яку перед тим змочують водою, та пластинчастий електрод. Прокладку під катодом, що накладається на здорову ділянку шкіри, теж змочують водою. Через електроди пропускають постійний струм силою 1 мА/см протягом 5 хв. Для оцінки результатів фільтрувальний папір висушують: якщо на блакитному фоні видно замість чіткого знебарвленого кільця Воронова лише його поодинокі фрагменти, то діагностують псоріаз в стадії виликування.

(19) UA (11) 33943 (13) A

Спосіб потребує наявності спеціального реактиву і придатний до використання лише в лікувальному закладі, де є апарат для йонофорезу (фізіотерапевтичне відділення або кабінет).

Найближчим аналогом способу, що заявляється, є спосіб діагностики псоріазу та його стадій, який був розроблений Коротким Н.Г. зі співавт. (1985) [3]. Об'єктом дослідження служить сироватка крові. Дослідження проводять на диліпідних фібропластах шкіри людини, які культивують на живильному середовищі, що являє собою збалансований сольовий розчин з 10% вмістом сироватки великої рогатої худоби, 5% пуповинної сироватки, та необхідним для росту клітин набором амінокислот та вітамінів. Суспензію клітин в середовищі переносять в лунки пластикових панелей на покрові скла. Культивування проводять при температурі 37°C в атмосфері 95% повітря та 5% вуглекислого газу протягом 24 годин. Потім середовище змінюють на безсироваткове і культивують ще 48 годин, потім змінюють на живильне середовище, яке містить 10% сироватки хворого. Після 10 годин культивування вносять H^3 -тимідін і інкубують ще 20 годин до фіксації. Перед фіксацією скла відмивають живильним середовищем. Фіксацію проводять сумішшю етанолу та оцтової кислоти на протязі 15 хвилин, потім відмивають трихлороцтовою кислотою по 15 хвилин 2 рази, потім дистильованою водою та спиртом. Скельця висушують, переносять у флакони з толуоловим сцинтилятором і підраховують реактивність за допомогою бета-лічильника. Відношення показників, що отримують з середовища, яка містить сироватку хворого, до показників безсироваткового контролю, вважають за індекс стимуляції. При його значенні 30-105 діагностують прогресивну стадію, а при індексі 2-11 - стаціонарну або регресивну стадію псоріазу.

Не викликає сумніву, що незважаючи на наявність численних позитивних якостей (висока точність, об'єктивність, відсутність обмежень у використанні), спосіб має суттєві недоліки: методика трудомістка, капіталомістка, потребує спеціальних матеріалів, обладнання, реактивів, крім того її виконання займає тривалий час - біля чотирьох діб.

Спосіб, що заявляється, вирішує задачу використання для діагностики псоріазу та його стадій здатності змін вмісту органічних та неорганічних речовин в сироватці крові хворих на псоріаз впливати на картину кристалізації системи « $CuCl_2$ - сироватка крові».

Технічний результат, що досягається, полягає в досягненні більшої простоти виконання діагностики при меншій трудомісткості і меншій її вартості при збереженні адекватної точності, що дозволить проводити її у більшій кількості хворих і тим самим скоротити термін лікування.

Задача, що поставлена, досягається тим, що у відомому способі діагностики псоріазу та його стадій, який передбачає дослідження сироватки крові хворого, згідно з винаходом, 0,5-1 мл сироватки крові змішують з 10 мл 2% спиртового розчину хлориду міді, після 15-хвилинної витримки фільтрують і інкубують в термостаті при температурі 42-45°C і постійній вологості на протязі 6-7 годин, після чого мікроскопують і при виявленні додаткових формувань у вільному просторі і на дендритах, фрагментації дендритів діагностують псоріаз, при-

чому в разі деревоподібної форми кристалограми при наявності 7-9 центрів кристалізації діагностують прогресивну стадію, 4-6 - стаціонарну, 1-3 - регресивну, а в разі кущисто-пучкової форми при наявності 26-40 центрів кристалізації діагностують прогресивну, 11-25 - стаціонарну, 6-10 - регресивну стадію дерматозу.

Відмінною особливістю способу діагностики псоріазу та його стадій, що заявляється, є використання здатності деяких органічних та неорганічних речовин, кількість яких змінюється в сироватці крові хворого на псоріаз і відображає стадію патологічного процесу [4] змінювати морфоструктурну картину кристалізації системи «хлорид міді - сироватка крові».

Високу чутливість хлориду міді до біологічних субстратів пов'язують з тим, що його кристалічна сітка складається з ковалентне рівних $CuCl_2(H_2O)$ - комплексів, що знаходяться в структурі чарунки. Ці чарунки сформовані Cu -атомами, які створюють базисне центровані ромбічні фігури. Така молекула є чотиристоронньою з атомом міді в центрі, що дуже чутливо реагує на різні домішки, які за принципом ізомерного заміщення атомів Cu можуть їх витіснити. Цей процес вносить суттєві зміни в картину кристалізації. Різний характер тезіграфічного малюнку біологічних субстратів пов'язаний з хімізмом середовища, вмістом органічних і неорганічних речовин, які відображають ступінь порушення їх метаболізму [5, 7, 8].

