



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98354** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
G01N 1/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2014 12090</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.11.2014</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.04.2015</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.04.2015, Бюл.№ 8</p>	<p>(72) Винахідник(и): Дмитренко Світлана Володимирівна (UA), Вернигородський Сергій Вікторович (UA), Степаненко Віктор Іванович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)</p>
---	---

(54) СПОСІБ ПАТОМОРФОЛОГІЧНОЇ ТЯЖКОСТІ ІХТІОЗУ

(57) Реферат:

Спосіб патоморфологічної оцінки тяжкості іхтіозу включає гістологічне дослідження біопсій шкіри. Визначають наявність гіперкератозу, зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз), кератогалінових гранул та зернистого шару із урахуванням патоморфологічних змін за допомогою алгоритму оцінки основних морфологічних гістохімічних критеріїв ураження епідермісу встановлюють діагноз ступеня перебігу іхтіозу: при наявності гіперкератозу та відсутності зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератолізу), кератогалінових гранул, зернистого шару - легкого ступеня; при вираженому гіперкератозі в поєднанні з акантолізом та наявністю зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз) з кератогаліновими гранулами - важкого ступеня.

UA 98354 U

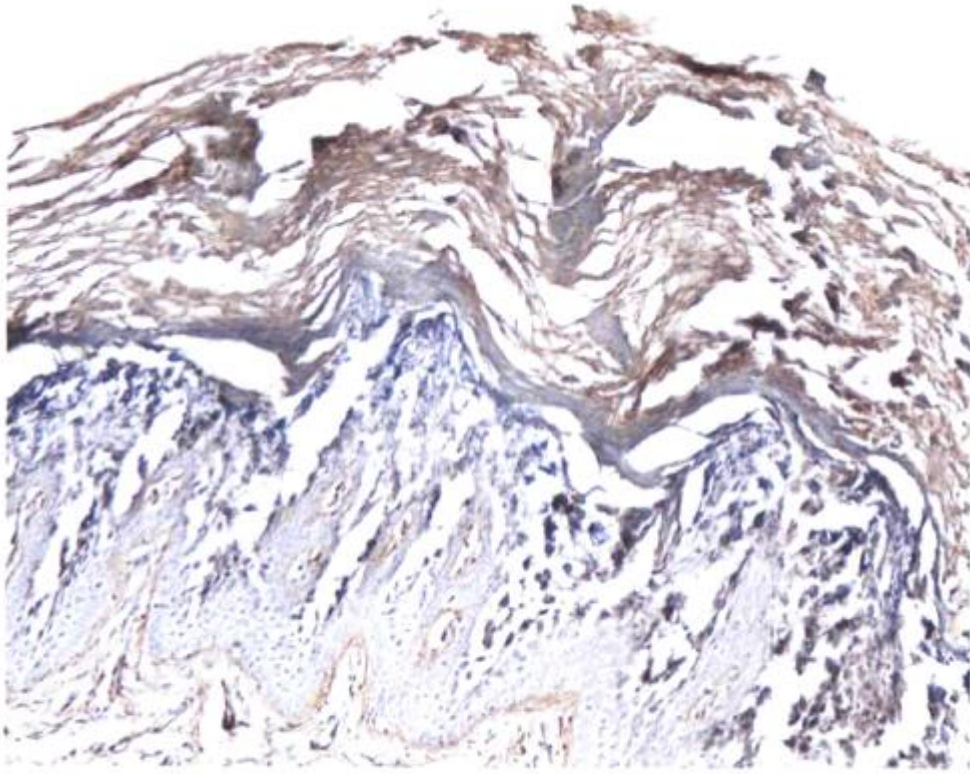


Fig. 2

Корисна модель належить до медицини, зокрема до дерматології та патологічної анатомії, і являє собою спосіб оцінки ступеня тяжкості іхтіозу. Може бути використана в комплексній діагностиці та прогнозі перебігу іхтіозу.

Відомо, що для діагностики іхтіозу необхідне застосування комплексу морфологічних та лабораторних методів досліджень, які різняться за точністю результатів і складністю виконання.

