



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41166 (13) A

(51) 7 A61B10/00, G01N33/53

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПСОРІАЗУ ТА ЙОГО СТАДІЙ

(21) 2001031720

(22) 14.03.2001

(24) 15.08.2001

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(72) Гаєвська Марина Юріївна, Пішак Василь
Павлович, Коляденко Володимир Григорович

(73) ГАЄВСЬКА МАРИНА ЮРІЇВНА

(57) Спосіб прогнозування псоріазу та його стадій,
що включає визначення імунологічної реактив-

ності, який **відрізняється** тим, що визначають концентрацію R-білків та циркулюючих імунних комплексів і при збільшенні концентрації R-білків, великих та середніх циркулюючих імунних комплексів прогнозують прогресуючу, а при зменшенні великих та середніх циркулюючих імунних комплексів і збільшенні малих циркулюючих імунних комплексів прогнозують стаціонарну стадію розповсюдженого псоріазу.

Винахід, що заявляється, відноситься до медицини, а саме до дерматології, призначений для прогнозування псоріазу і може бути використаний для контролю за ефективністю лікування.

Проблема псоріазу займає одне із перших місць в дерматології, що зв'язано з великою поширеною частотою дерматозу, переважним ураженням чоловіків і великою питомою вагою в порівнянні з іншими захворюваннями шкіри до 30%. В останній час спостерігається зростання таких форм хвороби у вигляді атропатичного псоріазу, псоріатичної еритродермії і пустульозного псоріазу, які можуть закінчуватись інвалідністю. Визначення стадії захворювання є не менш важливим етапом в лікуванні хворого, оскільки комплекс лікувальних заходів призначається з обов'язковим урахуванням стадії патологічного процесу. Крім того, визначення стадії хвороби дозволяє здійснювати контроль за ефективністю лікування.

Найближчим аналогом-прототипом способу, що заявляється, є спосіб прогнозування перебігу псоріазу [1]. Згідно цього способу прогнозують перебіг псоріазу шляхом клініко-анамнестичного дослідження хворого з урахуванням тривалості останнього рецидиву та додаткового визначення активності глюкозо-6-фосфатгидрогенази, сукцинатгидрогенази та бета-глюкокуронідази у нейтрофілах в периферійній крові.

Однак спосіб має суттєві недоліки: спосіб малодоступний, складний у виконанні, потребує спеціальних матеріалів, реактивів, крім того його виконання займає тривалий час.

Спосіб, що заявляється, вирішує задачу, яка полягає в здобутті більшої простоти виконання, малотривалості у плані проведення досліджень, та отримання достовірних даних.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі прогнозування перебігу псоріазу, який включає визначення імунологічної реактивності, відповідно до винаходу визначають концентрацію R-білка та циркулюючих імунних комплексів і при збільшенні концентрації R-білків, великих і середніх циркулюючих імунних комплексів прогнозують прогресивну стадію псоріазу, а при зменшенні великих та середніх ЦІК, збільшенні малих ЦІК прогнозують стаціонарну стадію розповсюдженого псоріазу.

Спосіб виконується наступним чином: у хворих з локтєвої вени беруть 3–4 мл крові для отримання сироватки, 0,5 мл її вносили в суху чисту пробірку, додавали 1,2 мл боратного буфера (рН 8,4), ретельно перемішували та переносили по 0,3 мл в 4 пробірки. В першу додавали 2,7 мл 0,1%-ного боратного буфера (контроль), в другу – 2,7 мл 2%-ного розчину ПЕГ, в третю – 2,7 мл 3,5%-ного розчину ПЕГ, в четверту 2,7 мл 5%-ного розчину ПЕГ на боратному буфері (дослідні пробірки). На спектрофотометрі в кюветах 1x1 см³ при 450 нм визначали оптичну густину відповідних зразків. Отриманий результат множили на 1000 і отримували кількість в 100 мл сироватки крові. Розміри ЦІК оцінювали за коефіцієнтом $K \in \frac{1}{C_2}$, де C_1 та C_2 – це концентрація імунних комплексів у сироватці крові хворого відповідно при преципітації поліетиленгліколю від 2% до 5%. Для визначення розмірів ЦІК були прийняті наступні критерії: великі – при $1 < K < 1,1$, середні – $1,1 < K < 1,5$, дрібні (малі) – при $K > 1,5$ [Гриневич Ю.А., 1981; Константинова Н.А., 1986].

Рівень R-білків визначали за гальмуванням реакції між анти-R-сироваткою (сироватка отримана імунізацією кролика R-білками людини) та еритроцитами людини O//Rh⁺. Анти-R-сироватка

придбана в НДІЕМ ім. М.Ф. Гамалєї (Росія) та транспортована в термосі з сухим льодом.

Забір крові здійснювали зранку до їжі, о 8.00 шляхом взяття крові з кубітальної вени. Кров центрифугували протягом 10 хв при 2000 об/хв, відділяли надосадкову рідину та використовували її для визначення титру R-білків. При неможливості провести дослідження в той же день, проби сироватки зберігалися в рефрижераторі (-20°C). Ліофільно висушена анти-R-сироватка зберігалася при температурі 4°C протягом 24 місяців. Розведена 1:10 анти-R-сироватка зберігалася в замороженому вигляді протягом місяця.