Спосіб здійснюється таким чином.

Кров для дослідження у хворих беруть з ліктвової вени згідно із загальноприйнятими правилами (вранці натщесерце), в кількості 2-3 мл, до призначення курсу лікування і в процесі лікування. Сироватку крові виділяють шляхом центрифугування, переносять в кількості 0,5-1 мл у флакон і змішують з 10 мл 2% розчину хлорної міді. Суміш витримують, постійно збовтуючи, 15 хв у звичайних умовах при кімнатній температурі, потім пропускають через тонкопористий беззольний фільтр. Фільтрат переливають в чашку Петрі і ставлять в термостат. Вирощування кристалів відбувається в термостаті при температурі 42-45°C і постійній вологості протягом 6-7 годин. Температура і термін інкубації, кількість сироватки крові емпірично встановлені в процесі розробки способу; саме вони забезпечують умови, які необхідні для вирощування кристалогам. Отримані кристалограми (тезіграми) вивчаються візуально макроскопічно, за допомогою лупи 16х, мікроскопу МБІ, стереомікроскопу МБС-9.

Сироватка крові абсолютної більшості хворих при описаній обробці дає дві форми кристалізації: деревоподібну та кущисто-пучкову, які в загальних рисах дещо схожі на тезіграми сироватки крові здорових осіб. Але, незважаючи на макроскопічну схожість, тезіграми сироватки крові при псоріазі мікроскопічне відрізняються значними морфоструктурними особливостями, які проявляються деформацією і фрагментацією дендритів, наявністю їх уламків, та різних додаткових формувань (дуг, кілець, паличок, закруток тощо) у вільному просторі. Емпіричним досвідом встановлено, що саме ці параметри дозволяють діагностувати псоріаз.

Тезіграми сироватки крові при псоріазі за розмірами малюнків, кількістю центрів кристалізації та

іншими ознаками мають певні відмінності залежно від стадії захворювання. Наявність 7-9 центрів кристалізації на кристалограмі деревоподібної форми або 26-40 центрів на кристалограмі куцисто-пучкової форми відповідає прогресивній стадії захворювання, клінічними ознаками якої є поява у хворого свіжих елементів висипки, наявність навколо папул яскравого віденчика без луски, позитивні триада Ауспіца та феномен Кебнера; наявність 4-6 або 11-25 центрів на відповідних кристалограмах - стаціонарній стадії (відсутність свіжих елементів висипки, відсутність віденчика росту, позитивна триада Ауспіца та негативний феномен Кебнера, комірець Воронова), а наявність 2-3 або 6-10 центрів відповідно - регресивній (збліднення та сплюснення папул, зменшення лущення, негативні феномени). Кількість зірчасто- та віялоподібних формувань на дендритах поступово закономірно збільшується від 3-5 в прогресивній до 9-12 у регресивній. Змінюється і кількість формувань у вільному просторі.

Конкретні приклади здійснення способу, що заявляється

1. Хворий С., 45 років, історія хвороби № 3302334, госпіталізований 11.02.98 року з діагнозом: псоріаз розповсюджений, бляшкова форма.

Кров для дослідження брали у хворого вранці натще в кількості 2-3 мл, виділяли шляхом центрифугування сироватку в кількості 0,5-1 мл. До сироватки додали 10 мл 2% спиртового розчину хлорної міді і цю суміш витримали 15 хв, постійно збовтуючи. Потім її профільтрували через беззолотий фільтр і перелили в скляну чашку Петрі діаметром 95 мм, яку помістили в термостат на 6-7 годин при t 42-45°C разом з чашкою Петрі з дистильованою водою (для утворення постійної вологості) і чашкою з чистим розчином хлорної міді (для контролю).

Малюнок кристалограми, яка була отримана, мав деревоподібну форму: розгалужені гілки формувань представляли собою дендрити 1-го, 2-го, 3-го і 4-го порядку. У вільному просторі між дендритами 1-го та 2-го порядку були виявлені численні уламки дендритів, формування у вигляді тоненьких дуг, кілець, закруток. Було нараховано 9 центрів кристалізації.

Морфоструктурні особливості кристалограми дозволили підтвердити діагноз псоріазу та встановити стадію дерматозу. Таким чином, діагноз: псоріаз розповсюджений, бляшкова форма, стадія прогресування. Це відповідало клінічним даним: висипка носила розповсюджений, симетричний характер, папули (бляшки) мали яскравий віденчик, вільний від лускотиння, позитивна триада Ауспіца, була відмічена поява свіжих елементів висипки, суб'єктивно свербіж. Хворому було призначено традиційне лікування (антигістамінні, десенсибілізуючі, седативні засоби, вітамінотерапія, УФО за схемою, місцева терапія).

Через 10 діб після початку лікування кристалографічна картина практично не змінилась, клінічного поліпшення не спостерігалось. Хворому був призначений експургаторний метод лікування на три дні, проведена бесіда про необхідність чіткого дотримання призначеної дієти.