За вимогами доказової медицини прижиттєва верифікація іхтіозу неможлива без патогістологічного дослідження біоптатів шкіри. Найближчим до моделі, що пропонується, способом патоморфологічної його діагностики є WO/2007/068946. University court of the university of Dundee. C12Q 1/6883; G01N 33/6881. Identification of loss-of-function mutations in filaggrin causing ichthyosis vulgaris and predisposing to other diseases /William Henry Irwin Mclean, Frances Jane Dorothy Smith Filing. № WO/2007/068946 Date: 15.12.2006; Publication Date: 21.06.2007, в основі якого є генетичний тест, що дозволяє встановити мутацію гена FLG (FILAGGRIN) та який переважно використовується для діагностики вульгарного іхтіозу. Проте, останній має ряд недоліків.

По-перше, запропонована модель дозволяє встановити тільки наявність вульгарного іхтіозу (легкої форми). По-друге, в ній відсутні критерії ступеня тяжкості захворювання. По-третє, для відтворення моделі необхідна кропітка та складна діагностична процедура генетичного аналізу.

Як відомо, головною ознакою вульгарного іхтіозу є втрата зернистого шару та гранул філагрину епідермісу. При загальноприйнятому гістологічному дослідженні біопсійного матеріалу з використанням гематоксилін-еозину такі зміни не завжди виявляються, що залежить від кількості отриманого матеріалу.

В основу корисної моделі "Спосіб оцінки тяжкості іхтіозу" поставлено задачу оцінки основних морфологічних гістохімічних критеріїв ураження шкіри з урахуванням товщини епідермісу, зокрема стану рогового шару, наявності зернистого шару та кератогіалінових гранул, зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз) що дозволяє діагностувати іхтіоз на ранніх стадіях і оцінити ступень його тяжкості, скоротити час обстеження хворих та призначити відповідне лікування.

Поставлена задача вирішується способом, що включає визначення стану рогової речовини, зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз), зернистого шару та кератогіалінових гранул: за допомогою гістохімічного аналізу з використанням кислого розчину основного коричневого, який при позитивному забарвленні рогової речовини та сполук, що містять кератин дозволяє встановити тяжкість іхтіозу. Для діагностики біопсійний матеріал отримують під час дерматоскопічного дослідження з щипцевою біопсією. Біоптати шкіри плеча фіксують в 10 % розчині нейтрального формаліну (pH 7,4) упродовж 24 годин. Після дегідратації їх заливають у високо очищений парафін з полімерними добавками (Richard-Allan Scientific) при температурі не вище 60 °C та візуальному контролю орієнтації біоптату у блоці. На ротаційному мікроскопі Microm HM 325 з системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина) виготовляють серійні гістологічні зрізи товщиною (5±1 мкм), які монтують на предметне скло зі спеціальним адгезивним покриттям. Депарафінують у ксилолі за стандартною схемою, регідратують, зафарбовують кислим розчином основного коричневого та проводять патоморфологічний аналіз.

Гістохімічне дослідження виконують на парафінових зрізах з використанням кислого розчину основного коричневого, останній готується наступним чином: депарафіновані зрізи доводять до води і окислюють 10 хвилин в розчині, який готують, змішуючи перед початком роботи 10 мл 2,5 % розчину перманганату калію, 10 мл 5 % розчину сірчаної кислоти і 70 мл дистильованої води. Потім зрізи занурюють на 1-2 хвилини в 2 % розчин щавлевої кислоти, промивають в дистильованій воді та занурюють на 3 години в кислий розчин основного коричневого, який готують так: 0,5 г основного коричневого (везувін, бісмарк-браун) розчиняють в суміші 80 мл етилового спирту і 20 мл 1 н. розчину соляної кислоти. Перед першим вживанням розчин потрібно профільтрувати.

Після вилучення з барвника препарат проводять через три зміни 70 спирту, по 2-3 хвилин в кожній. Потім зневоднюють 96° та абсолютним спиртом, просвітлюють і укладають у бальзам.

В результаті, завдяки властивостям основного коричневого з'єднуватися з сульфогрупами окисленого кератину, в інтенсивний коричневий колір забарвлюється кератин рогового шару епідермісу, сполуки, що містять кератин, а також мозкова речовина волосу. Ростковий, остистий, зернистий, блискучий шари та кореневі піхви залишаються безкольорові. Окрім кератину, також забарвлюються деякі ділянки ретикулінових волокон та цитоплазма тканинних базофілів.