Перед визначенням R-білків проби попередньо розводили в 10 разів фізіологічним розчином (0,9 мл фізрозчину + 0,1 мл сироватки) – проба № 2. У планшети для аглютинації наливали у першу ямочку кожного ряду 0,9 мл фізіологічного розчину, в другу – 0,4 мл, а в останні ямочки ряду – по 0,1 мл. У першу лунку додавали 0,1 мл сироватки (проба № 2), попередньо розведеної 1:10. Це визначалося як розведення проби 1:100. Ретельно перемішували. Далі 0,1 мл з першої ямочки переносили в другу, ретельно перемішували. Це визначалося як розведення 1:500. Потім готували серію двократних розведень досліджуваної проби, починаючи з третьої ямочки по одинадцять включно, за рахунок перенесення 0,1 мл суміші. В усі ямочки, починаючи з третьої, додавали по 0,1 мл анти-R-сироватки в робочому розведенні та по одній краплі 4%-ної суспензії еритроцитів людини. Ретельно перемішували та залишили на 6–18 год. при температурі 4°C . Реакцію оцінювали візуально. Титром R-білків вважали останнє розведення досліджуваної сироватки, яке давало інгібіцію тест-системи.

Значення титрів R-білків, які визначаються в артеріальній та венозній крові у індивідуума, незначно різняться, тому використовували виключно венозну кров. Нормальний рівень R-білка коливався в межах 1:2000–8000 [Бартова Л.Ф., 1989, 1990].

При обробці результатів кожне окреме значення титру R-білка виражали у вигляді \log_2 значення зворотного титру. Ймовірність можливої помилки кожного показника визначали за статистичним критерієм Стюдента [Ю.И. Иванов., В.Н. Погорелов, 1990]. Відмінності між порівнюваними показниками вважалися достовірними при $p < 0,05$.

У ході роботи використано персональний комп'ютер "IBM PC" (США), за допомогою якого отримували наведений в роботі матеріал. Статистичний аналіз отриманих даних проводився за методом варіаційної статистики з визначенням середньої величини $M(x)$, середньої похибки $m(Sx)$ та середньоквадратичного відхилення (σ) [Ашмарин И.П., 1975; Урбах В.Ю., 1975].

Встановлено, що у хворих на псоріаз при різних формах захворювання має місце збільшення R-білків. Після проведеного лікування показники R-білків вірогідно зменшилися, що асоціюється з позитивною клінічною динамікою та співпадало з періодом регресу висипань.

Встановили, що концентрація різних за розмірами циркулюючих комплексів залежить від стадії та форми псоріазу (табл. 1).

Так при розповсюдженій формі, прогресуючій стадії переважають великі і середні ЦІК, концентрація малих форм зменшується.

Розповсюджена форма у стаціонарній стадії характеризується зменшенням ЦІК великих і середніх розмірів, за збільшенням малих форм.

Локалізована форма псоріазу з ураженням волосистої частини голови – зменшенням ЦІК великих розмірів за рахунок збільшення середніх і в меншій мірі малих.

Ні в одному із відомих способів немає заявленої сукупності ознак, тому ця обставина дозволяє зробити висновок, що заявлений спосіб є новим.

З відомого рішення техніки для фахівця не впливає, що діагностику та прогнозування псоріазу можна здійснювати шляхом визначення R-білків. Прогноз захворювання можна визначити за показниками ЦІК різних розмірів залежно від форми та стадії. Ці обставини забезпечують заявляемому способу відповідність критерію "винахідницький рівень".

Заявлений спосіб є "промислово придатним", оскільки для його здійснення (необхідна невелика кількість часу, він є економічно вигідним, не потребує особливого обладнання, простий та доступний у виконанні), а вимагає лише засвоєння інформації, прийомів та послідовності їх виконання, і може бути реалізованим на практиці.

Література.

1. А.с. СССР № 1673062, Бюл. "Открытия, изобретения", 1991 г., № 32, с. 22.

Таблиця 1

Вміст у сироватці крові різних за розмірами циркулюючих імунних комплексів у хворих на псоріаз ($x \pm Sx$)

Форма псоріазу	Число спостережень	Розмір циркулюючих комплексів ум. од.		
		Великі	Середні	Малі
Контрольна група	35	51,70 \pm 3,17	34,54 \pm 2,02	10,94 \pm 1,13
Прогресуюча стадія розповсюдженого псоріазу 1 група	26	58,60 \pm 1,58 $p < 0,05$	52,65 \pm 2,02 $p < 0,001$	6,35 \pm 1,70 $p < 0,05$
Стаціонарна стадія розповсюдженого псоріазу 2 група	14	56,05 \pm 2,02	42,77 \pm 2,89 $p < 0,02$ $p_1 < 0,01$	59,03 \pm 2,90 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Локальна форма псоріазу 3 група	8	59,75 \pm 2,10 $p < 0,05$	50,60 \pm 2,63 $p < 0,001$ $p_2 < 0,05$	38,40 \pm 1,91 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Локальна форма псоріазу з ураженням волосистої частини голови 4 група	12	64,25 \pm 4,11 $p < 0,02$	58,83 \pm 4,84 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	16,92 \pm 1,40 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$

Примітки: p – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p_1 – відносно даних 1-ої групи; p_2 – відносно даних другої групи; p_3 – відносно даних 3-ої групи хворих.

Показники сироваткових R-білків у хворих на псоріаз ($M \pm m$)

Групи обстежених	Показники R- білків, \log_2
РПС (n=26): до лікування після лікування P P ₁ P ₂	 15,20±0,68 12,52±0,44 <0,01 <0,01 >0,05
РСС (n=14): до лікування після лікування P P ₁ P ₂	 16,32±0,76 11,97±0,63 <0,05 <0,01 >0,05
ЛСС (n=8) до лікування після лікування P P ₁ P ₂	 16,21±0,74 12,72±0,67 <0,01 <0,01 >0,05
ЛСС + ВЧГС (n=12) до лікування після лікування P P ₁ P ₂	 15,92±0,75 12,48±0,68 <0,05 <0,01 >0,05
Донори (n=14)	11,54±0,45

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
 Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
 (03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03