На 17 добу від початку лікування кристалографічний малюнок сироватки крові мав такі особ-

ливості: деревоподібна форма, 5 центрів кристалізації, значне зменшення кількості додаткових формувань у вільному просторі що дозволило діагностувати у хворого стаціонарну стадію псоріазу і вважати призначену терапію ефективною. Курс лікування, завдячуючи своєчасній корекції терапії, склав 27 діб.

2. Хворий П. 26 років, історія хвороби № 3302442 був госпіталізований 24. 03. 98 р. Хворів на протязі 3 місяців. Висипка мала розповсюджений, симетричний, мономорфний характер і була представлена запальними папулами (бляшками), поверхня яких була вкрита сріблясте-білими лусками, триада Ауспіца позитивна, появи свіжих елементів висипки за останні дні хворий не відмічав, суб'єктивно - свербіж.

Кристалографічне дослідження сироватки крові проведено аналогічно 1. На кристалізаційному фоні були виявлені дифузне розташовані формування дендритів, які іноді мали вигляд «метеликів» та «снопів», що у сукупності надавало їм куцисто-пучкову форму. У вільному просторі між дендритами спостерігались фрагментація та уламки дендритів, формування у вигляді паличок та дуг. Кількість центрів кристалізації - 18.

Спіраючись на дані клінічного та кристалографічного дослідження був встановлений діагноз: псоріаз розповсюджений, бляшкова форма, стаціонарна стадія; було призначено традиційне лікування з урахуванням стадії (місцева терапія без використання саліцилової мазі).

На 14 добу знаходження в стаціонарі кристалографічна картина сироватки крові хворого мала такі риси: куцисто-пучкова форма кристалізації, фрагментація та уламки дендритів в незначній кількості, поодинокі формування у вигляді паличок, 10 центрів кристалізації, що дозволило діагностувати псоріаз в стадії регресу, і підтверджувало наявність у хворого клінічних ознак регресу псоріатичного процесу (збліднення, сплюснення папул, зменшення лускотиння, тощо). Курс лікування склав 23 дні.

Спосіб, що заявляється, був впроваджений на кафедрі шкірних та венеричних хвороб НМУ на базі дермато-венерологічного відділення ЦМКЛ м. Києва при обстеженні та лікуванні 82 хворих на псоріаз. Для контролю була обстежена група порівняння (20 осіб): здорові особи та хворі на інші дерматози.

Досвід виконання способу, що заявляється, показав, що він є специфічним, оскільки кристалограми при псоріазі суттєво відрізняються від кристалограм при інших дерматозах та у здорових осіб, точним, оскільки він охоплює повний інтервал значень і не має перерв, і легким для відтворення. При цьому він відносно простий в виконанні, не потребує спеціального обладнання і коштовних реактивів, що робить його підсильним для клінічної лабораторії будь-якого лікувального закладу. Крім того, висока швидкість виконання (7-8 годин) і технічна простота дозволяє використовувати його як скрінінг-тест.

В результаті проведених досліджень виявлено, що розробка і впровадження в практику тезіграфічного методу дослідження для вирішення питань діагностики псоріазу та його стадій дозволить скоротити строки лікування хворих за рахунок ско-

рочення терміну встановлення остаточного діагнозу та об'єктивізації контролю ефективності комплексної терапії псоріазу.

Джерела інформації

1. А.с. 1394096 СССР, G01N1/28. Способ диагностики псориаза / Т.В. Докукина, А.С. Новицкий (СССР). - № 3855973/28-14; Заявлено 13.02.85. Опубл. 07.05.88. Бюл. № 17.

2. А.с. 1409883 СССР, G01N1/28. Способ диагностики псориаза / М.С. Гончаренко, В.Г. Шахбазов, Т.В. Колупаева, М.И. Крамар (СССР). - № 3712437/28-14. Заявлено 11.03.84. Опубл. 15.07.88. Бюл. № 26.

3. А.с. 1409942 СССР, G01N33/53. Способ диагностики псориаза / Н.Г. Короткий, К.Н. Гринберт, Г.Я. Шарапова, С.М. Терехов, Н.А. Антонова (СССР). - № 3951550/28-14. Заявлено 31.05.85. Опубл. 15.07.88, Бюл № 26.

4. Довжанский С.И., Утл С.Р. Псориаз или псориатическая болезнь. - Саратов: Изд-во Саратовск. ун-та, 1992. - Ч. 1. - 174 с.

5. Кірієв В.В. Кристаллографічна картина змивів з поверхні ока при зниженні сльозопродукції у хворих на синдром та хворобу SJOGREN // Український науково-медичний молодіжний журнал. - 1995. - № 1-2. - С. 32-35.

6. Сосновский А.Т., Яговдик Н.Э. Дерматологический справочник. - Минск: Вышэйная школа. - 1992. - С. 366-382.

7. Тахер Асаад М.А. Судебно-медицинская диагностика прижизненности повешения по кристаллографической структуре биологических жидкостей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - К., 1995. - 16 с.

8. Чеботарёва В.Д., Майданник В.Г., Падернов В.М., Покрасен Н.М., Мартыненко А.Н. Диагностические возможности кристаллооптического метода при пиелонефрите у детей // Педиатрия. - 1990. - № 5. - С. 46-50.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