В препаратах при 100 та 200-кратному збільшенні мікроскопа визначають наявність гіперкератозу, зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз), зернистого шару та

кератогіалінових гранул в епідермісі. Позитивне забарвлення кислим розчином основного коричневого рогової речовини при відсутності кератогіалінових гранул, зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератолізу) і зернистого шару свідчить про легку ступінь тяжкості іхтіозу.

5 Виражений гіперкератоз із зернистою дегенерацією клітин епідермісу (акантокератолізом), значною кількістю кератогіалінових гранул, які інтенсивно забарвлюються кислим розчином основного коричневого відповідає важкому ступеню іхтіозу.

Таким чином, при застосуванні наведеного способу гістохімічного забарвлення можна чітко визначитися з початковою фазою іхтіозу та ступенем тяжкості.

10 Клінічний приклад 1.

Пацієнт П., 1997 року народження, що мешкає в с. Городківка, Крижопільський р-н, звернувся у Вінницький обласний шкірно-венерологічний диспансер зі скаргами: на фоні вираженої сухості шкіри відмічає велику кількість брудно-сірого кольору лусочок, кірочки, тріщини. Після клінічного обстеження встановлений діагноз: Іхтіоз. Взято 2 шматочки шкіри правого плеча для гістологічного дослідження.

15 Після проведеного гістологічного обстеження (№ 5) за допомогою кислого розчину основного коричневого виявлено незначний гіперкератоз з відсутністю зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз), зернистого шару та кератогіалінових гранул (фігура 1), був виставлений діагноз: Вульгарний іхтіоз легкого ступеня тяжкості та призначено відповідне лікування після якого стан пацієнта покращився.

20 Клінічний приклад 2.

Пацієнтка Д., 1976 року народження, що мешкає у м. Бар, Вінницької області, звернулася у Вінницький обласний шкірно-венерологічний диспансер зі скаргами на виражені запальні явища, особливо в складках шкіри, пухирі в області великих складок, поверхневі ерозії на ділянках відшарування шкіри, неприємний запах при відторгненні шкіри, потоншення волосся на волосистій частині голови, розрідження вій, ураження шкіри долонь і ступнів у вигляді відшарування рогового шару з утворенням тріщин, розташованих по згинальних складках. Після проведення клінічного дослідження встановлений діагноз: Іхтіоз. Взято 2 біоптати шкіри правого плеча для гістологічного дослідження.

30 Після патогістологічного дослідження біоптатів шкіри (№ 6) та застосування "Способу патоморфологічної оцінки тяжкості іхтіозу" за допомогою гістохімічного дослідження з використанням кислого розчину основного коричневого виявлено виражений гіперкератоз шкіри, зернисту дегенерацію клітин епідермісу (акантокератоліз) з великою кількістю кератогіалінових гранул (фігура 2).

35 Встановлений патогістологічний діагноз: Бульозна вроджена іхтіозоформна еритродермія, важка форма. Хворій призначене відповідне лікування з повторним біопсійним контролем упродовж року.

40 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб патоморфологічної оцінки тяжкості іхтіозу, що включає гістологічне дослідження біопсії шкіри, який **відрізняється** тим, що визначають наявність гіперкератозу, зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз), кератогіалінових гранул та зернистого шару із урахуванням патоморфологічних змін за допомогою алгоритму оцінки основних морфологічних гістохімічних критеріїв ураження епідермісу встановлюють діагноз ступеня перебігу іхтіозу: при наявності гіперкератозу та відсутності зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератолізу), кератогіалінових гранул, зернистого шару - легкого ступеня; при вираженому гіперкератозі в поєднанні з акантолізом та наявністю зернистої дегенерації клітин епідермісу (акантокератоліз) з кератогіаліновими гранулами - важкого ступеня.

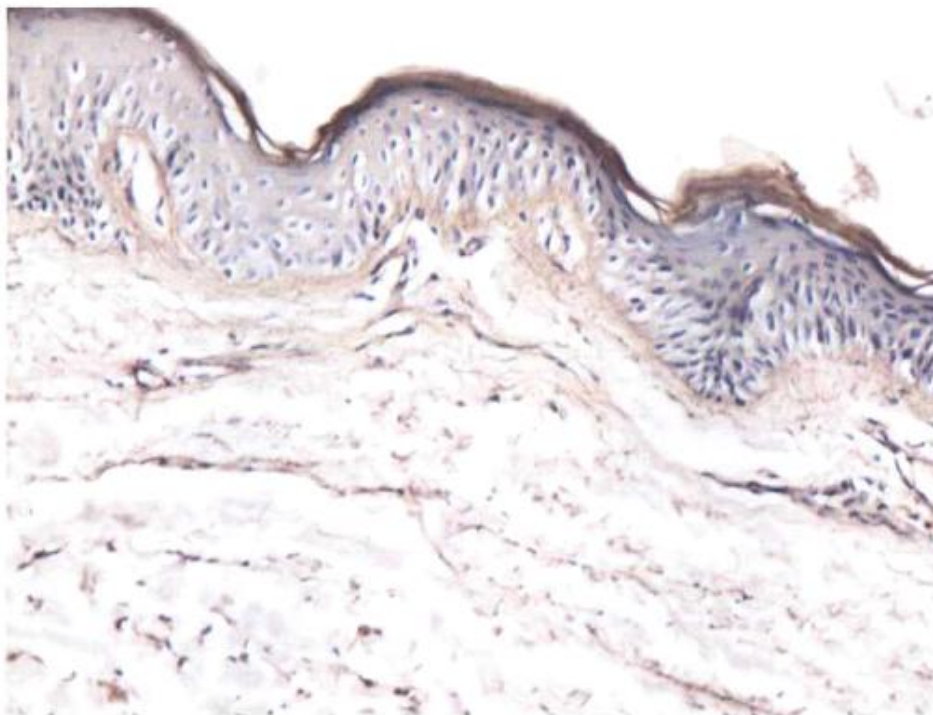


Fig. 1

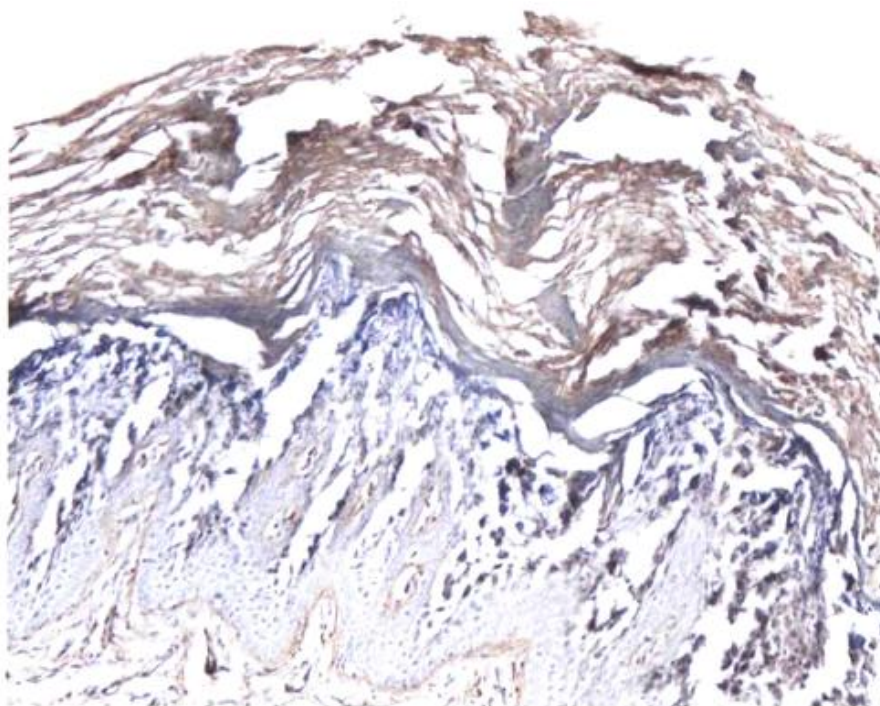


Fig. 2

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601